

**PENGARUH PEMBERIAN PREVENTIF EKSTRAK BUAH PEPAYA  
CALIFORNIA (*Carica papaya. L*) TERHADAP KADAR  
MALONDIALDEHID DAN HISTOPATOLOGI  
GINJAL TIKUS (*Ratus norvegicus*) YANG  
DIINDUKSI PLUMBUM ASETAT**

**SKRIPSI**

Oleh :

**DESY SAFITRI  
135130107111029**



**PROGRAM STUDI KEDOKTERAN HEWAN**

**FAKULTAS KEDOKTERAN HEWAN**

**UNIVERSITAS BRAWIJAYA**

**MALANG**

**2018**

**PENGARUH PEMBERIAN PREVENTIF EKSTRAK BUAH PEPAYA  
CALIFORNIA (*Carica papaya. L*) TERHADAP KADAR  
MALONDIALDEHID DAN HISTOPATOLOGI  
GINJAL TIKUS (*Ratus norvegicus*) YANG  
DIINDUKSI PLUMBUM ASETAT**

**SKRIPSI**

*Sebagai salah satu syarat untuk memperoleh gelar  
Sarjana Kedokteran Hewan*

Oleh :

**DESY SAFITRI  
135130107111029**



**PROGRAM STUDI KEDOKTERAN HEWAN**

**FAKULTAS KEDOKTERAN HEWAN**

**UNIVERSITAS BRAWIJAYA**

**MALANG**

**2018**

**LEMBAR PENGESAHAN SKRIPSI**

**PENGARUH PEMBERIAN PREVENTIF EKTRAK BUAH PEPAYA CALIFORNIA (*Carica papaya. L*) TERHADAP KADAR MALONDIALDEHID DAN HISTOPATOLOGI GINJAL TIKUS (*Ratus norvegicus*) YANG DIINDUKSI PLUMBUM ASETAT**

Oleh :  
**DESY SAFITRI**  
**NIM. 135130107111029**

Setelah dipertahankan di depan Majelis Penguji  
pada tanggal 15 Januari 2018  
dan dinyatakan memenuhi syarat untuk memperoleh gelar  
Sarjana Kedokteran Hewan

Pembimbing I

Pembimbing II

**Dra. Anna Roosdiana, M. App.,Sc**  
NIP. 19580711 199203 2 002

**drh. Dahliatul Qosimah, M.kes**  
NIP. 19820127 201504 2 001

Mengetahui,  
Dekan Fakultas Kedokteran Hewan  
Universitas Brawijaya

**Prof. Dr. Aulanni'am, drh., DES**  
NIP. 19600903 198802 2 001





**LEMBAR PERNYATAAN**

Saya yang bertanda tangan di bawah ini:

Nama : Desy Safitri

NIM : 135130107111029

Program Studi : Pendidikan Dokter Hewan

Penulis Skripsi berjudul :

**PENGARUH PREVENTIF PEMBERIAN EKSTRAK BUAH PEPAYA  
CALIFORNIA (*Carica papaya. L*) TERHADAP KADAR  
MALONDIALDEHID DAN HISTOPATOLOGI  
GINJAL TIKUS (*Ratus norvegicus*) YANG  
DIINDUKSI PLUMBUM ASETAT**

Dengan ini menyatakan bahwa:

1. Isi dari skripsi yang saya buat adalah benar-benar karya saya sendiri dan tidak menjiplak karya orang lain, selain nama-nama yang termaktub di isi dan tertulis di daftar pustaka dalam skripsi ini.
2. Apabila dikemudian hari ternyata skripsi yang saya tulis terbukti hasil jiplakan, maka saya akan bersedia menanggung segala resiko yang akan saya terima.

Demikian pernyataan ini dibuat dengan segala kesadaran.

Malang, 19 Januari 2018

Yang menyatakan,

(Desy Safitri)

NIM. 135130107111029

**Pengaruh Preventif Pemberian Ekstrak Buah Pepaya California (*Carica papaya.L*) Terhadap Kadar Malondialdehid dan Histopatologi Ginjal Tikus (*Rattus norvegicus*) Yang Di Induksi Plumbum Asetat**

**ABSTRAK**

Ginjal merupakan salah satu organ vital tubuh. Organ ini berperan penting dalam metabolisme tubuh seperti fungsi ekskresi, keseimbangan air dan elektrolit, serta endokrin, plumbum merupakan bahan kimia termasuk kelompok logam berat yang tidak dibutuhkan oleh tubuh, apabila dimetabolisme didalam tubuh akan menghasilkan radikal bebas dan merusak selorgan tertentu salah satunya ginjal. Antioksidan dari luar tubuh dapat melawan radikal bebas. Ekstrak buah pepaya california (*Carica papaya.L*) bermanfaat sebagai antioksidan, kandungan vitamin C dalam buah pepaya dapat menetralkan radikal bebas. Penelitian ini bertujuan mengetahui pengaruh preventif ekstrak buah pepaya california terhadap perubahan histopatologi ginjal serta kadar MDA. Penelitian ini menggunakan tikus (*Rattus norvegicus*) jantan berumur 8-10 minggu yang dibagi dalam 5 kelompok yaitu kelompok kontrol negatif, kelompok kontrol positif yang diinduksi plumbum asetat, kelompok tikus P1, P2, P3 berturut-turut yang diberi preventif ekstrak buah pepaya california (*Carica papaya.L*) dosis 150 mg/ekor/hari, 250 mg/ekor/hari dan 350 mg/ekor/hari dan masing-masing perlakuan diinduksi plumbum asetat 25 mg/ekor/hari. Kadar MDA diukur menggunakan pereaksi *Thiobarbituric Acid* (TBA) secara spektrofotometri dan dianalisis menggunakan uji *One Way ANOVA* dan dilanjutkan dengan uji *Tukey*  $\alpha=5\%$ . Gambaran histopatologi ginjal diamati dengan pewarnaan *Hematoxylin Eosin*. Hasil penelitian menunjukkan bahwa ekstrak buah pepaya california (*Carica papaya.L*) dapat memberikan pengaruh preventif kadar MDA secara signifikan ( $p<0,05$ ) dan bisa mencegah perubahan histopatologi ginjal, atrofi glomelurus, erosi epitel tubulus dan kongesti pada tikus dengan dosis efektif 350 mg/kg BB. Kesimpulan dari penelitian ini adalah ekstrak buah pepaya California dapat memberikan pengaruh preventif dengan menurunkan kadar MDA dan memperbaiki gambaran histopatogi ginjal.

**Kata kunci:** Antioksidan,, Pepaya california (*Carica papaya.L*), histopatologi ginjal, Malondialdehid (MDA), Plumbum Asetat.

**Preventive Influence of Extract of Papaya Fruit California (*Carica papaya.L*) on the Levels of Malondialdehyde (MDA) and Histopatology Rat Kidney (*Rattus norvegicus*) Induced of Plumbum Acetate**

**ABSTRACT**

The kidney is one of the vital organs. Kidney plays an important role in the metabolism of the body such as the excretion function, the balance of water and electrolytes, as well as endocrine and infect it changes. Plumbum is chemicals including heavy metal groups that are not needed by the body, when metabolized in the body will produce free radicals and damage the cells of certain organs such as kidney. Antioxidants from outside the body can fight off free radicals. Extract of papaya fruit California (*Carica papaya L.*) has the benefits of antioxidants, vitamin c in fruit of papaya can decrease free radicals. This research aimed to investigate the influence of preventive extract papaya fruit California towards kidney histopathology changes as well as the levels of MDA. This research used rats (*Rattus norvegicus*) 8-10 weeks old males those were divided into 5 groups, the negative control group, a positive control group induced plumbum acetate, a group of rats who received preventive papaya fruit extract california (*Carica papaya L.*). Dose of 150 mg/kg BW, 250 mg/kg BW and 350 mg/kg BW and each treatment induced plumbum acetate 25 mg/kg BW. MDA levels were measured spectrophotometry by using the reagent of Thiobarbituric Acid (TBA) and analyzed by One Way ANOVA test and Tukey test  $\alpha = 5\%$ . Kidney histopathology was observeb with Hematoxylin Eosin. The research showed that the extract of papaya fruit (*Carica papaya L*) can decrease the have a papaya increase levels of MDA significantly ( $p < 0.05$ ) and can inhibit the changes of the rats kidney histopatology such as glomelurus atrophy, the tubular epitel erosion and congesti in rats at effective dose of 350 mg/kg BW. The conclusions of this study are a fruit of papaya California extract can decrease the levels of MDA and improve of the kidney histopathology.

**Keywords:** Antioxidants, Fruit Papaya California, Kidney histopathology, Malondialdehyde (MDA), Plumbum Acetate.

## KATA PENGANTAR

Penulis mengucapkan puji syukur atas kehadiran Allah SWT yang telah memberikan segala nikmat dan hidayah-Nya sehingga penulis dapat menyelesaikan Skripsi ini yang berjudul **“Pengaruh Preventif Pemberian Ekstrak Buah Pepaya *California (Carica papaya.L)* Terhadap Kadar Malondialdehid dan Histopatologi Ginjal Tikus (*Rattus norvegicus*) Yang Di Induksi Plumbum Asetat”**.

Shalawat beriring salam semoga tetap tercurahkan kepada baginda Rasulullah Muhammad SAW. Dalam penyusunan Skripsi ini tidak lepas akan adanya bantuan serta dukungan moril dari berbagai pihak. Pada kesempatan ini penulis berterima kasih kepada :

1. Dra. Anna Rosdiana, M. App., Sc selaku dosen pembimbing I atas bimbingan, kesabaran, fasilitas, dan waktu yang telah diberikan.
2. drh. Dahliatul Qosimah, M.Kes selaku dosen pembimbing II atas bimbingan, kesabaran, fasilitas, dan waktu yang telah diberikan.
3. drh. Yudit Oktanella M.Si dan drh. Albiruni Haryo M.Sc selaku dosen penguji yang akan memberikan kritik, saran dan masukan yang sangat membangun.
4. Prof. Dr. Aulanni'am, drh. DES selaku Dekan Fakultas Kedokteran Hewan Universitas Brawijaya.
5. drh. Dyah Ayu Oktavanie A.P. M.Biotech selaku Wakil Dekan I Bidang Akademik Fakultas Kedokteran Hewan Universitas Brawijaya.
6. Ayahanda Sakimin, Ibunda Wasiem dan Adik tercinta Harry Firman Dhani untuk kasih sayang, doa, semangat serta dukungan dan pengorbanan baik moril maupun materi selama ini.
7. Kelompok SKRIPSI CARICA PAPAYA, Dewi Jariyani, Dina Hardiana, Dina Sahmiranda, yang selalu ada dalam kondisi apapun.
8. Teman spesial Bribda Teguh Rifqi Fauzi S.H yang selalu memberikan motivasi, semangat, serta dukungan untuk menyelesaikan studi.

9. Sahabat-sahabatku ANAK RANTAU Dewi Jariyani, Dewi, Faradina Kusumasdiyanti, Dina Triassanti, Widy Parameita Dewi, Paramita Afi S, Ida Kusuwardani dan Ratna terimakasih telah menjadi pundak ketika aku lelah dan makasih telah menjadi api yang mampu mengobarkan semangat ketika aku mulai lemah.
10. Teman-teman kelas 2013 C CAVITAS yang telah memberikan persahabatan, semangat, inspirasi, keceriaan dan mimpi-mimpi yang luar biasa.
11. Teman-teman seperjuangan mahasiswa Fakultas Kedokteran Hewan angkatan 2013 yang telah memberikan semangat dan dukungan kepada penulis.
12. Seluruh staf dan karyawan FKH, yang telah membantu jalannya proses administrasi dalam membuat tugas akhir.
13. Semua pihak yang telah membantu dalam pelaksanaan dan penyusunan proposal ini yang tidak dapat penulis sebutkan satu persatu.

Penulis menyadari bahwa masih terdapat kekurangan dalam penulisan Skripsi ini. Oleh karena itu, penulis sangat menerima kritik atau saran yang membangun. Semoga tugas akhir ini dapat memberikan manfaat karena pengalaman adalah guru terbaik.

Malang, 20 April 2017

Penulis

## DAFTAR ISI

	Halaman
<b>HALAMAN JUDUL .....</b>	<b>ii</b>
<b>HALAMAN PENGESAHAN .....</b>	<b>iii</b>
<b>HALAMAN PERNYATAAN.....</b>	<b>iv</b>
<b>ABSTRAK .....</b>	<b>v</b>
<b>ABSRRACK .....</b>	<b>vi</b>
<b>KATA PENGANTAR.....</b>	<b>vii</b>
<b>DAFTAR ISI .....</b>	<b>Iix</b>
<b>DAFTAR TABEL .....</b>	<b>xi</b>
<b>DAFTAR GAMBAR.....</b>	<b>xii</b>
<b>DAFTAR LAMPIRAN .....</b>	<b>xiii</b>
<b>DAFTAR SINGKATAN DAN LAMBANG .....</b>	<b>xiv</b>
<b>BAB 1. PENDAHULUAN .....</b>	<b>1</b>
1.1 Latar Belakang .....	1
1.2 Rumusan Masalah.....	4
1.3 Batasan Masalah .....	4
1.4 Tujuan Penelitian .....	5
1.5 Manfaat Penelitian .....	6
<b>BAB 2. TINJAUAN PUSTAKA.....</b>	<b>6</b>
2.1 Buah Pepaya California ( <i>Carica papaya L.</i> ).....	6
2.2 Antioksidan .....	7
2.3 Plumbum asetat.....	7
2.3.1 Sifat Fisika dan Kimia Plumbum .....	9
2.3.2 Metabolisme Plumbum asetat Dalam Tubuh .....	10
2.3.3 Bahaya Akumulasi Plumbum asetat Didalam Tubuh..	12
2.3.4 Toksisitas Plumbum asetat Pada Tubuh .....	14
2.3.5 Pengaruh Plumbum Terhadap Ginjal .....	16
2.4 Radikal Bebas .....	18
2.5 Kondisi Stress Oksidatif Oleh Plumbum asetat.....	18
2.6 Malondialdehyde (MDA).....	19
2.7 Ginjal.....	21
2.7.1 Fisiologi Ginjal.....	21
2.7.2 Pengaruh Plumbum Terhadap Histopatologi Ginjal....	22
2.8 Hewan Coba Tikus Putih ( <i>Rattus Norvegicus</i> ) .....	25
<b>BAB 3. KERANGKA KONSEP DAN HIPOTESIS PENELITIAN .....</b>	<b>27</b>
3.1 Kerangka Konseptual.....	27
3.2 Hipotesis Penelitian .....	30
<b>BAB 4. METODOLOGI PENELITIAN.....</b>	<b>31</b>
4.1 Tempat dan Waktu Penelitian.....	31
4.2 Alat dan Bahan.....	31
4.2.1 Alat .....	31



4.2.1 Bahan.....	32
4.3 Rancangan Penelitian.....	32
4.4 Variabel Penelitian.....	34
4.5 Prosedur Penelitian .....	34
4.5.1. Persiapan Hewan Coba.....	34
4.5.2. Ekstrak Buah Pepaya.....	35
4.5.3. Pemberian Plumbum asetat .....	35
4.5.4. Pengambilan Ginjal Tikus ( <i>Rattus norvegicus</i> ).....	36
4.5.5. Pembuatan Kurva Standar MDA.....	36
4.5.6. Pengukuran kadar MDA <i>Thiobarbituric Acid</i> (TBA).....	37
4.6 Histopatologi Ginjal.....	38
4.6.1 Pembuatan Preparat Histologi Ginjal .....	38
4.6.2 Pewarnaan <i>Hematoxylin Eosin</i> (HE).....	39
4.4.3 Pengamatan Histopatologi.....	40
4.7 Analisa Data.....	41
<b>BAB 5. HASI DAN PEMBAHASAN.....</b>	<b>42</b>
5.1 Pengaruh Pemberian Plumbum Asetat Terhadap Kadar Malondialdehida (MDA) Ginjal Tikus ( <i>Rattus norvegicus</i> ) .....	42
5.2 Pengaruh Pemberian Plumbum Asetat Terhadap Gambaran Histopatologi Ginjal Tikus ( <i>Rattus norvegicus</i> ) .....	50
<b>BAB 6. PENUTUP.....</b>	<b>59</b>
6.1. Kesimpulan .....	59
6.2. Saran .....	59
<b>DAFTAR PUSTAKA .....</b>	<b>60</b>
<b>LAMPIRAN.....</b>	<b>66</b>



## DAFTAR GAMBAR

Gambar	Halaman
2.1 Mekanisme Peroksidasi Lipid .....	17
2.2 Histologi Normal Ginjal .....	18
2.3 <i>Rattus norvegicus</i> strain Wistar.....	22
5.1 Buah Pepaya California.....	26
5.2 Histologi Ginjal tikus dengan pewarnaan <i>Hematoxylin</i> <i>Eosin</i> dengan perbesaran 400X.....	53



## DAFTAR TABEL

<b>Tabel</b>	<b>Halaman</b>
4.1. Rancangan kelompok penelitian .....	33
5.1. Kadar malondialdehid (MDA) organ ginjal tikus pada kelompok perlakuan .....	44



## DAFTAR SINGKATAN DAN LAMBANG

<u>Simbol/singkatan</u>	<u>Keterangan</u>
%	Persen
°C	Derajat celcius
ALA	<i>Aminolevulinic Acid</i>
BB	Berat badan
DNA	<i>Deoxyribose Nucleic Acid</i>
g	Gram
GPx	Glutation Peroksidase
HCL	Hidrogen klorida
kg	Kilogram
L	Liter
LD	Lethal Dose
MDA	<i>Malondialdehyde</i>
mg	Miligram
ml	Mililiter
NaCL	<i>Natrium klorida</i>
nm	Nanometer
Pb	Plumbum
PBS	<i>Phosphate Buffered Saline</i>
PFA	Paraformaldehid
PUFA	<i>Poly unstatuated Fatty Acid</i>
RAL	Rancangan Acak Lengkap
RNA	<i>Ribonucleic acid</i>
ROS	<i>Reactive Oxygen Species</i>
SH	<i>Sulfidryl</i>
SOD	<i>Supereroxyde Dismutase</i>
TBA	<i>Thiobarbituric Acid</i>
δ-ALAD	<i>Delta-Aminolevulinic Acid Dehidratase</i>

## DAFTAR LAMPIRAN

Lampiran	Halaman
1	Sertifikat Laik Etik ..... 67
2	Surat Keterangan Skrining Fitokimia..... 68
3	Skema Kerja Penelitian ..... 69
4	Persiapan Ekstrak Buah Pepaya California ( <i>Carica papaya L.</i> ) ..... 70
5	Perhitungan Dosis Buah Pepaya ..... 71
6	Pemberian Plumbum Asetat ..... 73
7	Pengambilan Organ Pada Hewan Coba ..... 74
8	Pembuatan Kurva Baku MDA ..... 75
9	Pengukuran Aktifitas Malonndialdehid (MDA) Organ Ginjal ..... 76
10	Pembuatan Preparat Histologi Organ Ginjal ..... 77
11	Pewarnaan <i>Hematoxylin Eosin</i> (HE)..... 79
12	Analisis Statistika Menggunakan SPSS ..... 80
13	Perhitungan Presentase Kadar MDA ..... 84



## BAB 1 PENDAHULUAN

### 1.1 Latar Belakang

Plumbum asetat adalah salah satu bahan pencemar utama saat ini yang banyak di lingkungan. Hal ini bisa terjadi karena salah satu sumber utama pencemaran plumbum asetat adalah dari emisi gas buang kendaraan bermotor. Plumbum asetat masuk ke dalam tubuh makhluk hidup peroral (oral), inhalasi udara dan melalui kulit. Dalam tubuh, plumbum asetat bersifat sebagai radikal bebas yang dapat merusak jaringan tubuh karena berikatan dengan eritrosit dan menghambat metabolisme enzim *sulphydryl* yang berperan dalam sintesis hemoglobin (Ardyanto, 2005).

Plumbum asetat dapat mengkontaminasi pakan ternak sapi dan menurunkan produksi karena menimbulkan residu logam dalam tubuh hewan ternak. Bahaya plumbum asetat pada makhluk hidup salah satunya dapat bersifat karsinogenik, mutasi gen, dan toksisitasnya terurai dalam jangka waktu lama. Sebanyak 80% plumbum asetat di sekresi melalui urin, 15% melalui feses, sisanya terakumulasi melalui keringat, air susu, rambut dan kuku (Napitupulu, 2008).

Tempat Pembuangan Akhir (TPA) sampah sering dimanfaatkan oleh masyarakat sebagai lokasi pemeliharaan ternak, karena sampah dapat dimanfaatkan sebagai sumber pakan ternak. Pemikiran masyarakat timbul untuk memelihara sapi di TPA sampah karena pertimbangan bahwa sampah organik yang dibuang masih mempunyai nilai gizi yang cukup tinggi sehingga dapat dimanfaatkan sebagai pakan ternak. Ternak yang dipelihara di area TPA sampah

umumnya merupakan ternak kambing, dan sapi. Dengan demikian sapi yang mengkonsumsi sampah tersebut memiliki risiko tinggi terpapar bahan toksik. Salah satu bahan toksik berpotensi menjadi faktor risiko adalah logam plumbum (Pb) (Sudji, 2006).

Logam yang telah diabsorpsi akan masuk ke dalam darah, berikatan dengan protein darah yang kemudian didistribusikan ke seluruh jaringan tubuh. Akumulasi logam yang tertinggi dalam organ detoksikasi (hati) dan ekskresi (ginjal), dalam kedua organ tersebut logam berikatan dengan berbagai jenis protein baik enzim maupun protein lain yang disebut metalothionin. Kerusakan jaringan oleh logam terdapat pada beberapa lokasi baik tempat masuknya logam maupun tempat penimbunannya. Akibat yang ditimbulkan dari toksisitas logam dapat berupa kerusakan fisik (erosi, degenerasi, nekrosis) dan dapat berupa gangguan fisiologik (gangguan fungsi enzim dan gangguan metabolisme) (Sudji, 2006).

Secara lebih spesifik bagaimana kandungan toksik logam plumbum (Pb) pada sapi yang dipelihara di Tempat Pembuangan Akhir (TPA). Berdasarkan Undang-Undang No. 18 tahun 2012 tentang keamanan pangan, menyatakan bahwa kondisi dan upaya yang diperlukan mencegah pangan dari kemungkinan cemaran biologis, kimia, dan benda lain yang dapat mengganggu, merugikan dan membahayakan kesehatan manusia, disisi lain keamanan pangan dari daging sapi yang digembalakan di lokasi TPA sampah diragukan, karena dicurigai terkontaminasi logam berat. TPA sebagai tempat pembuangan berbagai macam sampah (terutama sampah anorganik) yang kemungkinan mengandung logam

berat, sehingga apabila terkonsumsi oleh sapi akan terakumulasi di dalam tubuh (daging) sapi yang pada konsentrasi yang tinggi (melebihi ambang batas) akan membahayakan konsumen yang mengkonsumsi daging sapi tersebut (Sudiyono, 2011).

Senyawa plumbum (Pb) yang terlarut dalam darah dibawa ke seluruh sistem tubuh. Sirkulasi darah masuk ke glomerulus merupakan bagian dari ginjal. Glomerulus merupakan tempat proses pemisahan akhir dari semua bahan yang dibawa darah. Plumbum (Pb) yang terlarut dalam darah akan berpindah ke sistem urinaria (ginjal) sehingga dapat mengakibatkan terjadinya kerusakan pada ginjal. Kerusakan terjadi karena terbentuknya intranuclear inclusion bodies disertai dengan gejala aminociduria, yaitu terjadinya kelebihan asam amino dalam urine. Nefropatis (kerusakan nefron pada ginjal) dapat di deteksi dari ketidak seimbangannya fungsi renal dan sering diikuti hipertensi (Sudji, 2006).

Ginjal merupakan organ ekskresi utama substansi-substansi atau zat-zat yang masuk ke dalam tubuh hewan. Ginjal merupakan salah satu organ utama untuk membuang sisa metabolisme yang tidak diperlukan lagi oleh tubuh hewan. Ginjal menyaring sisa metabolisme dari darah dan membuangnya dalam bentuk urin. Pemberian plumbum asetat akan menginduksi terjadinya peningkatan *Reactive oxygen species* (ROS) mempengaruhi terjadinya stres oksidatif serta memicu peningkatan lipid peroksidase pada ginjal. Lipid peroksidase akan menghasilkan *Malondialdehyd* (MDA) yang merupakan salah satu indikator untuk mengukur kondisi stres oksidatif (Hamadouche *et. al.*, 2009).

Radikal bebas akibat dari paparan plumbum asetat, asap rokok, radiasi UV, dan bahan kimia dapat dinetralkan oleh antioksidan di dalam tubuh. Antioksidan adalah substansi yang dapat menetralkan dan mencegah kerusakan yang ditimbulkan oleh radikal bebas dengan cara mengubah radikal bebas reaktif sehingga radikal bebas menjadi relatif stabil. Secara alami, tubuh memiliki antioksidan endogen atau antioksidan enzimatik untuk melawan radikal bebas yang berpotensi mengganggu keseimbangan fungsi tubuh. Radikal bebas dalam tubuh yang melebihi sistem pertahanan tubuh akan menimbulkan terjadinya stres oksidatif, stres oksidatif inilah yang akan menyebabkan kerusakan jaringan (Astuti dkk., 2008).

Tingginya radikal bebas dapat menyebabkan mekanisme pertahanan antioksidan di dalam tubuh sehingga produksi antioksidan alami dari dalam tubuh tidak mampu menetralkan efek negatif radikal bebas. Oleh karena itu dibutuhkan suplemen antioksidan dari luar seperti, makanan atau minuman (Astuti dkk., 2008). Antioksidan dapat dihasilkan dari produk alam salah satunya yaitu buah-buahan. Buah-buahan memiliki berbagai antioksidan alami yang tinggi. Antioksidan alami umumnya lebih aman untuk dikonsumsi dan dapat meningkatkan kesehatan tubuh, dibandingkan dengan antioksidan sintetis (Febrianti dkk, 2016).

Buah pepaya *California (Carica papaya.L.)* merupakan salah satu tanaman yang mengandung antioksidan yang memiliki manfaat bagi kesehatan antara lain sebagai antiinflamasi, antioksidan, antihipertensi, dapat menurunkan kadar trigliserida dan dapat menurunkan kadar kolesterol dalam darah. Komponen yang

terkandung dalam buah pepaya antara lain asam askorbat (Vitamin C), betakaroten, dan flavonoid. Vitamin C yang terkandung dalam buah pepaya berfungsi sebagai antioksidan yang dapat menghambat terbentuknya radikal bebas dalam tubuh yang diakibatkan oleh logam berat (Dewi, 2012).

Bedasarkan latar belakang diatas, penelitian ini dilakukan untuk mengetahui pengaruh preventif pemberian ekstrak Buah pepaya *California* (*Carica papaya.L.*) terhadap kadar malondialdehyde (MDA) dan gambaran histopatologi ginjal tikus (*Ratus norvegicus*) yang diinduksi plumbum asetat

### 1.2 Rumusan Masalah

Bedasarkan latar belakang yang telah diuraikan, maka dapat dirumuskan beberapa permasalahan berikut :

1. Apakah pemberian ekstrak buah pepaya *California* (*Carica papaya.L.*) dapat memberikan efek preventif terhadap kadar malondialdehyde (MDA) ginjal tikus (*Rattus norvegicus*) yang diinduksi plumbum asetat?
2. Apakah pemberian ekstrak buah pepaya *California* (*Carica papaya.L.*) dapat memberikan efek preventif terhadap histopatologi ginjal tikus (*Rattus norvegicus*) yang diinduksi plumbum asetat?

### 1.3 Batasan masalah

Bedasarkan latar belakang yang telah diuraikan, maka penelitian ini dibatasi pada :

1. Hewan coba yang digunakan adalah tikus ratus (*Rattus norvegicus*) strain wistar dengan umur 8-12 minggu. Berat badan tikus antara 150-200 gr

yang diperoleh dari Laboratorium Farmakologi Fakultas Kedokteran Universitas Brawijaya Malang.

2. Buah Pepaya *California* (*Carica papaya L.*) diperoleh dari pasar lokal di kota Malang. Sedangkan pembuatan ekstrak buah pepaya california dilakukan di Politeknik Negeri Malang menggunakan metode maserasi dengan pelarut etanol 96%. Dosis yang diberikan 150mg /kgBB/hari P1, 250mg/kgBB/hari P2, dan 350mg/kgBB/hari P3 selama 21 hari, dengan menggunakan sonde lambung (Sadeque, *et al*, 2012).
3. Plumbum asetat yang digunakan adalah plumbum asetat yang diperoleh dari penyedia bahan-bahan kimia dan peralatan laboratorium. Aklimasi dilakukan dari hari 0-7 untuk semua kelompok tikus. Hari ke 8-14 kelompok perlakuan 1, 2, dan 3 diberikan ekstrasi buah pepaya *California*. Plumbum asetat dalam bentuk serbuk diberikan sebanyak 25 mg/ekor/hari (Nugroho, 2005) selama 14 hari yang dimulai dari hari ke 15-28. Hari ke 29 dilakukan pembedahan untuk semua kontrol perlakuan. Plumbum asetat diberikan secara oral dengan cara dicampurkan aquades sebanyak 0,5 mL tiap satu kali pemberian.
4. Variabel yang diamati penelitian ini adalah kadar MDA yang diukur dengan metode *Thiobarbituric Acid* (TBA) dan pengamatan histopatologi ginjal dilakukan secara kuantitatif menggunakan mikroskop *Olympus* BX51.

#### 1.4 Tujuan penelitian

Bedasarkan latar belakang yang telah di uraikan, maka tujuan dari penelitian ini adalah :

1. Untuk mengetahui pemberian ekstrak buah pepaya *California (Carica papaya.L.)* terhadap kadar malondialdehide (MDA) ginjal tikus (*Rattus norvegicus*) yang diinduksi plumbum asetat.
2. Untuk mengetahui pemberian ekstrak buah pepaya *California (Carica papaya.L.)* terhadap histopatologi ginjal tikus (*Rattus norvegicus*) yang diinduksi plumbum asetat.

#### 1.5 Manfaat penelitian

Penelitian ini bermanfaat untuk menambah ilmu pengetahuan sebagai kajian ilmiah dan membuktikan pengaruh ekstrak buah pepaya *California (Carica papaya.L.)* dapat di gunakan sebagai antioksidan alami untuk mencegah kenaikan MDA dan histopatologi ginjal tikus putih (*Rattus norvegicus*) yang diinduksi plumbum asetat.

## BAB 2 TINJAUAN PUSTAKA

### 2.1 Buah Pepaya *California* (*Carica Papaya L.*)

Menurut Warisno (2003). Taksonomi buah pepaya dapat diklasifikasikan sebagai berikut :

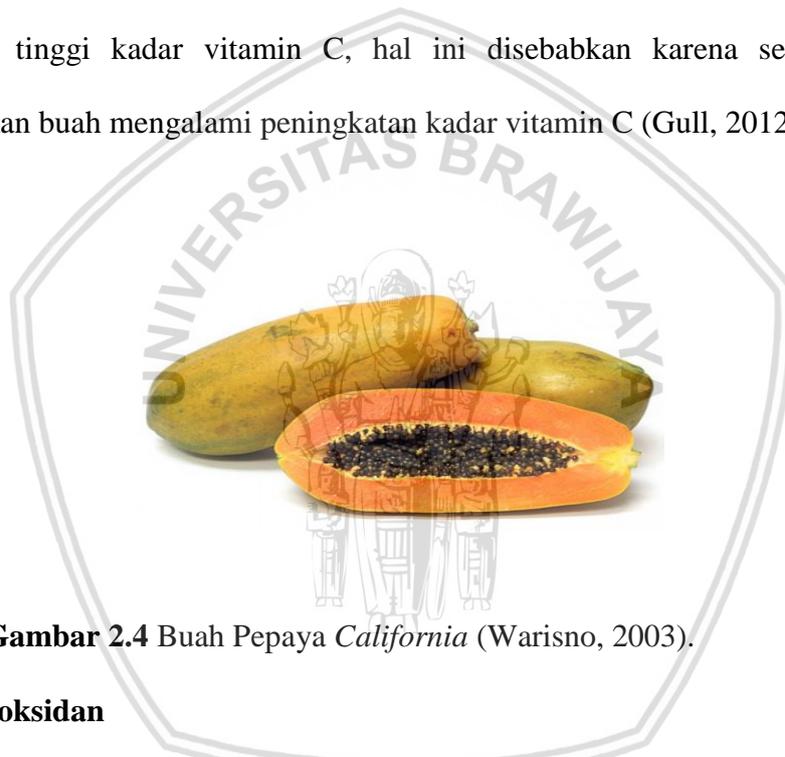
Kingdom	: Plantae
Divisi	: Spermatophyta
Sub divisi	: Angiospermae
Kelas	: Dicotyledone
Ordo	: Caricales
Famili	: Caricaceae
Genus	: <i>Carica</i>
Spesies	: <i>Carica papaya</i>

Tanaman pepaya yang banyak diteliti saat ini karena hampir seluruh bagian tanamannya dapat dimanfaatkan baik daun, biji, dan buahnya. Buah pepaya berwarna kuning sampai jingga dengan daging buah lunak dan memiliki banyak kandungan air. Senyawa aktif yang terdapat pada buah pepaya yaitu enzim papain, karotenoid, alkaloid, mineral dan vitamin (Mayawati, 2007).

Pepaya (*Carica papaya*) merupakan buah yang memiliki kandungan vitamin C (78 mg/100g) yang dijadikan sebagai antioksidan. Kandungan vitamin C dalam buah pepaya lebih tinggi dibandingkan dengan buah jeruk yang dikenal sebagai sumber vitamin C (Mayawati, 2007). Buah Pepaya (*Carica papaya*) (**Gambar 2.4**) merupakan sumber vitamin C yang baik sehingga mampu

mencegah kerusakan sel yang disebabkan oleh radikal bebas (Kumalaningsih, 2007).

Vitamin C yang terkandung di dalam buah pepaya berperan sebagai antioksidan yang dapat mencegah peroksidasi lipid dan pembentukan radikal bebas (Wahyuningrum, 2012). Tingkat kematangan dari buah pepaya dapat mempengaruhi banyaknya kadar vitamin C pada buah. Semakin masak buah maka semakin tinggi kadar vitamin C, hal ini disebabkan karena selama proses pemasakan buah mengalami peningkatan kadar vitamin C (Gull, 2012).



**Gambar 2.4** Buah Pepaya *California* (Warisno, 2003).

## 2.2 Antioksidan

Menurut (Astuti dkk, 2008), antioksidan adalah substansi yang dapat menetralkan dan mencegah kerusakan yang ditimbulkan oleh radikal bebas melalui penghambatan oksidasi dengan cara bereaksi dengan radikal bebas reaktif sehingga radikal bebas menjadi relatif stabil. Tubuh memiliki sistem pertahanan terhadap radikal bebas, yaitu antioksidan endogen intrasel yang terdiri atas enzim-enzim yang disintesis oleh tubuh seperti superoksida dismutase (SOD), katalase dan glutathion peroksidase. Radikal bebas dalam tubuh berlebihan dapat

menyebabkan penurunan aktivitas sumber antioksidan endogen. Sehingga, dibutuhkan antioksidan eksogen yaitu antioksidan yang berasal dari bahan yang dikonsumsi. Tuminah (2000), mengatakan bahwa SOD merupakan golongan enzim antioksidan yang penting dalam pendekomposisi katalitik radikal superoksida menjadi hidrogen peroksida dan oksigen. Katalase secara spesifik mengkatalisis dekomposisi hidrogen peroksida. Glutation peroksidase merupakan golongan enzim antioksidan mengandung selenium yang penting dalam mengurangi hidroperoksida seperti hasil peroksidasi lipid.

Menurut Goodman (1995) dalam Fauzi (2008), vitamin C (L- Ascorbic Acid) merupakan senyawa alami yang bersifat antioksidan kuat dan mengikat radikal bebas namun. Senyawa ini umumnya hanya dapat disintesis oleh tanaman. Vitamin C memiliki kemampuan mengikat zat-zat radikal bebas seperti superoksida dan radikal hidroksil serta dapat bereaksi secara langsung dengan hidrogen peroksida, sehingga vitamin C dapat mencegah berbagai radikal bebas bersifat toksik yang menyebabkan oksidasi. Berdasarkan beberapa penelitian yang telah dilakukan menunjukkan bahwa vitamin C dapat menurunkan tekanan darah dan kolesterol, mencegah terjadinya resiko serangan jantung, bekerja sebagai antioksidan dalam pengobatan asma dan melindungi sistem imun selain itu vitamin C juga mampu melindungi sistem reproduksi tikus putih yang terpapar gelombang ultrasonik (salah satu pemicu radikal bebas).

Vitamin C mampu menghilangkan senyawa oksigen reaktif didalam sel netrofil, monosit, protein lensa, dan retina. Vitamin ini juga dapat bereaksi dengan Fe-ferritin. Diluar sel, vitamin C mampu menghilangkan senyawa oksigen reaktif,

mencegah terjadinya LDL teroksidasi, mengabsorpsi logam dalam saluran pencernaan (Levine, *et al.*, 1995).

Vitamin C dapat langsung bereaksi dengan anion superoksida, radikal hidroksil, oksigen singlet dan lipid peroksida. Sebagai reduktor asam askorbat akan mendonorkan satu elektron. Proses donor elektron melalui suatu reaksi redoks pada asam askorbat, dimana oksidasi vitamin C (dalam bentuk asam askorbat) akan menghasilkan radikal bebas askorbil. Radikal askorbil akan dioksidasi hingga terbantu dehidro-L-askorbid. Hidrolisis asam dehidroaskorbil menghasilkan asam 2,3-diketo-L-glukonat dimana akan mengalami dekarboksilasi menjadi CO<sub>2</sub>. Dehidroaskorbat akan terdegradasi membentuk asam oksalat dan asam treonat. Oleh karena kemampuan vitamin C sebagai penghambat radikal bebas, maka peranannya sangat penting dalam menjaga integritas membran sel (Suhartono *et al.*, 2007).

Buah pepaya merupakan salah satu buah yang mengandung antioksidan salah yaitu vitamin C sebagai antioksidan yang dapat melawan stres oksidatif serta mengandung flavonoid, sebagai hepatoprotektor yang berperan sebagai antioksidan yang dapat menangkal radikal bebas. Selain vitamin C antioksidan lain yang terkandung dalam buah pepaya fenolik merupakan senyawa utama yang memiliki aktifitas antioksidan dengan cara menetralkan lipid dari radikal bebas dan mencegah dekomposisi hidroperoksida menjadi radikal bebas sedangkan flavonoid memiliki gugus hidroksil yang dapat mendonasikan elektron dan berperan sebagai penangkal radikal bebas (Rahayu dan Ami, 2016). Betakaroten mampu menetralkan radikal peroksil dan mampu menangkap oksigen reaktif

berfungsi sebagai penawar kuat untuk oksigen reaktif (suatu radikal bebas destruktif) Betakaroten juga berperan dalam fungsi tubuh seperti penglihatan, defferensiasi sel, kekebalan, pertumbuhan dan perkembangan, (Sunarjono and Ramayulis, 2012).

### 2.3 Plumbum asetat

Plumbum asetat merupakan logam berat yang terdapat secara alami di dalam kerak bumi dan tersebar dialam dalam jumlah kecil melalui proses alami maupun buatan. Plumbum asetat banyak digunakan dalam industri logam, baterai, cat, kabel dan karet. Plumbum asetat dapat masuk ke dalam tubuh melalui makanan, minuman, udara dan penetrasi melalui kulit sangat kecil. Plumbum masuk atau tertelan oleh hewan, akan beredar melalui aliran darah dan didistribusikan ke jaringan lunak dan tulang (Darmono, 2001). Menurut Palar (2012), plumbum asetat merupakan bahan kimia termasuk kelompok logam berat yang tidak dibutuhkan oleh tubuh, jika plumbum masuk ke dalam tubuh organisme hidup dalam jumlah yang berlebihan akan menimbulkan efek negatif terhadap fungsi fisiologis tubuh.

Aktivitas senyawa plumbum asetat di dalam tubuh seringkali dikaitkan dengan kondisi stress oksidatif, melalui proses pembentukan molekul *Reactive Oxygen Spesies* (ROS) (Aykin, Burns et al., 2003). *Reactive Oxygen Spesies* (ROS) merupakan produk sisa dari degeneratif yang terjadi di jaringan. Faktor-faktor yang dapat mendorong pembentukan *Reactive Oxygen Spesies* (ROS) adalah induksi bahan-bahan kimia serta pemberian obat-obatan tertentu (Devlin,

2002). Plumbum organik relatif lebih mudah diserap tubuh melalui selaput lendir atau lapisan kulit bila dibandingkan dengan senyawa plumbum anorganik.

### 2.3.1 Sifat Fisika dan Kimia Plumbum asetat

Plumbum asetat adalah logam berat, dengan nomor atom 82, berat atom 207,19 dan berat jenis 11,34. Plumbum asetat bersifat lunak dan berwarna biru keabu-abuan dengan kilau logam yang khas sesaat setelah dipotong. Kilauan akan segera hilang sejalan dengan pembentukan lapisan oksida pada permukaannya, plumbum asetat mempunyai titik leleh 327,5°C dan titik didih 1740°C (MSDS, 2005). Menurut WHO (1977) lebih dari 95% plumbum asetat merupakan senyawa organik umumnya dalam bentuk garam plumbum asetat anorganik, dan selebihnya terbentuk plumbum asetat organik. Senyawa plumbum organik ditemukan dalam bentuk senyawa *tetraethyllead* (TEL) dan *tetramethyllead* (TML). Jenis senyawa ini hampir tidak larut dalam air, namun dapat larut dalam pelarut organik, misalnya dalam lipid.

### 2.3.2 Metabolisme Plumbum asetat Dalam Tubuh

Plumbum asetat dapat masuk ke dalam tubuh melalui saluran pernafasan dan saluran pencernaan. Absorpsi plumbum asetat pada saluran pernafasan  $\pm$  40% dan pada saluran pencernaan  $\pm$  5-10%, kemudian plumbum asetat didistribusikan ke dalam aliran darah  $\pm$  95% terikat pada sel darah merah, dan sisanya terikat pada plasma. Ekskresi terutama melalui ginjal dan saluran pencernaan (Kurniawan, 2008)

Ginjal mempunyai 3 fungsi pokok yaitu: filtrasi, reabsorpsi dan sekresi. Fungsi organ ginjal ini terganggu, maka akan mengakibatkan gangguan.

Mekanisme metabolisme plumbum dalam tubuh meliputi proses distribusi, ekskresi, dan absorpsi (Napitupulu, 2008)

### 1. Distribusi

Plumbum asetat yang absorpsi diangkut oleh darah ke organ-organ lain. Plumbum yang terabsorpsi di saluran pencernaan juga didistribusikan ke dalam jaringan lain melalui darah. Plumbum asetat dapat dideteksi dalam tiga jaringan utama, yaitu dalam darah, jaringan lunak, dan jaringan keras. Pertama, di dalam darah plumbum terikat dalam sel darah merah (eritrosit) dan mempunyai waktu paruh 25-30 hari. Kedua, dalam jaringan lunak (hati dan ginjal), mempunyai waktu paruh beberapa bulan. Ketiga plumbum terdapat pada tulang dan jaringan-jaringan keras (jaringan yang mengalami klasifikasi) seperti gigi dan tulang rawan. Hampir sekitar 90-95% plumbum asetat dalam tubuh terdapat dalam tulang dengan waktu paruh mencapai 30-40 tahun.

### 2. Absorpsi

Plumbum asetat yang masuk kedalam tubuh melalui inhalasi diabsorpsi melalui paru-paru sebesar 10-30% dan sekitar 5-10% yang masuk peroral diabsorpsi melalui saluran pencernaan.

### 3. Ekskresi

Plumbum asetat diekskresikan terutama melalui saluran urinaria (70-80%) , plumbum asetat juga diekskresikan melalui feses (15%), keringat, ASI, dan terdeposit dalam rambut serta kuku.

### 2.3.3 Bahaya Akumulasi Plumbum Asetat Didalam Tubuh

Plumbum asetat merupakan logam berat yang bersifat kumulatif di dalam tubuh. Gejala keracunan akan timbul jika akumulasi plumbum asetat telah terbentuk dalam jumlah yang besar atau dalam waktu yang lama. Plumbum asetat dapat mengganggu proses pembentukan Hb sehingga mengakibatkan terjadinya anemia. Logam plumbum asetat juga memiliki kemampuan untuk berikatan dengan enzim karena dapat menggantikan gugus logam yang berfungsi sebagai ko-faktor enzim. Enzim yang paling mudah terhalang daya kerjanya adalah enzim yang memiliki gugus *sulfidryl* (-SH) sebagai pusat aktifnya. Sejumlah eksperimen pada hewan coba menunjukkan adanya pengaruh karsinogenik dan gangguan lain yang dapat timbul adalah pada fungsi jaringan dan metabolisme, mulai dari sintesis hemoglobin, ginjal, sistem syaraf, sistem reproduksi, dan fungsi paru-paru (Sudarwin, 2008).

Menurut Sitohang (2011), keracunan yang ditimbulkan oleh plumbum terjadi karena masuknya plumbum kedalam tubuh manusia dan hewan. Proses masuknya plumbum asetat ke dalam tubuh dapat melalui makanan, minuman, udara dan kulit. Senyawa plumbum asetat organik relatif lebih mudah diserap tubuh melalui selaput lendir atau lapisan kulit dibandingkan dengan senyawa plumbum asetat anorganik. Plumbum asetat yang terhirup akan masuk dalam paru-paru. Logam plumbum asetat yang masuk ke dalam paru-paru akan berdifusi dan berikatan dengan darah untuk diedarkan keseluruh jaringan dan organ tubuh. Lebih dari 90% logam plumbum asetat yang terserap oleh darah berikatan dengan sel darah merah (eritrosit). Senyawa plumbum asetat yang masuk ke dalam tubuh

melalui makanan dan minuman akan dimetabolisme oleh tubuh. Logam plumbum asetat yang masuk melalui makanan dan minuman akan ditolerir oleh lambung karena asam lambung (HCL) mempunyai kemampuan untuk menyerap logam plumbum asetat. Senyawa plumbum asetat umumnya masuk ke dalam tubuh melalui jalur pernafasan atau penetrasi melalui kulit. Penetrasi lewat kulit dapat terjadi karena senyawa ini dapat larut dalam lemak. Plumbum asetat yang terdapat pada jaringan atau organ akan terakumulasi pada tulang karena bentuk ion logam ini mampu menghentikan keberadaan ion  $\text{Ca}^{2+}$  (kalsium) yang terdapat dalam jaringan tulang (Sitohang 2011).

#### **2.3.4 Toksisitas Plumbum asetat Pada Tubuh**

Senyawa plumbum asetat yang masuk kedalam tubuh melalui makanan dan minuman akan mengalami proses metabolisme tubuh hewan ternak, plumbum masuk kedalam tubuh melalui saluran pencernaan dan pernafasan. Penyerapan plumbum di saluran pencernaan dipengaruhi oleh faktor konsumsi pakan dan besarnya partikel plumbum yang masuk kedalam tubuh (Gupta, 2012).

Plumbum asetat mempengaruhi berbagai proses biokimia dengan mengikat gugus *sulphydryl* (-SH) dan gugus nukleofilik lain di dalam eritrosit. Ikatan yang terbentuk antara plumbum dan gugus *sulphydryl* (-SH) akan menghambat pembentukan enzim dan perubahan metabolisme vitamin D. Selain itu, plumbum juga memicu kondisi stres oksidatif didalam tubuh (Gupta, 2012).

Senyawa plumbum di dalam tubuh dalam sistem peredaran darah akan mempengaruhi proses sintesis hemoglobin. Hemoglobin merupakan komponen

penting dalam eritrosit yang berfungsi sebagai mediator dalam transport oksigen, dimana hemoglobin tersusun atas *heme* dan *globin* yang berikatan membentuk molekul tetramer. Senyawa plumbum dapat mengganggu produksi hemoglobin dengan merusak jalur enzimatik pada proses sintesis *heme* (*heme synthesis*) di sumsum tulang (*bone marrow*) (Gupta, 2012).

Secara spesifik, plumbum menghambat enzim *delta-Aminolevulinic Acid Dehidratase* ( $\delta$ -ALAD) yang merupakan komponen enzim utama dalam pengaturan *heme synthesis* dan menghambat aktifitas enzim *ferrochelatase* untuk mengkatalis senyawa  $Fe^{2+}$  menjadi *protoporphyrin IX* saat proses sintesis hemoglobin. Hal ini menyebabkan anemia dan kondisi keracunan plumbum kronis (McBride, *et al.*, 2004). Menurut Ercal, *et al.*, (2001), senyawa  $Pb^{2+}$  menghambat enzim  $\delta$ -ALAD untuk mengubah *aminolevulinic acid* (ALA) menjadi *porphobilinogen*, serta menghambat pengikatan  $Fe^{2+}$  pada cincin *protoporphyn*.

Ketidakmampuan enzim  $\delta$ -ALAD untuk mengubah ALA menjadi porphobilinogen akan menyebabkan peningkatan kadar substrat ALA baik dalam darah ataupun urin. Peningkatan kadar ALA menyebabkan pembentukan hidrogen peroksida, radikal peroksida dan juga interaksi keduanya menghasilkan radikal hidrosil, suatu radikal bebas yang paling reaktif. Pembentukan radikal bebas akibat pembentukan hidrogen peroksida akan memicu suatu kondisi stres oksidatif (Gurer-Orhan dkk, 2004).

### 2.3.5 Pengaruh Plumbum asetat Terhadap Ginjal

Senyawa plumbum asetat yang terlarut dalam darah dibawa kesaluran tubuh. sirkulasi darah masuk ke glomerulus sebagai tempat proses pemisahan akhir dari semua bahan yang dibawa oleh darah. Plumbum asetat yang terlarut dalam darah akan berpindah ke sistem ginjal sehingga dapat mengakibatkan terjadinya kerusakan pada ginjal. Kerusakan terjadi karena terbentuknya *Intranuclear inclusion bodies* disertai dengan gejala aminociduria, yaitu terjadinya kelebihan asam amino dalam urin (Palar, 2012). *Intranuclear inclusion bodies* sebagai akibat dari paparan logam berat dalam tubuh. *Intranuclear inclusion bodies* atau disebut badan inklusi secara morfologi terpisah dari inti sel epitel. Badan inklusi tersusun atas lemak dan nukleoprotein dalam kadar rendah, serta kompleks protein yang sebagian besar tersusun atas gugus *sulphydryl* dalam kadar tinggi. Masuknya plumbum asetat secara berlebihan ke dalam tubuh, dapat mengakibatkan keracunan.

### 2.2 Radikal Bebas

Radikal bebas merupakan sekelompok atom maupun molekul yang memiliki satu atau lebih elektron bebas yang tidak berpasangan sehingga tidak stabil, untuk mencapai kestabilannya maka radikal bebas harus berpasangan dengan molekul yang ada disekitarnya. Peristiwa ini tidak dihentikan maka dapat menimbulkan penyakit dalam tubuh (Arief, 2006).

Sumber radikal bebas terbagi menjadi dua yaitu radikal bebas endogen dan eksogen. Radikal bebas endogen yaitu radikal yang dihasilkan dari dalam tubuh misalnya radikal dari mitokondria, xantin oksidase, NADPH oksidase, mikrosom,

membran inti sel dan peroksisom. Radikal bebas eksogen adalah radikal yang dihasilkan dari luar tubuh seperti, asap rokok, radiasi UV, dan bahan kimia (Yusuf dkk., 2010). Stres oksidatif dalam tubuh disebabkan oleh adanya radikal bebas yang dihasilkan oleh *Reactive Oxygen Species* (ROS). *Reactive Oxygen Species* (ROS) produk yang dihasilkan berupa Hidrogen peroksida, Radikal Hidroksil, Radikal superoksida, dan Nitrit Oksida. Senyawa oksigen reaktif ini memiliki satu atau lebih elektron yang tidak berpasangan, bersifat sangat reaktif dan terbentuk secara bebas didalam tubuh (Widodo, 1995).

Radikal bebas di dalam tubuh dapat distabilkan oleh antioksidan endogen seperti *Superoxide Dismutase* (SOD), namun jika sumber radikal bebas berlebihan di dalam tubuh menyebabkan ketidak seimbangan antara radikal bebas dengan antioksidan endogen sehingga menimbulkan stres oksidatif. Stres oksidatif ditimbulkan akibat elektron yang tidak berpasangan berusaha untuk mencapai keseimbangan dengan cara mengikat atom hidrogen pada makromolekul seperti protein, karbohidrat dan lemak. Makromolekul yang paling rentan mengalami oksidasi oleh radikal bebas adalah asam lemak tak jenuh pada membran sel (Heater *et al.*, 2012; Yustika, 2013).

Peroksida lipid merupakan proses yang bersifat kompleks akibat reaksi asam lemak tak jenuh ganda penyusun fosfolipid membran sel dengan *Reactive Oxygen Species* (ROS), membentuk hidroperoksida. Target utama ROS adalah protein, asam lemak tak jenuh dan lipoprotein, serta unsur DNA termasuk karbohidrat dan RNA (Winarsi, 2007). Tingginya konsentrasi asam lemak tak

jenuh dalam fosfolipid disetiap membran sel akan bereaksi dengan agen oksidasi dan akan bergabung dalam rantai panjang reaksi radikal bebas (Marnett, 2000).

Menurut Pangestuti (2011), kerusakan sel yang disebabkan oleh radikal bebas diawali dengan kerusakan membran sel dengan cara :

- a) Terjadi ikatan kovalen antara radikal bebas dengan komponen membran, sehingga terjadi perubahan struktur dan fungsi reseptor.
- b) Oksidasi gugus thiol pada komponen membran oleh radikal bebas yang menyebabkan proses transport membran terganggu.
- c) Terjadi reaksi peroksidasi lipid membran yang mengandung PUFA (*poly unsaturated fatty acid*).

Pemberian Plumbum asetat dapat menginduksi stres oksidatif, dengan terjadinya peningkatan *lipid peroxidation* dalam jaringan ginjal, dimana *lipid peroxidation* dapat ditentukan dengan mengukur malondialdehida (MDA). Malondialdehida (MDA) merupakan produk yang dihasilkan oleh radikal bebas melalui reaksi ionisasi dalam tubuh dan merupakan produk akhir *lipid peroxidation* (Winarsi, 2007).

## **2.5 Kondisi Stress Oksidatif Oleh Plumbum asetat**

Aktivitas senyawa plumbum asetat dalam tubuh seringkali dikaitkan dengan kondisi stres oksidatif, melalui pembentukan molekul *Reactive Oxygen Species* (ROS) (Aykin-burns *et al.*, 2003). Oksigen dapat menerima elektron tunggal dan membentuk molekul tak stabil yang dikenal dengan molekul *Reactive Oxygen Species* (ROS). *Reactive Oxygen Species* (ROS) adalah produk sisa dari reaksi degeneratif yang terjadi di jaringan. Beberapa contoh *Reactive Oxygen*

*Species* (ROS) antara lain radikal superoksida ( $O_2^-$ ), radikal hidroksil (HO) dan molekul oksigen tunggal ( $O^$ ). Faktor-faktor yang dapat mendorong pembentukan *Reactive Oxygen Species* (ROS) adalah infeksi mikroorganisme, radiasi kosmik, induksi bahan kimia serta pemberian obat-obatan tertentu (Delvin, 2002).

Pada organisme hidup, pembentukan *Reactive Oxygen Species* (ROS) dijaga keseimbangannya oleh mekanisme pertahanan antioksidan. Ketidakseimbangan mekanisme antioksidan, akan menyebabkan terjadinya kerusakan dalam jaringan, yang dikenal sebagai kondisi stress oksidatif (Mc Kee, 2003). Toksisitas plumbum asetat dalam pembentukan radikal bebas terdiri dari 2 cara berbeda yang berhubungan, yaitu berperan secara langsung dalam pembentukan *Reactive Oxygen Species* (ROS) seperti hidroperoksida, oksigen tunggal, dan hidrogen peroksida serta penekanan langsung terhadap cadangan antioksidan di dalam tubuh (Ercal *et al.*, 2001)

Beberapa penelitian menunjukkan perubahan enzim-enzim antioksidan seperti *Superoxide Dismutase* (SOD), katalase, Glutathion Peroksidase (GPx) dan juga molekul antioksidan seperti glutathione pada pemaparan ion plumbum asetat. Selain itu ion plumbum asetat juga dapat menimbulkan ketidakstabilan membran sel, menurunkan kadar cairan dalam membran dan meningkatkan kecepatan lisis sel (Kasperczyk *et al.*, 2012). Senyawa plumbum dianggap sebagai agen hemolitik seperti juga tembaga dan air raksa, yang menyebabkan penghancuran sel melalui pembentukan peroksida lipid dalam membran sel. Kondisi pembentukan peroksida lipid dalam sel akibat peningkatan *Reactive Oxygen Species* (ROS) dikenal sebagai peroksida lipid (Gurer and Ercal, 2000).

Reaksi lipid peroksidasi dimulai dengan keluarnya atom hidrogen dari asam lemak tidak jenuh ganda. Radikal lipid yang terbentuk kemudian bereaksi dengan oksigen membentuk radikal peroksil, sehingga terjadi reaksi rantai radikal, ketika radikal peroksil ini menarik atau mengeluarkan atom hidrogen dari molekul asam lemak yang lain (Mc Kee, 2003). Salah satu akibat penting peroksida lipid adalah pembentukan senyawa-senyawa aldehida. Rantai reaksi ini terus berlanjut bila radikal-radikal bebas yang terbentuk bereaksi dengan molekul-molekul lain disekitarnya. Hal tersebut akan memicu terjadinya degenerasi sel yaitu keadaan sel kehilangan struktur normalnya. Perubahan ini merupakan tanda awal kerusakan sel yang disebabkan adanya zat toksik dalam darah. Gangguan metabolisme tersebut mengakibatkan berkurangnya suplai oksigen dalam sel (Liseth, 2006).

Menurut Sherwood (2001), jika suplai oksigen berkurang maka akan menghambat seluruh reaksi seluler. Degenerasi sel akan mengganggu kestabilan cairan, mengurangi elastisitas sel, menyebabkan terjadinya ruptur sehingga dapat merubah gambaran histologi ginjal.

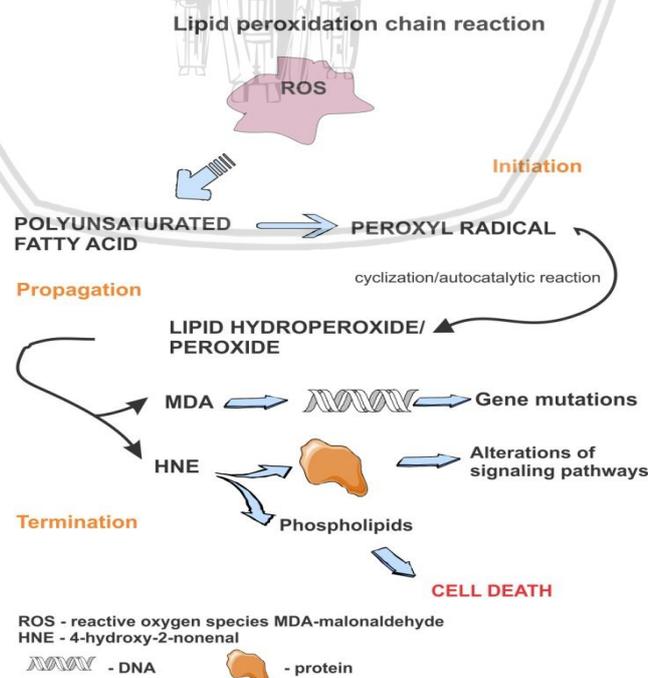
## **2.6 Malondialdehid (MDA)**

Malondialdehid merupakan suatu produk akhir peroksidasi lipid didalam membran sel, yang digunakan sebagai biomarker biologis peroksidasi lipid dan menggambarkan derajat stress oksidatif. MDA dalam material hayati terdapat dalam bentuk bebas atau membentuk ikatan kompleks dengan unsur lainnya dalam jaringan (Sutari dkk., 2013). Stress oksidatif adalah peristiwa saat radikal bebas berupa molekul reaktif, yang muncul melalui suatu reaksi biokimiawi dari

sel normal merusak membran sel dan menimbulkan gangguan fungsi tubuh (Adji, 2008).

Adanya radikal bebas berlebih dalam sel menyebabkan penurunan antioksidan, dan peningkatan peroksida lipid akibat efek pemberian plumbum asetat. Kondisi tersebut dapat menyebabkan keluarnya elektron elektron dari mitokondria menghasilkan ion  $O_2^-$  dan  $H_2O_2$ . Ion  $O_2^-$  dan  $H_2O_2$  berkonjugasi dan menghasilkan radikal hidroksil ( $OH^*$ ) yang dapat menyebabkan terjadinya kerusakan struktur protein dan peroksida lipid (Konturek *et al.*, 2003).

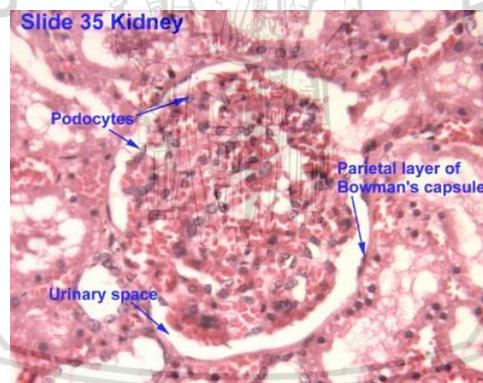
Terjadinya peroksida lipid menyebabkan terputusnya rantai asam lemak menjadi senyawa toksik dan menyebabkan ketidak stabilan membran, merusak integritas membran serta hilangnya fungsi sel. Sehingga menghasilkan produk akhir dari peroksida lipid yaitu malondialdehid (MDA) (McBride dan Kraemer, 2004).



**Gambar 2.1** Mekanisme peroksidasi lipid (Coricovac dan Dehelean, 2014).

Proses peroksidasi lipid diawali dari fase inisiasi dari ROS yang mengabstraksi hidrogen alilik pada PUFA sehingga mengubahnya menjadi lipid radikal ( $L^*$ ).  $L^*$  Selanjutnya pada fase propagasi bereaksi dengan oksigen ( $O_2$ ) membentuk lipid peroksil radikal ( $LOO^*$ ).  $LOO^*$  yang terbentuk akan memicu abstraksi hydrogen dari PUFA lainnya sehingga banyak PUFA menjadi  $L^*$  dan lipid hidroperoksida ( $LOOH$ ) (Yin *et al.*, 2011). Proses peroksida lipid berhenti apabila terdapat antioksidan yang mendonorkan atom H (Ayala *et al.*, 2014) dan produk akhir dari peroksidasi lipid adalah  $\alpha,\beta$  unsaturated reactive aldehydes, seperti MDA, 4-hydroxy-2-nonenal (HNE), acrolein, dan isoprostan (Coricovac dan Dehelean, 2014).

## 2.7 Ginjal



**Gambar 2.2** Histologi normal ginjal (Alatas *et. al.*, 2002)

Ginjal termasuk salah satu organ tubuh vital. Organ ini berperan penting dalam metabolisme tubuh seperti fungsi ekskresi, keseimbangan air dan elektrolit, serta endokrin. Fungsi ginjal secara keseluruhan didasarkan oleh fungsi nefron dan gangguan fungsi ginjal disebabkan oleh menurunnya kerja nefron. Unit fungsional ginjal disebut dengan nefron. Didalam setiap ginjal terdapat sekitar 1 juta nefron. Setiap nefron terdiri dari kapsula Bowman, tubulus kontraktus

proksimal, lengkung henle dan tubulus kontraktus distal. Jalinan Glomelurus merupakan kapiler-kapiler khusus yang berfungsi sebagai penyaring. Kapiler glomelurus di batasi oleh sel-sel endotel mempunyai sitoplasma yang sangat tipis, yang mengandung banyak lubang disebut fenestra (Alatas *et, al.*, 2002).

Setiap korpus renal berdiameter 200  $\mu\text{m}$  dan terdiri atas seberkas kapiler yaitu Glomelurus, dikelilingi oleh kapsula yang disebut kapsula Bowman. Korpuskulus renal lapisan luar membentuk lamina parietalis yang terdiri atas epitel selapis silindris, lamina basalis dan reticulin. Lapisan dalam (lamina vicalis) meliputi kapiler glomelurus yang terdiri dari sel-sel podosit. Pada kutub urinarius dari korpuskulus renal, epitel dari lapisan partikel kapsula bowman berhubungan langsung dengan epitel silindris dari tubulus kontortus proksimal. Tubulus ini lebih panjang dari tubulus kontortus distal dan memiliki lumen lebar dan dikelilingi oleh kapiler paritubuler (Dellman and Eurel. 2006) (**Gambar 2.1**).

### 2.7.1 Fisiologi Ginjal

Proses filtrasi akan memindahkan produk sisa dari darah menuju ke dalam lumen tubulus yang selanjutnya dikeluarkan bersamaan dengan urin. Air yang menembus dinding duktus kolegens akan membantu meningkatkan urin yang pada umumnya hipertonik terdapat plasma darah (Junqueira *et, al.*, 2007). Fungsi ginjal antara lain sebagai pembuangan *Non-protein Nitrogen Compound*, pengatur keseimbangan air dan elektrolit, pengatur keseimbangan asam basa, dan juga berfungsi sebagai organ endokrin (Verdiansah, 2016).

Fungsi lain dari ginjal yaitu sebagai:

1. Pembentukan urin. Ginjal membentuk urin yang mengalir melalui ureter ke dalam vicera urinaria untuk disimpan sebelum dieksresikan.
2. Filtrasi. Proses filtrasi terjadi di dinding semipermeabel glomerulus dalam kapsula Bowman.
3. Pengaturan keseimbangan asam basa. Ginjal bersama dengan paru-paru turut mengatur konsentrasi asam basa dalam tubuh dengan cara mengekskresikan asam yang dihasilkan oleh metabolisme protein.
4. Mengukur produksi eritrosit. Eritropoietin dieksresikan oleh ginjal yang merangsang pembentukan sel darah merah.
5. Sintesis glukosa. Glukosa disintesis oleh ginjal dari asam amino dan prekursor lain yang disebut dengan proses glukoneogenesis.
6. Mengukur keseimbangan pengeluaran cairan tubuh. Ginjal bersama dengan hormon antidiuretik dari hipofisis anterior bekerja mengatur keseimbangan pengeluaran urin dari dalam tubuh.
7. Keseimbangan elektrolit. Ginjal berperan dalam pengaturan konsentrasi elektrolit dalam tubuh. Mekanisme mempertahankan keseimbangan elektrolit antara lain pengaturan keseimbangan natrium dan kalium, keseimbangan kalium dan keseimbangan pH normal darah.

### **2.7.2 Pengaruh Plumbum asetat Terhadap Histopatologi Ginjal**

Menurut Dioamon (2005), toksisitas plumbum asetat pada ginjal dapat menyebabkan perubahan histologi ginjal. Tikus yang diinduksi plumbum asetat selama 8 minggu menunjukkan perubahan histologi ginjal, yaitu terbentuknya

*Intranuclear inclusion bodies*, nekrosis sel tubulus proksimal, dan fibrosis interstitial.

Pemberian Plumbum asetat pada tikus 4-8 minggu memberikan gambaran histopatologi potongan melintang antara lain: vakuolisasi sel-sel epitel dan pelebaran lumen tubulus, atrofi glomerulus *hyperplasia* epitel tubulus ginjal, pelebaran ruangan kapsula bowman, dan nekrosis sel (Sujatha *et al.*, 2011).

### **2.8 Hewan Coba Tikus Putih (*Rattus Norvegicus*)**

Tikus putih memiliki ekor bersisik dengan ukuran lebih pendek dibandingkan panjang badannya dan tubuhnya berukuran medium. rambutnya sedikit kasar dan dibagian dorsal berwarna abu-abu serta dibagian ventral berwarna putih kekuningan (**Gambar 2.3**) (Suckow *et al.*, 2006). Jenis kelamin ditentukan dengan membandingkan celah anogenital melalui pengukuran jarak antara alat genital dengan anus dan ukuran tonjolan genital. Tikus jantan dicirikan dengan ukuran celah anogenital yang lebih panjang dan tonjolan genital yang lebih besar (Fox, 2002).

Tikus putih memiliki beberapa sifat yang menguntungkan sebagai hewan uji penelitian diantaranya perkembangbiakan cepat, mempunyai ukuran yang lebih besar dari mencit, mudah dipelihara dalam jumlah yang banyak. Tikus putih juga memiliki ciri-ciri morfologis seperti albino, kepala kecil, dan ekor yang lebih panjang dibandingkan badannya, pertumbuhannya cepat, temperamennya baik, kemampuan laktasi tinggi, dan tahan terhadap arsenik tiroksid (Akbar, 2010). (**Gambar 2.3**).

Berikut adalah klasifikasi taksonomi dari tikus putih (*Rattus norvegicus*) menurut Suckow dkk., (2006) :

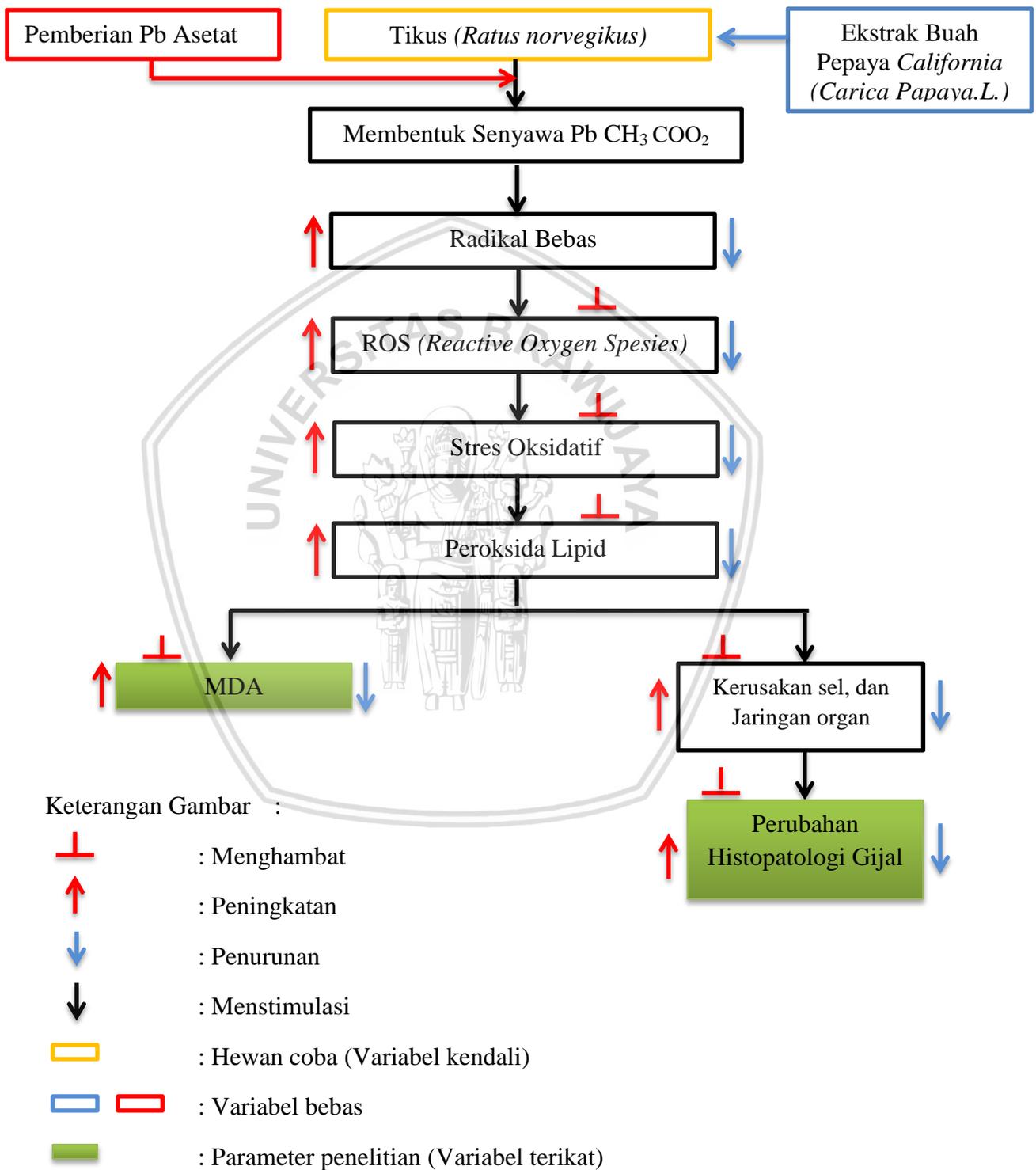
Kingdom : *Animalia*  
Phylum : *Chordata*  
Subphylum : *Vertebrata*  
Class : *Mammalia*  
Subclass : *Theria*  
Order : *Rodentia*  
Suborder : *Myomorpha*  
Family : *Muridae*  
Superfamily : *Muroidea*  
Subfamily : *Murinae*  
Genus : *Rattus*  
Species : *Rattus norvegicus*



**Gambar 2.3** *Rattus norvegicus* strain Wistar (Arnaldo, 2015).

**BAB 3 KERANGKA KONSEPTUAL DAN HIPOTESIS PENELITIAN**

**3.1 Kerangka Konseptual**



**Gambar 3.2** Kerangka konsep

Tikus putih (*Rattus norvegicus*) diberikan ekstrak buah pepaya *California* (*Carica papaya.L.*) yang memiliki kandungan antioksidan yaitu vitamin C yang diberikan secara sonde lambung. Vitamin C akan bekerja dengan cara mendonorkan satu elektron pada radikal bebas sehingga radikal bebas menjadi kurang reaktif, kondisi ini akan mencegah terjadinya stres oksidatif. Diharapkan peningkatan kadar MDA serta kerusakan organ dapat dicegah. Pemberian ekstrak buah pepaya *California* (*Carica papaya.L.*) sebagai preventif yang bertujuan untuk mencegah terjadinya kerusakan membran sel dan penurunan kadar MDA.

Plumbum asetat merupakan salah satu sumber radikal bebas eksogen. Plumbum asetat yang diberikan pada hewan model tikus putih secara sonde lambung akan masuk dalam tubuh melewati saluran pencernaan dan diabsorpsi dalam usus halus kemudian masuk ke dalam peredaran darah. Senyawa Plumbum asetat yang terlarut dalam darah dibawa ke seluruh tubuh dan mengurai menjadi  $Pb^{2+}$  dan  $CH_3COO^-$ , Ion  $Pb^{2+}$  berikatan dengan gugus *sulphydryl* pada hemoglobin eritrosit, sehingga menghambat aktifitas hemoglobin. Gugus *sulphydryl* adalah jenis gugus kimiawi yang sangat mudah terhalang daya kerjanya. Hal ini disebabkan karena gugus *sulphydryl* mudah berikatan dengan ion-ion logam berat.

Plumbum asetat masuk kedalam tubuh melewati peredaran darah kemudian diabsorpsi oleh ginjal. Senyawa Plumbum asetat yang berikatan dengan gugus *sulphydryl* (-SH) juga mempengaruhi enzim *delta- Aminolevulinic Acid Dehidratase* ( $\delta$ -ALAD) dan menghambat aktivitas enzim *ferrochelatase* untuk mengkatalis senyawa  $Fe^{2+}$  menjadi *protoporphyrin IX* saat proses sintesis

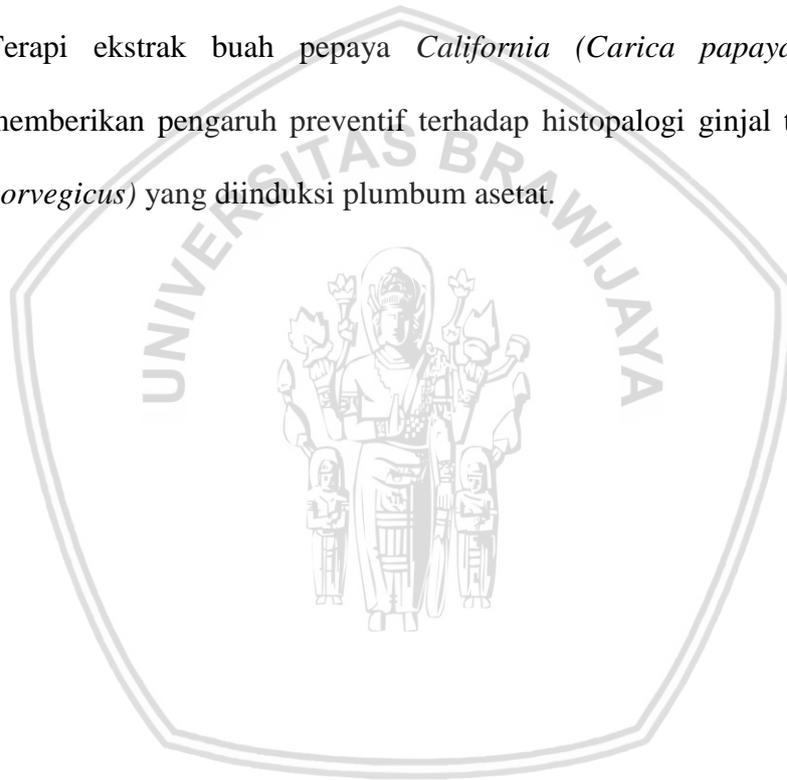
hemoglobin. Secara spesifik,  $Pb\ CH_3\ COO_2$  menghambat enzim  $\delta$ -ALAD yang mengubah *Aminolevulinic Acid* (ALA) menjadi *portoporphyrin*, serta menghambat pengikatan  $Fe^{2+}$  pada cincin *protoporphyrin*, hal ini menyebabkan peningkatan kadar ALA yang memicu pembentukan molekul *Reactive Oxygen Species* (ROS).

*Reactive Oxygen Species* (ROS) merupakan radikal bebas dalam tubuh yang akan menyebabkan kondisi stres oksidatif, yaitu proses *Reactive Oxygen Species* (ROS) yang bersifat lipofilik merusak membran sel. Peroksidasi lipid menyebabkan perubahan struktur normal sel (*Degenerasi sel*) sebagai tahap awal dari kerusakan sel karena adanya zat toksik dalam darah dan penurunan suplai oksigen dalam sel. Suplai oksigen yang berkurang menghambat seluruh reaksi sel, mengganggu kestabilan cairan, mengurangi elastisitas sel, dan menyebabkan terjadinya ruptur sehingga merubah gambaran histopatologi ginjal. Banyaknya peroksidasi lipid dapat dilihat dari kadar MDA yang tinggi. Adanya peningkatan jumlah radikal bebas akan mengaktifkan terjadinya dekomposisi asam lemak tidak jenuh menjadi lipid peroksida yang sangat tidak stabil sehingga akan menghasilkan senyawa malondialdehyde (MDA) sebagai produk akhirnya. Jumlah radikal bebas dalam tubuh berbanding lurus dengan jumlah MDA, sehingga apabila radikal bebas tinggi maka jumlah MDA juga tinggi. MDA merupakan salah satu indikator untuk menentukan kondisi stres oksidatif.

### 3.2 Hipotesis Penelitian

Berdasarkan rumusan masalah yang telah ada, maka hipotesis yang dapat diajukan sebagai berikut:

1. Terapi ekstrak buah pepaya *California (Carica papaya L.)* dapat memberikan pengaruh preventif terhadap kadar MDA ginjal tikus (*Rattus norvegicus*) yang diinduksi Plumbum asetat.
2. Terapi ekstrak buah pepaya *California (Carica papaya L.)* dapat memberikan pengaruh preventif terhadap histopalogi ginjal tikus (*Rattus norvegicus*) yang diinduksi plumbum asetat.



## BAB 4 METODE PENELITIAN

### 4.1 Tempat dan Waktu Penelitian

Penelitian dilaksanakan pada bulan juli sampai dengan bulan agustus 2017. di Laboratorium Farmakologi Fakultas Kedokteran Universitas Brawijaya Malang. Pembuatan ekstrak buah pepaya *California (Carica papaya L.)* dilakukan di Laboratorium Fitokimia Polinema. Pembuatan preparat histopatologi dilakukan di Laboratorium Patologi Anatomi Fakultas Kedokteran Universitas Brawijaya Malang. Pengukuran Kadar Malondialdehid dilakukan di Laboratorium Faal Fakultas Kedokteran Hewan Universitas Brawijaya Malang.

### 4.2 Alat dan Bahan

#### 4.2.1 Alat

Alat yang digunakan dalam penelitian ini antara lain yaitu kandang tikus berupa bak plastik dan tutup kandang dari kawat, botol minum tikus, sekam berupa parutan kayu halus, tempat pakan tikus, alat sonde, *dissecting set*, papan bedah, sarung tangan, spuit 1cc, spuit 3cc, microtube, papan bedah, timbangan digital, gelas ukur, cawan petri, spatula, *objek glass*, *cover glass*, mikroskop cahaya (Olympus BX51), aluminium foil, tabung polipropilen, *vortex*, centrifuge (*Thermoscientific Sorvall Biofuge Primo R Centrifuge*), *micropipette* ukuran 10-100  $\mu$ l, pot organ, *tissue*, kapas, kertas saring, *box* pakan, timer dan lemari pendingin.

#### 4.2.2 Bahan

Bahan yang digunakan dalam penelitian ini adalah pakan tikus standar, ekstrak vitamin C buah pepaya *California*, Pb asetat, *Phosphate Buffer Saline* (PBS), aquades, NaCl fisiologis, TCA, HCl 1 N, Na-Thio 1%, alcohol (70%, 80%, 90% dan 95%), etanol (70%, 80%, 90% dan 95%), xylol I-II, PFA 4%, paraffin blok dan pewarna *Hematoxyline eosin*.

#### 4.3 Rancangan Penelitian

Penelitian ini menggunakan Rancangan Acak Lengkap (RAL) karena media yang digunakan dalam penelitian ini dianggap sama atau seragam (Kusriningrum, 2008). Hewan coba dalam penelitian ini dibagi menjadi lima kelompok perlakuan. Kelompok 1 adalah kontrol negatif dimana tikus hanya diberi pakan dan air minum. Kelompok 2 adalah kontrol positif dimana tikus diinduksi dengan plumbum asetat 25mg/ekor/hari. Kelompok 3, 4, dan 5 merupakan kelompok terapi dimana tikus diberi terapi preventif ekstrak buah pepaya *California* dengan dosis 150mg/kgBB/hari, 250/kgBB/hari, 350mg/kgBB/hari dan kemudian diinduksi plumbum 25mg/ekor/hari bersamaan. Secara lengkap skema kerja penelitian dapat dilihat pada **Lampiran 1**.

Berikut ini merupakan perhitungan banyaknya ulangan yang dibutuhkan berdasarkan rumus  $p(n-1) \geq 15$ , dimana (p) adalah jumlah kelompok perlakuan dan (n) adalah jumlah ulangan (Kusriningrum, 2008).

$$\begin{aligned}
 p(n-1) &\geq 15 \\
 5(n-1) &\geq 15 \\
 5n-5 &\geq 15 \\
 5n &\geq 20 \\
 n &\geq 4
 \end{aligned}$$

Berdasarkan perhitungan diatas diperoleh jumlah ulangan lebih dari atau sama dengan empat kali untuk setiap kelompok perlakuan dengan jumlah kelompok perlakuan sebanyak lima kelompok sehingga dibutuhkan sebanyak 20 ekor hewan coba. Berikut ini adalah table rancangan kelompok penelitian:

**Tabel 4.1** Rancangan Kelompok Penelitian

PERLAKUAN	ULANGAN			
	1	2	3	4
Kelompok 1 (Kontrol Negatif)				
Kelompok 2 (Kontrol Positif plumbum)				
Kelompok 3 (ekstrak 150 mg/ekor/hari + Pb 25 mg/ekor/hari)				
Kelompok 4 (ekstrak 250 mg/ekor/hari + Pb 25 mg/ekor/hari)				
Kelompok 5 (ekstrak 350 mg/ekor/hari + Pb 25 mg/ekor/hari)				

#### 4.4 Variabel Penelitian

Adapun variable yang diamati dalam penelitian ini, yaitu :

- a. Variable bebas : dosis ekstrak buah pepaya dan dosis plumbum asetat (Pb)
- b. Variabel terikat : kadar malondialdehida (MDA) dan histopatologi ginjal tikus putih
- c. Variabel kontrol : tikus putih (*Rattus novergicus*) strain Wistar (jenis kelamin, umur, berat badan), pakan, suhu, kandang.

#### 4.5 Prosedur Penelitian

##### 4.5.1 Persiapan Hewan Coba

Hewan coba yang digunakan sebanyak 20 ekor dan dibagi menjadi lima kelompok perlakuan dengan masing-masing perlakuan terdiri dari empat ekor hewan coba. Hewan coba diaklimatisasi selama tujuh hari agar hewan coba beradaptasi dengan lingkungan baru. Selama masa aklimatisasi hewan coba diberi pakan standar berupa pelet yang mengandung karbohidrat 5%, protein 10%, lemak 3%, vitamin, mineral dan air sebesar 12% (AOAC, 2005). Pakan diberikan sebanyak 10% dari berat badan hewan coba (Widiartini dkk., 2013), yaitu sebanyak 40 gram/ekor/hari. Tikus diberi pakan sekali sehari, yaitu pada pagi hari serta air minum secara *ad libitum*. Hewan coba dikandangkan sesuai dengan kelompok perlakuan dengan suhu ruang pemeliharaan sekitar  $22\pm 3^{\circ}\text{C}$  dan kelembaban relatif 30-70%. Selama masa ini

hewan coba yang digunakan harus sehat sehingga kondisi fisik hewan coba meliputi berat badan ada atau tidaknya kerontokan rambut, kejernihan mata, ada atau tidaknya lendir pada hidung, ada atau tidaknya diare, dan aktivitas motoriknya harus selalu diamati (Yulia dkk., 2015).

#### 4.5.2 Ekstrak Buah Pepaya

Sampel berupa buah pepaya *California (Carica papaya L.)* dicuci bersih, dikupas dan dipisahkan dari bijinya. Daging buah yang sudah bersih kemudian dipotong kecil-kecil dan diblender untuk mendapatkan sediaan seperti pasta. Sampel berupa sediaan pasta dituangkan ke dalam toples kaca dan ditambahkan etanol 96% sebanyak 500 ml. kemudian campuran diaduk hingga homogen dan didiamkan selamakan selama 24 jam pada suhu kamar. Setelah itu disaring menggunakan *ratory evaporator* pada 70°C hingga pelarutnya hilang. Dan setelah didapatkan ekstrak kental kemudian dilakukan *freeze dry* untuk menghilangkan sisa air yang terdapat di dalam ekstrak sehingga didapatkan ekstrak kering. Dosis ekstrak buah pepaya yang diberikan pada penelitian ini adalah 150mg/kgBB/hari (preventif 1), 250mg/kgBB/hari (preventif 2), 350mg/kgBB/hari (preventif 3).

#### 4.5.3 Pemberian Plumbum asetat

Plumbum yang diberikan adalah plumbum asetat dalam bentuk serbuk berwarna putih yang dilarutkan dalam 0,5 ml aquades dan diberikan secara per oral dengan menggunakan sonde lambung. Plumbum diberikan sebanyak 25 mg/ekor/hari pada kelompok 2 (kontrol positif), preventif 1, preventif 2, dan preventif 3 selama 14

hari yang diberikan pada hari ke-15 sampai ke-28. Berdasarkan penelitian sebelumnya pemberian plumbum asetat dengan dosis 25 mg/ekor/hari selama 14 hari dapat menyebabkan peningkatan kadar MDA dan perubahan histopatologi ginjal (Suprijono dkk., 2011). Pemberian plumbum dan perhitungan dosis secara lengkap dapat dilihat pada **lampiran 4**.

#### **4.5.4 Pengambilan Ginjal Tikus (*Rattus norvegicus*)**

Pengambilan ginjal tikus pada hari ke-29. Pertama, tikus dieutanasi, dengan cara dislokasi leher, kemudian diposisikan rebah dorsal dan diletakkan pada papan bedah. Lalu dibedah, organ dikeluarkan satu persatu termasuk ginjal, kemudian dicuci dengan menggunakan *Natrium klorida* (NaCl) 0,9% untuk menghilangkan darah yang masih tersisa. Kemudian ginjal difiksasi untuk mencegah kerusakan pada jaringan, menghentikan proses metabolisme, mengawetkan komponen histologi dengan dimasukkan dalam larutan *paraformaldehyde* (PFA) 4%.

#### **4.5.5 Pembuatan Kurva Standar MDA**

Kurva standar dibuat dengan konsentrasi mulai dari 0, 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7 dan 8 µg/ML. Masing-masing diambil sebanyak 100 µL, dimasukkan dalam tabung *microtube*. Setiap tabung *microtube* ditambahkan aquades sebanyak 550 µl sehingga standar sebanyak 650 µl. Kemudian ditambahkan 200 µl TCA 10%, 500 µL HCL 1 N dan 200 µL Na-Thio 1%. Larutan dalam tabung dihomogenkan dalam vortex hingga terbentuk senyawa kompleks berwarna merah. Kemudian disentrifugasi dengan kecepatan 500 rpm selama 10 menit.

Diinkubasi dalam penangas air dengan suhu 100°C selama 30 menit kemudian dibiarkan pada suhu ruangan. Selanjutnya MDA diukur absorbansinya dengan spektrofotometer pada range panjang gelombang 500-600 nm untuk menentukan panjang gelombang maksimum MDA. Kemudian diperoleh absorbansi pada variasi konsentrasi (, 2, 3, 4, 5, 6, 7 dan 8 µg/ML) dan dibuat kurva standar MDA pada panjang gelombang maksimumnya (Shofia, 2012).

#### 4.5.6 Pengukuran Kadar MDA Uji *Thiobarbituric Acid* (TBA)

Sampel yang digunakan dalam pengukuran kadar MDA adalah organ ginjal sebanyak 0,5 gram dipotong kecil-kecil lalu digerus dengan menggunakan mortir dingin. Kemudian ditambahkan 1 ml NaCl 0,9%. Homogenat yang terbentuk dipindahkan ke dalam tabung *microtube* dan disentrifugasi selama 20 menit pada kecepatan 800 rpm, setelah itu diambil supernatannya sebanyak 100 µL. Supernatan ginjal ditambah 550 µL aquades dan dihomogenkan dengan vortex. Selanjutnya ditambahkan 250 µL HCl IN dan dihomogenkan dengan vortex. Ditambahkan 100 µL Na-Thio 1% dan dihomogenkan dengan vortex. Kemudian disentrifugasi dengan kecepatan 500 rpm selama 15 menit. Supernatan yang terbentuk dipisahkan dan dipindahkan pada *microtube* baru. Selanjutnya larutan diinkubasi dalam waterbath pada suhu 100°C selama 30 menit. Kemudian dibiarkan pada suhu ruang. Sampel diukur absorbansinya dengan menggunakan spektrofotometer dengan panjang gelombang maksimum (533 nm). Kemudian absorbansi yang terbaca diplotkan pada kurva standar yang telah dibuat untuk menghitung konsentrasi sampel. Pengukuran kadar MDA secara lengkap dapat dilihat pada **Lampiran 5**.

## 4.6 Histopatologi Ginjal

### 4.6.1 Pembuatan Preparat Histologi Ginjal

Organ ginjal yang sudah difiksasi dalam *paraformaldehyde* (PFA) 4% kemudian disiapkan untuk pembuatan preparat histopatologi. Prosedur yang dilakukan antara lain sebagai berikut.

1. Dehidrasi, yaitu proses pengeluaran air dari jaringan agar jaringan dapat diiris tipis dan diisi parafin. Ginjal dimasukan dalam larutan alkohol secara bertingkat (konsentrasi alkohol mulai dari 70%, 80%, 90%, 85%, sampai 100%) masing-masing selama 2 jam.
2. *Clearing*, berfungsi untuk membuat ginjal jernih dan transparan. Ginjal dimasukkan dalam *xylol* I selama 1 jam, *xylol* II selama 30 menit, dan *xylol* III selama 30 menit.
3. *Embedding*, adalah pemasukkan jaringan ginjal kedalam cairan parafin. Dimasukkan jaringan ginjal ke dalam parafin parafin dan ditempatkan dalam inkubator bersuhu 58-60°C.
4. *Sectioning*, yaitu proses pemotongan jaringan ginjal dengan *mikrotome*. Jaringan ginjal dalam blok parafin dipotong dengan ketebalan 4-6  $\mu\text{m}$ . Agar tembus cahaya saat dilakukan pemeriksaan dengan mikroskop. Kemudian ginjal di rendam dalam water bath suhu 40°C untuk menghilangkan kerusakan halus pada preparat. Preparat dikeringkan pada suhu kamar (26-27°C).
5. *Mounting*, adalah proses penempelan jaringan objek glass. Jaringan ginjal ditempelkan pada objek glass dan dikeringkan diatas plate suhu 38-40°C

sampai kering, kemudian di simpan pada inkubator suhu 37°C selama 24 jam. Tahap selanjutnya adalah tahap pewarnaan menggunakan hematoxilin eosin (Wati, dkk., 2013). Pembuatan preparat histopatologi ginjal secara lengkap dapat dilihat pada **Lampiran 6**.

#### 4.6.2 Pewarnaan Hematoxylin Eosin (HE)

Pewarnaan preparat dengan hematoxylin Eosin (HE) untuk mewarnai jaringan. Zat warna hematoxilin untuk memberi warna biru pada inti sel dan Eosin untuk memberi warna merah muda pada sitoplasma sel. Berikut tahap pearnaan yang dilakukan:

- a. *Deparafinisasi*, yaitu untuk menghilangkan dan melarutkan parafin yang terdapat pada jaringan. Preparat dimasukkan dalam parafin I dan II masing-masing selama 5 menit.
- b. *Rehidrasi*, yaitu untuk memasukkan air kedalam jaringan. Air akan mengisi rongga-rongga jaringan yang kosong. Preparat dimasukkan dalam alkohol 100%, 90%, 80%, masing-masing selama 5 menit kemudian dicuci dengan air mengalir selama 1 menit.
- c. Pewarnaan I, untuk memberi warna biru pada inti dan sitoplasma jaringan. Preparat dimasukkan dalam hematoxylin selama 5 menit, kemudian dicuci dengan air mengalir selama 1 menit.
- d. *Defferensiasi*, untuk mengurangi warna biru yang pekat pada inti sel dan menghilangkan warna biru pada sitoplasma. Preparat dimasukkan dalam

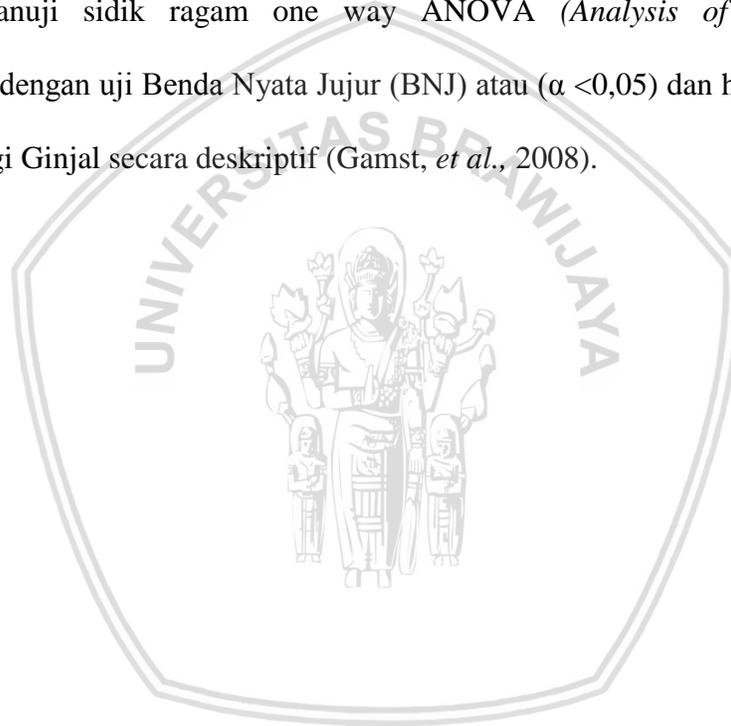
- hydrolic acid (HCl) 0,6% selama 1 menit. Kemudian dicuci dengan air mengalir selama 1 menit.
- e. *Blueing*, untuk memperjelas warna biru pada inti sel. Preparat di masukan dalam lithium carbonat 0,5% selama 3 menit. Kemudian dicuci dengan air mengalir selama 1 menit.
  - f. Pewarnaan II, untuk memberi warna merah muda pada sitoplasma. Preparat dimasukan dalam eosin selama 3 menit.
  - g. *Dehidrasi*, untuk menghilangkan air dari jaringan, preparat dimasukkan dalam alkohol 80%, 90%, 100% masing-masing 5 menit.
  - h. *Clearing*, untuk membuat jaringan menjadi jernih dan transparan. Preparat dimasukkan dalam xylol I dan II selama 1 menit. Ditunggu sampai kering.
  - i. *Mounthng*, untuk mengawetkan jaringan yang telah diwarnai. Preparat diberi entellan/canada balsam dan ditutup dengan cover glass (Jusuf, 2009).
- Prosedur pewarnaan Hematoxylin Eosin (HE) secara lengkap dijelaskan pada **Lampiran 7.**

#### 4.6.3 Pengamatan Histopatologi

Pengamatan histopatologi ginjal dilakukan secara kualitatif dengan menggunakan mikroskop cahaya olympus BX51 dengan perbesaran 400x. Pengambilan gambar histopatologi ginjal menggunakan kamera digital. Pengamatan histopatologi ginjal dianalisa secara kuantitatif deskriptif.

#### 4.7 Analisis Data

Data penelitian ini berupa data kualitatif berupa gambaran histopatologi ginjal yang dianalisis deskriptif dan perubahan kadar MDA diamati secara kuantitatif menggunakan uji TBA. Selanjutnya, data kadar MDA dianalisa dengan *Statistical Package For The Social Science (SPSS) 16.0 for windows* dengan menggunakan menggunakan uji sidik ragam one way ANOVA (*Analysis of variance*) dan dilanjutkan dengan uji Benda Nyata Jujur (BNJ) atau ( $\alpha < 0,05$ ) dan hasil pengamatan histopatologi Ginjal secara deskriptif (Gamst, *et al.*, 2008).



## BAB 5 HASIL DAN PEMBAHASAN

### 5.1 Pengaruh Pemberian Plumbum Asetat Terhadap Kadar *Malondialdehida* (MDA) Ginjal Tikus (*Rattus norvegicus*)

Hasil penelitian menunjukkan pemberian ekstrak buah papaya *California* (*Carica Papaya L.*) yang diinduksi plumbum asetat dapat mempengaruhi kadar MDA. Penurunan kadar MDA berhubungan dengan proses peroksidasi lipid yang terjadi pada tubuh. Peroksidasi lipid yang terjadi dalam tubuh terjadi akibat aktifitas ROS berikatan dengan PUFA di membran sel yang menunjukkan adanya kerusakan sel (Coricovac dan Dehelen 2014). Semakin tinggi kadar ROS maka terjadi peningkatan peroksida lipid sehingga kadar MDA semakin tinggi. *Malondialdehida* (MDA) merupakan produk akhir dari peroksidasi lipid yang terbentuk akibat degenerasi radikal bebas terhadap lemak tak jenuh (Karin, 2011). Pemberian preventif ekstrak buah papaya *California* mampu mempertahankan antioksidan endogen yang disertai dengan penurunan peroksida lipid (Anita, 2014). Sehingga terjadi penurunan kadar MDA. Penurunan kadar MDA dapat digunakan sebagai salah satu tanda adanya perbaikan kerusakan organ.

Pengukuran kadar MDA dengan spektrofotometri pada kelompok tikus perlakuan dianalisis statistika dengan uji ANOVA (*One Way Analysis of Variant*) menggunakan *software* SPSS 16.0 menunjukkan hasil yang berbeda signifikan ( $p < 0,05$ ) seperti (**Tabel 5.1**). menyatakan bahwa terdapat perbedaan rata-rata antar perlakuan secara signifikan. Kelompok kontrol positif memiliki nilai rata-rata lebih

tinggi dibandingkan perlakuan kelompok kontrol negatif dan kelompok P1, P2, P3. Sedangkan, kelompok kontrol negatif memiliki nilai rata-rata yang relatif sama dengan kelompok P3. Hasil tersebut menunjukkan bahwa induksi plumbum asetat mampu meningkatkan kadar MDA dan pemberian ekstrak buah pepaya *California* dapat menurunkan kadar MDA pada tikus model. Hal ini membuktikan bahwa terapi ekstrak buah pepaya *California* dapat menurunkan kadar MDA pada tikus (*Rattus norvegicus*) yang diinduksi plumbum asetat dengan hasil uji Beda Nyata Jujur (BNJ) menunjukkan notasi yang berbeda antar kelompok (**Lampiran 10**).

**Tabel 5.1** Kadar Malondialdehid (MDA) Organ Ginjal Tikus Pada Kelompok Perlakuan

Kelompok Perlakuan	Rata-rata MDA $\pm$ SD ( $\mu\text{g/ml}$ )	Peningkatan Kadar MDA (%)	Penurunan Kadar MDA (%)
Kontrol negatif (-)	359.25 $\pm$ 40.67 <sup>a</sup>	-	-
Kontrol positif (+)	557.37 $\pm$ 37.82 <sup>c</sup>	55,14	-
P1 150 mg	451.75 $\pm$ 23.72 <sup>b</sup>	-	18,95
P2 250 mg	411.12 $\pm$ 15.51 <sup>ab</sup>	-	26,23
P3 350 mg	366.12 $\pm$ 13.96 <sup>a</sup>	-	34,31

Keterangan : Notasi (a,b,c) yang menunjukkan adanya hasil yang berbeda signifikan ( $p < 0,05$ ) antara kelompok perlakuan.

Kelompok kontrol negatif (tikus normal) memiliki perbedaan nilai rata-rata dengan kelompok positif. Kelompok kontrol positif memiliki rata-rata kadar MDA lebih tinggi dibandingkan kelompok kontrol negatif (**Tabel 5.1**). Hal tersebut disebabkan karena kelompok kontrol negatif hanya diberikan pakan standar sedangkan kelompok kontrol positif diinduksi plumbum asetat. Kadar MDA dalam

keadaan normal dibentuk melalui proses metabolisme sel yang dapat memproduksi ROS, namun jumlah ROS masih dalam ambang batas yang seimbang dengan antioksidan endogen (Kumalawangsih, 2006).

Kadar MDA pada kelompok tikus kontrol negatif merupakan kadar MDA ginjal tikus dalam keadaan normal. Adanya kadar MDA tersebut menunjukkan bahwa radikal bebas juga terdapat pada tikus kontrol. Menurut Bratawidjaja (2010), radikal bebas seperti hidrogen peroksida ( $H_2O_2$ ) dihasilkan oleh makrofag untuk membunuh mikroorganisme didalam tubuh. Radikal bebas yang dihasilkan tersebut diperlukan oleh tubuh sebagai salah satu pertahanan tubuh melawan infeksi. Menurut Praptiwi (2006) senyawa oksidan relatif juga dihasilkan dalam proses metabolisme oksidatif dalam tubuh, seperti oksidasi makanan menjadi energi.

Presentasi kadar MDA pada kelompok kontrol positif mengalami peningkatan yang disebabkan oleh plumbum asetat yang masuk melalui saluran pencernaan, plumbum asetat akan dicerna dan diabsorpsi dalam usus halus. Kemudian masuk dalam peredaran darah, berikatan dengan eritrosit sehingga mengganggu enzim oksidasi dan menghambat metabolisme sel. Plumbum asetat berikatan dengan enzim *sulphydryl* dan menghambat sintesis hemoglobin dalam sumsum tulang dengan cara menghambat *Aminolaevulinic Acid Dehidratase* (ALAD) menjadi *Prophobilinogen* serta *Protopophyrin IX* untuk sistesis hemoglobin (Palar, 2004). Kondisi keracunan plumbum kronis dapat menyebabkan anemia (McBride, *et al.*, 2004). Gugus *sulphydryl* banyak ditemukan pada hemoglobin

eritosit tikus putih dibandingkan dengan hemoglobin mamalia lain (Rosanna, *et al.*, 2012)

Senyawa plumbum asetat menghambat enzim  $\delta$ -ALAD untuk mengubah *aminolevulinic acid* (ALA) menjadi *porphobilinogen*, serta menghambat pengikatan  $Fe^{2+}$  pada cincin *protoporphyn*. Ketidak mampuan enzim  $\delta$ -ALAD untuk mengubah ALA menjadi *porphobilinogen* akan menyebabkan peningkatan kadar substrat ALA baik dalam darah ataupun urin. Peningkatan kadar ALA menyebabkan pembentukan hidrogen peroksida, radikal peroksida dan juga interaksi keduanya menghasilkan radikal hidrosil, suatu radikal bebas yang paling reaktif. Pembentukan radikal bebas akibat pembentukan hidrogen peroksida akan memicu suatu kondisi stres oksidatif (Gurer-Orhan dkk, 2004).

Kondisi stres oksidatif, melalui pembentukan *Reactive Oxygen Species* (ROS) dan meningkatnya kadar *Low Density Lipoprotein* (LDL) didalam darah. Meningkatnya jumlah *Reactive oxygen species* akan menyebabkan keluarnya sel busa dipembuluh darah. Keluarnya sel busa memicu proses inflamasi oleh makrofag dipembuluh darah. *Low Density Lipoprotein* (LDL) teroksidasi dapat menyebabkan tersumbatnya pembuluh darah sehingga oksigen yang dibutuhkan oleh sel berkurang, kondisi ini akan berpengaruh terhadap kerusakan jaringan pada glomelurus, sehingga dapat meningkatkan respirasi dari mitokondria yang dapat memicu tingginya *Reactive oxygen species* (ROS) pada ginjal. Produksi ROS yang tinggi menyebabkan antioksidan endogen tidak dapat berfungsi secara maksimal sehingga terjadi kondisi

stress oksidatif. Stress oksidatif dapat memicu terjadinya peroksidasi lipid yang terdapat pada membran sel. Peroksidasi lipid akan memutus ikatan *Polyunsaturated fatty acid* (PUFA) dan membentuk senyawa MDA. Peningkatan sintesis dan metabolisme protein dalam tubuh akan menghasilkan produk akhir berupa peningkatan MDA dalam darah. MDA merupakan produk oksidasi asam lemak tidak jenuh hasil akhir dari peroksidasi lipid yang dapat digunakan sebagai penanda adanya radikal bebas dalam tubuh (Janero, 2011).

Jumlah radikal bebas yang berlebih mengakibatkan peningkatan proses peroksida lipid sehingga produksi MDA meningkat. Malondialdehid terbentuk melalui proses peroksida lipid yang diawali dengan penghilangan atom *hydrogen* (H) dari molekul *Poly unsaturated fatty acid* oleh gugus radikal hidroksil (OH), hal ini menyebabkan lipid bersifat radikal. Radikal lipid ini kemudian bereaksi dengan atom oksigen (O<sub>2</sub>) membentuk radikal peroksil (OO), selanjutnya menghasilkan MDA (Yustika, 2013).

Radikal bebas di dalam tubuh dapat distabilkan oleh antioksidan endogen seperti *Superoxide Dismutase* (SOD), namun jika jumlah radikal bebas berlebih di dalam tubuh menyebabkan ketidakseimbangan antara antioksidan radikal bebas dengan antioksidan endogen sehingga menimbulkan stress oksidatif. Stress oksidatif ditimbulkan akibat elektron yang tidak berpasangan berusaha untuk mencapai keseimbangan dengan cara mengikat atom hidrogen pada makromolekul seperti protein, karbohidrat dan lemak. Makromolekul yang paling rentan mengalami

oksidasi oleh radikal bebas adalah asam lemak tidak jenuh pada membran sel (Yustika, 2013).

Kadar *Malondialdehida* tikus kelompok preventif 1 yaitu tikus yang diinduksi plumbum asetat diberikan ekstrak buah pepaya *California* dengan dosis 150mg/kgBB menunjukkan adanya penurunan kadar MDA sebesar 18,95% selanjutnya tikus kelompok preventif 2 yaitu tikus yang diinduksi plumbum asetat diberikan ekstrak buah pepaya *California* dengan dosis 250 mg/kgBB menunjukkan penurunan kadar MDA sebesar 26,23% dan tikus kelompok preventif 3 yaitu tikus yang diinduksi plumbum asetat diberikan ekstrak buah pepaya *California* dengan dosis lebih tinggi 350mg/kgBB menunjukkan adanya penurunan sebanyak 34,31%.

Preventif 1 mempunyai kadar MDA lebih rendah dibandingkan dengan kondisi kontrol positif tetapi belum mendekati kondisi yang normal, hal ini disebabkan oleh dosis masih belum efektif untuk menangkal radikal bebas secara total. Untuk preventif 2 dan 3 menunjukkan kadar MDA yang tidak berbeda dengan kontrol negatif. Hasil analisis statistik *One Way Anova* menunjukkan bahwa pemberian ekstrak buah pepaya *California* variasi dosis 150 mg/kg BB, 250 mg/kgBB dan dosis 350 mg/kg BB memberikan pengaruh yang signifikan terhadap penurunan kadar MDA tikus yang diinduksi plumbum asetat.

Vitamin C dapat langsung bereaksi dengan anion superoksida, radikal hidroksil, oksigen singlet dan lipid peroksida. Sebagai reduktor, asam askorbat akan mendonorkan satu elektron. Proses donor elektron melalui suatu reaksi redoks pada

asam askorbat, dimana oksidasi vitamin C (dalam bentuk asam askorbat) akan menghasilkan radikal bebas askorbil. Radikal askorbil akan dioksidasi hingga terbentuk dehidro-L-askorbid. Hidrolisis asam dehidroaskorbil menghasilkan asam 2,3-diketo-L-glukonat dimana akan mengalami dekarboksilasi menjadi CO<sub>2</sub>. Dehidroaskorbat akan terdegradasi membentuk asam oksalat dan asam treonat. Oleh karena kemampuan vitamin C sebagai penghambat radikal bebas, maka peranannya sangat penting dalam menjaga integritas membran sel (Suhartono *et al.*, 2007).

Ekstrak buah pepaya *California* mengandung senyawa antioksidan yang mampu mencegah pembentukan radikal bebas, yang ditunjukkan dengan adanya penurunan kadar malondialdehid. Antioksidan berfungsi sebagai penangkap radikal bebas dan menghambat proses peroksidasi lipid sehingga dapat menurunkan radikal bebas akibat pemberian plumbum asetat (Sudarwin. 2008). Aktivitas antioksidan berfungsi sebagai *scavenger* radikal bebas sehingga mampu menurunkan kadar radikal bebas (Aulanni'am, 2011).

Penurunan kadar MDA pada tabel (**Gambar 5.1**) ditunjukkan bahwa pemberian preventif ekstrak buah pepaya *California* dosis 350 mg/kgBB merupakan dosis efektif dalam menurunkan kadar MDA dan organ ginjal yang menunjukkan perbedaan secara signifikan ( $p < 0,05$ ) dengan tikus kontrol negat.

## 5.2 Pengaruh Pemberian Plumbum Asetat terhadap Histopatologi Ginjal Tikus (*Rattus norvegicus*)

Gambaran histopatologi ginjal merupakan salah satu parameter yang menunjukkan pengaruh pemberian plumbum asetat yang diberi preventif ekstrak buah pepaya *California (Carica papaya. L)* pada tikus model. Pewarnaan *hematoxylin eosin* (HE) merupakan pewarnaan rutin yang dapat digunakan dalam mengamati struktur histologi ginjal tikus secara umum. Menurut Fuscher *et al.* (2008), pewarnaan HE berguna dalam mengenali adanya perubahan morfologi dari struktur dasar sel atau jaringan, sehingga dapat didiagnosa suatu penyakit. Berdasarkan penelitian ini pewarnaan HE menunjukkan adanya perbedaan histopatologi ginjal pada masing-masing perlakuan (**Gambar 5.2**)

Gambaran histopatologi pada kontrol negatif (normal) dapat diamati kapsula bowman yang masih utuh dengan epitel squamus simpleks dan inti berada ditengah sel, bowman space terlihat jelas, sel podosit pada glomelurus tampak normal, kompak, dan memiliki inti sel ditengah. Keberadaan sel mesengial yang tidak menyebar ke seluruh bagian glomelurus dengan sitoplasma berwarna merah cerah dengan inti bulat ditengah. Sel mesengial merupakan sel penyusun glomelurus yang berfungsi sebagai penyokong struktur kapiler glomelurus, mengatur kontraksi dalam respon perubahan tekanan darah guna menjaga laju filtrasi, memfagositosis agregat protein yang menempel pada glomelurus, sekresi faktor pertahanan dan perbaikan glomelurus (Mescher, 2013). Sel epitel tubulus berbentuk kuboid simpleks tersusun

rapat dan teratur dengan inti ditengah dan lumen tubulus yang terlihat jelas. Menurut Vujicic et al. (2012), gambaran histologi glomelurus tikus normal yaitu keberadaan sel mesangial yang sedikit bahkan tidak dapat dikenali. Korpus renalis dan tubulus memiliki struktur yang lengkap dengan epitel dan sel penyusun lain tampak jelas dan utuh (**Gambar 5.2A**).

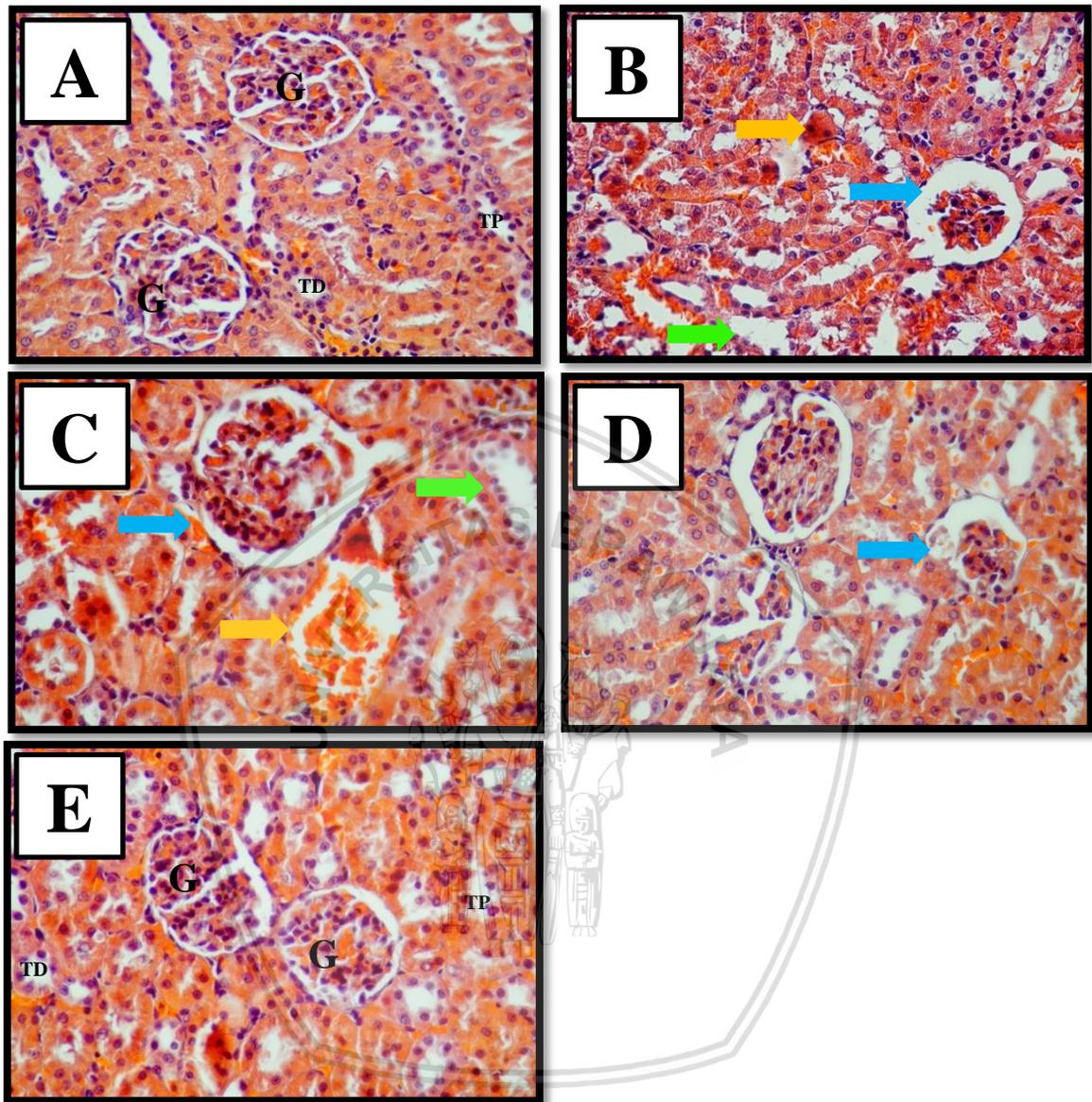
Gambaran histopatologi ginjal kontrol positif terlihat adanya kerusakan sel glomelurus (**Gambar 5.2B**). Kerusakan pada glomelurus ditandai dengan Atrofi glomelurus yang tidak utuh dengan batas yang tidak beraturan. Tubulus distal dan tubulus proksimal mengalami erosi epitel tubulus. Serta kongesti interstitialis atau intertubulari terjadi pada tubulus ginjal. Kerusakan ginjal ini disebabkan oleh peningkatan ROS akibat induksi plumbum asetat. Peningkatan ROS pada kondisi keracunan plumbum asetat dapat memicu terjadinya ikatan ROS dengan PUFA pada fosfolipid bilayer dan terjadi peroksida lipid sehingga merusak struktur membran sel, peroksidasi lipid inilah yang dapat menyebabkan kerusakan struktur sel pada organ ginjal termasuk glomelurus. (Kamble *et al.*, 2015).

Kerusakan pada glomelurus ditandai dengan atrofi. Atrofi, yaitu menurunnya ukuran jaringan disebabkan oleh berkurangnya jumlah sel atau berkurangnya ukuran sel (Spector 1993). Menurut Cotran, Kumar, dan Robbins (1989), atrofi ditandai dengan mengecilnya glomerulus dalam ruang bowman sehingga ruang diantara glomerulus dan kapsula bowman semakin melebar. Pengecilan ukuran dari sel glomelurus disebabkan karena kekurangan suplai darah dan kurangnya nutrisi. Atrofi

glomelurus memungkinkan terjadinya penurunan fungsi glomelurus. Menurut Atlas *et al.*, (2002) dimana jalinan glomelurus merupakan kapiler-kapiler khusus yang berfungsi sebagai penyaring darah. Atrofi dapat juga diinduksi oleh hipersensitifitas makanan atau agen toksik (Dijk *et al.*, 2007). Kerusakan glomerulus (atrofi glomerulus) menyebabkan terganggunya proses filtrasi, yaitu berkurangnya kemampuan untuk menyaring darah. Jika kemampuan menyaring darah berkurang, maka sel darah dan protein dapat keluar bersama urin atau malah tertimbun pada tubulus karena dapat lolos pada proses filtrasi. Hal tersebut dapat berdampak pada fungsi tubulus ginjal.

Menurunnya fungsi glomerulus pada proses filtrasi akan berdampak pada kerusakan tubulus ginjal. Kerusakan pada tubulus ginjal ini dapat ditandai dengan erosi pada sel epitel sehingga lumen tubulus tidak tampak jelas. Kerusakan tubulus menyebabkan terganggunya proses reabsorpsi dan sekresi. Jika proses reabsorpsi terganggu, maka zat yang masih dibutuhkan oleh tubuh tidak dapat diserap kembali oleh tubuh, sehingga zat tersebut dapat keluar melalui urin (Hasnisa dkk, 2014).

Kongesti merupakan peningkatan sel darah pada jaringan dan bagian tubuh yang mengalami proses patologi (Pratama, 2013). Zat toksik yang masuk kedalam tubuh akan mengganggu sistem sirkulasi sehingga oksigen dan zat makanan tidak dapat diproses didalam tubuh (Price dan Lorraine, 2006). Gambaran mikroskopik kongesti ditandai dengan pembuluh darah mengalami fasodilatasi, pembuluh darah terlihat dipenuhi dengan darah akan terlihat fibrosis pada dinding pembuluh darah.



**Gambar 5.2** Histologi Ginjal tikus dengan pewarnaan *Hematoxylin Eosin* dengan perbesaran 400x

**Keterangan :**

- (1) Kelompok negatif tanpa diberikan perlakuan.
- (2) Kelompok positif diinduksi plumbum asetat 25mg/ekor/hari.
- (3) Preventif 1 yaitu diberikan ekstrak buah pepaya dosis 150mg/kg BB dan diinduksi plumbum asetat 25mg/ekor/hari.
- (4) Preventif 2 yaitu diberikan ekstrak buah pepaya dosis 250mg/kg BB dan diinduksi plumbum asetat 25mg/ekor/hari.
- (5) Preventif 2 yaitu diberikan ekstrak buah pepaya dosis 350mg/kg BB dan diinduksi plumbum asetat 25mg/ekor/hari.

- ➔ Atrofi glomerulus
- ➔ Kongesti interstitialis atau intertubularis.
- ➔ Erosi epitel tubulus.

Secara makros ginjal tidak mengalami perubahan dimana ginjal masih dalam kondisi normal. Gambaran histologi normal ginjal terdiri atas 1 juta nefron. Setiap nefron terdiri atas korpuskulus normal, tubulus proksimal dan tubulus distal. Setiap korpuskulus renal terdiri atas seberkas kapiler glomelurus, dikelilingi oleh kapsula epitel ber dinding ganda yang disebut kapsula Bowman. Lapisan luar membentuk batas luar korpus renal disebut lamina parietalis yang terdiri atas epitel pipih selapis yang ditunjukkan lamina basalis sedangkan lapisan dalam (lamina visceralis) meliputi kapiler glomelurus yang terdiri dari sel-sel podosit. Pada kutub urinaris dari korpuskulus renal, epitel pipih dari lapisan parietal kapsula Bowman berhubungan langsung dengan epitel kuboid dari tubulus proksimal. Tubulus ini lebih panjang dari tubulus distal dan memiliki lumen serta dikelilingi oleh kapiler peritubuler atau *brush border*. Tubulus distal, yaitu bagian terakhir nefron dilapisi epitel selapis kuboid, memiliki lumen yang lebih besar karena sel-sel tubulus distal lebih pipih dan lebih kecil dari tubulus proksimal maka tampak lebih banyak sel dan inti pada dindingnya serta tidak memiliki *brush border* (Confer, 2003).

Plumbum asetat merupakan radikal bebas yang apabila masuk ke dalam tubuh akan menjadi sumber *Reactive Oxygen Species* (ROS) dan bersifat sebagai kompetitor antioksidan enzimatis dalam tubuh. *Reactive Oxygen Species* (ROS) merupakan radikal bebas yang berada dalam tubuh yang terdiri atas satu atau lebih elektron yang tidak berpasangan sehingga tidak stabil dan reaktif. Untuk menstabilkan kondisi maka ROS akan mengoksidasi organ yang dikenal dengan

keadaan stres oksidatif yang memicu terjadinya peroksidasi lipid, yaitu suatu proses dimana radikal bebas yang bersifat lipofilik merusak membran sel yang terdiri atas *Poly Unsaturated Fatty Acid* (PUFA). Hal tersebut menyebabkan jumlah peningkatan radikal bebas superperoksida ( $O_2^-$ ) dalam tubuh. Jumlah radikal superoksida ( $O_2^-$ ) yang berlebihan tapi tidak dimanfaatkan, akan diubah menjadi superoksida (ROO) dan hidrogen peroksida ( $H_2 O_2$ ) dengan adanya katalase maka hydrogen peroksida ( $H_2 O_2$ ) diubah menjadi  $H_2 O + O_2$  karena induksi plumbum asetat akan mengurangi Fe dalam hemoglobin sehingga  $H_2 O_2$  diubah menjadi radikal hidroksil ( $OH$ ) yang dapat merusak sel. Kerusakan membran sel memicu terjadinya oksidasi asam amino yang mengakibatkan peningkatan permeabilitas membran, dengan hilangnya potensial membran maka reaksi seluler tidak berjalan sebagaimana mestinya dan menyebabkan degenerasi sel yang memicu kematian sel (Allen, 2000).

Pemberian preventif 1 ekstrak buah papaya *California* (*Carica papaya. L*) mampu memperbaiki kerusakan ginjal ditunjukkan pada preventif pemberian plumbum asetat yang diinduksi ekstrak buah papaya *California* dengan dosis 150 mg/kgBB, menunjukkan perbaikan Atrofi glomerulus yang tidak utuh dengan batas yang tidak beraturan, perbaikan erosi epitel tubulus distal dan tubulus proksimal. Serta kongesti interstitialis atau intertubulari mulai berkurang, dibandingkan dengan kontrol positif (**Gambar 5.2 C**). Pada kelompok preventif 2 pemberian plumbum asetat yang diinduksi ekstrak buah papaya *California* dengan dosis 250 mg/kgBB menunjukkan atrofi glomerulus dan erosi epitel tubulus mulai berkurang serta

kongesti interstitialis atau intertubulari mulai mulai tidak tampak (**Gambar 5.2 D**). Kelompok perlakuan yang diberi preventif 3 ekstrak buah papaya *California* dengan dosis 350 mg/kgBB, terlihat mengalami perbaikan yang lebih baik dibandingkan kelompok sebelumnya, hal ini di tunjukkan dengan tidak adanya Atrofi glomelurus, perbaikan erosi epitel tubulus distal dan tubulus proksimal. Serta kongesti interstitialis atau intertubulari mulai hilang (**Gambar 5.1 E**). Perbaikan pada membran filtrasi serta struktur glomelurus karena adanya pengaruh dari antioksidan dan antiinflamasi dalam ekstrak buah papaya. Pertahanan struktur ginjal tersebut diakibatkan kandungan pada ekstrak buah papaya *California* mampu memberikan satu atom hydrogen ( $H^+$ ) kepada radikal bebas menjadi lebih stabil dan menghambat terjadinya stress oksidatif serta menghambat terjadinya peroksidasi lipid sehingga dapat mencegah kerusakan struktur ginjal akibat radikal bebas plumbum asetat, serta berfungsi sebagai antioksidan yang dapat menurunkan adanya radikal bebas mengurangi reaksi inflamasi sehingga mencegah kerusakan sel yang lebih parah (Gonzalez *et al.*, 2006).

## BAB 6 PENUTUP

### 6.1 Kesimpulan

Berdasarkan hasil penelitian yang dilakukan dalam penelitian ini adalah sebagai berikut :

1. Pemberian ekstrak buah pepaya *California (Carica papaya. L)* dapat memberikan pengaruh preventif kadar malondialdehida (MDA) pada ginjal tikus jantan (*Rattus norvegicus*) yang diinduksi plumbum asetat (Pb). Dosis 350 mg/kgBB yang mampu menurunkan kadar malondialdehida (MDA) sebesar 34,31%.
2. Pemberian ekstrak buah pepaya *California (Carica papaya. L)* pada tikus putih (*Rattus norvegicus*) yang diinduksi plumbum asetat dapat memberikan pengaruh preventif pada kerusakan histopatologi ginjal. Hal tersebut dideskripsikan dari perbaikan kelompok sebelumnya. Dosis 350 mg/kgBB menunjukkan berkurangnya pelebaran glomerulus, serta kongesti dan nekrosis piknosis yang mulai tidak nampak.

### 6.2 Saran

Perlu dilakukan penelitian lebih lanjut terhadap senyawa vitamin c ekstrak buah pepaya (*Carica papaya. L*) yang memiliki kemampuan sebagai antioksidan yang paling berperan sebagai menangkal radikal bebas.

## DAFTAR PUSTAKA

- Adji, D. 2008. Hubungan Kosentrasi Malondialdehid, Glukosa Dan Total Kolestrol pada Tikus Putih Yang Diinjeksi Streptozotocin. *J. Sain Vet.* 26 (2): 73-77.
- Akbar, B. 2010. Tumbuhan dengan kandungan senyawa aktif yang berpotensi sebagai bahan antiinferlitas. Edisi 1. Adabia press. Jakarta ISBN: 978-602-19751-7-6.
- Alatas, H., Tambunan, T., Trihono, P.P., Pardede, S.O.2002, Buku Ajar Nefrologi Anak. Edisi 2. Ikatan Dokter Indonesi. Jakarta.
- Allen, R.G.,and M. Tressini. 2000. Oksidative stress and gene regulation radical *Biol Med* 28.2000:463.99.
- Anita, D.C. 2014. Kadar glukosa darah dan malondialdehid ginjal tikus diabetes yang diberi latihan fisik. *Muhamadiyah Journal Of Nursing.* 109-116.
- Ardyanto denny.2005. *Deteksi pencemaran timah hitam (Pb) dalam darah masyarakat yang terpajan timbal (Plumbum).* Bagian Kesehatan & Keselamatan Kerja (K3) FKM Universitas Airlangga. Surabaya
- Arief, S. 2003. *Radikal Bebas.* Bagian/SMF Ilmu Kesehatan Anak FK UNAIR/RSU Dr. Soetomo Surabaya.
- Arnaldo. 2015. *Wistar Rat.* Diretoria Tecnica de Apoio ao Ensino e Pesquisa. Sao Paolo.
- Astuti, S., D. Mmuchtadi, M. Astawan, B. Purwantara dan T. Wresdiyati. 2008. *Kadar Peroksidasi Lipid dan Aktivitas Superoksida Dismutase (SOD) Testis Tikus yang Diberi Tepung Kedelai Kaya Isoflavon, Seng (Zn) dan Vitamin E.* Majalah Kedokteran Bandung 40(2) (In Press).
- Aulanni'am, A. Rosdiana dan N. L. Rahman. 2011. Potensi Fraksi Etanol Dan Etil Asetat Rumput Laut Coklat (*Sarggasum Duplicatum Bory*) Terhadap Penurunan Kadar Malondialdehid dan Perbaikan Gambaran Histologi Jejunum Usus Halus Tikus IBD (*Inflammatory Bowel Disease*). *Jurnal Ilmiah Kedokteran Hewan* 4(1). 57-64
- Ayala, A., M. F. Munoz da S. Arguelles. 2014. Lipid Peroxidation: Production, Metabolism, and Signaling Mechanisms of Malondialdehyde and 4-Hydroxy-2-Nonenal. *Oxidative Medicine and Cellular Longevity* vol. 2014. Article ID 360438.
- Aykin-Burns, N,M Laegeler, A., Kellogg, G., Ercal, N. 2003. Oxidative Effects Of Lead In Young and Adult Fisher 344. *Arch. Environ. Contan. Toxicol.*44:417-420
- Bratawidjaja. K.G dan I, Rengganis. 2010. *Imunologi dasar.* Fakultas kedokteran, Universitas Indonesia, Jakarta.
- Confer, A., and R.J Panaiara. 2003. The Urinary system. In McGavin, MD.



- Coricovac, D.E dan C.A Dehelean. 2014. Pathological Aspects with Global Impact Induced by Toxicant at Cellular Level. Andrezza and Gustavo Scola. DOI: 10.5772/59945.
- Darmono. 2001. *Lingkungan Hidup dan pencemaran: Hubungannya dengan Toksisitas Senyawa Logam*. Universitas Indonesia. Jakarta. Hlm 112, 140.
- Dellman, H.D., dan J.A. Eurel. 2006. *Textbook of Veterinary Histology*. Edisi ke-6 Black Well Publishing. United States of American.
- Delvin, M.T. 2002. Bioenergetic and Oxidative Metabolism in: *Biochemistry With Clinical Corellation*. 5<sup>th</sup> ed. *Wiley-Liss*, Canada. 590-592.
- Dewi, C.K. 2012. *Pengaruh Pemberian Susu Kambing Terhadap Gambaran Mikroskopis Testis dan Kadar Timbal (Pb) Dalam Darah Tikus Wistar yang Terpapar Asap Kendaraan Bermotor*. Fakultas Kedokteran. Universitas Diponegoro.
- Diamond, G.L 2005. Risk Assessment of Neprototoxic Metals. In: Tarloff, Last L, eds. *The Toxicology of the kidney*. London: CRT press 1099-1132.
- Dijk, J.E.Van, E. Gruys and J.M.V.M. Mouwen. 2007. *Color atlas of Veterinary Pathology*. Secon edition. Saundres Elsevier. Spain.
- Ercal, N., GURER, h., Aykin-Bums, N. 2001. Toxic Metals and Oxidative Stress. Part I. Mecnism Involved in Metal Induced Oxidative Damage. *Curr Top Med Chem*, 1:529-539.
- Fauzi, T.M. 2008. *Pengaruh Pemberian Timbal Asetat dan Vitamin C Terhadap Kadar Malondialdehyde dan Kualitas Spermatozoa Di Dalam Sekresi Epididimis Mencit Albino (Mus musculus L) Strain Balb/C [Tesis]*. Universitas Sumatera Utara. Medan.
- Febrianti, N., M.I. Rohmana, I. Yuniyanto, R. Dhaniaputra. 2016. *Perbandingan Aktivitas Antioksidan Buah Pepaya (Carica papaya L.) dan Buah Jambu Biji Merah (Psidium guajava L.)*. Program Studi Pendidikan Biologi. Universitas Muhammadiyah Malang.
- Fischer, A.H., K.A. Jacobson, J. Rose, dan R. Zeller. 2008. Hemoatoxylin and Eosin staining of tissue and cell sections. *Cold spring hard protoc*. DOI:10.1101.
- Fox JG. 2002. *Laboratory Animal Medicine 2nd*. New York: Academi pr.
- Gonzalez, P.A., A. Planaguma, K. Gronert, R. Miquel, M.L. Parra. 2006. Docosahexaenoic acid (DHA) blunts liver injury by conversion to protective lipid mediators: rotection D1 and 17S-hydroxy-DHA. *The FESEB journal*. 20:E1844-55.
- Goodman and Gilman's. 1996. *The Pharmacological Basis of Therapeutics*. *McGraw-Hall Co.p*.1459-85.

- Gull, J. 2012. *Variation in Antioxidant Attributes at Three Ripening Stages of Guava (Psidium guajava L.) Fruit from Different Geographical Regions of Pakistan*. *Molecules*. ISSN 1420-3049.
- Gupta, R.C. 2012. *Veterinary Toxicology Basic and Clinical Principles*, 2<sup>nd</sup> ed. Elsevier. United States of American.
- Gurer, H., Ercal, N. 2000. Can Antioxidants Beneficial in the Treatment Of Lead Poisoning and Oxidative stress Parametrs In Control and Lead Exposed Wokers .*Toxicology*. 195:147-154.
- Gurner-Orhan, H., Sabir, H.U., Ozgunez, H. 2004. Correlation Between Clinical indicators of lead poisoning and oxidative stress parametrs in control and Lead exposed wokers toxicology. 195:147-154.
- Hamadouche, N.A. Slimani M, Boudia B, C Zaoui. 2009. *Reproductive Toxicity of Lead Acetat in Adult Male Rats*. *American Journal of Scientific Resarch*. 3:38-50.
- Hasnisa', Unggul P. Juswono, Arinto Yudi P. Wardoyo, 2014, Pengaruh Paparan Asap Kendaraan Bermotor terhadap Gambaran Histologi Organ Ginjal Mencit (Mus Musculus) Jurusan Fisika FMIPA Univ. Brawijaya. Malang.
- Heater, J.B., H.K. Anthony and H.J. Gould. 2012. *Cytokinergic Ig E Action in Mast Cell Activation*. *Front Immunol* 2012;3:229.
- Herlitz, L.C., G.S. Markowitz, A.B. Farris, J.A. Schwimmer, M.B. Stoke, C. Kunis, R.B. Colvin, and V.D. D'Agati. 2010. Development of Focal Segmental Glomerulosclerosis After Anabolic Steroid Abuse. *Journal of the amrican society of Nephrology*. 21:163-172.
- Junqueira, L.E., carneiro, J., dan Kelley, R.O. 2007. *Basic Histology*, 11<sup>th</sup> ed. *Mc Graw-Hill*. Bostom. Pp. 383.
- Kamble, P.M., S.C. Choudhari, dan A.S. Yadav. 2015. Study of lipid profile, oxidative stress, and antioxidant status in Type 2 Diabetes Millitus. *WIMJOURNAL*. Vol. 2(1).
- Karin, D. 2011. Pengaruh Paparan Asap Rokok Elektrik Terhadap Motilitas Jumlah Sel Sperma dan Kadar MDA Testis Mencit Jantan (Mus Musculus L). [Tesis]. Institut Teknologi Bandung. Bandung.
- Kasperczyk A., sembel, D.T., dan Rumengan, I.F.M. 2012. Kadar Logam Berat (Pb, Cd, Hg dan As) Pada sumber dan air minuman isis ulang (AMIU) di kota manado.
- Konturek PC, J. Kania, JW. Konturek, A. Nikiforuk, SJ. Konturek and EG. Hahn. 2003. H. Pylori Infection, Atrophi Gastritis, Cytokines, Gastrin, COX-2, PGE2 and Impaired Apoptosis in Gastric Carcinogenesis. *Med Sci Monit*. 9:SR53-60. *Chem* 276: 7614-7620.
- Kumalaningsih, S. 2007. *Antioksidan Alami*. Trubus Agrisarana. Surabaya.

- Kurniawan, W. 2008. Hubungan kadar (Pb) dalam darah dengan darah pada mekanik kendaraan bermotor di kota pontianak. *Universitas Diponegoro*. Semarang.
- Levine, M., K.R. Dhariwal. 1995. *Determination of Optimal Vitamin C Requirements in Humans*. dalam: *The Wa Merican Journal of Clinical Nutrition*. 62(Suppl) 1347S-1356S.
- Lisenth. 2006. *Pathophysiology*. Penerbit buku kedokteran EGC. Jakarta.
- Marnet, L.J.200. Oxyradical and DNA Damage. *Carcinogenesis*. Vol.21: 361-370. Mayawati E, Pratiwi L. 2007.
- Mayori, R., N. M arusin, dan D.H. Tjong. 2013. Pengaruh pemberian Rhodamin B Terhadap struktur histologi ginjal mencit putih (*Mus musculus L.*) jurnal biologi Universitas andalas. 2 (1):433-49.
- Mc Kee, T., Mc Kee, J.R. 2003. Aerobic metabolism II: Electron transport and oxidative phosphorylation In: *Biochemistry the molecular basis of life 3<sup>rd</sup> ed.* McGraw-Hill, HY 10020.319-326.
- McBride, J.M. and W.J. Kraemer. Free Radical, Exercise, and Antioxidants. *Jurnal of strength and Conditioning Research*, 13(2):175-183.
- Mescher, A.L. 2013. Junqueira's Basic Histology Text and Atlas 13<sup>th</sup> Edition. Mc. Graw Hill Education. ISBN:978-0-07-180720-3.
- MSDS (Material Safety Data Sheet). 2005. Lead : *Health, Safety And Environmental Departement*. Canada Metal.
- Napitupulum, R.R.J. 2008. Pengaruh pemberian calsium secara oral terhadap kadar plumbum dalam darah mencit (*Mus musculus L.*). *Universitas Sumatra Utara*. Medan
- Palar, H. 2012. Pencemaran dan Logam Berat. *Rineka Cipta*. Jakarta
- Pangestuti, Dewi. 2011. *Pengaruh Pemberian Ekstrak Jahe (Zingiber Officinale Rosc.) Terhadap Kadar Malondialdehid (Mda) Testis dan Gambaran Histopatologi Tubulus Seminiferus Testis Mencit Yang Diberi Plumbum Asetat [Tesis]*. Universitas Sumatera Utara. Medan.
- pepaya (*Carica Papaya*) dalam Formulasi Krim Terhadap DPPH. Fakultas Kedokteran Universitas Tanjung Pura.
- Praptiwi, P., dan D.M. Harapini. 2006. Nilai peroksida dan anti radikal bebas dyphenyl pycry Hydrazil hidrate DPPH ekstrak methanol knema laurena. *Majalah farmasi Indonesia*, (17) 1:32-36.
- Pratama, B.P. 2013. Kongesti dan Oedema. [Online], Available:“<http://bennyputra.blogspot.com/2013/05/kongestidanoedema.html>”[21 Mei 2014].
- Price, A.S. ad W.M. Lorraine. 2006. *Patofologi*. Vol 2. EGC. Jakarta.

- Rahayu, S., Ami Tiitraesmi, 2016, Review Artikel Tanaman Pepaya (*Carica pepaya*) dan manfaatnya Dalam Pengobatan. *Universitas Padjajaran*. Bandung.
- Rosanna, D. P., and C. Salvatore. 2012. Reactive Oxygen Species, Inflammation, and Lung Disease. *Current Pharmaceutical Design*. 18(26) : 3889-3900.
- Sadeque, MZ., ZA Begum, BU Umar, AH Ferdous, S Sultan, MK Uddin. 2012. Comperitive Efficacy of Dried Fruits of carica papaya Lin, and Vitamin –E ON preventing Hepatoccity and rats. *Faridpur Med. Coll. J.* 7 (1): 29-32.
- Sherwood, L. *Human Physiologyfrom Cells To System*, Edisi ke-5. California: Thompson Brooks Cole. 2004. Hal 758-63.
- Sitohang, H.T. 2011. *Pengaruh Pemberian Madu Terhadap Gambaran Histologi Testis Mencit (Mus musculus) yang Diberi Plumbum Asetat* [Skripsi]. Universitas Sumatera Utara. Medan.
- Suckow MA, HW. Steven, and LF. Craig. 2006. *The Laboratory Rad*. London: Academic Press.
- Sudarwin. 2008. *Analisis Spasial Pencemaran Logam Berat (Pb dan Cd) Pada Sedimen Aliran Sungai dari Tempat Pembuangan Akhir (TPA) Sampah Jatibarang Semarang*. Universitas Diponegoro Semarang..
- Sudiyono. 2011. Upaya Eliminasi Residu Logam Berat pada Sapi Potong yang berasal dari Lokasi Tempat Pembuangan Akhir Sampah dengan Pemeliharaan secara Konvensional. *Sains Peternakan*. Vol.9(1),1-7. ISSN 1693-8828
- Suhartono, E., H. Fachir dan B. Setiawan. 2007. *Kapita Sketsa Biokimia Stres Oksidatif Dasar dan Penyakit*. Universitas Lambung Mangkurat, Banjarmasin. Pustaka Benua.
- Sujatha, K., Srilatha, C.H., Anjaneyulu, Y., Amaravathi, P. 2011. Lead Acetat Induced Neprotoxicity in Wistar Albino Rats. *A Pathological, Immunohistochemical, and Ultrastructural stuies, International Journal OF Pharma and Bio Sciences*. Vol 2 iss 2.
- Sunarjono, H. Ramayulis, R., 2012. Timun suri dan blewah. Penebar Swadaya.
- Sutari, V.T., Sugito, A. dan Asmarida. 2013. Kadar Malondialdehid (MDA) pada Jaringan Htorati Ikan Nila (*Oreochromis niloticus*) yang Diberi Cekaman Panas dan Pakan Suplementasi Tepung Daun Jaloh. *Jurnal Medika Veterinaria*. Vol. 7 No. 1.
- Sutji wardhayani. 2006. *Analisa resiko pencemaran bahan toksik rimbal (Pb) pada sapi potong ditempat pembungan akhir (TPA) sampah jatibarang semarang*. Program studi kesehatan lingkungan. Universitas Diponegoro. Semarang.
- Tuminah, S. 2000. *Radikal Bebas dan Antioksidan : Kaitannya dengan Nutrisi dan Penyakit*. *Cermin Dunia Kedokteran* 128: 49-50.

- Verdiansah. 2016. Pemeriksaan fungsi Ginjal. CKD-237.Vol.43 No.2
- Vujicic, B. T. Turk, Z.C. Orlic, B.Dordevic, and S. Racki. 2012. Diabetic Nephroathy. Intech. 73.
- Wahyuningrum, M.R. 2012. *Pengaruh Pemberian Buah Pepaya (Carica papaya L.) Terhadap Kadar Trigliserida pada Tikus Sprague Dawley dengan Hiperkolesterolemia [Skripsi]*. Program Studi Ilmu Gizi Fakultas Kedokteran. Universitas Diponegoro.
- Warisno. 2003. *Budi Daya Pepaya*. Kaninus. Yogyakarta
- WHO. 1977. Lead : *Environmental Health, Criteria No. 3*. Published Under The Joint Sponsorship Of The United Nation Environment Programme And The World Health Organization. Geneva.
- Widodo, M.A. 1995. *Efek Pemicu Radikal Bebas dan Vitamin E Pada Diabetes Bagian Ilmu Penyakit Dalam Fakultas Kedokteran Komplikasi Darah Tikus Diabetes. Laporan Penelitian Hibah Bersaing Tahun 1992-1995*. Fakultas Kedokteran Universitas Brawijaya. Malang.
- Winarsi, H. 2007. *Antioksidan Alami dan Radikal Bebas*. Kaninus. Yogyakarta.
- Yin, H., L. Xu, and N. A. Porter. 2011. Free radical lipid peroxidation: Mechanisms and analysis. *Chemical Reviews* 111 (10):5944-5972.
- Yustika, R.A., Aulanni'am, dan Sasangka. P, 2013. Kadar Malondialdehid (MDA) dan Gambaran Histologi pada Gijal Tikus (*Rattus norvegicus*) pasca Induksi Cylosporine-A. Jurusan Kimia, *Fakultas Matematika dan Ilmu alam, Universitas Brawijaya*. Malang.
- Yusuf A M, JP Widodo, dan MS Doddy. 2010. *Hubungan Radikal Bebas dan Antioksidan dengan Kerusakan Ginjal pada Obstruksi Akut*. Fakultas Kedokteran. Universitas Diponegoro.