

**PENGARUH PREVENTIF MADU HUTAN SUMBAWA
TERHADAP KADAR *BLOOD UREA NITROGEN* (BUN)
DAN GAMBARAN HISTOPATOLOGI GINJAL
TIKUS PUTIH (*Rattus norvegicus*) YANG
DIINDUKSI PLUMBUM ASETAT**

SKRIPSI

Oleh :
PUTRI STEFY GRAF
135130101111004



**PROGRAM STUDI PENDIDIKAN KEDOKTERAN HEWAN
FAKULTAS KEDOKTERAN HEWAN
UNIVERSITAS BRAWIJAYA
MALANG
2018**

**PENGARUH PREVENTIF MADU HUTAN SUMBAWA
TERHADAP KADAR *BLOOD UREA NITROGEN* (BUN)
DAN GAMBARAN HISTOPATOLOGI GINJAL
TIKUS PUTIH (*Rattus norvegicus*) YANG
DIINDUKSI PLUMBUM ASETAT**

SKRIPSI

Sebagai salah satu syarat untuk memperoleh gelar
Sarjana Kedokteran Hewan

Oleh :
PUTRI STEFY GRAF
135130101111004



PROGRAM STUDI PENDIDIKAN KEDOKTERAN HEWAN

FAKULTAS KEDOKTERAN HEWAN

UNIVERSITAS BRAWIJAYA

MALANG

2018



LEMBAR PENGESAHAN SKRIPSI

**PENGARUH PREVENTIF MADU HUTAN SUMBAWA
TERHADAP KADAR *BLOOD UREA NITROGEN* (BUN)
DAN GAMBARAN HISTOPATOLOGI GINJAL
TIKUS PUTIH (*Rattus norvegicus*) YANG
DIINDUKSI PLUMBUM ASETAT**

Oleh :
PUTRI STEFY GRAF
135130101111004

Setelah dipertahankan di depan Majelis Penguji
pada tanggal 8 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. Fajar Shodiq P, M.Biotech
NIP. 19870501201504 1 001

Mengetahui,
Dekan Fakultas Kedokteran Hewan
Universitas Brawijaya

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



LEMBAR PERNYATAAN

Saya yang bertandatangan di bawah ini:

Nama : Putri Stefy Graf

NIM : 135130101111004

Program Studi : Pendidikan Dokter Hewan

Penulis Skripsi Berjudul:

Pengaruh Preventif Madu Hutan Sumbawa Terhadap Kadar *Blood Urea Nitrogen* (BUN) dan Gambaran Histopatologi Ginjal Tikus Putih (*Rattus norvegicus*) yang diinduksi Plumbum Asetat.

Dengan ini menyatakan bahwa:

1. Isi dan 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, 6 September 2017

Yang menyatakan,

(Putri Stefy Graf)

NIM. 135130101111004

Pengaruh Preventif Madu Hutan Sumbawa Terhadap Kadar *Blood Urea Nitrogen* (BUN) dan Gambaran Histopatologi Ginjal Tikus Putih (*Rattus norvegicus*) yang Diinduksi Plumbum Asetat

ABSTRAK

Timbal (Pb) merupakan bahan kimia yang termasuk dalam kelompok logam berat dan berpotensi menjadi bahan toksik. Paparan Plumbum dapat melalui saluran pernafasan, pencernaan, dan permukaan kulit. Akumulasi Plumbum dalam tubuh dapat meningkatkan jumlah *Reactive Oxygen Species* (ROS) yang berdampak pada kerusakan organ, khususnya organ ginjal. Kerusakan ginjal dapat menyebabkan peningkatan *Blood Urea Nitrogen* (BUN). Madu Hutan Sumbawa merupakan salah satu madu yang memiliki kandungan flavonoid yang cukup tinggi, sehingga dapat digunakan sebagai antioksidan yang dapat menetralsir radikal bebas. Penelitian ini berfungsi untuk mengetahui pengaruh terapi preventif Madu Hutan Sumbawa terhadap kadar *Blood Urea Nitrogen* (BUN) dan gambaran histopatologi ginjal tikus putih (*Rattus norvegicus*) yang diinduksi Plumbum Asetat. Penelitian ini menggunakan 20 ekor tikus yang dibagi menjadi 5 kelompok perlakuan, yaitu kontrol negatif tanpa diberikan perlakuan, kontrol positif dengan pemberian Pb asetat 10 mg/ekor/hari selama 14 hari, dan kelompok terapi preventif dengan pemberian Madu Hutan Sumbawa 25 mg/kg BB, 50 mg/kg BB, 75 mg/kg BB selama 28 hari dan pemberian Pb Asetat dosis 10 mg/ekor/hari selama 14 hari pada hari ke-15 sampai hari ke-28. Setiap kelompok perlakuan terdiri dari 4 tikus. Pengukuran kadar BUN menggunakan metode spektrofotometri dan histologi ginjal menggunakan pewarnaan HE yang diamati dengan mikroskop cahaya. Kadar BUN dianalisa menggunakan analisa ragam ANOVA dan dilanjutkan uji *Tukey* ($\alpha = 5\%$). Hasil penelitian menunjukkan pemberian terapi preventif madu hutan Sumbawa dapat menurunkan nilai kadar BUN dan memperbaiki kerusakan organ ginjal dengan dosis terbaik yaitu 75 mg/kg BB. Perbaikan gambaran histopatologi ginjal terlihat dengan tidak terjadinya pelebaran ruang bowman, piknosis pada glomerulus, lisis glomerulus, edema interstisial.

Kata Kunci: *Blood Urea Nitrogen* (BUN), Ginjal, Madu Hutan Sumbawa, Plumbum Asetat

The Effect Preventive of Sumbawa Forest Honey Against Levels Of Blood Urea Nitrogen (BUN) and Histopathological Features of Mouse (Rattus Norvegicus) Kidney that Induced by Plumbum Acetate

ABSTRACT

Plumbum's exposure can be through inhalation, digestion and skin surface. Accumulation of plumbum in the body can increase the number of Reactive Oxygen Species (ROS) which can cause organ damage, especially kidney. Kidney's damage can cause the increasing of Blood Urea Nitrogen (BUN). Sumbawa forest honey is one kind of honey which has high flavonoid content, therefore it can be used as an antioxidant that can neutralize the radicals. The aim of this research was to identify the effect of preventive therapy of sumbawa forest honey against levels of Blood Urea Nitrogen (BUN) and histopathological features of rat (*rattus norvegicus*) kidney that induced by plumbum acetate. This research used 20 rats, those were divided into 5 treatment groups, which were negative control group without treatment, positive control group which induced Pb acetate 10mg/mouse/day for 14 days, and preventive therapy group which administrate the sumbawa forest honey with 25mg/kg BW, 50mg/kg BW, 75 mg/kg BW doses for 28 days and also Pb acetate with 10mg/rat/days for 14 days on day 15th until 28th. Each treatment group consists of 4 rats. Levels of BUN was measured using spectrophotometry and kidney histological features was stained using HE stain which then observed using microscope. BUN levels were analyzed using ANOVA and continued with Tukey test ($\alpha=5\%$). The results showed that the administration of Sumbawa forest honey as preventive therapy can reduce levels of BUN content and improve the damage of kidney organ with the best dose of 75 mg/kg BW. Improvements in renal histopatologic features are seen in the absence of widening bowman spaces, pyknosis in the glomerulus, glomerular lysis and interstitial edema.

Key Words: *Blood Urea Nitrogen* (BUN), Plumbum Acetate, Kidney, Sumbawa forest honey

KATA PENGANTAR

Puji syukur kehadiran Allah SWT Tuhan Yang Maha Esa karena telah memberikan rahmat dan karunia-Nya sehingga Skripsi yang berjudul : Pengaruh Preventif Madu Hutan Sumbawa Terhadap Kadar *Blood Urea Nitrogen* (BUN) dan Gambaran Histopatologi Ginjal Tikus Putih (*Rattus norvegicus*) yang Diinduksi Plumbum Asetat telah selesai dilaksanakan. Sholawat serta salam semoga tetap dicurahkan kepada Nabi Muhammad SAW. Naskah skripsi ini disusun sebagai salah satu syarat untuk memperoleh gelar Sarjana Kedokteran Hewan.

Dalam penyusunan skripsi ini penulis ingin mengucapkan terimakasih yang sebesar-besarnya kepada :

1. Prof. Dr. Aulanni'am, drh., DES selaku Dekan Fakultas Kedokteran Hewan yang selalu memberikan dukungan tiada henti demi kemajuan FKH UB tercinta.
2. Dra. Anna Roosdiana, M.App., Sc selaku dosen pembimbing pertama atas bimbingan, kesabaran, fasilitas, dan waktu yang telah diberikan.
3. drh. Fajar Shodiq Permata, M.Biotech sebagai dosen pembimbing kedua atas segala bantuan, kesempatan, nasihat, dan arahan yang diberikan tiada hentinya kepada penulis.
4. drh. Fidi Nur Aini EPD, M.Si dan drh. Aldila Noviatry, M.Biomed selaku dosen penguji atas kritik dan saran yang diberikan kepada penulis.
5. Orangtua tercinta Ayahanda M.Solichin dan Ibunda Latifah, serta saudara-saudara Balya Yusuf G.V.P, Khurrota Ayun G.S dan Dara Anggi Hober

yang sangat istimewa dalam memberikan dukungan, bantuan, semangat, doa dan motivasi yang diberikan kepada penulis. Semoga Allah membalas dengan surgaNya.

6. Kolega-kolegaku angkatan 2013 yang selalu memberikan dorongan semangat, inspirasi, keceriaan dan mimpi-mimpi yang luar biasa.
7. Sahabat seperjuangan penelitian “Honeymoon” Cindy Oktati Kasari, Olenka Putri Windiarko, Diana Anggraeni dan Arnes Mardasella yang senantiasa memberikan saran, kritik, motivasi semangat, inspirasi, bantuan, kebersamaan, keceriaan dan semua hal yang sangat luar biasa.
8. Sahabat separow’s fams, Queen of Kepet, finding jodoh, S1R3 yang selalu menemani dan memberikan semangat serta motivasi.
9. Semua pihak yang telah membantu dalam penyelesaian penulisan karya tulis ini yang tidak sempat disebutkan.

Penulis menyadari bahwa dalam penulisan proposal skripsi ini masih jauh dari sempurna, oleh karena itu penulis membuka diri untuk segala saran dan kritik yang membangun. Akhir kata, penulis berharap semoga Allah SWT membalas segala kebaikan yang telah diberikan dan Skripsi ini dapat memberikan manfaat dan wawasan tidak hanya bagi penulis namun juga bagi pembaca.

Malang, 6 September 2017

(Putri Stefy Graf)

DAFTAR ISI

	Halaman
HALAMAN JUDUL	ii
LEMBAR PENGESAHAN	iii
LEMBAR PERNYATAAN	iv
ABSTRAK	v
ABSTRACT	vi
KATA PENGANTAR	vii
DAFTAR ISI	viii
DAFTAR TABEL	xi
DAFTAR GAMBAR	xii
DAFTAR LAMPIRAN	xiii
DAFTAR SINGKATAN DAN LAMBANG	xiv
BAB 1. PENDAHULUAN	
1.1 Latar Belakang	1
1.2 Rumusan Masalah.....	3
1.3 Batasan Masalah	3
1.4 Tujuan Penelitian	4
1.5 Manfaat Penelitian	5
BAB 2. TINJAUAN PUSTAKA	
2.1 Plumbum (Pb)	6
2.2 Tikus Putih (<i>Rattus norvegicus</i>)	9
2.3 Ginjal	10
2.4 Blood Urea Nitrogen (BUN)	12
2.5 Madu	13
BAB 3. KERANGKA KONSEPTUAL DAN HIPOTESIS PENELITIAN	
3.1 Kerangka Teori	16
3.2 Hipotesis	18
BAB 4. METODE PENELITIAN	
4.1 Tempat dan Waktu Penelitian	20
4.2 Populasi dan Sampel	20
4.3 Rancangan Penelitian	20
4.4 Penetapan Jumlah Perlakuan dan Ulangan	21
4.5 Karakteristik Sampel Peneltian	22
4.5.1 Kriteria Inklusi	22
4.5.2 Kriteria Eksekusi	22
4.6 Variabel Penelitian	22
4.7 Alat dan Bahan	23
4.7.1 Alat	23
4.7.2 Bahan	23



4.8	Prosedur Penelitian	24
4.8.1	Pembagian Kelompok Tikus	24
4.8.2	Aklimatisasi	25
4.8.3	Pemberian Madu Hutan Sumbawa	25
4.8.4	Pemberian Plumbum Asetat	25
4.8.5	Pengambilan Ginjal Tikus (<i>Rattus norvegicus</i>)	26
4.8.6	Pembuatan Preparat Histopatologi	26
4.8.7	Pewarnaan <i>Hematoxylin Eosin</i> (HE)	27
4.8.8	Pengamatan Histopatologi	29
4.8.9	Pengukuran Kadar <i>Blood Urea Nitrogen</i> (BUN)	29
4.9	Analisa Data	30
BAB 5. HASIL DAN PEMBAHASAN		
5.1	Pengaruh Preventif Madu Hutan Sumbawa terhadap Kadar <i>Blood Urea Nitrogen</i> (BUN) pada Tikus Putih (<i>Rattus norvegicus</i>) yang diinduksi Plumbum Asetat	31
5.2	Pengaruh Preventif Madu Hutan Sumbawa terhadap Histopatologi Ginjal pada Tikus Putih (<i>Rattus norvegicus</i>) yang diinduksi Plumbum Asetat	35
BAB 6. PENUTUP		
6.1	Kesimpulan	40
6.2	Saran	40
DAFTAR PUSTAKA		41
LAMPIRAN		46

DAFTAR TABEL

Tabel	Halaman
2.1 Tanda-tanda Keracunan Plumbum pada Organ	7
4.1 Dua Arah Perlakuan dan Ulangan	18
5.1 Rata-rata Kadar BUN pada Kelompok Hewan Coba	33



DAFTAR GAMBAR

Gambar	Halaman
2.1 Tikus Putih (<i>Rattus norvegicus</i>)	10
2.2 Struktur Umum Histologi Ginjal	10
2.3 Gambaran Mikrostruktur Nefron Ginjal Tikus	11
5.1 Gambaran Histopatologi Ginjal dengan Pewarnaan HE dan Perbesaran 400x	37



DAFTAR LAMPIRAN

Lampiran	Halaman
1. Kerangka Operasional	47
2. Perhitungan Dosis Madu	48
3. Pemberian Plumbum Asetat	49
4. Pembuatan Preparat Histopatologi Ginjal	50
5. Pembuatan <i>Hematoxylin Eosin</i> (HE)	52
6. Pengukuran Kadar BUN	53
7. Perhitungan Statistik	54
8. Presentasi Peningkatan dan Penurunan kadar BUN terhadap kontrol	58
9. Sertifikat Laik Etik	60
10. Hasil Uji Skrining Fitokimia Kandungan Flavonoid pada Madu Hutan Sumbawa	61
11. Hasil Uji Skrining Fitokimia Kandungan Vitamin C pada Madu Hutan Sumbawa	62

DAFTAR SINGKATAN DAN LAMBANG

<u>Simbol/singkatan</u>	<u>Keterangan</u>
Al	Aluminium
ADP	<i>Adenosine diphosphate</i>
ALA	<i>Amino Levulinic Acid</i>
ANOVA	<i>Analisis of Variant</i>
BB	Berat Badan
BNJ	Benar Nyata Jujur
BUN	<i>Blood Urea Nitrogen</i>
C	Celcius
CCL ₄	Carbon tetra chlorida
Ca	Kalsium
Cm	Centimeter
Cu	Tembaga
Cl	Klor
cc	Centimeter Cubic
dL	Deciliter
DNA	<i>Deoxyribose-nucleic acid</i>
D ALAD	<i>Amino Levulinic Acid Dehydrogenase</i>
Fe	Besi
g	Gram
GFR	<i>Glomerulus Filtration Rate</i>
GLDH	<i>Glutamate dehydrogenase</i>
HE	<i>Hematoxyin Eosin</i>
HCl	<i>Hydrochloric acid</i>
I	Iodium
K	Kalium
Kg	Kilogram
Mg	Magnesium

mg	Miligram
mL	Mililiter
mm	Milimeter
Mn	Mangan
Mo	Molibdenum
Na	Natrium
NaCl	<i>Natrium chloride</i>
NADH	<i>Nicotinamide Adenin Dinucleotide</i>
Nf-kB	Nuclear Factor Kappa B
Pb	Plumbum
PFA	<i>Paraformaldehyde</i>
pH	<i>Potential of Hydrogen</i>
PUFA	<i>Poly Unsaturated Fatty Acid</i>
RAL	Rancangan Acak Lengkap
ROS	<i>Reactive Oxygen Species</i>
S	Sulfur
Si	Silikon
SPSS	<i>Statistical Package for The Social Science</i>
TRIS	<i>Trishydroxymethylaminomethane</i>
Zn	Seng
°	Derajat
%	Persen
μm	Mikrometer
μl	Mikroliter

BAB 1 PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

Timbal (Pb) merupakan bahan kimia yang termasuk dalam kelompok logam berat dan berpotensi menjadi bahan toksik. Timbal (Pb) dapat masuk kedalam tubuh makhluk hidup melalui saluran pencernaan (gastrointestinal), saluran pernafasan (inhalasi), dan penetrasi melalui kulit (topikal) (Dedy, 2008). Penggunaan logam timbal sebenarnya tidak pernah ditujukan untuk bidang pertanian, tetapi pencemarannya dapat mengontaminasi pakan ternak atau lingkungan sekitar sehingga meningkatkan terjadinya akumulasi logam timbal di dalam tubuh hewan ternak (Mc Ewen and Mc Nab, 2000).

Keracunan timbal pada hewan ternak akibat pakan dan minum yang terkontaminasi oleh timbal masih banyak terjadi. Adapun gejala klinis keracunan timbal pada hewan meliputi gastroentritis, anemia dan ensefalopati (Wardhayani, 2006). Menurut penelitian Priyono (2013), kandungan timbal pada karkas ayam yang masih cukup tinggi, yaitu lebih dari 3x nilai batas aman. Hasil sampel menunjukkan timbal paling banyak ditemukan pada jaringan hati, ginjal dan daging. Sedangkan pada penelitian Paula (2013), kadar timbal pada karkas daging sapi potong juga cukup tinggi. Akumulasi timbal paling banyak ditemukan pada hati, daging dan ginjal. Hasil penelitian Suprijono dkk (2011), pemberian timbal dengan dosis 10 mg per oral selama 14 hari, berpengaruh terhadap gambaran histopatologi hepar tikus putih.

Perbedaan kadar akumulasi timbal pada setiap jaringan ditentukan oleh sifat jaringan dan sifat logam tersebut. Akumulasi timbal dalam ginjal cukup tinggi

karena adanya aktivitas absorpsi aktif dalam ginjal. Hal ini sesuai dengan pendapat Dellman dan Brown (2000), bahwa sekitar 85% natrium dan air diserap kembali sehingga timbal yang terlarut dalam air ikut terserap. Pernyataan ini diperkuat oleh Wardhayani (2006) bahwa akumulasi logam tertinggi terjadi dalam hati (organ detoksifikasi) dan ginjal (organ ekskresi). Di dalam kedua organ tersebut, logam berikatan dengan berbagai jenis protein baik enzim maupun protein lain yang disebut metalothionin. Absorpsi plumbum di ginjal dapat mempengaruhi fungsi ginjal, untuk mengetahui fungsi ginjal dapat dinilai dari kadar *Blood Urea Nitrogen* (BUN) yang merupakan hasil metabolisme protein. Nilai kadar BUN dapat meningkat apabila terjadi gangguan atau kerusakan pada ginjal (Pravitasari, 2006).

Secara selular, plumbum diketahui menyebabkan produksi berlebihan *Reactive Oxygen Species* (ROS) dan akibatnya meningkatkan peroksidasi lipid. Peningkatan produksi ROS tersebut merupakan hasil dari stres oksidatif sel (Ostrovskaya *et al.*, 2011). *Reactive Oxygen Species* yang dihasilkan akan menimbulkan efek pada metabolisme regular dengan merusak komponen sel yang menyebabkan kerusakan jaringan. *Reactive Oxygen Species* juga menyebabkan reaksi tinggi peroksidasi lipid, membran lipid, protein, dan DNA (Ibrahim *et al.*, 2012).

Reactive Oxygen Species (ROS) yang meningkat didalam tubuh harus dinetralisir oleh antioksidan eksogen, sehingga tubuh dapat terlindungi dari berbagai penyakit (Tapan, 2005). Madu merupakan salah satu antioksidan yang baik, dimana antioksidan tersebut mampu menetralsisir radikal bebas sehingga dapat mencegah terjadinya kerusakan sel yang ada didalam tubuh. Secara umum madu

mengandung senyawa antioksidan yaitu polifenol yang terdiri dari asam fenolik dan flavonoid. Selain itu juga mengandung berbagai vitamin dan mineral (Rahma *et al*, 2014). Hasil riset Zainal (2006), membuktikan bahwa kadar flavonoid madu propolis trigona mencapai 4% dan madu propolis apis dorsata 1,5%.

Menurut penelitian Khadr *et al* (2007), madu yang memiliki antioksidan tinggi yang berfungsi untuk menetralkan ROS terbukti pada dosis 50mg/kg BB selama 4 minggu dapat mengurangi fibrosis dan degenerasi vakuolar dan pengurangan area fibrotik hati yang diinduksi oleh CCL₄. Oleh karena itu, perlu dilakukan penelitian untuk mengetahui peran Madu Hutan Sumbawa sebagai terapi preventif pada kadar *Blood Urea Nitrogen* (BUN) dan kerusakan histopatologi ginjal yang diinduksi oleh Plumbum (Pb).

1.2 Rumusan Masalah

Berdasarkan latar belakang yang telah diuraikan, dapat dirumuskan beberapa permasalahan sebagai berikut :

1. Apakah terapi preventif madu hutan Sumbawa dapat mempertahankan kadar *Blood Urea Nitrogen* (BUN) pada tikus putih (*Rattus norvegicus*) yang diinduksi oleh Plumbum (Pb)?
2. Apakah terapi preventif madu hutan Sumbawa dapat mencegah kerusakan histopatologi ginjal tikus putih (*Rattus norvegicus*) yang diinduksi oleh Plumbum (Pb)?

1.3 Batasan Masalah

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

1. Hewan coba yang digunakan adalah tikus putih (*Rattus norvegicus*) jantan strain *Wistar*, sejumlah 20 ekor, berumur 8-10 minggu dengan berat badan rata-rata 150 gram, yang diperoleh dari Laboratorium Farmakologi FK Universitas Brawijaya.
2. Madu hutan Sumbawa diperoleh dari hutan Sumbawa, yang telah dilakukan uji kualitatif di UPT Materia Medica Batu. Dosis madu yang diberikan masing-masing yaitu 25 mg/kg, 50 mg/kg, dan 75 mg/kg BB, yang dilarutkan menggunakan aquades dan diberikan secara sonde lambung 1 kali sehari selama 28 hari (pada hari ke 1 sampai hari ke 28 secara berturut-turut). Penentuan dosis madu dengan modifikasi berdasarkan pada penelitian Khadr (2007).
3. Induksi Plumbum dengan plumbum asetat yang diperoleh dari CV. Makmur Sejati, Malang. Plumbum yang diberikan dalam bentuk serbuk yang dilarutkan dengan 1 mL aquades yang diberikan secara sonde lambung sebanyak 10 mg/ekor setiap hari selama 14 hari (pada hari ke 15 sampai hari ke 28 secara berturut-turut) (Suprijono dkk., 2011).
4. Variabel yang diamati dalam penelitian ini yaitu kadar *Blood Urea Nitrogen* (BUN) melalui pemeriksaan serum dengan menggunakan metode spektrofotometri dengan alat spektrofotometer. Preparat histopatologi ginjal diwarnai dengan pewarna *Hematoxylin Eosin* (HE).

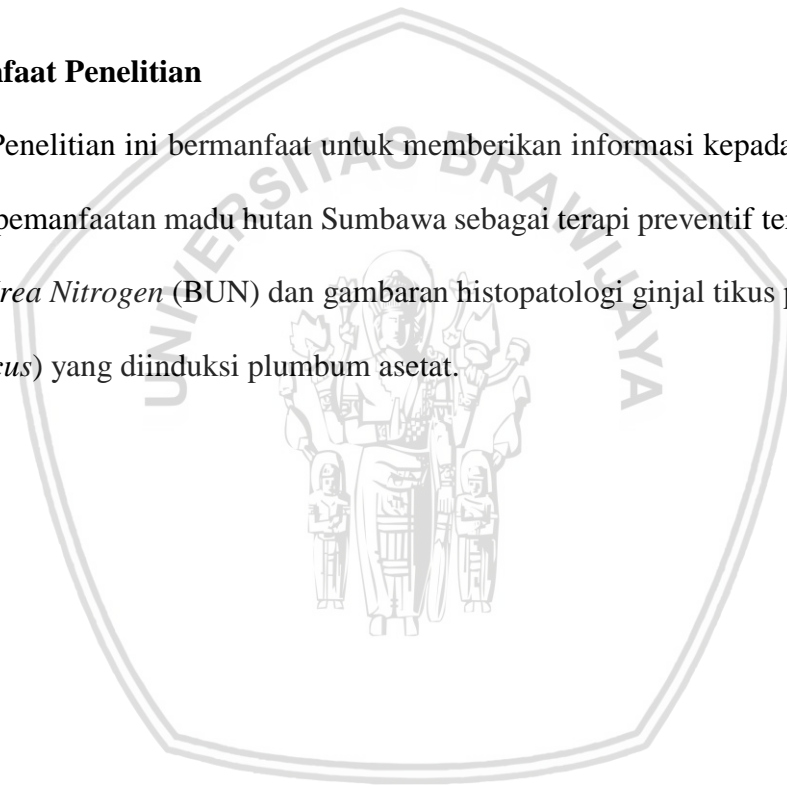
1.4 Tujuan Penelitian

Berdasarkan latar belakang yang telah diuraikan, tujuan dari penelitian ini adalah sebagai berikut:

1. Mengetahui pengaruh preventif madu hutan Sumbawa terhadap kadar *Blood Urea Nitrogen* (BUN) pada tikus putih (*Rattus norvegicus*) yang diinduksi oleh plumbum asetat.
2. Mengetahui pengaruh preventif madu hutan Sumbawa terhadap gambaran histopatologi ginjal tikus putih (*Rattus norvegicus*) yang diinduksi oleh plumbum asetat.

1.5 Manfaat Penelitian

Penelitian ini bermanfaat untuk memberikan informasi kepada masyarakat tentang pemanfaatan madu hutan Sumbawa sebagai terapi preventif terhadap kadar *Blood Urea Nitrogen* (BUN) dan gambaran histopatologi ginjal tikus putih (*Rattus norvegicus*) yang diinduksi plumbum asetat.



BAB 2 TINJAUAN PUSTAKA

2.1 Plumbum (Pb)

Timbal (Pb) merupakan logam yang secara alami berwarna abu-abu kehitaman. Timbal dapat ditemukan di lapisan kerak bumi. Timbal dapat dikombinasikan dengan bahan kimia lainnya sehingga membentuk senyawa yang disebut garam-garam timbal. Garam-garam timbal bersifat larut air, sedangkan unsur logam timbal sendiri tidak larut dalam air. Sebagian besar timbal yang termobilisasi ke lingkungan berasal dari aktivitas manusia sehingga paparan logam timbal inorganik dan senyawa garam timbal dapat terjadi di lingkungan sekitar dan di tempat kerja (Williams *et al.* 2000).

Pemaparan plumbum bisa melalui makanan, minuman, inhalasi (terhirup partikel-partikel plumbum) dan melalui permukaan kulit. Proses pembakaran dari sisa bahan bakar terutama bensin akan menyebar ke atmosfer setelah sepuluh hari mencemari tanah, tanaman dan juga sumber air. Pencemaran plumbum di air bisa melalui pipa saluran dari timbal atau aktifitas pematrian plumbum (Winarno, 1993).

Ukuran keracunan suatu zat ditentukan oleh kadar dan lamanya pemaparan. Keracunan dibedakan menjadi keracunan akut dan keracunan kronis. Keracunan yang disebabkan oleh plumbum dalam tubuh mempengaruhi berbagai jaringan dan organ tubuh. Organ-organ tubuh yang menjadi sasaran dari keracunan plumbum adalah sistem peredaran darah, sistem saraf, sistem urinaria, sistem reproduksi, sistem endokrin dan jantung (Palar, 1994).

Plumbum yang diabsorpsi diangkut oleh darah ke organ-organ tubuh sebanyak 95% Pb dalam darah diikat oleh eritrosit. Sebagian Pb dalam plasma

dalam bentuk yang dapat berdifusi ke jaringan lunak (sum-sum tulang, sistem saraf, ginjal, hati) dan ke jaringan keras (tulang, kuku, rambut, gigi). Gigi dan tulang panjang mengandung Pb yang lebih banyak dibandingkan tulang lainnya. Pada gusi dapat terlihat lead line yaitu berupa pigmen yang berwarna abu-abu pada perbatasan antara gigi dan gusi. Hal ini merupakan ciri khas dari keracunan Pb. Pada jaringan lunak sebagian Pb disimpan dalam aorta, hati, ginjal otak dan kulit (Ardyanto, 2005).

Menurut penelitian Hariono (2005), setelah pemberian Pb asetat peroral pada mencit akan terjadi akumulasi plumbum tertinggi pada jaringan lunak terjadi berturut-turut pada ginjal, hati, otak, paru, jantung, otot dan testis. Kadar plumbum tertinggi dalam jaringan keras ditemukan ditulang rusuk, kepala, paha, dan gigi serta paling rendah yakni pada bulu.

Tanda-tanda keracunan plumbum pada semua tingkat umur tidak spesifik. Perubahan anatomik pada organ akibat keracunan plumbum dapat dilihat pada tabel di bawah ini (Robinson dan Kumar, 1995) :

Tabel 2.1 Tanda-tanda keracunan plumbum pada organ.

Target Organ	Kelainan
1. Darah	a. Anemia biasanya mikrositik, hipokromik (berhubungan dengan rusaknya sintesis hemoglobin dan meningkatnya kerapuhan sel-sel darah merah). b. Basophilic stippling pada sel-sel darah merah (berhubungan dengan mitokondria dan luka-luka ribosom dengan penyatuan ribosom).
2. Sistem Saraf	a. Ensefalopati (pada anak-anak) dengan membengkaknya otak, kemungkinan demielinasi otak dan otak kecil yang putih sebelah belakang, kematian

	pada sel-sel saraf, cabang-cabang halusny dan berkembangbiakan astrositik. b. Inflamasi saraf dengan demielinasi.
3. Rongga mulut	Garis plumbum ginggiva terpadat pada orang dewasa dengan ginggivitis (deposit berwarna biru/hitam dari plumbum sulfida).
4. Ginjal	Inklusi intranuklear tahan asam, terutama dalam sel-sel tubulus proksimal (terdiri dari bagian kompleks plumbum-protein).
5. Sistem rangka	Endapan plumbum yang radiopak pada epifise anak-anak.

Menurut Napitupulu (2008), efek toksik plumbum (Pb) tergantung jumlah dan waktu paparan induksi. Gejala klinis pengaruh toksik plumbum (Pb) pada tubuh yaitu anemia, nafsu makan menurun, muntah, sakit kepala, nyeri sendi, dan konstipasi.

Penelitian efek plumbum terhadap perubahan pada jaringan yaitu diantara lainnya: penelitian yang dilakukan Hariono (2005), pemberian plumbum asetat 0,5 gr/kg/BB/oral/hari selama 16 minggu pada tikus menunjukkan perubahan pada sel hati dan ginjal. Secara makroskopis, hati dan ginjal pada minggu ke-14 dan 16 nampak pucat, gambaran histopatologik hati terlihat degenerasi hidrofik dari tingkat ringan sampai sedang pada minggu ke-12 sampai minggu ke-16. Epitel tubulus proksimal ginjal terlihat degenerasi, hiperplasi dan kariomegali pada minggu ke-8, pelebaran lumen tubulus dan ruang bowman serta adanya benda-benda inklusi dalam inti sel. Penelitian lain, melaporkan pemberian Pb asetat 400 mg/kg BB dan 600 mg/kg BB selama 5 minggu pada ayam broiler menyebabkan

infiltrasi limfosit pada hati dan reaksi inflamasi berat pada daerah periportal yang menyebabkan cirrhosis (Sipos dkk., 2003).

2.2 Tikus Putih (*Rattus norvegicus*)

Hewan coba merupakan hewan yang dikembang biakkan untuk digunakan sebagai hewan uji coba. Tikus sering digunakan pada berbagai macam penelitian medis selama bertahun-tahun. Hal ini dikarenakan tikus memiliki karakteristik genetik yang unik, mudah berkembang biak, murah serta mudah untuk mendapatkannya. Tikus merupakan hewan yang melakukan aktivitasnya pada malam hari (nocturnal) (Adiyati, 2011).

Klasifikasi tikus putih (*Rattus norvegicus*) adalah sebagai berikut (Krinke, 2000):

Kingdom	: Animalia
Filum	: Chordata
Subfilum	: Vertebrata
Kelas	: Mammalia
Ordo	: Rodentia
Subordo	: Odontoceti
Familia	: Muridae
Genus	: <i>Rattus</i>
Species	: <i>Norvegicus</i>

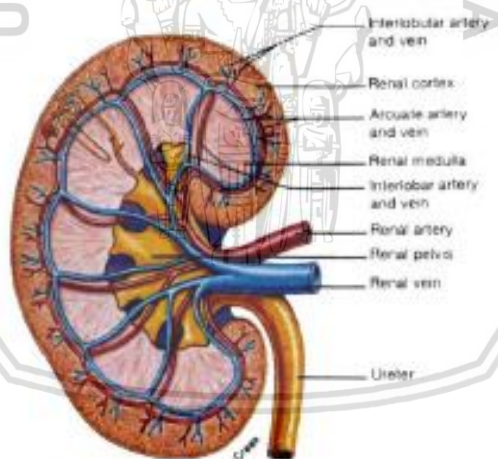
Tikus putih memiliki ciri-ciri morfologi antara lain berat badan antara 150-600 gram, panjang badan 18-25 cm, kepala dan badan relatif pendek dari ekornya, mata berwarna merah, hidung tumpul, telinga relatif kecil dan tidak lebih dari 20-23 mm serta lama hidup berkisar 4-5 tahun (Sirois, 2005).



Gambar 2.1 Tikus putih (*Rattus norvegicus*) (Sirois, 2005).

2.3 Ginjal

Ginjal merupakan organ berwarna coklat kemerahan seperti kacang merah yang terletak tinggi pada dinding posterior abdomen, berjumlah sebanyak dua buah dimana masing-masing terletak dikanan dan kiri (Snell, 2006).

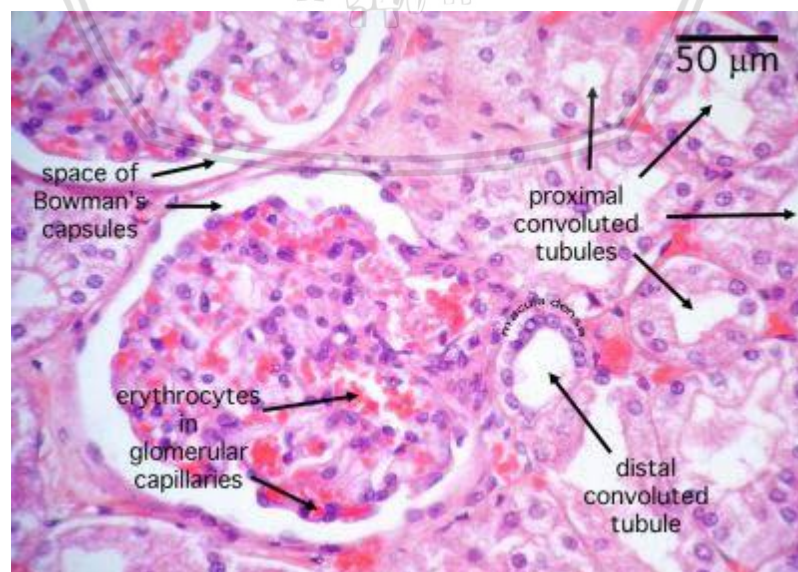


Gambar 2.2 Struktur Umum Histologis Ginjal (Focosi, 2009).

Pada struktur luar ginjal didapati kapsul fibrosa yang keras dan berfungsi untuk melindungi struktur bagian dalam yang rapuh (Guyton & Hall, 2007). Pada tepi medial masing-masing ginjal yang cekung terdapat celah vertikal yang dikenal sebagai hilum *renale* yaitu tempat arteri renalis masuk dan vena renalis serta pelvis renalis keluar (Moore & Anne, 2012)

Ginjal dibagi dua dari atas ke bawah, dua daerah utama yang dapat digambarkan yaitu korteks dibagian luar dan medulla dibagian dalam (Guyton & Hall, 2007). Masing-masing ginjal terdiri dari 1–4 juta nefron yang merupakan satuan fungsional ginjal, nefron terdiri atas korpuskulum renal, tubulus kontortus proksimal, ansa henle dan tubulus kontortus distal (Junqueira & Carneiro, 2007).

Unit kerja fungsional ginjal disebut sebagai nefron. Didalam setiap ginjal terdapat sekitar 1 juta nefron yang pada dasarnya mempunyai struktur dan fungsi yang sama. Setiap nefron terdiri dari kapsula bowman, tubulus kontraktus proksimal, lengkung henle dan tubulus kontraktus distal yang mengosongkan diri ke duktus pengumpul. Glomerulus bersama Kapsul Bowman juga disebut badan Malpigi. Jalinan glomerulus merupakan kapiler-kapiler khusus yang berfungsi sebagai penyaring. Kapiler glomerulus dibatasi oleh sel-sel endotel mempunyai sitoplasma yang sangat tipis, yang mengandung banyak lubang disebut fenestra dengan diameter 500-1000Å⁰ (Alatas et al., 2002).



Gambar 2.3 Gambaran Mikrostruktur Nefron Ginjal Tikus (Christensen *et.al.*, 2002).

Fungsi ginjal yaitu mengekskresikan zat sisa metabolisme seperti urea, asam urat, kreatinin, mengatur volume plasma darah dan jumlah air didalam tubuh, menjaga tekanan osmosis dengan cara mengatur ekskresi Natrium (Na), mengatur pH plasma dan cairan tubuh dengan mengekskresikan urin. Fungsi ginjal dapat menurun jika terjadi gangguan dari faktor prerenal dan postrenal. Faktor prerenal meliputi obstruksi aliran darah ke ginjal sedangkan postrenal meliputi obstruksi aliran urin pada saluran urin bawah (Dharmawan, 2002).

2.4 Blood Urea Nitrogen (BUN)

Blood Urea Nitrogen (BUN) merupakan hasil metabolisme protein yang diproduksi oleh tubuh. Tubuh akan menghilangkan urea melalui filtrasi ginjal. Menurut Schrier (2008), *Blood Urea Nitrogen* (BUN) secara bebas disaring, diekskresikan, tetapi diserap kembali oleh tubulus ginjal. Reabsorpsi urea tergantung oleh aliran urin sehingga urea lebih banyak diserap pada tingkat aliran urin yang lebih rendah. Sehingga konsentrasi urea dalam plasma darah dapat menggambarkan keseimbangan antara pembentukan urea dan katabolisme protein serta ekskresi urea oleh ginjal (Wahyono dkk, 2007).

Pengukuran kadar *Blood Urea Nitrogen* (BUN) yakni dengan memeriksa serum dengan metode spektrofotometri dengan alatnya yaitu spektrofotometer. Pengukuran dilakukan berdasarkan reaksi enzimatik dengan diasetil monoksim yang memanfaatkan enzim urease yang sangat spesifik terhadap urea. Standar normal kadar BUN pada tikus yaitu 15 - 21 mg/dL (Laksmi dkk, 2014).

Parameter dari kerusakan fungsi ginjal dapat diketahui dengan pemeriksaan kadar urea dalam darah atau serum (BUN), kadar kreatinin dalam serum,

Glomerulus Filtration Rate (GFR), clearance kreatinin, dan clearance urea (Guyton and Hall, 1997). Peningkatan BUN umumnya menunjukkan penurunan pada fungsi ginjal (Horne and Swearingen, 2001). Adapaun beberapa kondisi yang dapat menyebabkan meningkatnya kadar *Blood Urea Nitrogen* (BUN) yaitu dehidrasi, infeksi ginjal, gagal ginjal dan penyakit toksik pada ginjal (Vatlearn, 2011).

Peningkatan kadar BUN terjadi akibat adanya dehidrasi, penurunan perfusi renal, gagal jantung, peningkatan konsumsi protein diet, dan keadaan katabolik, seperti demam, trauma, perdarahan gastrointestinal, dan konsumsi tetrasiklin. Sedangkan, penurunan kadar BUN dapat disebabkan overhidrasi (volume cairan yang berlebihan), penyakit hepar, penurunan konsumsi protein diet, dan penyakit ginjal yang lanjut (Rosner dan Bolton, 2006).

2.5 Madu

Madu merupakan zat manis alami yang dihasilkan lebah dengan bahan baku nektar bunga. Bentuk madu berupa cairan kental, warnanya bening atau kuning pucat sampai kecoklatan. Rasanya manis dengan aroma enak dan segar (Zinadah *et al*, 2013).

Madu memiliki kandungan gizi yang cukup lengkap. Madu mengandung berbagai jenis gula, yaitu monosakarida, disakarida dan trisakarida. Monosakarida terdiri atas glukosa dan fruktosa sekitar 70%, disakarida yaitu maltosa sekitar 7% dan sukrosa antara 1-3%, sedangkan trisakarida antara 1-5%. Dalam madu juga terdapat banyak kandungan asam amino, vitamin, mineral, asam, enzim serta serat. Asam amino yang terdapat dalam madu berjumlah 18 jenis. Vitamin dalam madu

berupa thiamin, riboflavin, niasin, asam pantotenat, folat, vitamin B6, B12, C, A, D, dan vitamin K. Enzim yang terkandung dalam madu antara lain enzim invertase, amilase atau diastase, glukosa oksidase, katalase, dan asam fosfatase. Madu mengandung sekitar 15 jenis asam sehingga pH madu sekitar 3,9 (Tartibian and Maleki, 2012).

Kandungan mineral dalam madu yang telah diketahui antara lain Sulfur (S), Kalsium (Ca), Tembaga (Cu), Mangan (Mn), Besi (Fe), Fosfor (P), Kalium (K), Klor (Cl), Magnesium (Mg), Iodium (I), Seng (Zn), Silikon (Si), Natrium (Na), Molibdenum (Mo) dan Alumunium (Al). Masing-masing mineral ini memiliki manfaat, diantaranya adalah Mangan yang berfungsi sebagai gugus logam pada antioksidan endogen dan berpengaruh dalam pengontrolan gula darah serta mengatur hormon steroid. Magnesium berperan penting dalam mengaktifkan fungsi replikasi sel, protein dan energi. Iodium berguna bagi pertumbuhan. Besi (Fe) dapat membantu proses pembentukan sel darah merah. Magnesium, Fospor dan Belerang berkaitan dengan metabolisme tubuh. Sedangkan Molibdenum berguna dalam pencegahan anemia dan sebagai penawar racun. Efek antimikrobal dari madu, hal ini berkaitan dengan osmolaritas madu, keasaman dan kandungan flavonoid (Perez *et al*, 2006).

Madu adalah cairan manis yang berasal dari nectar tanaman yang diproses oleh lebah menjadi madu dan tersimpan dalam sel-sel sarang lebah. Sejak ribuan tahun yang lalu sampai sekarang ini, madu telah dikenal sebagai salah satu bahan makanan atau minuman alami yang mempunyai peranan penting dalam kehidupan. Madu kaya akan vitamin A, betakaroten, vitamin B kompleks (lengkap), vitamin C,

D, E, dan K. Madu banyak mengandung komponen flavonoid, seperti luteolin, quercetin, apigenin, fisetin, kaempferol, ishoramnetin, acacetin, tamarixetin, chrystin, dan galangin sehingga sangat berperan sebagai antioksidan (Soekanto, 2006).

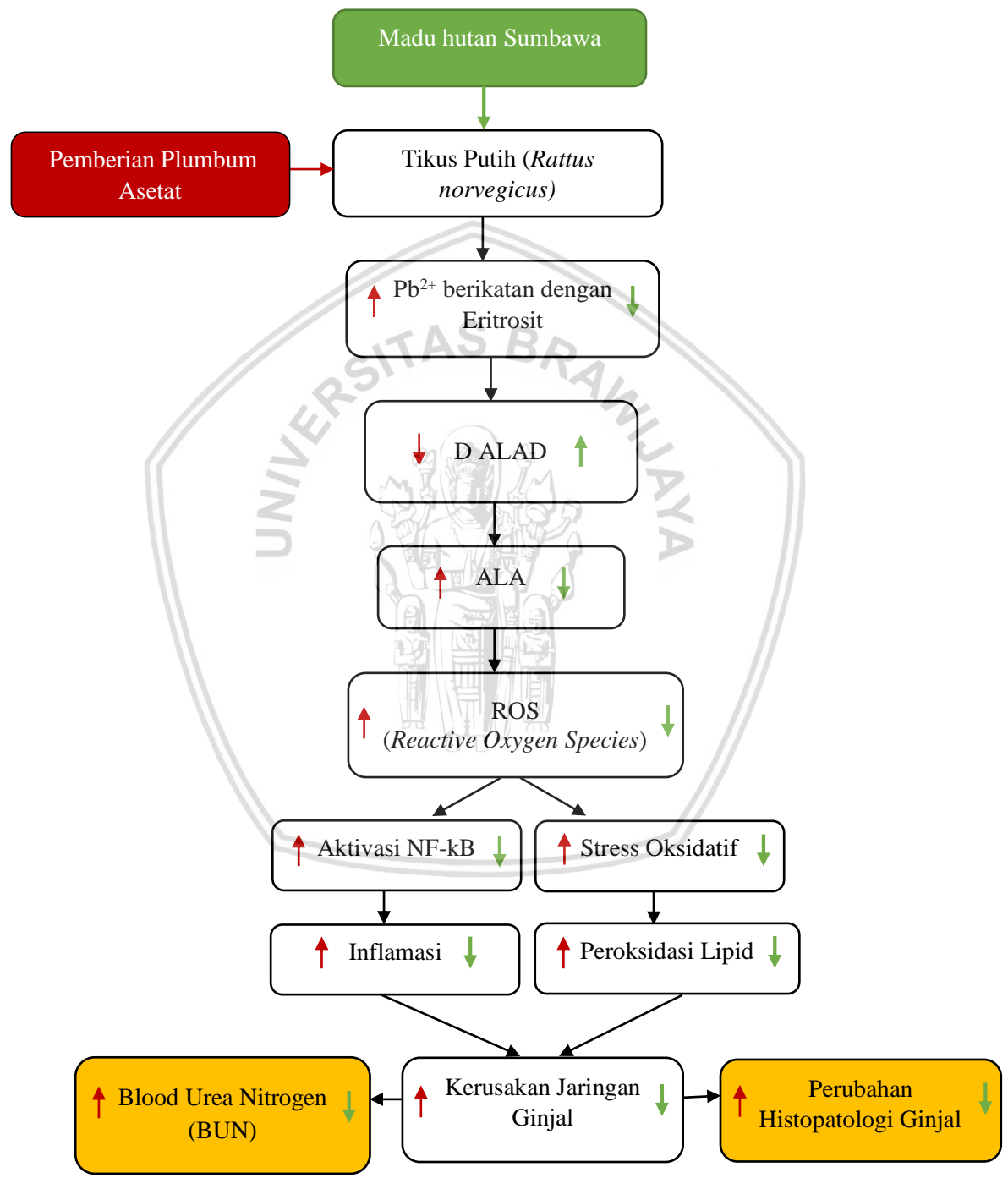
Menurut Gordon (2001), senyawa fenolik berfungsi sebagai antioksidan karena kemampuannya dalam memberikan atom hidrogen secara cepat kepada radikal lipid, sedangkan radikal bebas yang berasal dari antioksidan senyawa fenol ini lebih stabil daripada radikal bebasnya.

Sumbawa merupakan salah satu daerah penghasil madu terbaik di Indonesia. Terkenalnya khasiat madu Sumbawa disebabkan sumber madu tersebut berasal dari lebah liar yang hanya bisa ditemukan di hutan-hutan Sumbawa. Lebah-lebah madu di Sumbawa tidak diternakkan melainkan langsung diambil dari hutan-hutan yang ada di Sumbawa. Makanan lebah yang alami membuat madu Sumbawa berbeda dengan madu daerah lain. Sumbawa terkenal dengan pohon bidara atau dalam bahasa lokalnya *boan* dan dalam bahasa latinnya disebut *Ziziphus mauritiana*. Faktor geografis Sumbawa yang kering dan panas membuat kandungan air yang ada dalam madu Sumbawa menjadi lebih rendah dibandingkan madu daerah lainnya (Zulhawa, 2010).

Madu hutan Sumbawa yaitu madu yang berasal dari sejenis pohon lokal yang dalam bahasa setempat dikenal dengan sebutan *boan*, tempat bersarangnya *Apis dorsata* yang menyediakan nektar bagi lebah hutan. Pohon *boan* tersebar di lereng pengunungan dan di lokasi tertentu ditemukan di lembah, sepanjang sungai dan sungai anak atau riparian (Maryani dkk., 2013).

BAB 3 KERANGKA KONSEPTUAL DAN HIPOTESIS PENELITIAN

3.1 Kerangka Teori



Gambar 3.1 Kerangka Teori

Keterangan :

↓	: Mempengaruhi	■	: Paparan
↑	: Peningkatan	■	: Terapi
↓	: Penurunan	■	: Parameter yang diamati

Madu hutan sumbawa yang mengandung senyawa flavonoid sebagai antioksidan diberikan pada hewan coba tikus putih (*Rattus norvegicus*), sebagai terapi preventif terhadap kerusakan organ tubuh yang disebabkan oleh induksi plumbum asetat. Senyawa plumbum asetat sebagai sumber radikal dan kompetitor antioksidan enzimatis tubuh. Plumbum yang masuk ke dalam tubuh, melalui pemberian peroral dengan sonde lambung akan masuk ke dalam sistem pencernaan serta diabsorpsi dalam usus halus, kemudian masuk ke dalam peredaran darah. Plumbum dalam bentuk (Pb^{2+}) akan berikatan dengan eritrosit dapat menyebabkan gangguan dalam sintesis hemoglobin dengan menghambat aktivitas enzim D ALAD (*Amino levulinic Acid Dehydrogenase*). Penghambatan aktivitas enzim D ALAD menyebabkan adanya peningkatan akumulasi ALA (*Amino levulinic Acid*). Peningkatan kadar ALA menyebabkan pembentukan hidrogen peroksida, radikal superoksida, dan juga interaksi keduanya menghasilkan radikal hidroksil, suatu radikal bebas yang paling reaktif.

Proses oksidasi ALA dan oksihemoglobin membentuk ROS (*Reactive Oxygen Species*) yang menyebabkan jumlah ROS dalam tubuh meningkat. Apabila jumlah ROS berlebih maka akan terjadi aktivasi NF-kB yang berperan dalam proses inflamasi sel. Jumlah radikal yang berlebih juga menyebabkan stress oksidatif yaitu suatu ketidakseimbangan antara jumlah radikal bebas dan antioksidan intrasel.

Stress oksidatif menyebabkan peroksidasi lipid yaitu suatu proses dimana radikal bebas yang bersifat lipofilik merusak membran sel yang terdiri dari atas *Poly Unsaturated Fatty Acid* (PUFA). Hal tersebut memicu terjadinya degenerasi sel, yaitu keadaan sel kehilangan struktur normalnya dan mengakibatkan kerusakan pada jaringan yang dapat merubah gambaran histopatologi ginjal. Kerusakan ginjal diikuti oleh peningkatan kadar *Blood Urea Nitrogen* (BUN).

Antioksidan berupa flavonoid pada madu hutan Sumbawa, akan bekerja menghambat proses oksidasi melalui penghambatan inisiasi dan propagasi reaksi oksidasi radikal bebas. Antioksidan dapat meningkatkan enzim D ALAD pada proses sintesa hemoglobin dan menurunkan akumulasi kadar ALA. Antioksidan madu hutan Sumbawa akan memberikan atom hidrogen untuk menangkap hidroksil sehingga radikal bebas kurang reaktif dan menurunkan ROS di dalam tubuh, serta dapat menghambat aktivasi NF-kB yang akhirnya dapat menghambat proliferasi sel dan mencegah reaksi inflamasi. Selain itu, antioksidan dapat menurunkan kondisi stres oksidatif dengan cara menyeimbangkan sistem pertahanan tubuh dengan radikal bebas. Apabila stres oksidatif menurun, maka kerusakan peroksida lipid dan protein juga akan menurun sehingga dapat menurunkan kerusakan pada sel-sel dan jaringan terutama pada organ ginjal, sehingga dapat menurunkan kerusakan histopatologi ginjal dan menurunkan kadar *Blood Urea Nitrogen* (BUN).

3.2 Hipotesis

1. Terapi preventif Madu Hutan Sumbawa dapat menurunkan kadar *Blood Urea Nitrogen* (BUN) akibat induksi plumbum asetat.

2. Terapi preventif Madu Hutan Sumbawa dapat mencegah kerusakan histopatologi ginjal tikus putih (*Rattus norvegicus*) akibat induksi plumbum asetat.



BAB 4 METODE PENELITIAN

4.1 Tempat dan Waktu Penelitian

Penelitian dilakukan di Laboratorium Farmakologi FK UB, Laboratorium Patologi Klinik FK UB, Laboratorium Patologi Anatomi FK UB serta Laboratorium Kimia Dasar Fakultas Teknik Kimia Politeknik Malang. Penelitian ini akan dilaksanakan dari 11 September - 15 Oktober 2017.

4.2 Populasi dan Sampel

Populasi yang digunakan dalam penelitian ini adalah tikus putih (*Rattus norvegicus*) jantan strain *Wistar*, berumur 8-10 minggu, dengan berat badan rata-rata yakni 150 gram. Tikus ini diperoleh dari Laboratorium Farmakologi FK UB, Malang.

4.3 Rancangan Penelitian

Penelitian ini bersifat eksperimental dengan desain *post test only control group* menggunakan Rancangan Acak Lengkap (RAL). Rancangan eksperimental yang digunakan adalah rancangan eksperimen sederhana di mana subjek dibagi menjadi 5 kelompok. Setiap kelompok hewan coba terdiri dari masing-masing 4 ekor. Kelompok 1 adalah tikus yang tidak diberi perlakuan, hanya diberi pakan berupa ransum basal berbentuk pelet yang mengandung karbohidrat, protein, lemak, mineral, dan vitamin, serta diberikan air minum (kontrol negatif). Kelompok 2 adalah tikus yang diinduksi dengan plumbum asetat asetat 10 mg/ekor/hari (kontrol positif). Kelompok 3 adalah kelompok preventif 1, tikus diberi madu hutan sumbawa dengan dosis 25 mg/kg BB dan diinduksi dengan plumbum asetat 10 mg/ekor/hari. Kelompok

4 adalah kelompok preventif 2, tikus diberi madu hutan sumbawa dengan dosis 50 mg/kg BB dan diinduksi dengan plumbum asetat 10 mg/ekor/hari. Kelompok 5 adalah kelompok preventif 3, tikus diberi madu hutan sumbawa dengan dosis 75 mg/kg BB dan diinduksi dengan plumbum asetat 10 mg/ekor/hari.

Tabel 4.1 Dua Arah Perlakuan dan Ulangan

Perlakuan	Ulangan				Total	Rata-rata
	1	2	3	4		
Kelompok 1 (kontrol negatif)						
Kelompok 2 (kontrol positif, induksi plumbum asetat 10 mg/ekor/hari.						
Kelompok 3 (madu hutan sumbawa 25 mg/kg BB/hari + induksi plumbum asetat 10 mg/ekor/hari.						
Kelompok 4 (madu hutan sumbawa 50 mg/kg BB/hari + induksi plumbum asetat 10 mg/ekor/hari.						
Kelompok 5 (madu hutan sumbawa 75 mg/kg BB/hari + induksi plumbum asetat 10 mg/ekor/hari.						

4.4 Penetapan Jumlah Perlakuan dan Ulangan

Estimasi besaran sampel dihitung berdasarkan rumus berikut

(Kusriningrum, 2008) :

$$P(n - 1) \geq 15$$

$$5(n - 1) \geq 15$$

$5n - 5$	≥ 15	Keterangan :
$5n$	≥ 20	P : jumlah perlakuan
n	≥ 4	n : jumlah pengulangan

Penelitian ini memiliki lima perlakuan, dengan dasar rumus diatas diperoleh jumlah pengulangan yakni sebanyak lebih dari atau sama dengan empat kali pengulangan. Jumlah pengulangan yang diambil yakni empat kali, sehingga sampel yang diperoleh pada penelitian ini sebanyak 20 ekor hewan coba, tikus putih jantan (*Rattus norvegicus*).

4.5 Karakteristik Sampel Penelitian

4.5.1 Kriteria Inklusi

- Tikus putih (*Rattus norvegicus*) strain wistar, berumur 8 - 10 minggu.
- Berat badan rata-rata 150 gram.
- Jenis kelamin jantan.
- Sehat, ditandai dengan gerakan yang aktif, tidak cacat dan matanya jernih.

4.5.2 Kriteria Eksekusi

- Tikus putih yang sakit dan mati saat penelitian.

4.6 Variabel Penelitian

Adapun variabel yang digunakan dalam penelitian ini yaitu :

Variabel bebas	: dosis pemberian madu hutan Sumbawa dan dosis pemberian plumbum asetat.
Variabel terikat	: kadar <i>Blood Urea Nitrogen</i> (BUN) dan gambaran histopatologi ginjal.
Variabel kontrol	: umur, jenis kelamin, berat badan dan pakan.

4.7 Alat dan Bahan

4.7.1 Alat

Alat yang digunakan dalam penelitian ini antara lain kandang tikus dengan panjang 25,75 cm, lebar 17,5 cm, dan tinggi 17,5 cm, tempat makan, botol minum, sonde lambung, papan bedah, *disceting set*, spuit 1 cc, spuit 3 cc, mikropipet, mikrotube, timbangan digital, *water bath*, pengaduk kaca, labu erlenmayer, *object glass*, *cover glass*, *pot sample*, kertas label, spidol, *hot plate*, *whole blood tube 3 cc*, sentrifus, mikroskop BX51, *microtome*, *spektrofotometer*, *icebox* dan *refrigerator*.

4.7.2 Bahan

Bahan yang digunakan dalam penelitian ini adalah tikus putih (*Rattus norvegicus*) strain Wistar umur 8-10 minggu, berat badan rata-rata 150 g, sekam halus, madu hutan Sumbawa, plumbum asetat, aquades, minyak jagung, *Natrium chlorida (NaCl)* 0,9%, *Paraformaldehyde (PFA)* 4%, alkohol 70%, 80%, 90%, 95%, 100%, xylol I, xylol II, xylol III, parafin cair, *Hematoxylin*, *Eosin*, *Hydrochloric acid (HCl)* 0,6%, *Lithium carbonat* 0,5%, *Entellan/canada balsam*, *aluminium foil*, larutan standart urea, reagen 1 (*Trishydroxymethylaminomethane (TRIS)* pH 7,8, *Adenosine diphosphate (ADP)*, urease, *Glutamate dehydrogenase (GLDH)*, reagen 2 (*Nicotinamide adenin dinucleotide (NADH)*), masker dan gloves.

4.8 Prosedur Penelitian

4.8.1 Pembagian Kelompok Tikus

Tikus yang digunakan sebanyak 20 ekor, dimana nantinya terbagi dalam 5 kelompok perlakuan dan masing-masing perlakuan terdiri dari 4 ekor tikus.

Pembagian kelompok sebagai berikut :

1. Kelompok pertama sebagai kontrol negatif. Tikus tanpa diberikan perlakuan, hanya diberi pakan berupa ransum basal berbentuk pelet yang mengandung karbohidrat, protein, lemak, mineral dan vitamin serta air minum.
2. Kelompok kedua sebagai kontrol positif. Tikus diberi pakan, air minum dan juga induksi plumbum asetat sebanyak 10 mg/ekor/hari selama 14 hari. Induksi diberikan pada hari ke 15 sampai ke 28.
3. Kelompok ketiga sebagai kelompok preventif pertama. Tikus diberi pakan, air minum, madu hutan Sumbawa dengan dosis 25 mg/kg BB, diberikan selama 28 hari, pada hari ke 1 sampai ke 28. Pemberian plumbum asetat sebanyak 10 mg/ekor/hari, diberikan pada hari ke 15 sampai ke 28.
4. Kelompok keempat sebagai kelompok preventif kedua. Tikus diberi pakan, air minum, madu hutan Sumbawa dengan dosis 50 mg/kg BB, diberikan selama 28 hari, pada hari ke 1 sampai ke 28. Pemberian plumbum asetat sebanyak 10 mg/ekor/hari, diberikan pada hari ke 15 sampai ke 28.

5. Kelompok kelima sebagai kelompok preventif ketiga. Tikus diberi pakan, air minum, madu hutan Sumbawa dengan dosis 75 mg/kg BB, diberikan selama 28 hari, pada hari ke 1 sampai ke 28. Pemberian plumbum asetat sebanyak 10 mg/ekor/hari, diberikan pada hari ke 15 sampai ke 28.

4.8.2 Aklimatisasi

Aklimatisasi hewan coba dilakukan selama 7 hari bertujuan agar tikus menyesuaikan diri terhadap lingkungan yang baru. Tikus dikandangkan sesuai kelompok perlakuan dalam kandang dengan ukuran panjang kurang lebih 25,75 cm, lebar 17,5 cm, dan tinggi 17,5 cm. Tikus diberikan ransum basal berbentuk pelet yang mengandung karbohidrat, protein, lemak, mineral dan vitamin (AOAC, 2005) dan air minum diberikan secara ad libitum serta dipelihara pada ruang dengan suhu 26 -27°C dengan kelembapan 50 - 60% (Lina dkk., 2003).

4.8.3 Pemberian Madu Hutan Sumbawa

Pemberian madu hutan Sumbawa dilakukan secara sonde lambung. Kelompok perlakuan satu diberikan dosis sebanyak 25 mg/kg BB, kelompok perlakuan kedua diberikan dosis sebanyak 50 mg/kg BB dan kelompok perlakuan ketiga diberikan dosis sebanyak 75 mg/kg BB, diberikan selama 28 hari berturut-turut pada hari ke 1 sampai dengan hari ke 28.

4.8.4 Pemberian Plumbum asetat

Pemberian plumbum asetat pada tikus dilakukan dengan sonde lambung. Plumbum asetat yang diberikan yaitu plumbum asetat yang berbentuk serbuk

putih sebanyak 0,16 g dilarutkan dengan 16 mL aquades, dan diinduksikan sebanyak 1 mL/ekor/hari. Kelompok kontrol positif, diinduksi dengan plumbum asetat sebanyak 10 mg/ekor/hari selama 14 hari, pada hari ke 15 sampai dengan hari ke 28. Kelompok perlakuan satu, dua dan tiga diinduksi dengan plumbum asetat sebanyak 10 mg/ekor/hari selama 14 hari, pada hari ke 15 sampai dengan hari ke 28. Pemberian dosis tersebut berdasarkan penelitian sebelumnya Suprijono dkk (2011), dimana pemberian Plumbum asetat dengan dosis 10 mg/ekor/hari dapat menyebabkan peningkatan degenerasi dan nekrosis pada sel hepar.

4.8.5 Pengambilan Ginjal Tikus (*Rattus norvegicus*)

Pengambilan ginjal tikus pada hari ke 29. Pertama, tikus dieuthanasia dengan cara dislokasi leher, kemudian diposisikan rebah dorsal dan diletakkan di papan bedah. Lalu dibedah, organ dikeluarkan satu persatu termasuk ginjal, kemudian dicuci menggunakan *Natrium chlorida* (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 ke dalam larutan *Paraformaldehyde* (PFA) 4%.

4.8.6 Pembuatan Preparat Histopatologi

Organ ginjal yang sudah difiksasi dalam *Paraformaldehyde* (PFA) 4% kemudian melalui tahap berikut :

- a. *Dehidrasi*, yaitu untuk mengeluarkan air dari jaringan agar jaringan tersebut dapat diisi dengan parafin sehingga jaringan dapat diiris tipis.

Kemudian ginjal dimasukkan dalam alkohol 70%, 80%, 90%, 95%, 100%, masing-masing selama 2 jam.

- b. *Clearing*, untuk membuat jaringan ginjal jernih dan transparan, dimasukkan dalam xylol I selama 1 jam, xylol II selama 30 menit, dan xylol III selama 30 menit.
- c. *Embedding*, yaitu proses memasukkan jaringan ginjal kedalam parafin cair untuk dibuat blok yang padat. Jaringan dimasukkan dalam parafin yang ditempatkan dalam inkubator bersuhu 58-60°C.
- d. *Sectioning*, yaitu proses pemotongan jaringan ginjal dengan *microtome*. Ginjal dalam blok parafin dipotong dengan ketebalan 4-6 μm agar tembus cahaya pada saat diperiksa dengan menggunakan mikroskop. Kemudian direndam dalam *water bath* untuk menghilangkan kerutan halus pada preparat dengan suhu 40°C, dikeringkan pada suhu 26-27°C.
- e. *Mounting*, yaitu proses penempelan jaringan ke *object glass*. Jaringan ginjal ditempelkan pada *object glass*, lalu dikeringkan di atas *hot plate* 38-40°C sampai kering kemudian disimpan pada inkubator dengan suhu 37°C selama 24 jam, lalu preparat ginjal siap melalui tahap pewarnaan (Wati dkk., 2013). Pembuatan preparat histopatologi ginjal secara lengkap dapat dilihat pada **Lampiran 5**.

4.8.7 Pewarnaan Hematoxylin Eosin (HE)

Pewarnaan preparat dengan *Hematoxylin Eosin* (HE) untuk mewarnai jaringan. Zat warna *Hematoxylin* untuk memberi warna biru pada inti sel dan

Eosin memberi warna merah muda pada sitoplasma sel. Berikut merupakan tahapan pewarnaan yang dilakukan :

- a. *Deparafinasi*, yaitu untuk menghilangkan dan melarutkan parafin yang terdapat pada jaringan. Preparat dimasukkan dalam xylol I dan II masing-masing selama 5 menit.
- b. *Rehidrasi*, yaitu untuk memasukkan air ke dalam 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. *Differensiasi*, untuk mengurangi warna biru yang pekat pada inti sel dan menghilangkan warna biru pada sitoplasma. Preparat dimasukkan dalam *Hydrochloric 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 dimasukkan 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 dimasukkan dalam *Eosin* selama 3 menit.
- g. *Dehidrasi*, untuk menghilangkan air dari jaringan. Preparat dimasukkan dalam alkohol 80%, 90%, 100%, masing-masing selama 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. *Mounting*, untuk mengawetkan jaringan yang telah diwarnai. Preparat diberi *Entellan/canada balsam* dan ditutup dengan *cover glass* (Jusuf, 2009). Pewarnaan *Hematoxylin Eosin* (HE) secara lengkap dijelaskan pada **Lampiran 6**.

4.8.8 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 meliputi perubahan struktur glomerulus, tubulus ginjal, dan nekrosis.

4.8.9 Pengukuran Kadar *Blood Urea Nitrogen* (BUN)

Sampel darah dikoleksi dari jantung tikus, kemudian dimasukkan ke dalam *whole blood tube 3 cc (plain tube)*. Setelah itu didisentrifus dengan kecepatan 5000 rpm selama 10 menit. Serum diambil dengan menggunakan mikropipet sebanyak 100 μ l dan dimasukkan ke dalam mikrotube.

Selanjutnya, dilakukan pengamatan dan pengukuran kadar *Blood Urea Nitrogen* (BUN). Disiapkan sampel serum tikus, larutan urea standar, larutan reagen 1 : *Trishydroxymethylaminomethane* (TRIS) ph 7,8, *Adenosinediphosphate* (ADP), *Urease*, *Glutamate dehydrogenase* (GLDH) dan reagen 2 : *Nicotinamide Adenin Dinucleotide* (NADH).

Dimasukkan larutan reagen 1 sebanyak 1000 μ l, larutan standar urea/kreatinin sebanyak 10 μ l, reagen 1 sebanyak 1000 μ l, larutan sampel rikus sebanyak 10 μ l, reagen 1 sebanyak 1000 μ l dengan mikropipet kedalam kuvet. Setelah itu, diinkubasi selama 5 menit, kemudian ditambahkan reagen 2 sebanyak 250 μ l. Setelah itu, diinkubasi kembali selama 1 menit. Kemudian diukur kadar *Blood Urea Nitrogen* (BUN) dengan alat spektrofotometer pada panjang gelombang 340 nm selama 10 menit (Vetlearn, 2011). Pengukuran kadar *Blood Urea Nitrogen* (BUN) secara lengkap dapat dilihat pada **Lampiran 7.**

4.9 Analisa Data

Data penelitian berupa pengukuran kadar *Blood Urea Nitrogen* (BUN) dengan metode spektrofotometri menggunakan alat spektrofotometer. Selanjutnya, dilakukan analisa kuantitatif dengan menggunakan analisa ragam *Analysis Of Varians* (ANOVA).

Kemudian untuk mengetahui apakah ada perbedaan antar perlakuan dilanjutkan dengan Uji Beda Nyata Jujur (BNJ) atau *Tukey Test* dengan tingkat signifikansi $\alpha = 0,05$ menggunakan *Microsoft Office Excel* dan *Statistical Package for The Social Science* (SPSS) *version 21.0 for windows*. Sementara itu, hasil pengamatan histopatologi ginjal dianalisa kualitatif secara deskriptif meliputi perubahan pada glomerulus dan tubulus proksimal ginjal berupa adanya hipertrofi pada lumen tubulus, vakuolisasi, pelebaran ruang bowman serta adanya nekrosis karioreksis.

BAB 5 HASIL DAN PEMBAHASAN

5.1 Pengaruh Preventif Madu Hutan Sumbawa terhadap Kadar *Blood Urea Nitrogen* (BUN) pada Tikus Putih (*Rattus norvegicus*) yang diinduksi Plumbum Asetat.

Pada penelitian ini dilakukan pengukuran kadar *Blood Urea Nitrogen* (BUN) dalam serum darah tikus, didapatkan dengan pengukuran nilai absorbansi yang dilakukan dengan menggunakan spektrofotometer. Ureum merupakan produk akhir katabolisme protein dan asam amino yang diproduksi oleh hati dan didistribusikan melalui cairan intraseluler dan ekstraseluler ke dalam darah untuk kemudian difiltrasi oleh glomerulus (Gowda *et al.*, 2010). Pengukuran ureum serum dapat dipergunakan untuk mengevaluasi fungsi ginjal, status hidrasi, menilai keseimbangan nitrogen, menilai progresivitas penyakit ginjal, dan menilai hasil hemodialisis. Adanya peningkatan kadar BUN umumnya menunjukkan adanya penurunan pada fungsi ginjal.

Hasil uji kadar BUN serum darah tikus selanjutnya dilakukan analisa secara kuantitatif dengan menggunakan uji *one way analysis of variant* (ANOVA) dan dilakukan uji lanjutan dengan uji *Tukey* seperti yang ditunjukkan pada **Tabel 5.1**.

Berdasarkan analisis statistika menggunakan uji *one way* ANOVA menunjukkan bahwa pemberian madu sebagai terapi preventif pada tikus induksi plumbum asetat memberikan pengaruh yang berbeda nyata ($P < 0,05$) terhadap kadar *Blood Urea Nitrogen* (BUN). Hasil analisa dilanjutkan dengan uji *Tukey* yaitu didapatkan nilai pada kontrol positif (**K2**) berbeda nyata ($P < 0,05$) dengan kontrol negatif (**K1**), dengan nilai rata-rata kadar BUN sebesar 21,5 (mg/dL),

yang artinya induksi plumbum asetat dapat meningkatkan kadar BUN dalam darah. Sedangkan pada kontrol negatif (**K1**) didapatkan nilai rata-rata kadar BUN sebesar 17,05 (mg/dL). Nilai tersebut nantinya dijadikan sebagai acuan dalam keberhasilan terapi preventif menggunakan madu hutan sumbawa akibat induksi plumbum asetat.

Tabel 5.1 Rata-rata kadar BUN pada kelompok perlakuan hewan coba

Kelompok	Rata-rata Kadar BUN (mg/dL)	(% Kadar BUN)	
		Peningkatan	Penurunan
K1 (Kontrol negatif)	17,05 ± 1,72 ^a	-	-
K2 (Kontrol positif)	21,5 ± 0,76 ^c	26,1%	-
K3 (dosis 25 mg/Kg BB)	20,75 ± 0,64 ^c	-	3,48%
K4 (dosis 50 mg/Kg BB)	19,85 ± 0,73 ^{bc}	-	7,67%
K5 (dosis 75 mg/Kg BB)	17,6 ± 1,40 ^{ab}	-	18,1%

Keterangan : Perbedaan notasi a,b,c menunjukkan adanya perbedaan yang signifikan antar kelompok perlakuan dengan nilai ($p < 0,05$).

Kelompok kontrol positif (**K2**), hasil rata-rata kadar BUN mengalami peningkatan sebesar 26,1% dari kontrol negatif (**K1**). Hal tersebut dikarenakan plumbum asetat yang masuk kedalam tubuh melalui saluran pencernaan akan dicerna dan diabsorpsi dalam usus halus, kemudian masuk ke dalam peredaran darah. Timbal dalam darah akan berikatan dengan eritrosit, sehingga menghambat aktivitas enzim oksidase (Yulaipi, 2013). Plumbum sebagai racun bekerja terhadap enzim-enzim yang kaya akan gugus *sulfidril* (SH) seperti ALA *dehidratase* (ALA-D) dan dalam mitokondria yaitu ALA sintetase dan hemesintetase (Sugiharto, 2004). Penghambatan terhadap *Delta Aminolevulinic Acid Dehidrogenase* (δ ALAD), enzim utama dalam biosintesa heme, menyebabkan peningkatan kadar substrat ALA (*aminolevulinic acid*) baik dalam

darah maupun urine individu yang terkena. Peningkatan kadar ALA menyebabkan pembentukan hydrogenperoksida, radikal superoksida dan juga interaksi keduanya menghasilkan radikal hidroksil, suatu radikal bebas yang paling reaktif (Ribarov *et al.*, 2001). Tahapan-tahapan oksidasi ALA dan oksihemoglobin membentuk ROS menyebabkan peningkatan jumlah ROS di dalam tubuh, yang apabila jumlahnya berlebih akan mengaktifasi NF-kB yang berperan dalam proses inflamasi. Menurut Tak and Firestain (2001), salah satu jalur yang diaktifkan oleh ROS adalah NF-kB. NF-kB bertindak sebagai regulator inflamasi. Saat teraktivasi, NF-kB merangsang transkripsi gen inflamatori, dan dapat terjadi pada sel endotel, otot polos dan makrofag. Jumlah radikal yang berlebih mengakibatkan stress oksidatif dan menyebabkan terjadinya peroksidasi lipid. Peroksidasi lipid memicu terjadinya degenerasi sel dan kerusakan pada organ terutama ginjal. Kerusakan ginjal diikuti dengan peningkatan kadar *Blood Urea Nitrogen* (BUN).

Hasil nilai rata-rata kadar BUN pada terapi preventif dengan dosis madu 25 mg/kg BB (**K3**) yaitu 20,75 (mg/dL) dengan presentase penurunan sebesar 3,48% dari kelompok kontrol positif. Pada kelompok perlakuan ini belum menunjukkan penurunan kadar BUN yang signifikan dibandingkan dengan kelompok positif. Kelompok dosis madu 50 mg/kg BB (**K4**) nilai rata-rata kadar BUN yaitu 19,85 (mg/dL) dengan presentase penurunan sebesar 7,67% dari kelompok kontrol positif. Pada kelompok perlakuan ini belum menunjukkan penurunan kadar BUN yang signifikan dibandingkan dengan kelompok positif. Kelompok dosis madu 75 mg/kg BB (**K5**) nilai rata-rata kadar BUN sebesar

17,6 (mg/dL) dengan presentase penurunan sebesar 18,1%, yang artinya dosis tersebut mampu menurunkan kadar BUN secara signifikan dibandingkan kelompok kontrol positif walaupun tidak memiliki perbedaan yang signifikan dengan **K4** dan **K1** (Tabel 5.1)

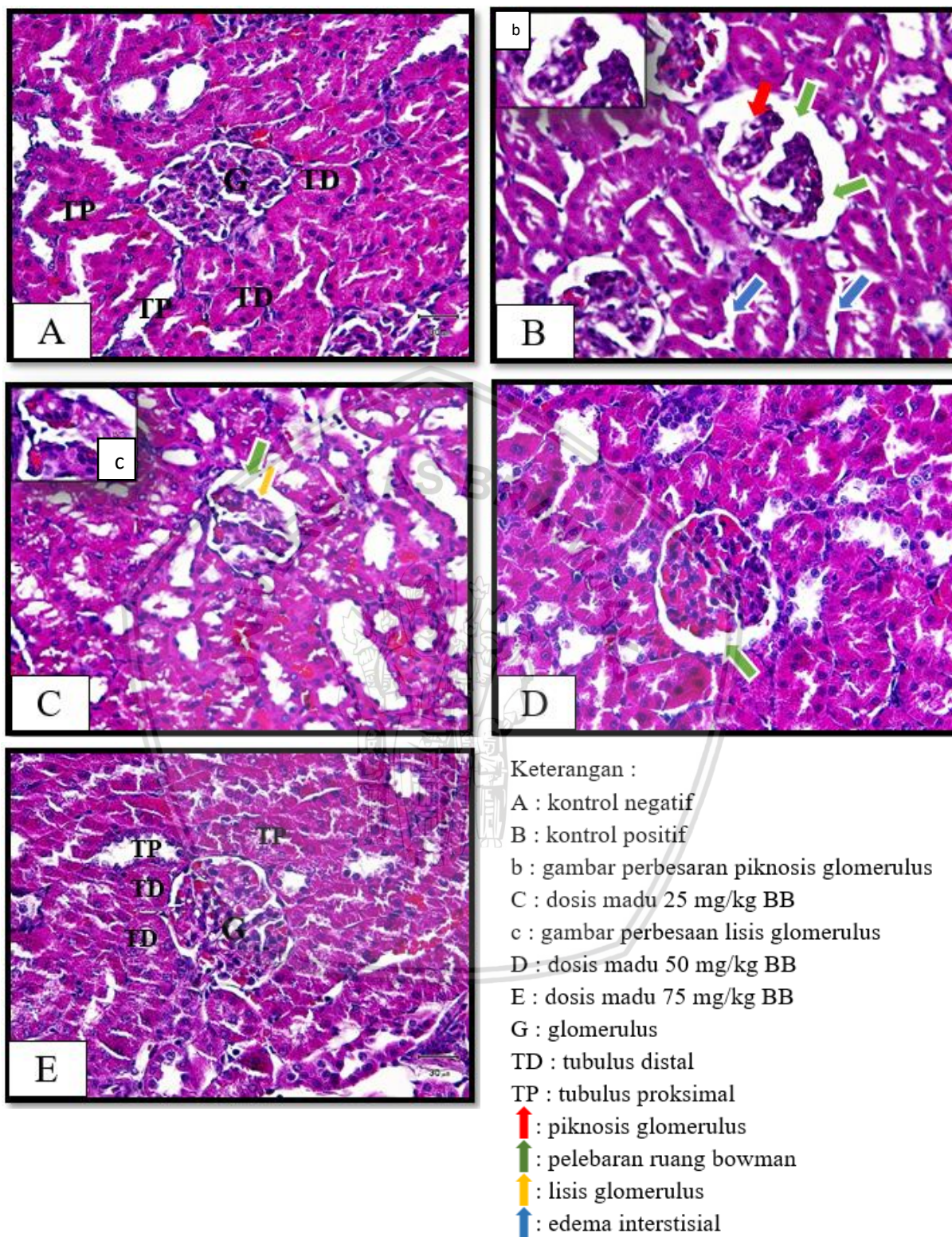
Berdasarkan hasil kadar nilai BUN pada kelompok dosis preventif 25 mg/kg BB, 50 mg/kg BB dan 75 mg/kg BB, semakin tinggi dosis preventif yang diberikan, semakin rendah kadar *Blood Urea Nitrogen* (BUN). Hal tersebut disebabkan pemberian madu hutan sumbawa yang mengandung antioksidan yaitu flavonoid. Flavonoid merupakan salah satu metabolit sekunder yang dihasilkan oleh tanaman. Flavonoid memiliki aktivitas antioksidan yaitu penangkap radikal bebas serta peredam terbentuknya oksigen singlet (O^{\cdot}) (Trianggadewi, 2010). Berdasarkan strukturnya, flavonoid memiliki lebih dari satu gugus fenol (gugus -OH dan aromatik) serta mempunyai ikatan rangkap yang terkonjugasi, sehingga mampu untuk menangkap radikal bebas (Rahmah, 2012). Senyawa flavonoid yang terdapat pada madu hutan sumbawa berperan dalam mekanisme penghambatan peroksidasi lipid. Flavonoid mampu mendonorkan satu atom hidrogen dari gugus hidroksil (OH) fenolik pada saat bereaksi dengan radikal bebas. Flavonoid pada madu berperan dalam menangkap dan menangkalkan radikal bebas (*scavanger*). Penurunan stress oksidatif dapat menurunkan kerusakan peroksidasi lipid dan protein, sehingga kerusakan sel-sel dan jaringan pada organ ginjal dapat berkurang, diikuti dengan penurunan kadar *Blood Urea Nitrogen* (BUN).

Penggunaan terapi preventif madu hutan Sumbawa pada dosis 75 mg/kg BB menunjukkan penurunan rata-rata kadar *Blood Urea Nitrogen* (BUN) hingga mendekati kontrol negatif (tanpa perlakuan), sehingga penggunaan terapi preventif madu hutan Sumbawa dosis 75 mg/kg BB merupakan dosis madu hutan Sumbawa yang terbaik dalam penelitian ini.

5.2 Pengaruh Preventif Madu Hutan Sumbawa terhadap Histopatologi Ginjal pada Tikus Putih (*Rattus norvegicus*) yang diinduksi Plumbum Asetat.

Secara histologis, ginjal tikus dibagi menjadi dua wilayah yaitu korteks dan medulla. Ginjal terdiri dari jutaan unit fungsional ginjal yaitu unit nefron. Unit nefron ginjal terdiri dari glomerulus, tubulus proksimal, loop henle ascendant dan descendant, tubulus distal, dan duktus kolektivus. Korteks ginjal didominasi oleh glomerulus, tubulus proksimal, dan tubulus distal sedangkan medulla didominasi oleh loop henle dan duktus kolektivus (Mescher, 2013).

Pengamatan terhadap gambaran histopatologi ginjal tikus putih (*Rattus norvegicus*) dilakukan pada setiap kelompok perlakuan. Pengamatan dilakukan secara langsung terhadap histopatologi ginjal menggunakan mikroskop *Olympus BX51*. Hasil pengamatan selanjutnya dijelaskan secara deskriptif kualitatif. Adapun yang diamati pada gambaran histopatologi ginjal tikus putih (*Rattus norvegicus*) menggunakan perbesaran 400X yaitu Glomerulus, tubulus proksimal dan tubulus distal.



Gambar 5.1 Gambaran Histopatologi Ginjal dengan Pewarnaan HE dan Perbesaran 400x.

Hasil dari pengamatan histopatologi ginjal tikus putih dengan pewarnaan *Hematoxylin Eosin* (HE) dengan perbesaran 400x, dengan mengamati abnormalitas pada glomerulus, tubulus distal dan tubulus proksimal. Perubahan yang diamati seperti pelebaran ruang bowman, piknosis pada glomerulus, lisis pada glomerulus, dan edema interstisial (**gambar 5.1**).

Gambar 5.1A merupakan gambaran histopatologi dari kelompok tikus kontrol negatif. Pada gambar terlihat susunan normal dari nefron ginjal, meliputi glomerulus, tubulus kontortus proksimal dan tubulus kontortus distal. Pada keadaan normal glomerulus tidak dapat dilalui oleh protein yang bermolekul besar, tetapi pada keadaan patologis protein tersebut dapat lolos (Junquiera dan Carneiro, 2002). Sel tubulus selain berfungsi mereabsorpsi, juga menambahkan zat-zat kimiawi seperti asam urat, amonia, kreatin, ion hidrogen dan beberapa obat ke dalam urin sekunder sehingga tubuh dapat terbebas dari zat-zat berbahaya. Pada disfungsi glomerulus, bahan-bahan asing tiba di tubulus dalam kadar yang abnormal melalui ruang bowman. Hal ini menyebabkan sel epitel tubulus mengalami degenerasi bahkan kematian jika terlalu banyak bahan-bahan yang harus diserap kembali (Junquiera dan Carneiro, 2002). Tubulus proksimal memiliki fungsi utama yaitu menyerap kembali natrium, albumin, glukosa dan air dan juga bermanfaat dalam penggunaan kembali bikarbonat. Epitelium tubulus proksimalis merupakan bagian yang paling sering terserang iskemia atau rusak akibat toksin, karena kerusakan yang terjadi akibat laju metabolisme yang tinggi (Suyanti, 2008). Secara morfologis kerusakan glomerulus ditandai dengan terjadinya nekrosis dan proliferasi dari sel membran serta infiltrasi leukosit. Rusaknya glomerulus secara

fungsional ditandai dengan berkurangnya perfusi aliran darah, lolosnya protein dan makromolekul lain dalam jumlah yang besar pada filtrat glomerulus. Kerusakan pada glomerulus juga dapat berupa atrofi sekunder pada tubulus renalis (Soeksmanto, 2006).

Gambar 5.1B merupakan gambar histologi dari kelompok positif, dimana tikus tersebut diberikan induksi plumbum asetat. Pada glomerulus terlihat adanya pelebaran pada ruang bowman, piknosis glomerulus, serta terjadi edema interstisial tubulus ginjal. Menurut *Kidney Failure* (2013), penurunan kadar protein dalam tubuh mengakibatkan edema karena terjadi penurunan tekanan osmotik plasma sehingga cairan dapat berpindah dari intravaskular menuju interstisial. Pelebaran ruang bowman disebabkan karena terjadinya atrofi glomerulus, yaitu menurunnya ukuran jaringan yang disebabkan oleh berkurangnya sel atau bekurangnya ukuran sel. **Gambar 5.1C** merupakan gambaran histologi dari kelompok terapi preventif pertama dengan dosis madu yaitu 25 mg/kg BB, terlihat adanya pelebaran ruang bowman dan lisis pada glomerulus. Lisis merupakan hancurnya sel karena rusaknya membran plasma. **Gambar 5.1D** merupakan gambaran histologi dari kelompok terapi preventif kedua dengan dosis madu yaitu 50 mg/kg BB, terlihat pelebaran pada ruang bowman tetapi telah berkurang. **Gambar 5.1E** merupakan gambar histologi dari kelompok terapi preventif ketiga dengan dosis madu yaitu 75 mg/kg BB, tidak terlihat lagi adanya pelebaran pada ruang bowman. Kelompok perlakuan terapi preventif dengan dosis madu 75 mg/kg BB menunjukkan adanya perbaikan pada struktur nefron ginjal yaitu pada glomerulus, tubulus kontortus proksimal dan tubulus kontortus distal. Dapat disimpulkan bahwa dosis madu

tersebut merupakan dosis terbaik untuk mencegah kerusakan organ ginjal akibat induksi plumbum asetat. Kandungan senyawa antioksidan yang terdapat pada madu dapat digunakan untuk menangkal adanya radikal bebas didalam tubuh. Menurut Latumahina *et al* (2011), senyawa antioksidan dalam madu berperan untuk melindungi sel normal, menetralsir radikal bebas, menangkap oksidan, mencegah reaksi berantai serta mencegah terbentuknya radikal bebas yang baru sehingga dapat menghambat stress oksidatif pada ginjal.



BAB 6 PENUTUP

6.1 Kesimpulan

1. Pemberian terapi madu hutan Sumbawa dosis 25 mg/kg BB, 50 mg/kg BB, dan 75 mg/kg BB dapat menurunkan kadar *Blood Urea Nitrogen (BUN)* tikus putih (*Rattus norvegicus*) terhadap induksi plumbum asetat, dengan dosis terbaik yakni 75 mg/kg BB.
2. Pemberian terapi preventif madu hutan Sumbawa dengan dosis 75 mg/kg BB mampu memperbaiki kerusakan organ ginjal, pada glomerulus, tubulus kontortus proksimal dan tubulus kontortus distal akibat induksi plumbum asetat.

6.2 Saran

1. Diperlukan penelitian lebih lanjut untuk mengetahui dosis efektif madu hutan Sumbawa dalam terapi preventif pada tikus putih (*Rattus norvegicus*) yang diinduksi plumbum asetat.

DAFTAR PUSTAKA

- Adiyati, P.N. 2011. *Ragam Jenis Ektoparasit Pada Hewan Coba Tikus Putih (Rattus norvegicus) Galur Sparague Dawley* [Skripsi]. Bogor: Fakultas Kedokteran Hewan Institut Pertanian Bogor.
- Alatas, H., Tambunan, T., Trihono, P dan Pardede, S. 2002. *Buku Ajar Nefrologi Anak*. Jakarta: Balai Penerbit FKUI, hal 51-72.
- AOAC, International. 2005. *Officials Methods of Analysis of AOAC International*. 2 Vols. 16 Edition. Arlington VA. USA. Association of Analytical Community.
- Ardyanto, D. 2005. *Deteksi Pencemaran Timah Hitam (Pb) dalam Darah Masyarakat yang Terpajan Timbal (Plumbum)*. JKL. 2(1): 67-77.
- Dedy, S. 2008. *Pengaruh Proteksi Vitamin C terhadap Enzim Transaminase dan Gambaran Histopatologi Hepar Mencit yang Dipapar Plumbum* (Tesis). Sumatera Utara: Universitas Sumatera Utara.
- Dellmann, H.D and Brown, E.M. 1992. *Buku Teks Histologi Veteriner II*. Edisi ke-3. Hartono, Penerjemah; Jakarta (ID): UI Pr. Terjemahan dari: Textbook of Veterinary Histology.
- Dharmawan, N.S. 2002. *Pengantar Patologi Klinik Veteriner, Hematologi Klinik*. Denpasar: Universitas Udayana.
- Focosi, D. 2009. Physiology Of Adult Homo Sapiens-Urinary Apparatus. [http://www6.Ufrgs.Br/Favet/Imunovet/Molecular Immunology/Kidney.Html](http://www6.Ufrgs.Br/Favet/Imunovet/Molecular%20Immunology/Kidney.Html).
- Gordon. 2001. *The Mechanisme of Antioxidant Action In Vitro*. In: B.J.F.Hudson (Ed.), Food Antioxidant. Elsevier Applied Science. London and New York. Pp. 1-15.
- Gowda, S., Desai, P.B., Kulkarni, S.S., Hull, V.V., Math, A.A.K., and Vernekar S.N. Markers of renal function tests. *N Am J Med Sci*. 2010; 2(4): 170-3.
- Guyton, A.C and Hall, J.E. 1997. *Buku Ajar Fisiologi Kedokteran*. Jakarta: EGC.
- Guyton A.C and Hall J.E. 2007. *Ginjal dan Cairan Tubuh*. Dalam: *Buku Ajar Fisiologi Kedokteran*. Edisi XI. Jakarta: EGC, pp 307-9.
- Hariono, B. 2005. Effect of Inorganic Lead Administration in Rats (*Rattus norvegicus*). *J.Sain Vet*. 23(2): 108-118.
- Horne, M.M and Swearingen, L.P. 2001. *Keseimbangan Cairan Elektrolit Asam Basa (Edisi Kedua)*. Jakarta: EGC.
- Ibrahim, N.M., Eweis, E.A., El-beltagi, H.S and Abdel-mobdy, Y.E. 2012. Effect of Lead Acetate Toxicity on Experimental Male Albino Rat. *Asian Pasific Journal of Tropical Biomedicine*. 2(1):41-46.



- Junqueira, L.C and Carneriro, J. 2007. *Histologi Dasar Teks dan Atlas*. 10th ed. Jakarta: EGC.
- Jusuf, A.A. 2009. *Histoteknik Dasar*. Bagian Histologi Fakultas Kedokteran Universitas Indonesia. Depok.
- Khadr, M.E., Mahdy, K.A., El-Shamy, K.A., Morsy, F.A., El-Zayat, S.R and Abd-Allah, A.A. 2007. Antioxidant Activity and Hepatoprotective Potential of Black Seed, Honey and Experimental Liver Injuries Induced by CCL₄ in Rats. *Journal of Applied Sciences* 7 (24):3909-3917.
- Kidney Failure. 2013. *Edema in Chronic Kidney Disease*. <<http://www.kidneyfailureweb.com/ckd/889.html>> [Diakses tanggal 6 Oktober 2014].
- Krinke, G.J. 2000. *The Laboratory Rat*. San Diego,CA: Academic Press. Hal:150-152.
- Kusriningrum, R. 2008. *Dasar Perancangan Percobaan dan Rancangan Acak Lengkap*. Fakultas Kedokteran Hewan Universitas Airlangga Surabaya.
- Laksmi, N.I.K., Anom, D dan Damriyasa, I.M. 2014. Bioaktivitas Ekstrak Daun Tapakdara (*Catharanthus roseus*) terhadap Kadar Kreatinin dan Kadar Ureum Darah Tikus Putih (*Rattus norvegicus*). *Buletin veteriner Udayana* Vol 6 nzo 2. FKH Universitas Udayana.
- Lina, H.S., S, Listyawati dan Sutarno. 2003. Analisa Kimia - Fisika Urin Tikus Putih (*Rattus norvegicus*) Setelah Pemberian Daun Seledri (*Apium graveolens*linn). *Biosmart* Vol 5 No 1: 43 - 46.
- Latumahina, J.L., Kakisina, P., dan Moniharapon, M. 2011. Peran Madu sebagai antioksidan dalam Mencegah Kerusakan Pankreas Mencit (*Mus musculus*) Terpapar Asap Rokok Kretek. *Molucca Medica*, Vol 4 No 1: 106-116.
- Maryani, Retno., Alviya, Iis., Budiarifanti, Virni dan Salmiah, Mimi. 2013. *Melestarikan Lanskap Hutan Sumbawa melalui Penguatan Kelompok Tani Madu Hutan. Laporan Internal Proyek PKPP, Kerjasama Kemen RISTEK bersama Kementerian Kehutanan dan Pemerintah Kabupaten Sumbawa. Sumbawa Besar. Vol 7 : 13.*
- Mc. Ewen, S.A and Mc. Nab, W.B. 1997. Contaminants of Nonbiological Origin in Foods From Animals. *Rev Sci Tech Off Int Epiz.* 16(2):684–693.
- Mescher, A. 2013. *Junqueira's Basic Histology: Text Atlas, Thirteenth Edition*. McGraw Hill Professional. New York.
- Moore, K.L and Anne, M.R., 2012. *Anatomi Klinis Dasar*. Hipokrates. Jakarta. 278 – 9.
- Napitupulu, R.R.J. 2008. *Pengaruh Pemberian Kalsium Secara Oral terhadap Kadar Plumbum dalam Darah Mencit (*Mus musculus* L)*. Medan: USU Repository.

- Ostrovskaya, S.S., Shatornaya, V.F and Kolosova, I. 2011. *Combined Impact of Plumbum and Cadmium on the Organism*. Foreigning Literature Review. 2011-13.
- Palar, H. 1994. *Pencemaran dan Toksikologi Logam Berat*. Penerbit Rineka Cipta. Hlm: 23-56.
- Paula, Y.P.P. 2013. *Kajian Kadar dan Sebaran Logam Berat Timbal pada Daging, Hati dan Ginjal Sapi Potong*. Bogor: Fakultas Kedokteran Hewan Institut Pertanian Bogor.
- Pérez, E., Rodríguez-Malaver, A.J and Vit, P. Antioxidant Capacity of Venezuelan Honey in Wistar Rat Homogenates. *J Med Food*. 2006; 9(4):510-6.
- Pravitasari, L. 2006. *Pengaruh Pemberian Ekstrak Air Daun Jambu Biji (Psidium guajava linn) terhadap Kadar Kreatinin dan Urea Serum Tikus Putih (Rattus norvegicus) Jantan*. Yogyakarta: KTI Farmasi UGM.
- Priyono, O. 2013. *Kajian Kadar dan Sebaran Logam Berat Timbal (Pb) dalam Daging, Hati, dan Ginjal Ayam Broiler*. Bogor: FKH Institut Pertanian Bogor.
- Rahmah, N.L., 2012, The Potency of Sargassum duplicatum Bory Extract on Inflammatory Bowel Disease Therapy in Rattus norvegicus, *Journal of Life Sciences* 6, pp. 144-154
- Rahma, S., Natsir, R and Kabo, P. 2014. Pengaruh Antioksidan Madu Dorsata dan Madu Trigona terhadap Penghambatan Oksidasi LDL pada Mencit Hiperkolesterolemia. *JST Kesehatan*, Vol.4 No.4: 377-384
- Ribarov, S.R., Benov, L.C and Benchev, I.C. 2001. The Effect of Lead on Hemoglobin Catalyzed Lipid Peroxidation. *Biochim Biophys Acta*. 664: p 453-459.
- Robbins, S.L dan Kumar, V. 1995. *Buku Ajar Patologi Anatomi I*. Edisi IV. Alih Bahasa: Staf Pengajar Laboratorium Patologi Anatomi Fakultas Kedokteran Universitas Airlangga. Jakarta: Penerbit Buku Kedokteran EGC, pp: 8-10.
- Rosner, M.H and Bolton, W.K. 2006. Renal Function Testing. *American Journal of Kidney Diseases*. Vol. 47 (1): 174 - 183.
- Sirois, M. 2005. *Laboratory Animal Medicine*. United of State America: Mosby. Inc. Hlm 87-115.
- Snell, R.S. 2006. *Anatomi Klinik untuk Mahasiswa Kedokteran*. 6th ed. EGC: Jakarta.
- Sugiharto. 2004. *Pengaruh Infus Rimpang Temulawak (Curcuma xanthorrhiza) Terhadap Kadar Hemoglobin Jumlah Eritrosit Tikus Putih Yang Diberi Larutan Plumbum Nitrat [(PbNO₃)₂]*. Berk. Penel. Hayati: 10 (53-57)
- Suyanti, L. 2008. *Gambaran Histopatologi Hati dan Ginjal Tikus pada Pemberian Fraksi Asam Amino Non-Protein Lamtoro Merah (Acacia villosa) pada Uji Toksisitas Akut* [Skripsi]. Institut Pertanian Bogor.

- Soekanto, A. *Pengaruh Pemberian Royal Jelly Peroral Terhadap Jumlah Sel-Sel Spermatis Primer, dan Sel-Sel Spermatid pada Testis Tikus Putih (Rattus norvegicus strain Wistar) Jantan*. Fakultas Kedokteran Universitas Wijaya Kusuma. Surabaya: GIVING; 2006.
- Soeksmanto A., 2006 Pengaruh Ekstrak Butanol Buah Tua Mahkota Dewa (*Phaleria Macrocarpa*) terhadap Jaringan Ginjal Mencit (*Mus musculus*). *Jurnal Biodiversitas*. 7 (3): 278-281.
- Suprijono, A., Chodidjah and Shaher, B. Pengaruh Pemberian Timbal (Pb) Per Oral terhadap Gambaran Histopatologi Hepar. *Majalah Ilmiah Sultan Agung*. 2011;49(123):1-12.
- Tak, P.P and Firestein, G.S. 2001. NF- κ B: a key role in inflammation disease. *The Journal of Clinical Investigation*. 107 (1): 7-10.
- Tartibian, B and Maleki, B.H. The Effects of Honey Supplementation on Seminal Plasma Cytokines, Oxidative Stress Biomarkers, and Antioxidants During 8 Weeks of Intensive Cycling Training. *J Androl*. 2012; 33(3):449-461.
- Trianggadewi, D.P. 2010. *Pengaruh Pemberian Ekstrak Labu Siam (Sechium edule (Jacq.) Sw) Terhadap Kadar Kolesterol LDL Tikus Putih (Rattus norvegicus) yang Diinduksi dengan Pakan Hiperkolesterolemia* [Skripsi]. Fakultas Kedokteran, Universitas Negeri Surakarta.
- Vatlearn. 2011. *Test and Procedures: BUN and Creatine Levels*. Vetstreet. 1-2
- Wahyono, J., Hakim, A.R dan Nugroho, A.E. 2007. Profil Farmakokenetika Sulfasetamid pada Tikus Gagal Ginjal karena Diinduksi Uranil Nitrat. *Majalah Farmasi Indonesia*, 18(3), 117 - 123.
- Wardhayani, S. 2006. *Analisis Risiko Pencemaran Bahan Toksik Timbal (Pb) pada Sapi Potong di Tempat Pembuangan Akhir (TPA) Sampah Jatibarang Semarang* [tesis]. Semarang (ID): Universitas Diponegoro.75 hlm.
- Wati, I.P., Aulanni'am., dan C. Mahdi. 2013. Aktivitas Protease dan Gambaran Histologi Ginjal Tikus Putih (*Rattus norvegicus*) Pasca Induksi Cyclosporine. *A. Kimia Student Journal*. 1(2): 258
- William, P.L., James, R.C and Robert, S.M. 2000. *Principle of Toxicology; Enviromental and Industrial Application Second Edition*. United State: John Wiley & Sons, Inc.
- Winarno, F.G. 1993. *Pangan, Gizi, Tekhnologi dan Konsumen*. Jakarta: Penerbit PT Gramedia Pustaka Utama.
- Yulaipi, A. 2013. Bioakumulasi Logam Berat Timbal (Pb) dan Hubungannya dengan Laju Pertumbuhan Ikan Mujair (*Oreochromis mossambicus*). *Jurnal Sains dan Semi Pormits* 2(2): 2337-3520
- Zinadah-Abu, O.A., Alsaggaf, S.O., Shaikh, O.A.M and Hussein, H.K. Effect of Honey on Testicular Functions in Rats Exposed to Octylphenol. *Life Sci J*. 2013; 10(1):979-984.

Zulhawa, D.J. 2010. *Daya Hambat Madu Sumbawa Terhadap Pertumbuhan Kuman Staphylococcus aureus Isolat Infeksi Luka Operasi Islam Amal Sehat Sragen*. Surakarta: Universitas Sebelas Maret.

