

**PENGARUH PEMBERIAN AIR MINUM DENGAN  
TAWAS TERHADAP AKTIVITAS *SUPEROXIDE  
DISMUTASE (SOD)* DAN HISTOPATOLOGI  
GINJAL PADATIKUS PUTIH  
(*Rattus norvegicus*)**

**SKRIPSI**

Oleh:  
**TIARA ANGGRAENI**  
**155130107111005**



**PROGRAM STUDI KEDOKTERAN HEWAN  
FAKULTAS KEDOKTERAN HEWAN  
UNIVERSITAS BRAWIJAYA  
MALANG  
2019**

**PENGARUH PEMBERIAN AIR MINUM DENGAN  
TAWAS TERHADAP AKTIVITAS *SUPEROXIDE  
DISMUTASE (SOD)* DAN HISTOPATOLOGI  
GINJAL PADATIKUS PUTIH  
(*Rattus norvegicus*)**

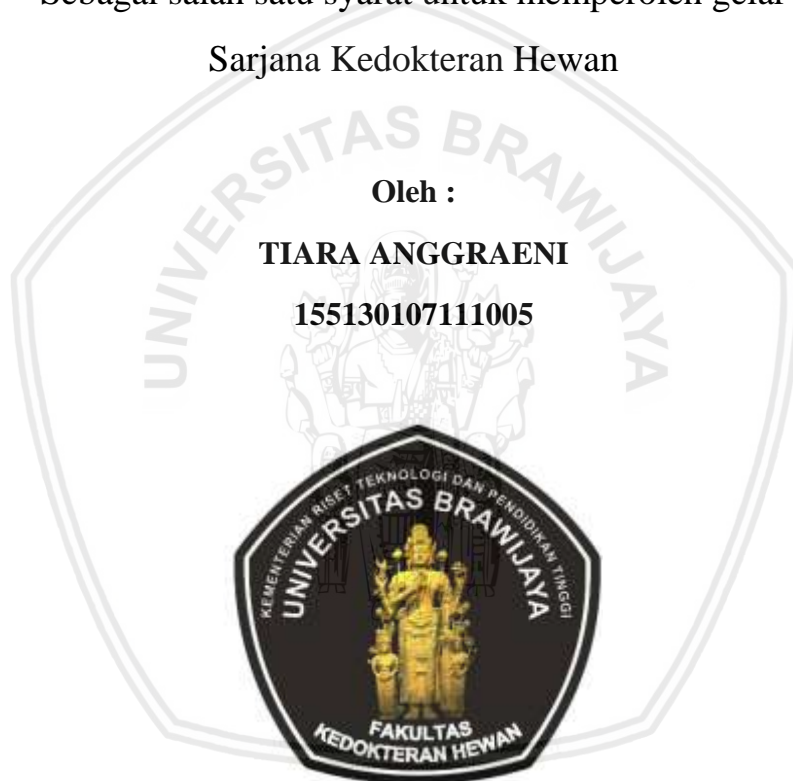
**SKRIPSI**

Sebagai salah satu syarat untuk memperoleh gelar  
Sarjana Kedokteran Hewan

Oleh :

**TIARA ANGGRAENI**

**155130107111005**



**PROGRAM STUDI KEDOKTERAN HEWAN**

**FAKULTAS KEDOKTERAN HEWAN**

**UNIVERSITAS BRAWIJAYA**

**MALANG**

**2019**

**LEMBAR PENGESAHAN SKRIPSI****PENGARUH PEMBERIAN AIR MINUM DENGAN TAWAS TERHADAP  
AKTIVITAS *SUPEROXIDE DISMUTASE* (SOD) DAN HISTOPATOLOGI  
GINJAL PADA TIKUS PUTIH (*Rattus norvegicus*)****Oleh :****TIARA ANGGRAENI  
NIM. 155130107111005**

Setelah dipertahankan di depan Majelis Penguji  
pada tanggal 17 Juli 2019  
dan dinyatakan memenuhi syarat untuk memperoleh  
gelar Sarjana Kedokteran Hewan

Pembimbing I

Pembimbing II

**Edwin Widodo, S.Si., M.Sc., Ph.D**  
NIP. 19810504 200501 1 001**drh. Ajeng Erika P.H., M.Si**  
NIP. 19890516 201504 2 001

Mengetahui,  
Dekan Fakultas Kedokteran Hewan  
Universitas Brawijaya

**Dr. Ir. Sudarminto Setyo Yuwono, M.App.Sc**  
NIP. 19631216 198803 1 002

**LEMBAR PERNYATAAN**

Saya yang bertanda tangan di bawah ini :

Nama : Tiara Anggraeni

NIM : 155130107111005

Program Studi : Pendidikan Dokter Hewan

Penulis Skripsi berjudul :

**Pengaruh Pemberian Air Minum Dengan Tawas Terhadap Aktivitas *Superoxide Dismutase* (SOD) dan Histopatologi Ginjal Pada Tikus Putih (*Rattus norvegicus*)**

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 risiko yang akan saya terima.

Demikian pernyataan ini dibuat dengan segala kesadaran.

Malang, 17 Juli 2019

Yang menyatakan,

Tiara Anggraeni

NIM. 155130107111005

**PENGARUH PEMBERIAN AIR MINUM DENGAN TAWAS TERHADAP  
AKTIVITAS SOD (SUPEROXIDE DISMUTASE) DAN GAMBARAN  
HISTOPATOLOGI GINJAL PADA TIKUS PUTIH**

*(Rattus norvegicus)*

**ABSTRAK**

Aluminium sulfat atau yang sering disebut tawas merupakan zat yang sering digunakan dalam proses penjernihan air minum dan ditambahkan untuk meningkatkan mutu pakan. Namun jika digunakan secara berlebihan, tawas yang masuk kedalam tubuh akan memberikan dampak yang buruk, yaitu meningkatkan stress oksidatif dan merusak jaringan ginjal. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui pengaruh pemberian air minum yang diberi tawas terhadap aktivitas SOD dan histopatologi ginjal tikus putih (*Rattus norvegicus*). Pada penelitian ini terdapat lima kelompok, yaitu kelompok kontrol negatif, kelompok perlakuan dengan kadar tawas 1250 ppm, 1500 ppm, 1750 ppm, dan 2000 ppm. Tawas yang telah dilarutkan dengan air minum tersebut diberikan sebanyak 3 ml / pemberian, dua kali sehari selama tiga minggu waktu paparan. Parameter yang diamati, yaitu aktivitas SOD yang diukur dengan menggunakan metode spektrofotometri dan histopatologi ginjal yang diwarnai dengan pewarnaan *Haematoxylin Eosin* (HE). Data hasil pengukuran aktivitas SOD dianalisa secara kuantitatif menggunakan uji *One Way ANOVA* dengan *software SPSS for Windows* dengan tingkat kepercayaan 95% ( $\alpha = 5\%$ ). Preparat histopatologi ginjal diamati secara mikroskopis kemudian dianalisa secara deskriptif. Hasil penelitian ini menunjukkan bahwa tikus yang diberi paparan air minum tawas menunjukkan penurunan aktivitas antioksidan SOD yang signifikan pada kelompok P3 (1750 ppm) ( $p=0,001$ ) dan P4 (2000 ppm) ( $p<0,001$ ) dan juga paparan air minum tawas mempengaruhi histopatologi ginjal dengan menimbulkan kerusakan pada tubulus dan glomerulus pada semua kelompok perlakuan. Kesimpulan dari penelitian ini adalah paparan air minum yang mengandung tawas dapat menurunkan aktivitas antioksidan dan mempengaruhi gambaran histopatologi ginjal.

**Kata kunci** : Tawas, SOD, histopatologi, ginjal

**THE EFFECT OF ALUM IN DRINKING WATER TOWARD SOD  
(SUPEROXIDE DISMUTASE) ACTIVITY AND RENAL  
HISTOPATHOLOGY ON THE WHITE RATS  
(*Rattus norvegicus*)**

**ABSTRACT**

Aluminium sulphate or often called alum is a substance often used in drinking water treatment process and added to improve the quality of the feed. However, if used in excess, alum will give bad impact inside the body i.e. increase oxidative stress and damage to kidney tissue. This research aims to know the influence of alum in drinking water against the activity of SOD and the image of a white rat (*Rattus norvegicus*) renal histopathology. In this study the white rats divided by simple random sampling into 5 groups. The negative control group are given only standard drinking water, the other group are given drinking water with alum in 1250 ppm, 1500 ppm, 1750 ppm and 2000 ppm concentration. Alum diluted in drinking water are given as much as a 3 ml/awarding three times a day for three weeks exposure. The observed parameters are SOD activity measured using spectrophotometre method and the renal histopathology in Haematoxylin Eosin (HE) stain. The data from the SOD activity measurement analyzed quantitatively using One Way ANOVA test with SPSS for Windows software with 95% confidence level ( $\alpha = 5\%$ ). Renal histopathology was observed with microscope, then analyzed descriptively. The result of this study showed that the exposure of alum drinking water decrease the SOD's activity significantly in P3 ( $p=0,001$ ) and P4 ( $p<0,001$ ) groups and also exposure to alum drinking water affecting kidney histopathology by causing damage to tubules and glomerules in all groups. The conclusion of this study is, that exposure to drinking water containing alum can reduce antioxidant activity and cause the difference on kidney histopathology.

**Keywords** : Aluminium sulphate, SOD, histopathology, kidney.

## KATA PENGANTAR

Puji syukur kehadiran Allah SWT yang telah memberikan segala nikmat dan hidayah-Nya sehingga penulis dapat menyelesaikan skripsi yang berjudul “Pengaruh Pemberian Air Minum Dengan Tawas Terhadap Aktivitas Superoksida Dismutase (SOD) dan Histopatologi Ginjal Pada Tikus Putih (*Rattus norvegicus*)”. Penelitian ini merupakan penelitian mandiri dengan ketua peneliti Annisa Larasati.

Penulis mengucapkan terima kasih sebesar-besarnya kepada pihak-pihak yang telah membantu dalam menyelesaikan tugas akhir yaitu:

1. Dr. Ir. Sudarminto Setyo Yuwono, M.App.Sc selaku Dekan Fakultas Kedokteran Hewan Universitas Brawijaya (FKH UB).
2. Edwin Widodo, S.Si., M.Sc., Ph.D., selaku dosen pembimbing 1 atas bimbingan, kesabaran, fasilitas, dan waktu yang telah diberikan.
3. drh. Ajeng Erika P.H, M.Si., selaku dosen pembimbing 2 atas bimbingan, kesabaran, semangat, fasilitas, dan waktu yang telah diberikan.
4. drh. Ajeng Aeka, M.Sc, selaku dosen penguji 1 atas kritik, saran dan bimbingan yang telah diberikan.
5. drh. Tiara Widyaputri, M.Si selaku dosen penguji 2 atas kritik, saran dan bimbingan yang telah diberikan.
6. drh. Nurina Titisari M.Sc selaku dosen pembimbing akademik atas bimbingan dan arahan kepada penulis selama menempuh studi di FKH UB
7. Bibing Rosdinar dan Dra. Istichomah, M.Si., Salsabila Shabrina, selaku keluarga penulis yang selalu memberikan dukungan, semangat, doa, dan pengorbanan baik secara moril maupun materiil kepada penulis.
8. Annisa Larasati, Bayu Hendra L., dan M. Waddrannudin yang menjadi teman dalam penelitian ini atas semangat, kepercayaan, dan kesabaran kepada penulis.

9. Teman-teman “SELOW AE” dan “WEWE REBORN” yang selalu memberikan semangat, dukungan, dan cinta kasih.
10. Teman-teman Kelas A 2015 dan seluruh kolega di FKH UB.

Semoga tugas akhir ini dapat bermanfaat bagi pihak-pihak terkait dan masyarakat pada umumnya.

Malang, 17 Juli 2019

Penulis





## DAFTAR ISI

Halaman

<b>HALAMAN JUDUL .....</b>	<b>i</b>
<b>HALAMAN PENGESAHAN.....</b>	<b>ii</b>
<b>HALAMAN PERNYATAAN.....</b>	<b>iii</b>
<b>ABSTRAK .....</b>	<b>iv</b>
<b>ABSTRACT .....</b>	<b>v</b>
<b>KATA PENGANTAR.....</b>	<b>vi</b>
<b>DAFTAR ISI.....</b>	<b>viii</b>
<b>DAFTAR TABEL .....</b>	<b>x</b>
<b>DAFTAR GAMBAR.....</b>	<b>xi</b>
<b>DAFTAR LAMPIRAN .....</b>	<b>xii</b>
<b>DAFTAR SINGKATAN DAN LAMBANG .....</b>	<b>xiii</b>
 <b>BAB I PENDAHULUAN</b>	
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
 <b>BAB II TINJAUAN PUSTAKA</b>	
2.1 Air Minum .....	6
2.2 Tawas atau Aluminium Sulfat ( $Al_2(SO_4)_3$ ) .....	7
2.2.1 Sifat Kimia dan Fisika .....	8
2.2.2 Metabolisme dalam Tubuh .....	9
2.2.3 Mekanisme Toksisitas.....	9
2.3 Radikal Bebas .....	12
2.4 Stress Oksidatif .....	13
2.5 Antioksidan .....	14
2.6 <i>Superoxide Dismutase</i> (SOD) .....	15
2.7 Ginjal.....	16
2.7.1 Anatomi .....	16
2.7.2 Fungsi .....	19
2.8 Tikus Putih ( <i>Rattus norvegicus</i> ).....	19



<b>BAB III KERANGKA KONSEPTUAL DAN HIPOTESIS PENELITIAN</b>	
3.1 Kerangka Konseptual.....	22
3.2 Hipotesis Penelitian .....	25
<b>BAB IV METODE PENELITIAN</b>	
4.1 Tempat dan Waktu Penelitian.....	26
4.2 Alat dan Bahan.....	26
4.3 Tahapan Penelitian.....	27
4.4 Rancangan Penelitian.....	27
4.5 Variabel Penelitian.....	28
4.6 Prosedur Kerja .....	28
4.6.1 Persiapan Hewan Coba .....	30
4.6.2 Pembuatan Air Minum dengan Tawas.....	29
4.6.3 Pemberian Air Minum dengan Tawas .....	30
4.6.4 Isolasi Organ Ginjal .....	30
4.6.5 Pengukuran Aktivitas <i>Superoxide Dismutase (SOD)</i> Ginjal.....	31
4.6.6 Pembuatan dan Pembacaan Preparat Histopatologi Ginjal Pewarnaan <i>Haematoxylin Eosin</i> .....	31
4.6.7 Analisis Data.....	33
<b>BAB V HASIL DAN PEMBAHASAN</b>	
5.1 Pengaruh Pemberian Air Minum dengan Tawas terhadap Aktivitas <i>Superoxide Dismutase (SOD)</i> Ginjal Tikus Putih ( <i>Rattus norvegicus</i> ).....	34
5.2 Pengaruh Pemberian Air Minum dengan Tawas terhadap Histopatologi Ginjal Tikus Putih ( <i>Rattus norvegicus</i> ).....	39
<b>BAB VI PENUTUP</b>	
6.1 Kesimpulan .....	49
6.2 Saran .....	49
<b>DAFTAR PUSTAKA .....</b>	<b>50</b>
<b>LAMPIRAN.....</b>	<b>55</b>

## DAFTAR TABEL

<b>Tabel</b>	<b>Halaman</b>
4.1 Rancangan Penelitian .....	28
5.1 Rata – Rata Aktivitas <i>Superoxide Dismutase</i> (SOD) Tikus Putih .....	34
5.2 Hasil Pengamatan Histopatologi Ginjal Tikus Putih ( <i>Rattus norvegicus</i> ).....	43



## DAFTAR GAMBAR

Gambar	Halaman
2.1 Tawas ( $\text{Al}_2(\text{SO}_4)_3$ ).....	8
2.2 Alumunium Merusak Mitokondria Sel .....	11
2.3 Peran <i>Superoxide Dismutase</i> (SOD) dalam Stress Oksidatif.....	16
2.4 Struktur Makroskopis Ginjal.....	17
2.5 Histologi Ginjal Normal.....	18
2.6 Tikus Putih ( <i>Rattus norvegicus</i> ).....	21
5.1 Gambaran Histopatologi Ginjal dengan Pewarnaan HE dan Perbesaran 400x. ....	40
5.2. Gambaran Perbedaan Glomerulus dan Ruang Bowmann Antar Kelompok (Perbesaran 400x.) .....	46



## DAFTAR LAMPIRAN

Lampiran	Halaman
1. Kerangka Operasional Penelitian .....	56
2. Perhitungan Dosis Tawas dan Pembuatan Air Minum Dengan Tawas.....	57
3. Langkah Kerja Pengukuran Aktivitas <i>Superoxide Dismutase</i> (SOD) Ginjal.....	59
4. Langkah Kerja Pembuatan Preparat Histopatologi Ginjal .....	60
5. Laik Etik Penelitian .....	62
6. Perhitungan Aktivitas SOD Ginjal .....	63
7. Pengamatan Gejala Klinis .....	66
8. Hasil Uji Statistika Aktivitas <i>Superoxide Dismutase</i> (SOD) .....	67
9. Hasil Pengukuran Aktivitas <i>Superoxide Dismutase</i> (SOD) Ginjal .....	70
10. Hasil Pengukuran Kadar Malondialdehida (MDA) Ginjal.....	71
11. Hasil Pengukuran BUN dan Kreatinin .....	72
12. Dokumentasi Kegiatan Penelitian .....	73



## DAFTAR SINGKATAN DAN LAMBANG

<u>Simbol/singkatan</u>	<u>Keterangan</u>
%	Persen
°C	Derajat celcius
$\alpha$	Alfa
$\mu$	mikro
ANOVA	<i>analysis of variant</i>
g	gram
H <sub>2</sub> O <sub>2</sub>	Hidrogen peroksida
HE	<i>Hematoxylin eosin</i>
mg	miligram
mL	mililiter
PBS	<i>Phosphate buffer saline</i>
RAL	Rancangan acak lengkap
SOD	Superoksida Dismutase
Al	Aluminium
Al <sub>2</sub> (SO <sub>4</sub> ) <sub>3</sub>	Aluminium sulfat
ppm	Part per million
Bq	Bequerel
±	Kurang lebih
PUFA	<i>Polysaturated Fatty Acid</i>
ROS	<i>Reactive Oxygen Species</i>
Cu	tembaga
Fe	besi
Mg	mangan
TKP	Tubulus Kontortus Proksimal
TKD	Tubulus Kontortus Distal
NBT	Nitroblue tetrazolium
L	Liter

## BAB I PENDAHULUAN

### 1.1 Latar Belakang

Air dari berbagai sumber air harus diolah dan diproses untuk mendapatkan air yang bersih dan layak untuk penggunaan harian masyarakat. Khususnya dalam pengolahan air minum, air harus terjamin secara fisik, kimia, maupun mikrobiologi. Banyak cara pengolahan yang dapat diterapkan dalam mengolah sumber air, salah satunya adalah proses kimia yang berupa koagulasi. Koagulasi merupakan proses mengendapkan kotoran dan lumpur halus dengan menambahkan zat koagulan (Fatima, 2008). Zat koagulan yang sering ditambahkan dalam proses pengolahan air yaitu tawas ( $\text{Al}_2(\text{SO}_4)_3$ ) dan *Poly Alumunium Clorida* (PAC). Namun jenis koagulan yang sering digunakan adalah tawas (Rifa'i, 2007)

Tawas mempunyai nama kimia aluminium sulfat ( $\text{Al}_2(\text{SO}_4)_3$ ). Peran tawas dalam kehidupan sehari – hari sangat beragam baik untuk kepentingan manusia juga hewan. Selain digunakan sebagai zat koagulan dalam proses penjernihan air, tawas juga digunakan sebagai desinfektan, menaikkan mutu bahan pakan seperti dalam proses pembuatan ikan asin, dan juga campuran bahan kosmetik seperti deodoran. (Ananda dan Ismail, 2016). Dosis tawas yang digunakan untuk penjernihan air bervariasi mulai dari tergantung kekeruhan dan pH air bervariasi mulai dari 10 mg/l hingga kisaran 150 mg/l (Ayudyahrini dkk., 2013). Penggunaan tawas yang berlebihan dan secara kontinyu dalam proses penjernihan air limbah dapat menimbulkan gangguan kesehatan (Nurahman dan Isworo, 2002). Kandungan utama tawas yaitu

Alumunium (Al), merupakan salah satu jenis logam berat. Logam dalam bentuk ion sangat toksik dan dapat mengganggu metabolisme tubuh serta menyebabkan kerusakan struktur dan fungsi organ – organ detoksifikasi, seperti hati dan ginjal. Pada penelitian Nisa (2017) perlakuan suplementasi tawas pada pakan tikus putih (*Rattus norvegicus*, L) dengan dosis 2400 mg/kgBB, 1600 mg/kgBB, dan 800 mg/kgBB dan selama waktu paparan sekitar 30 hari menunjukkan adanya perusakan jaringan ginjal. Ginjal merupakan salah satu organ detoksifikasi tubuh yang mempunyai fungsi utama mengatur homeostasis dalam tubuh, yaitu dengan cara membuang sampah – sampah sisa metabolisme dan menyaring zat – zat yang dibutuhkan tubuh (Junaidi, 2009). Zat toksik masuk ke ginjal melalui sistem sirkulasi. Arteri renalis mengantarkan darah menuju ginjal untuk disaring di glomerulus. Toksin kemudian menumpuk dan dapat menginduksi kerusakan pada nefron ginjal. Toksik yang masuk kedalam ginjal menyebabkan berbagai kelainan pada struktur dan fungsi nefron. Kerusakan pada nefron dapat terjadi pada tubulus, korpuskulus renali, maupun kapiler dalam ginjal (Husein dan Trihono, 1996)

Alumunium sulfat ( $\text{Al}_2(\text{SO}_4)_3$ ) dalam tawas yang masuk ke tubuh juga akan menginduksi kondisi stress oksidatif dalam tubuh. Alumunium sulfat ( $\text{Al}_2(\text{SO}_4)_3$ ) merupakan logam aktif non-redoks yang mengganggu keseimbangan jaringan pro-oksidan dan antioksidan (Ali *et. al.*, 2018). Pada kondisi stress oksidatif jumlah produk radikal bebas maupun senyawa oksigen reaktif tidak berimbang dengan kemampuan tubuh untuk



mengeliminasi nya sehingga menyebabkan kerusakan oksidatif jaringan ( Low *et. al.*, 2017). Keadaan stress oksidatif yang terjadi secara terus menerus akan menyebabkan terjadinya penekanan aktivitas antioksidan dalam tubuh termasuk *Superoxide Dismustase* (SOD), sehingga aktivitas antioksidan tersebut akan menurun.

Berdasarkan uraian diatas, penulis ingin mengkaji lebih dalam tentang efek pengaruh pemberian tawas pada air minum dengan dosis bertingkat, ditinjau dari aktivitas SOD dan histopatologi organ ginjal.

## 1.2 Rumusan Masalah

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

1. Apakah air minum dengan tawas ( $Al_2(SO_4)_3$ ) mempengaruhi aktivitas SOD ginjal tikus putih (*Rattus norvegicus*) ?
2. Apakah air minum dengan tawas ( $Al_2(SO_4)_3$ ) mempengaruhi histopatologi ginjal tikus putih (*Rattus norvegicus*) ?

## 1.3 Batasan Masalah

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

1. Tikus putih (*Rattus norvegicus*) dalam penelitian ini menggunakan strain *Wistar*, berjenis kelamin jantan, dengan umur 8 – 12 minggu, dan berat badan 180 – 200 gram. Hewan coba diperoleh dari Fakultas Kedokteran Universitas Brawijaya Malang. Penggunaan hewan coba pada penelitian

ini telah mendapat sertifikat laik etik dari Komisi Etik Penelitian (KEP) Universitas Brawijaya No. 1024-KEP-UB

2. Air yang digunakan untuk air minum yang dicampur dengan tawas menggunakan *aquadest* steril.
3. Tawas yang digunakan dalam bentuk Kristal dengan merk *Merck*, memiliki nomor katalog 414 A868102 dan didapatkan dari CV. Sari Kimia Raya, Malang.
4. Pemberian paparan air minum tawas menggunakan metode sonde lambung dengan konsentrasi bertingkat, yaitu 1250 ppm, 1500 ppm, 1750 ppm, dan 2000 ppm sebanyak dua kali sehari selama 21 hari dengan volume air minum 3 ml dalam satu kali pemberian.
5. Variabel yang diamati dalam penelitian ini adalah aktivitas SOD yang diukur dengan metode spektrofotometri dan histopatologi ginjal tikus putih (*Rattus norvegicus*) yang diamati dengan mikroskop perbesaran 400x.
6. Analisa data aktivitas SOD secara kuantitatif dengan uji statistika *one way ANOVA* yang dilanjutkan dengan BNJ, sedangkan histopatologi ginjal dinalisa secara deskripif.

#### 1.4 Tujuan

1. Mengetahui pengaruh air minum dengan tawas ( $Al_2(SO_4)_3$ ) terhadap aktivitas SOD tikus putih (*Rattus norvegicus*).
2. Mengetahui pengaruh air minum dengan tawas ( $Al_2(SO_4)_3$ ) terhadap histopatologi tikus putih (*Rattus norvegicus*).

### 1.5 Manfaat

Penelitian ini bermanfaat untuk memberikan informasi mengenai akibat penggunaan tawas dalam dosis berlebih terhadap patologi ginjal.



## BAB II TINJAUAN PUSTAKA

### 2.1 Air Minum

Air minum merupakan air yang memenuhi syarat kesehatan dan dapat langsung diminum baik yang melalui proses pengolahan maupun tanpa proses pengolahan (KEMENKES, 2010) Air yang digunakan untuk konsumsi sehari-hari harus memenuhi standar kualitas yang telah ditetapkan. Kualitas air bersih dapat ditinjau dari segi fisik, kimia, dan mikrobiologi. Kandungan zat – zat yang melebihi standar maksimum dapat menimbulkan gangguan kesehatan bagi penggunaanya (Darmawan, 2011) Berikut merupakan persyaratan air minum berdasarkan PERMENKES No. 492/MENKES/PER/IV/2010 tentang persyaratan kualitas air minum :

#### a. Persyaratan Fisik

Air minum yang baik tidak berbau, tidak berwarna dengan kadar warna maksimal 15 TCU, Total Zat Padat Terlarut (TDS) maksimal 500 mg/l, tingkat kekeruhan maksimal 5 NTU, tidak berasa, dan memiliki suhu  $\pm 3^{\circ}\text{C}$ .

#### b. Persyaratan Kimia

Kualitas air tergolong baik apabila memiliki pH normal sekitar 6,5 – 8,5; tingkat kesadahan rendah, yaitu maksimum 500 mg/l; tidak mengandung bahan kimia beracun dan juga kandungan garam atau ion ton logam dibawah batas maksimum. Kadar maksimum yang diperbolehkan untuk besi, yaitu 0,3 mg/l, mangan 0,4 mg/l, dan alumunium 0,2 mg/l.

c. Persyaratan Mikrobiologis dan Persyaratan Radiologis

Persyaratan mikrobiologis yang harus dipenuhi air minum yaitu tidak mengandung bakteri patogen misalnya, bakteri koliform, *Salmonella sp.*, dan *Cholera sp.*, dan tidak mengandung bakteri non patogen seperti *Actinomyces sp.*, *Cladocera sp.*, dan lain – lain. Air minum yang baik juga harus memiliki kadar aktivitas signal alpha maksimum 0,1 Bq/l dan aktivitas sinar beta maksimum 1 Bq/l.

Air baku atau air dari berbagai sumber air harus diolah dan diproses untuk mendapatkan air yang bersih dan sesuai standar mutu air minum. Banyak cara pengolahan yang dapat diterapkan dalam mengolah sumber air, khususnya sumber air permukaan. Dalam pengolahan air permukaan, salah satu proses kimia (*chemical process*) berupa koagulasi. Koagulasi merupakan proses mengendapkan kotoran dan lumpur halus dengan menambahkan zat koagulan (Fatima, 2008). Zat koagulan yang sering ditambahkan dalam proses pengolahan air, yaitu aluminium sulfat ( $\text{Al}_2(\text{SO}_4)_3$ ), *Poly Alumunium Clorida* (PAC), dan biji kelor. Namun jenis koagulan yang sering digunakan adalah alumunium sulfat ( $\text{Al}_2(\text{SO}_4)_3$ ) yang disebut “alum” atau kerap disebut “tawas” (Rifa’i, 2007)

## 2.2 Tawas atau Alumunium Sulfat ( $\text{Al}_2(\text{SO}_4)_3$ )

Tawas merupakan nama lain dari alumunium sulfat yang memiliki rumus kimia  $\text{Al}_2(\text{SO}_4)_3$ . Tawas tersusun dari senyawa alumunium (Al) yang merupakan jenis logam dan merupakan suatu bahan kimia yang sering digunakan untuk zat koagulan dalam proses penjernihan air. Tawas

ditambahkan kedalam air dan terurai menjadi dispersi koloid yang bermuatan positif, yaitu  $\text{Al}^{3+}$  dan akan mengikat partikel koloid bermuatan negatif, sehingga partikel yang ada didalamnya mengendap dan dapat disaring, sehingga menghasilkan air yang jernih dan dapat dimanfaatkan untuk air minum atau kegiatan sehari – hari. Selain itu, tawas memiliki berbagai fungsi lain, antara lain sebagai bahan kosmetik, desinfektan, dan untuk memperbaiki mutu pangan (Ananda dan Ismail, 2016 ; Aziz dkk., 2013).

### 2.2.1 Sifat Kimia dan Fisika

Tawas atau alumunium sulfat memiliki rumus kimia ( $\text{Al}_2(\text{SO}_4)_3$ ) mempunyai bentuk fisik berupa kristal, granula, maupun bentuk serbuk dengan warna putih berkilau hingga putih keabu – abuan seperti (**Gambar 2.1** ). Tidak berbau dengan pH 3,0 – 4,0 dan berat jenis 1,95. Titik didih senyawa ini sekitar  $1600^\circ\text{C}$  dengan titik leleh pada suhu  $770^\circ\text{C}$ . Alumunium sulfat cukup stabil secara kimiawi, tidak mudah terbakar, larut dalam air, menyerap kelembapan dari udara, membentuk asam sulfat ketika dipanaskan dan bersifat korosif. Alumunium sulfat tidak kompatibel dengan agen pengoksidasi kuat dan basa kuat (MSDS,2009)



**Gambar 2.1** Tawas / Alumunium sulfat ( Antoniraj, 2014)

### 2.2.2 Metabolisme dalam Tubuh

Metabolisme tawas didalam tubuh terdiri dari mekanisme absorpsi, distribusi di jaringan, dan ekskresi.

#### a. Absorpsi

Penyerapan berbagai macam alumunium dalam tubuh sebagian besar terjadi di saluran pencernaan, seperti lambung, namun kebanyakan terjadi di usus. Penyerapan alumunium di usus terjadi melalui mekanisme transport aktif maupun pasif. Sebanyak 0,1 – 0,3 % intake harian alumunium diserap didalam tubuh (Domingo, 2003).

#### b. Distribusi

Alumunium di serap disaluran pencernaan, kemudian masuk ke aliran darah dan didistribusikan ke organ – organ tubuh lain. Alumunium dapat terakumulasi di tulang, limpa, hati, ginjal, bahkan hingga otak. Namun organ yang paling terbebani oleh keberadaan alumunium, yaitu hepar, limpa, dan ginjal (Domingo, 2003).

#### c. Ekskresi

Alumunium diekskresikan sebagian besar dalam urin dan selebihnya pada feses. Ekskresi alumunium dapat mengurangi fungsi ginjal dan beresiko terakumulasi didalam ginjal. Eliminasi alumunium dalam hepar dan empedu sekitar 2% (Nordberg *et. al.*, 2007).

### 2.2.3 Mekanisme Toksisitas

Tawas di serap disaluran pencernaan, kemudian masuk ke aliran darah dan di distribusikan ke organ – organ tubuh lain. Alumunium dapat

terakumulasi di tulang, limpa, hati, serta ginjal (Domingo, 2003). Tawas atau aluminium sulfat mengandung ion (Al) yang berupa logam berat. Akumulasi ion Al di jaringan dan organ mengakibatkan disfungsi dan toksisitas. Mekanisme toksisitas tawas dalam tubuh melalui beberapa cara, yaitu meningkatkan stress oksidatif, mengganggu fungsi membran, mengganggu *signaling* sel dan mengganggu atau menghambat aktivitas enzim dalam tubuh (Pandey, 2013).

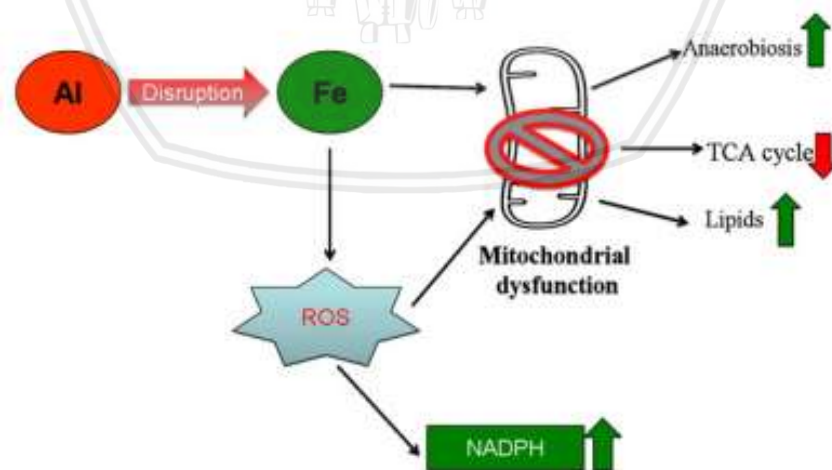
Tawas dicerna dan diserap dalam bentuk  $Al^{3+}$ . Aluminium dalam bentuk ini tidak mempunyai kapasitas redoks, sehingga dapat menjadi prooksidan dalam tubuh (Singla dan Dhawan, 2014). Aluminium menimbulkan kondisi stress oksidatif dengan mengganggu homeostasis ion metal, seperti kalsium magnesium dan besi, serta menurunkan jumlah antioksidan dalam jaringan. Al meningkatkan oksidasi biologis dengan membentuk *aluminium superoxide* ( $AlO_2^-$ ) yang bertindak sebagai prooksidan dan mengkatalisasi pembentukan  $H_2O_2$  dan mereduksi  $Fe^{3+}$ , sehingga jumlah *Reactive Oxygen Species* (ROS) dalam tubuh meningkat (Pandey, 2013).  $Al^{3+}$  merupakan bentuk oksidasi aluminium, sehingga mudah berikatan dengan Glutathione (GSH) yang mempunyai ion donor. Ikatan ini jika dalam jumlah besar mendepleksi atau menekan pembentukan (GSH) yang merupakan antioksidan dalam sel (Khan *et. al.*, 2012)

Toksisitas aluminium mengganggu sistem sinyal dalam sel, termasuk menurunkan sinyal phosphoinositide dan  $Ca^{2+}$  dalam jalur sinyal sel, serta pembentukan peroksidasi lipid. Sinyal  $Ca^{2+}$  adalah salah satu sistem sinyal



utama didalam sel. Sinyal  $\text{Ca}^{2+}$  ini berfungsi untuk mengatur banyak proses seluler, sehingga jika ada hambatan sinyal  $\text{Ca}^{2+}$ , maka kerja sel akan terganggu (Kurniawan, 2017).

Aluminium yang berbentuk  $\text{Al}^{3+}$  akan berikatan dengan protein *carrier* atau pembawa besi, yaitu transferin. Hal tersebut akan mengurangi pengikatan  $\text{Fe}^{3+}$  oleh membran sel, sehingga terjadi peningkatan jumlah  $\text{Fe}^{3+}$  bebas didalam sel, dan menyebabkan terjadi peroksidasi membran lipid dan menyebabkan kerusakan membran sel. Peroksidasi lipid merusak keutuhan dan fluiditas membran, sehingga permeabilitas membran sel meningkat dan sering akan diikuti dengan inaktivasi enzim hingga kematian sel (Pandey, 2013). Gangguan pengikatan Fe dapat menyebabkan disfungsi mitokondrial, mengganggu siklus *Tricarboxylic Acid* (TCA) dan menonaktifkan aerobik produksi ATP mitokondria (**Gambar 2.2**) (Mailloux, 2011).



**Gambar 2.2.** Alumunium Merusak Mitokondria Sel (Mailloux, 2011).

### 2.3 Radikal Bebas

Tawas dicerna dan diserap dalam bentuk  $Al^{3+}$ . Aluminium dalam bentuk ini tidak mempunyai kapasitas redoks, sehingga dapat menjadi pro-oksidan atau radikal bebas dalam tubuh (Singla dan Dhawan, 2014). Radikal bebas merupakan atom atau molekul elektron yang berpasangan pada orbital. Untuk mendapatkan stabilitas kimia radikal bebas tidak dapat mempertahankan bentuk asli dalam waktu yang lama dan segera berikatan dengan bahan disekitar. Radikal bebas akan menyerang molekul stabil yang terdekat dan menangkap elektron untuk berpasangan. Radikal bebas kerap menangkap elektron dari molekul - molekul makro pembentuk, seperti lipid, protein, polisakarida, dan DNA. Zat yang terambil elektron nya akan berubah menjadi radikal bebas, sehingga memulai suatu reaksi berantai (Sinaga, 2016; Sadikin, 2003)

Radikal bebas dapat dihasilkan dari metabolisme tubuh, hasil fagositosis, dan faktor eksternal, seperti asap rokok, hasil penyinaran ultraviolet, dan paparan zat kimiawi dari luar tubuh (Subandi, 2010). Radikal bebas juga dapat terbentuk dari senyawa hidrogen peroksida, ozon, dan senyawa lain. Kedua kelompok senyawa tersebut sering disebut sebagai senyawa reaktif oksigen atau ROS (Winarsi, 2007).

*Reactive Oxygen Species* (ROS) adalah produk normal dari metabolisme seluler. *Reactive Oxygen Species* (ROS) berfungsi pada konsentrasi rendah yang merupakan proses fisiologis dalam respon seluler terhadap bahan-bahan yang merugikan, pertahanan terhadap infeksi, dan

induksi respon mitogenik (Valko, *et. al.*, 2006). Sedangkan, pada kondisi berlebih, ROS dapat menginduksi kerusakan komponen seluler secara *irreversible* dan menyebabkan kematian sel melalui jalur apoptosis (Zalukhu dkk., 2016).

## 2.4 Stres Oksidatif

*Reactive Oxygen Species* (ROS) diproduksi oleh sel dalam kondisi normal. Pada kondisi yang normal terdapat keseimbangan antara proses pembentukan dan pemusnahan ROS. Antioksidan jaringan berperan dalam pemusnahan ROS (Mitchel *and* Contrand, 2008) Jika terjadi peningkatan produksi ROS dan tidak dapat diseimbangkan oleh kapasitas antioksidan jaringan, maka timbul sebuah kondisi yang disebut stress oksidatif (Zalukhu dkk., 2016).

Ketika terjadi peningkatan ROS dan kondisi stress oksidatif, maka terjadi reaksi yang bersifat kompleks dengan asam lipid tidak jenuh penyusun fosfolipid pada membran sel, yaitu *Polysaturated Fatty Acid* (PUFA). Elektron pada radikal bebas yang tidak berpasangan atau tidak stabil akan berusaha menarik elektron dari makromolekul disekitar lipid membran sel, proses ini dinamakan proses peroksidasi lipid (Abbas dkk., 2015). Peroksidasi lipid menghasilkan senyawa hasil metabolisme yang toksik. Peroksidasi lipid terus menerus akan merusak permeabilitas membran sel sehingga mengakibatkan kehilangan fungsi seluler secara total (Birben *et al.*, 2012).

## 2.5 Antioksidan

Antioksidan dapat diartikan sebagai molekul yang mampu menstabilkan atau menonaktifkan radikal bebas sebelum menyerang sel. Antioksidan dapat menghambat atau menunda oksidasi sebuah substrat. Antioksidan bekerja dengan cara memberikan satu elektron kepada senyawa radikal bebas, sehingga menstabilkan dan menghambat aktivitas radikal bebas (Zalukhu dkk., 2016). Mekanisme pertahanan terhadap radikal bebas bekerja melalui penghambatan produksi awal radikal bebas, menyerang radikal bebas, menghambat produksi metabolit sekunder yang toksik, menghalangi perambatan rantai oksidasi sekunder, dan memperbaiki kerusakan molekuler yang disebabkan radikal bebas (Kabel, 2014)

Secara alami sistem antioksidan tubuh sebagai mekanisme perlindungan terhadap serangan radikal bebas, telah ada didalam tubuh. Ada dua macam antioksidan, antioksidan endogen dan eksogen. Antioksidan internal adalah antioksidan yang diproduksi oleh tubuh sendiri. Antioksidan endogen dapat di golongkan menjadi dua kelompok besar, yaitu (Sayuti dan Yenrina, 2015) :

- a. Antioksidan enzimatis, misalnya enzim *Superoxide Dismutase* (SOD), katalase dan *Glutation Peroksidase*.
- b. Antioksidan non enzimatis, dibagi dalam 2 kelompok lagi :
  - Antioksidan larut lemak, seperti *tocopherol*, karotenoid, flavonoid, quinon, dan bilirubin.
  - Antioksidan larut air, seperti asam askorbat, dan protein pengikat logam.

## 2.6 Superoxide Dismutase (SOD)

*Superoxide dismutase* (SOD) merupakan salah satu jenis antioksidan endogen dalam tubuh, antioksidan ini sebagian besar terletak intraseluler. *Superoxide dismutase* (SOD) dikenal sebagai protein yang mengandung Cu dan diidentifikasi dalam berbagai sebutan, seperti eritrocuprein, indofenol oksidase, dan *tetrazolium oksidase*. *Superoxide dismutase* merupakan metaloenzim yang aktivitasnya tergantung adanya logam Cu, Zn, dan Mn (Sayuti dan Yenrina, 2015). SOD secara umum berfungsi untuk menetralkan aktivitas radikal bebas  $O_2^{\cdot-}$ , dengan cara mengkalisa radikal anion superoksida ( $O_2^{\cdot-}$ ) menjadi hidrogen peroksida ( $H_2O_2$ ) dan oksigen ( $O_2$ ), seperti yang terlihat pada **Gambar 2.3** (Winarsi, 2007).

Terdapat tiga jenis SOD dalam jaringan manusia, yaitu (Young and Woodside, 2001) :

a. *Copper zinc superoxide dismutase* ( CuZn SOD)

Jenis SOD ini ditemukan sitoplasma dan organel sel

b. *Manganes superoxide dismutase* (MnSOD)

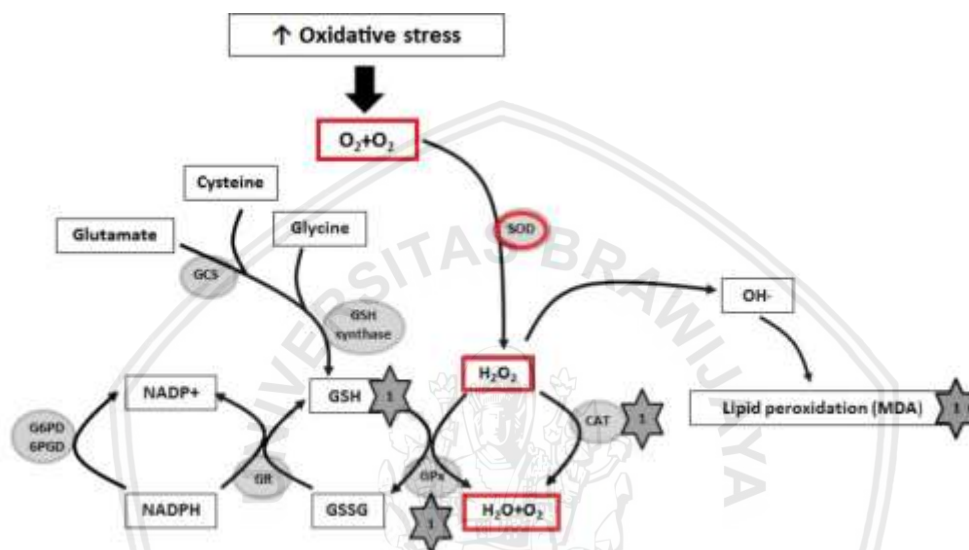
Jenis SOD ini berada dalam matriks mitokondria

c. *Extracellular superoxide dismutase* (ECSOD)

Jenis SOD ini diekspresikan di permukaan sel.

Aktivitas SOD dapat dilihat dari banyaknya peroksidasi lipid. Aktivitas SOD yang tinggi menggambarkan peroksidasi lipid yang rendah. *Superoxide dismutase* (SOD) merupakan biomarker untuk memiliki tingkat stress oksidatif. Aktivitas SOD dapat diukur dengan beberapa cara, salah satu

caranya adalah dengan menggunakan sistem yang menghasilkan superoksida dan indikator warna. Kemudian, indikator akan bereaksi dengan anion superoksida. Warna yang terbentuk diukur dengan spektrofotometer (Winarsi, 2007; Rajkumar dkk., 2008)



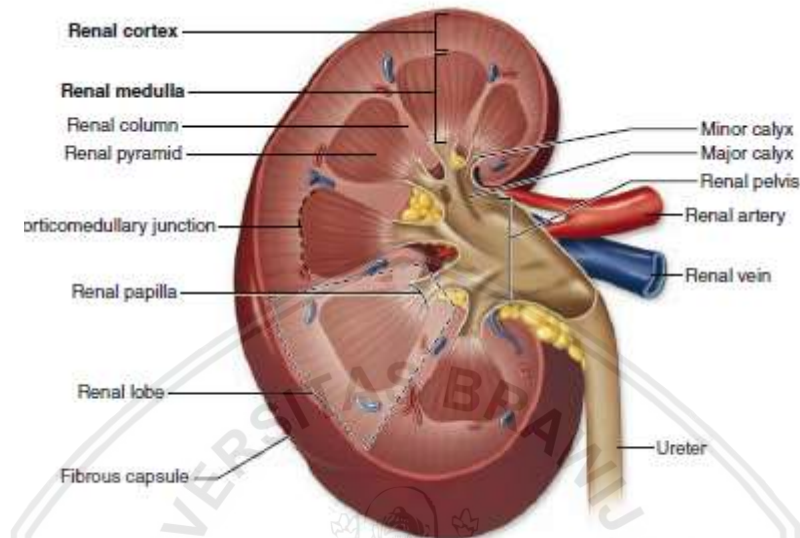
**Gambar 2.3** Peran *Superoxide Dismutase* (SOD) dalam Stress Oksidatif (Dowling and Kelly, 2017)

## 2.7 Ginjal

### 2.7.1 Anatomi

Ginjal merupakan organ berbentuk seperti kacang, berwarna coklat kemerahan, berjumlah dua buah, terletak diluar ruang peritoneal (retroperitoneal), dan masing – masing ginjal menempel pada kanan dan kiri dinding posterior abdomen (Ellis, 2006). Secara makroskopis, organ ginjal dengan potongan melintang terbagi menjadi dua daerah yang cukup jelas. Daerah perifer yang terlihat lebih gelap disebut korteks dan daerah yang lebih cerah disebut medula. Ginjal tersusun atas unit – unit fungsional kecil yang disebut nefron. Daerah perifer ginjal dibentuk oleh susunan teratur saluran

mikroskopis nefron. Sekitar 80% nefron di ginjal berada pada darah korteks dan 20% berada di medula (Silverthron, 2014).



**Gambar 2.4** Struktur Makroskopis Ginjal (Mescher, 2016)

Struktur mikroskopik urin terdiri dari satuan unit Nefron. Nefron terdiri dari dua komponen utama, yaitu *renal corpuscle* dan tubulus renalis.

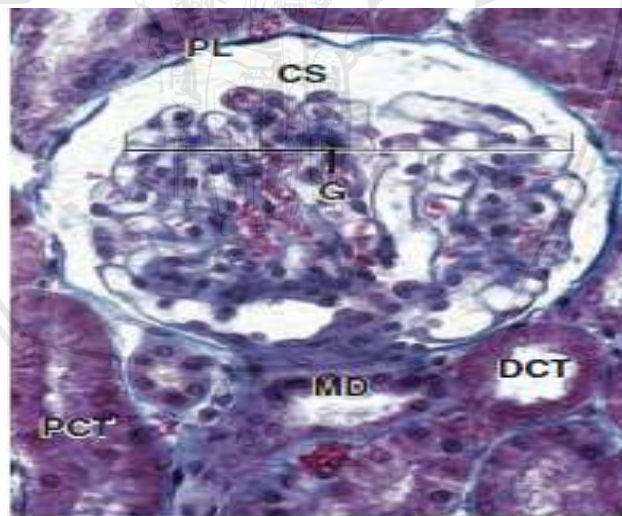
a. *Renal Corpuscle*

Bagian ini terdiri dari glomerulus dan kapsula Bowman. Kapsula Bowmann terdiri dari selapis sel pipih yang mengelilingi glomerulus. Glomerulus merupakan bola yang tersusun dari kumpulan kapiler-kapiler. Jarak antara glomerulus dan kapsula Bowman disebut dengan *Bowman's space*. Pada korpuskulus renalis ini terjadi proses pembentukan urin awal, yaitu filtrasi air dan molekul berat rendah dalam darah (Young *et. al.*, 2014).

b. Tubulus Renalis

Tubulus renalis memanjang dari kapsula Bowman hingga tubulus kolektivus. Terdiri dari selapis sel epitel. Tubulus renalis terdiri dari dari tubus kontortus

proximal (TKP) , lengkung henle, tubulus kontortus distal (TKD), dan tubulus kolektivus. Tubus kontortus proximal (TKP) bertugas dalam 65% proses reabsorpsi air dan ion dari filtrat glomerulus (Young *et. al.*, 2014). Lengkung Henle terbagi menjadi beberapa bagian, yaitu segmen desenden tebal, diikuti segmen desenden tipis, segmen asenden tipis dan segmen asenden tebal. Epitel kupboid tipis selapis melapisi segemen desenden dan asenden tebal sedangkan epitel pipih selapis melapisi segmen desenden dan asenden tipis. Tubulus kontortus distal merupakan lanjutan lengkung Henle berupa segmen pendek. Tubulus kontortus distal berperan dalam reabsorpsi ion sodium. susunan tubulus terakhir merukan tubulus kolektivus. Disini hasil proses pembentukan urin di tampung (Pekcham, 2014)



**Gambar 2.5** Histologi ginjal normal (Mescher, 2016)

Keterangan :

**G** = glomerulus

**CS** = corpuscular space/ Bowman's space

**PCT** = Tubulus Kontortus Proximal

**DCT** = Tubulus Kontortus Distal

**MD** = Makula Densa



### 2.7.2 Fungsi

Ginjal berperan dalam berbagai fungsi homeostatik tubuh, yaitu ekskresi produk sisa metabolisme dan bahan-bahan kimia asing baik yang diproduksi tubuh maupun yang masuk ke dalam tubuh, regulasi air, keseimbangan elektrolit, regulasi osmolalitas cairan tubuh, konsentrasi elektrolit, mengatur tekanan arterial, mengatur keseimbangan asam dan basa, serta beberapa fungsi non-ekskresi, seperti sintesis dan aktivasi hormon, mensekresi renin, menghasilkan eritropoietin untuk produksi sel darah merah, sekresi prostaglandin sebagai vasodilator, bekerja secara lokal melindungi kerusakan iskemik ginjal, dan beberapa hormon lain, termasuk hormon polipeptida dan hormon antidiuretik (Guyton *and* Hall, 2016; Price *and* Wilson, 2006).

Ginjal dalam menjalankan fungsi ekskresi mendapatkan tugas yang berat, karena hampir 25% aliran darah mengalir menuju ginjal. Aliran darah yang besar menyebabkan ginjal banyak terpapar bahan-bahan yang beredar dalam sistem sirkulasi, sehingga beresiko tinggi terpapar bahan-bahan toksik yang akan mudah menyebabkan kerusakan ginjal dalam bentuk perubahan fungsi ginjal. Toksik yang masuk ke dalam ginjal menyebabkan berbagai kelainan pada struktur dan fungsi nefron. Kerusakan pada nefron dapat terjadi pada tubulus, korpuskulus renali, maupun kapiler dalam ginjal (Husein dan Trihono, 1996)

## 2.8 Tikus Putih (*Rattus norvegicus*)

Hewan coba yang digunakan dalam penelitian ini adalah tikus putih (*Rattus norvegicus*) strain Wistar. Secara morfologi memiliki ciri yang hampir sama dengan mencit namun memiliki ukuran yang lebih besar. Tikus putih (*Rattus norvegicus*) memiliki rambut berwarna putih, mata merah, telinga yang relatif kecil, dan badan yang lebih pendek dari ekor (**Gambar 2.5**). Panjang tubuh tikus dewasa berkisar 18–20 cm. Bobot jantan dewasa berkisar 300–600 g, sedangkan bobot betina dewasa berkisar 250–500 g. Masa hidup tikus ini sekitar 2,5–3 tahun (Tan, 2017). Suhu tubuh normal tikus putih (*Rattus norvegicus*) 37,5°C, denyut jantung 300-500 kali permenit, dan respirasi sekitar 85 kali permenit. Seekor tikus dalam satu hari membutuhkan jumlah pakan sekitar 5 g/ 100 g berat badan dan juga mengkonsumsi air sebanyak 8 -11 ml/100 g berat badan (Otto *et. al.*, 2015).

Menurut Hendrich (2006) taksonomi tikus putih sebagai berikut :

Kingdom	: Animalia
Filum	: Chordata
Subfilum	: Vertebrata
Kelas	: Mamalia
Ordo	: Rodentia
Subordo	: Myomorpha
Famili	: Murinae
Genus	: <i>Rattus</i>
Spesies	: <i>Rattus norvegicus</i>

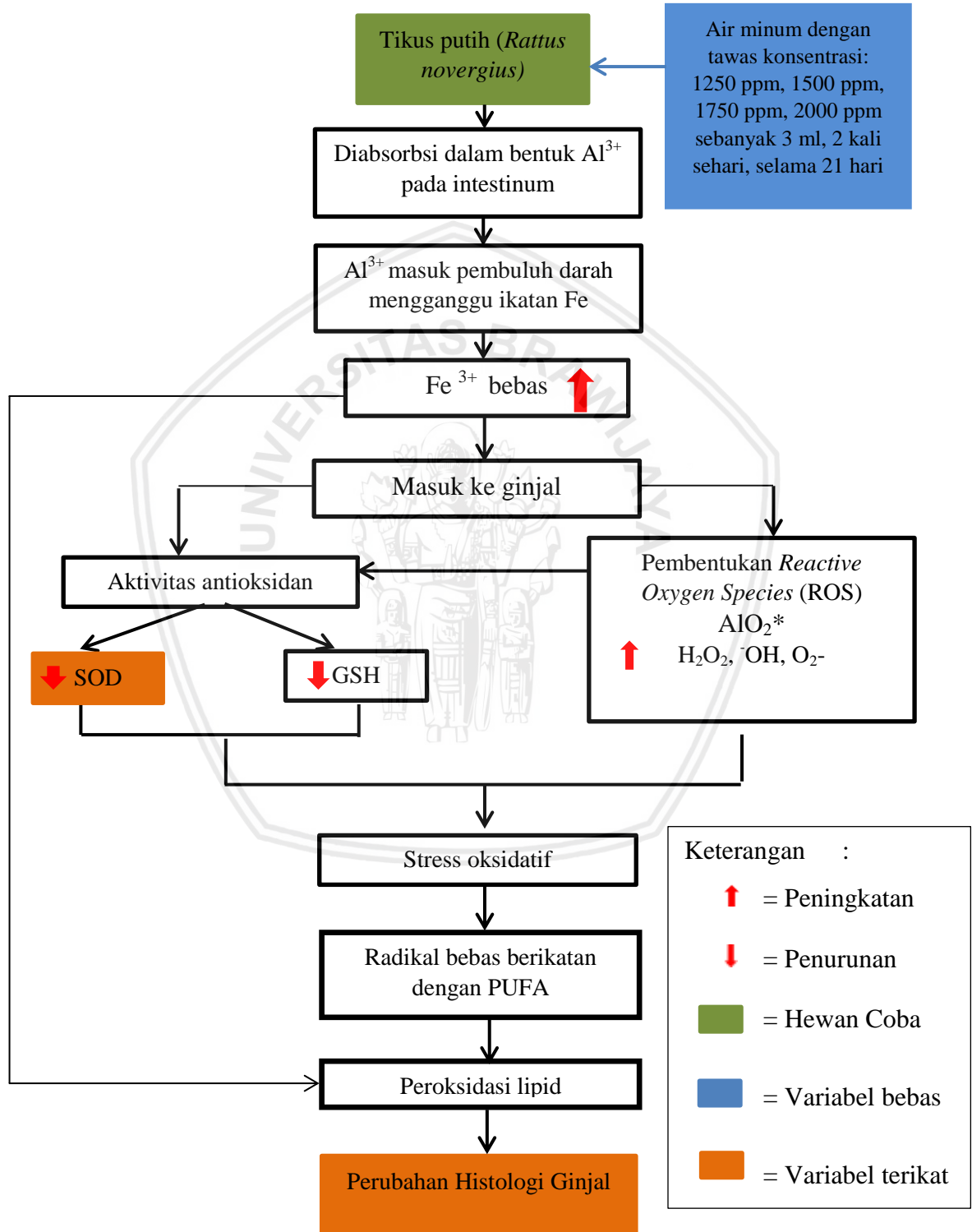


**Gambar 2.6** Tikus Putih (*Rattus norvegicus*) (Tan, 2017)

Tikus putih Putih (*Rattus norvegicus*) merupakan hewan standar untuk beberapa penelitian, seperti dalam bidang toksikologi, teratologi, farmakologi, dan juga berbagai jenis studi lain. Tikus putih Putih (*Rattus norvegicus*) kerap digunakan sebagai hewan perobaan karena memiliki masa hidup yang relatif pendek, jinak, memiliki respon yang cepat terhadap perlakuan yang diberikan, dan memberikan gambaran secara ilmiah yang mungkin terjadi pada manusia (Otto *et. al.*, 2015).

### BAB III KERANGKA KONSEP DAN HIPOTESA PENELITIAN

#### 3.1 Kerangka Konsep



Gambar 3.1 Kerangka Konseptual Penelitian

Hewan coba tikus putih (*Rattus norvegicus*) diberikan paparan tawas yang dilarutkan dalam air minum dan diberikan dalam beberapa variasi konsentrasi, yaitu 1250 ppm, 1500 ppm, 1750 ppm, dan 2000 ppm. Pemberian air minum dengan tawas yang mengandung senyawa kimia alumunium sulfat ( $\text{Al}_2(\text{SO}_4)_3$ ) secara oral dengan sonde lambung sebanyak 3 ml dua kali sehari selama 21 hari.

Tawas atau senyawa alumunium sulfat ( $\text{Al}_2(\text{SO}_4)_3$ ) mengalami pemecahan menjadi  $\text{Al}^{3+}$  di dalam air dan kemudian dicerna dan diserap didalam tubuh dalam bentuk  $\text{Al}^{3+}$ . Alumunium dalam bentuk ini dapat menjadi pro-oksidan dalam tubuh. Alumunium dalam tubuh diserap dalam didalam saluran pencernaan, khususnya di *intestinum tenue*. Setelah diserap  $\text{Al}^{3+}$  masuk ke aliran darah dan distribusikan ke organ – organ tubuh lain, termasuk ginjal. Didalam darah aluminium yang berbentuk  $\text{Al}^{3+}$  akan berikatan dengan protein *carrier* besi, yaitu transferin. Hal tersebut akan mengurangi pengikatan  $\text{Fe}^{3+}$  oleh membran sel, sehingga terjadi peningkatan jumlah  $\text{Fe}^{3+}$  bebas didalam sel.

Al didalam sel dan jaringan meningkatkan oksidasi biologis dengan membentuk *aluminium superoxide* ( $\text{AlO}_2^*$ ) yang bertindak sebagai pro-oksidan dan mempercepat pembentukan  $\text{H}_2\text{O}_2$ , sehingga jumlah *Reactive Oxygen Species* (ROS) dalam tubuh meningkat.  $\text{Al}^{3+}$  merupakan bentuk oksidasi alumunium  $\text{Al}^{3+}$ , memiliki atom bebas atau tidak berpasangan, sehingga berusaha berikatan dengan ion lain.  $\text{Al}^{3+}$  berikatan dengan gugus sulfhidril Glutathione (GSH) yang mempunyai ion donor. Ikatan ini jika

dalam jumlah menekan pembentukan GSH yang merupakan salah satu antioksidan jaringan.

Ketika terjadi peningkatan jumlah ROS yang tidak diimbangi peningkatan jumlah atau malah terjadi penurunan antioksidan, maka terbentuk kondisi stress oksidatif didalam jaringan. Kondisi stress oksidatif yang terus menerus akan menyebabkan terjadi penekanan aktivitas antioksidan endogen dalam tubuh, termasuk aktivitas antioksidan SOD. Sehingga, jika dilakukan pengukuran SOD pada ginjal maka, tampak aktivitas antioksidan tersebut akan menurun.

Stress oksidatif dan peningkatan  $Fe^{3+}$  intraseluler dapat menyebabkan terjadi peroksidasi lipid. Peroksidasi lipid merupakan sebuah reaksi yang bersifat kompleks dengan Elektron pada radikal bebas yang tidak berpasangan atau tidak stabil akan berusaha menarik elektron dari molekul disekitar asam lemak tidak jenuh atau *Polyunsaturated Fatty Acid* (PUFA) yang merupakan penyusun fosfolipid pada membran sel.

Peroksidasi lipid terus menerus akan mengganggu fluiditas dan meningkatkan permeabilitas membran sel sehingga mengakibatkan kehilangan fungsi seluler dan menyebabkan perubahan maupun kerusakan sel. Kerusakan sel pada ginjal yang disebabkan oleh paparan air minum yang ditambahkan tawas dapat dilihat dari histopatologi ginjal. Parameter yang dilihat yaitu adanya inflamasi, hemoragi jaringan dan nekrosis pada tubulus dan glomerulus. selain itu juga menyebabkan penyempitan ruang bowmann atau *bowmann's space*.

### 3.2 Hipotesa Penelitian

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

1. Air minum yang ditambahkan tawas dan diberikan pada tikus putih (*Rattus norvegicus*) dapat menurunkan aktivitas SOD.
2. Air minum yang ditambahkan tawas dan diberikan pada tikus putih (*Rattus norvegicus*) dapat menyebabkan kerusakan histopatologi ginjal.



## BAB IV METODOLOGI PENELITIAN

### 4.1 Tempat dan Waktu Penelitian

Penelitian ini dilakukan pada bulan Desember 2018 hingga Januari 2019, bertempat di beberapa laboratorium yaitu :

1. Pemeliharaan hewan coba dan pemberian perlakuan hewan coba di Laboratorium Farmakologi Fakultas Kedokteran Universitas Brawijaya.
2. Pembuatan air minum dengan tawas di Laboratorium Farmakologi Fakultas Kedokteran Universitas Brawijaya.
3. Pembuatan preparat histopatologi ginjal di Laboratorium Patologi Anatomi Fakultas Kedokteran Universitas Brawijaya
4. Pengujian aktivitas SOD di Laboratorium Farmakologi Kedokteran Universitas Brawijaya.

### 4.2 Alat dan Bahan

Alat yang digunakan dalam penelitian ini yaitu kandang tikus, tempat pakan, alat sonde, *disposable syringe* 3 ml, *dissecting set*, *glove*, masker, *autoclave*, timbangan digital, gelas ukur, spatula kaca, cawan petri, labu takar, pot sampel, mortar, kertas label, spidol, tabung sentrifus, sentrifus (*Thermoscientific Sorvall Primo R Centrifuge*), spektrofotometer, *microtube*, *micropipet*, inkubator, *vorteks*, tabung *ependorf*, penangas air, *cooler ice box*, *object glass*, *cover glass*, mikroskop cahaya (Olympus BX51).

Bahan yang akan digunakan dalam penelitian ini, antara lain tikus putih (*Rattus norvegicus*) jantan, strain *Wistar*, dengan berat 180 – 200 gram,



pakan standar, *aquadest*, NaCl fisiologis, *Buffer Neutral Formalin* (BNF) 10%, serum xanthine, *xathine oksidase* (XO), *Nitro Blue Tetrazoleum* (NBT), *Phosphat Buffer Saline* (PBS), formalin 10%, alkohol bertingkat (70%, 80%, 90%, 95%, 100%), xylol bertingkat ( I, II, III), parafin cair, pewarna *Haematoxylin – Eosin* (HE), dan *canadian balsam*.

### 4.3 Tahapan Penelitian

Tahapan dari penelitian ini adalah sebagai berikut :

1. Rancangan penelitian
2. Persiapan hewan coba
3. Pembuatan air minum dengan tawas
4. Pemberian air minum dengan tawas pada kelompok perlakuan
5. Euthanasi , nekropsi dan isolasi ginjal tikus putih (*Rattus norvegicus*)
6. Pengukuran aktivitas SOD ginjal dengan spektrofotometri
7. Pembuatan dan pembacaan preparat histopatologi ginjal pewarnaan HE
8. Analisa data

### 4.4 Rancangan Penelitian

Penelitian ini merupakan penelitian bersifat eksperimental laboratorik dengan menggunakan Rancangan Acak Lengkap (RAL). Hewan coba dibagi menjadi 5 kelompok dengan masing-masing 4 ulangan berdasarkan rumus  $t(n-1) \geq 15$  (Montgomery dan Kowalsky, 2011) :

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

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

$$5n - 5 \geq 15$$

$$5n \geq 20$$

$$n \geq 4$$

Keterangan :

t : Jumlah perlakuan

n : Jumlah ulangan yang diperlukan

**Tabel 4. 1 Rancangan Penelitian**

<b>Kelompok</b>	<b>Perlakuan</b>
<b>kontrol negatif</b>	Tikus diberi minum aquadest secara adlibitum selama 21 hari
<b>P1</b>	Tikus diberi air dengan tawas konsentrasi 1250 ppm melalui sonde lambung sebanyak 3 ml, 2 kali sehari, selama 21 hari
<b>P2</b>	Tikus diberi air dengan tawas konsentrasi 1500 ppm melalui sonde lambung sebanyak 3 ml, 2 kali sehari, selama 21 hari
<b>P3</b>	Tikus diberi air dengan tawas konsentrasi 1750 ppm melalui sonde lambung sebanyak 3 ml, 2 kali sehari, selama 21 hari
<b>P4</b>	Tikus diberi air dengan tawas konsentrasi 2000 ppm melalui sonde lambung sebanyak 3 ml, 2 kali sehari, selama 21 hari

#### 4.5 Variabel Penelitian

Variabel yang diamati dalam penelitian ini antara lain adalah :

1. Variabel bebas : dosis pemberian tawas pada air minum.
2. Variabel terikat : Aktivitas SOD dan histopatologi ginjal.
3. Variabel kontrol : Homogenitas tikus putih (*Rattus norvegicus*) (strain, jenis kelamin, berat badan, dan umur), pakan, kandang, metode, waktu, serta volume paparan air minum tawas.

#### 4.6 Prosedur Kerja

##### 4.6.1 Persiapan Hewan Coba

Penelitian ini menggunakan hewan coba berupa tikus putih (*Rattus norvegicus*). Tikus yang digunakan dalam penelitian ini, yaitu tikus putih (*Rattus norvegicus*), jantan, strain *Wistar*, umur 8-12 minggu, dengan berat badan berkisar antara 180-200 gram. Tikus putih (*Rattus norvegicus*)

diadaptasi dengan lingkungan selama tujuh hari sebelum digunakan dalam penelitian. Hewan coba diberikan pakan ransum dan minum *adlibitum* (Muliani, 2011). Penelitian ini terdiri dari lima kelompok perlakuan, berisi masing - masing empat ekor tikus putih (*Rattus norvegicus*) yang ditempatkan dalam satu kandang. Kandang yang digunakan berbahan plastik dengan tutup kawat dan diberi alas berupa sekam untuk menjaga tingkat kelembapan. Pemeliharaan tikus putih (*Rattus norvegicus*) dan pemberian perlakuan dilakukan di Laboratorium Farmakologi Fakultas Kedokteran Universitas Brawijaya.

#### 4.6.2 Pembuatan Air Minum dengan Tawas

Pembuatan air minum dengan tawas menggunakan tawas yang didapatkan dari CV. Sari Kimia Raya Malang dalam bentuk kristal-kristal atau bubuk putih. Cara pembuatan air minum dengan tawas, dengan menyiapkan *aquadest* dalam wadah penampung air, kemudian ditambahkan tawas berdasarkan berbagai konsentrasi. Konsentrasi tawas yang dibuat merupakan modifikasi dari penelitian Nisa (2017) yang menggunakan 3 kelompok perlakuan dengan dosis 800 mg/kg, 1600 mg/ kg dan 2400 mg/kg yang menunjukkan kerusakan ginjal mulai dosis 800 mg/kg, sehingga air minum dengan tawas dibuat dalam konsentrasi 1250 ppm, 1500 ppm, 1750 ppm, dan 2000 ppm. Perhitungan dosis tercantum dalam **Lampiran 2**. Setelah itu, *aquadest* dan tawas diaduk menggunakan pengaduk kaca hingga homogen.

#### 4.6.3 Pemberian Air Minum dengan Tawas

Pemberian air minum dengan tawas terhadap hewan coba dilakukan per-oral menggunakan sonde lambung, sehingga senyawa  $Al^{3+}$  langsung masuk lambung, diabsorpsi, serta dimetabolisme oleh tubuh. Air minum dengan tawas diberikan pada hewan coba kelompok perlakuan B, C, D, dan E sesuai dosis masing-masing perlakuan. Volume pemberian disesuaikan dengan jumlah kebutuhan air minum tikus putih (*Rattus novergicus*) harian, yaitu 8 -11 ml / 100 gram berat badan ( Otto *et. al.*, 2015). Sehingga diberikan sebanyak 3 ml /ekor dalam satu kali pemberian, diberikan dua kali sehari selama 21 hari pada pagi dan sore, pada malam hari diberi air minum kelompok secara *adlibitum*.

#### 4.6.4 Isolasi Ginjal

Pengambilan ginjal hewan coba kelompok A, B, C, D, dan E dilakukan pada hari ke 29, setelah 21 hari pemberian air minum dengan tawas. Hewan dieuthanasi dengan diberikan anastesi ketamin. Tikus putih (*Rattus novergicus*) diletakan pada papan bedah dengan posisi rebah dorsal, difiksasi ekstremitas dengan jarum. Pembedahan dimulai melalui abdominal hingga terlihat semua organ. Ginjal terletak pada retroperial, organ dalam bagian abdomen dibuka hingga menampakan ginjal, kemudian ginjal di isolasi. Ginjal yang digunakan untuk preparat histopatologi disimpan dalam formalin 10 % pada suhu 27°C selama minimal 24 jam untuk mencegah kerusakan pada jaringan, menghentikan proses metabolisme, dan mengawetkan komponen histologi, sedangkan ginjal untuk uji aktivitas SOD dimasukan

dalam pot dilapisi alumunium dan disimpan dalam kondisi beku (Roosdiana dkk, 2017).

#### 4.6.5 Pengukuran Aktivitas *Superoxide Dismutase* (SOD) Ginjal

Pengukuran aktivitas SOD diawali dengan preparasi ginjal. Ginjal digerus, dilarutkan dalam larutan PBS dan dihomogenkan dengan vortex. Supernatan yang dihasilkan diambil sebanyak 100  $\mu$ L dan dimasukkan kedalam tabung, kemudian ditambah 100  $\mu$ L xantin oksidase, 100  $\mu$ L xantin, 100  $\mu$ L NBT, dan 1000  $\mu$ L larutan PBS. Selanjutnya, campuran dihomogenkan dengan vortex, diinkubasi pada suhu 30°C selama 30 menit. Campuran disentrifugasi pada kecepatan 3000 rpm selama 10 menit. Supernatan diukur serapan pada panjang gelombang 580 nm menggunakan Shimadzu UV-Vis Spectrophotometer UV10601 (Roosdiana dkk., 2017). Aktivitas SOD dapat dihitung dengan mencari persentase hambatan dengan menggunakan rumus (Nisma dkk., 2010) :

$$\%Hambat = \frac{\Delta abs\ blanko\ (menit) - \Delta abs\ sampel\ (menit)}{\Delta abs\ blanko\ (menit)} \times 100\%$$

Setelah persentase hambatan didapat, aktivitas SOD dihitung dengan rumus (Nisma dkk., 2010) :

$$Aktivitas\ SOD\ \left(\frac{unit}{ml}\right) = \frac{\%Hambat}{50\%} \times Fp$$

#### 4.6.6 Pembuatan dan Pembacaan Preparat Histopatologi Ginjal Pewarnaan *Haematoxylin Eosin* (HE)

Pembuatan preparat histologi menurut Mescher (2016) terdiri dari proses fiksasi, dehidrasi, penjernihan (*clearing*), infiltrasi parafin, *embedding*, *sectioning*, penempelan digelas objek serta pewarnaan

a. Fiksasi

Fiksasi bertujuan untuk mencegah kerusakan jaringan. Sampel organ dimasukkan kedalam larutan formalin 10% selama 24 jam. Kemudian, dilanjutkan dengan proses dehidrasi. Proses dehidrasi diawali dengan merendam jaringan dalam larutan etanol bertingkat mulai dari 70% selama 24 jam, kemudian 80% selama 2 jam, dilanjutkan etanol 90% sampai absolut masing – masing 20 menit

b. Penjernihan

Sampel organ hasil fiksasi dipindahkan kedalam larutan penjernihan, yaitu xylol I, II, III.

c. *Embedding*

Infiltrasi parafin dilakukan dengan parafin cair kemudian ditempatkan dalam inkubator bersuhu 58 – 60 °C. Proses *embedding* dilakukan dengan mencelupkan jaringan dalam parafin cair yang telah dituang dalam cetakan.

d. *Sectioning*

*Sectioning* diawali dengan memotong blok organ dengan mikrotom dengan ketebalan 5-6µm. Hasil irisan dipindah ke dalam air hangat dengan suhu 38 - 40°C, kemudian diangkat dan diletakan diatas *object glass*.

e. Pewarnaan HE

Pewarnaan HE dilakukan dengan zat warna hematoksilin – eosin. Proses pewarnaan diawali dengan proses deparafinisasi dengan xylol

kemudian dilanjutkan rehidrasi dengan alkohol 95 %, 90%, 80%, dan 70% secara berurutan masing – masing 3 menit. Selanjutnya, dicuci dengan air mengalir. Sediaan diwarnai dengan pewarna hematoxylyn selama 1 menit, dicuci kembali, kemudian diwarnai dengan eosin selama 5 menit dan dicuci kembali.

*f. Mounting*

Mounting dilakukan dengan canadian balsam atau entelan serta ditutup dengan *cover glass*.

Preparat histopatologi ginjal kemudian diamati dengan mikroskop Olympus BX-51 dengan perbesaran 400x. Hasil pengamatan didokumentasikan dan dianalisa secara deskriptif. Pengamatan yang dilakukan adalah adanya kerusakan struktural pada sel glomerulus dan tubulus seperti inflamasi, nekrosis, dan kerusakan lain.

#### **4.6.7 Analisa Data**

Hasil pengukuran aktivitas *Superoxide Dismutase (SOD)* secara dianalisa kuantitatif, dengan ragam statistik uji *one way anlysisis of varians* (ANOVA) dilanjutkan dengan uji Beda Nyata Jujur (BNJ) dengan tingkat kepercayaan 95% ( $\alpha = 5\%$ ) menggunakan *statistical package for the social science (SPSS) 23 for windows*. Hasil pengamatan histopatologi ginjal dianalisa secara deskriptif.

## BAB V HASIL DAN PEMBAHASAN

### 5.1 Pengaruh Pemberian Air Minum dengan Tawas terhadap Aktivitas *Superoxide Dismutase* (SOD) Ginjal Tikus Putih (*Rattus norvegicus*)

Paparan air minum yang mengandung tawas atau alumunium sulfat secara terus menerus akan menimbulkan efek toksisitas berupa stress oksidatif dan juga kerusakan jaringan di berbagai organ termasuk ginjal. Tingkat stress oksidatif didalam tubuh dapat dilihat dari aktivitas antioksidan endogen, yaitu SOD. Aktivitas SOD ginjal tikus putih (*Rattus norvegicus*) pada seluruh kelompok dihitung dengan menggunakan metode spektrofotometri dengan mengukur nilai absorbansi pada panjang gelombang 580 nm. Hasil perhitungan aktivitas SOD selanjutnya dianalisa secara kuantitatif dengan uji statistik ANOVA, kemudian dilanjutkan dengan uji *Tukey*. Hasil ditunjukkan pada **Tabel 5.1**.

**Tabel 5.1** Rata – Rata Aktivitas *Superoxide Dismutase* (SOD) Tikus Putih

Perlakuan	Rata – Rata Aktivitas SOD (Unit/100mg)	Penurunan Terhadap K-
<b>Kontrol Negatif (K-)</b>	42,072 ± 3,53 <sup>c</sup>	-
<b>Perlakuan 1</b> (Air Minum dengan Tawas 1250 ppm)	39,234 ± 1,65 <sup>c</sup>	6,74%
<b>Perlakuan 2</b> (Air Minum dengan Tawas 1500 ppm)	37,094 ± 2,34 <sup>bc</sup>	11,83%
<b>Perlakuan 3</b> (Air Minum dengan Tawas 1750 ppm)	32,951 ± 1,76 <sup>ab</sup>	21,67%
<b>Perlakuan 4</b> (Air Minum dengan Tawas 2000 ppm)	28,334 ± 2,80 <sup>a</sup>	32,65%

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



Berdasarkan hasil analisa statistika pada **Tabel 5.1** menunjukkan kelompok kontrol negatif (K-) memiliki rata – rata aktivitas SOD sebesar  $42,072 \pm 3,53$  U/100 mg. Kelompok kontrol negatif (K-) merupakan kelompok yang tidak diberikan paparan air minum tawas dan hanya diberikan pakan dan minum normal. Aktivitas SOD pada kelompok kontrol negatif (K-) digunakan sebagai acuan penurunan aktivitas SOD pada kelompok perlakuan dengan paparan air minum tawas.

Kelompok perlakuan 1 (P1) yang diberi paparan air minum tawas konsentrasi 1250 ppm memiliki rata rata – rata aktivitas SOD sebesar  $39,234 \pm 1,65$  Unit/100 mg, nilai ini menunjukkan penurunan yang tidak signifikan dari kontrol negatif (K-) yaitu sebesar 6,74%. Begitu pula dengan kelompok perlakuan 2 (P2) juga belum menunjukkan penurunan aktivitas SOD yang nyata dibandingkan dengan kontrol negatif (K-), yaitu dengan rata – rata aktivitas SOD sebesar  $37,094 \pm 2,34$  Unit/100 mg dan penurunan aktivitas SOD sebesar 11,83%. Hal ini menunjukkan bahwa tawas hingga konsentrasi 1500 ppm dalam air minum belum dapat menurunkan aktivitas antioksidan endogen secara signifikan. *Superoxide dismutase* (SOD) mampu mengatasi dan menetralsir radikal bebas yang ditimbulkan oleh masuknya tawas ke dalam tubuh dalam rentang konsentrasi tersebut.

Kelompok perlakuan 3 (P3) yang diberi paparan air minum tawas 1750 ppm, dan Kelompok perlakuan 4 (P4) yang diberi paparan air minum tawas 2000 ppm menunjukkan penurunan aktivitas SOD yang signifikan atau berbeda nyata dari kelompok kontrol negatif (K-). Penurunan yang signifikan

aktivitas SOD pada tikus kelompok perlakuan menunjukkan terdapat pengaruh paparan air minum tawas terhadap aktivitas antioksidan endogen, yaitu aktivitas SOD. Kelompok P3 menunjukkan penurunan aktivitas SOD sebesar 21,67% dengan rata-rata  $32,951 \pm 1,76$  Unit/100mg. Pada kelompok P4 menunjukkan penurunan yang paling signifikan diantara kelompok perlakuan lain, yaitu sebesar 32,65% dengan rata-rata aktivitas sebesar  $28,334 \pm 2,80$  Unit/100mg. Penurunan yang paling signifikan pada kelompok P4 didukung dengan gejala klinis yang timbul, seperti pasif dan lemas mulai hari ke -4 paparan dan timbul gejala diare pada beberapa tikus di kelompok ini mulai hari ke -8 paparan air minum tawas (**Lampiran 7**). Hal ini sesuai dengan gejala gastrointestinal keracunan aluminium sulfat yang dinyatakan dalam HSDB (2004) yaitu vomit dan diare.

Perbedaan yang tidak signifikan antar kelompok perlakuan juga terjadi pada penelitian Nisa (2017) yang menjadi acuan penentuan dosis penelitian ini, yaitu antar kelompok perlakuan seperti kelompok P1 dengan dosis tawas 800 mg/kg dan kelompok P2 dengan dosis tawas 1600 mg/kg tidak ada perbedaan yang signifikan, namun terjadi perubahan signifikan antara kelompok perlakuan dan kontrol negatif, hal ini dapat disebabkan rentang dosis yang tidak terlalu jauh antar perlakuan.

*Superoxide dismutase* (SOD) merupakan salah satu biomarker untuk menilai tingkat stress oksidatif. *Superoxide dismutase* (SOD) merupakan salah satu enzim yang mempunyai peranan besar didalam tubuh, yaitu untuk menjaga kondisi fisiologi normal dan mengatasi stress sebagai antioksidan.

*Superoxide dismutase* (SOD) berfungsi dalam menjaga integritas sel dan jaringan terhadap efek berbahaya yang disebabkan oleh radikal bebas *superoxide* (Otitoju *et. al.*, 2008).

Tawas atau senyawa aluminium sulfat yang masuk ke tubuh mengalami pemecahan menjadi  $Al^{3+}$  di air minum. Tawas dicerna dan diserap dalam bentuk  $Al^{3+}$ . Aluminium dalam bentuk ini memiliki atom bebas atau tidak berpasangan, sehingga berusaha berikatan dengan ion lain kemudian menjadi pro-oksidan atau biasa disebut radikal bebas dalam tubuh (Singla dan Dhawan, 2014). Aluminium dalam tubuh diserap dalam saluran pencernaan. Setelah diserap  $Al^{3+}$  masuk ke aliran darah dan di distribusikan ke organ – organ tubuh lain termasuk ginjal (Domingo, 2003).  $Al^{3+}$  di dalam sel dan jaringan meningkatkan oksidasi biologis dengan membentuk *aluminium superoxide* ( $AlO_2^-$ ) yang bertindak sebagai pro-oksidan dan sehingga jumlah ROS dalam tubuh meningkat (Pandey, 2013).  $AlO_2^-$  yang tidak memiliki keseimbangan ion kemudian berikatan satu ion nya dengan antioksidan dalam tubuh yaitu SOD, dan kemudian dinetralkan dengan cara mengkatalis dismutase radikal  $O_2^-$  menjadi  $H_2O_2$  dan  $O_2$  melalui mekanisme reduksi dan oksidasi pada ion logam terhadap radikal superoksida dan asam kojugasi (peroksidhidril) secara bersamaan ( Abreu *and* Cabelli, 2010)

Oleh karena itu ketika terjadi paparan aluminium sulfat atau tawas sebagai agen toksik secara terus menerus, maka akan meningkatkan jumlah  $AlO_2^-$  yang merupakan *Reactive Oxygen Species* (ROS) atau radikal bebas. Ketika jumlah ROS terlalu tinggi maka SOD yang berfungsi sebagai

*scavanger* akan berikatan dengan radikal bebas tersebut dan kemudian akan tertekan aktivitasnya (Singla dan Dhawan, 2014).

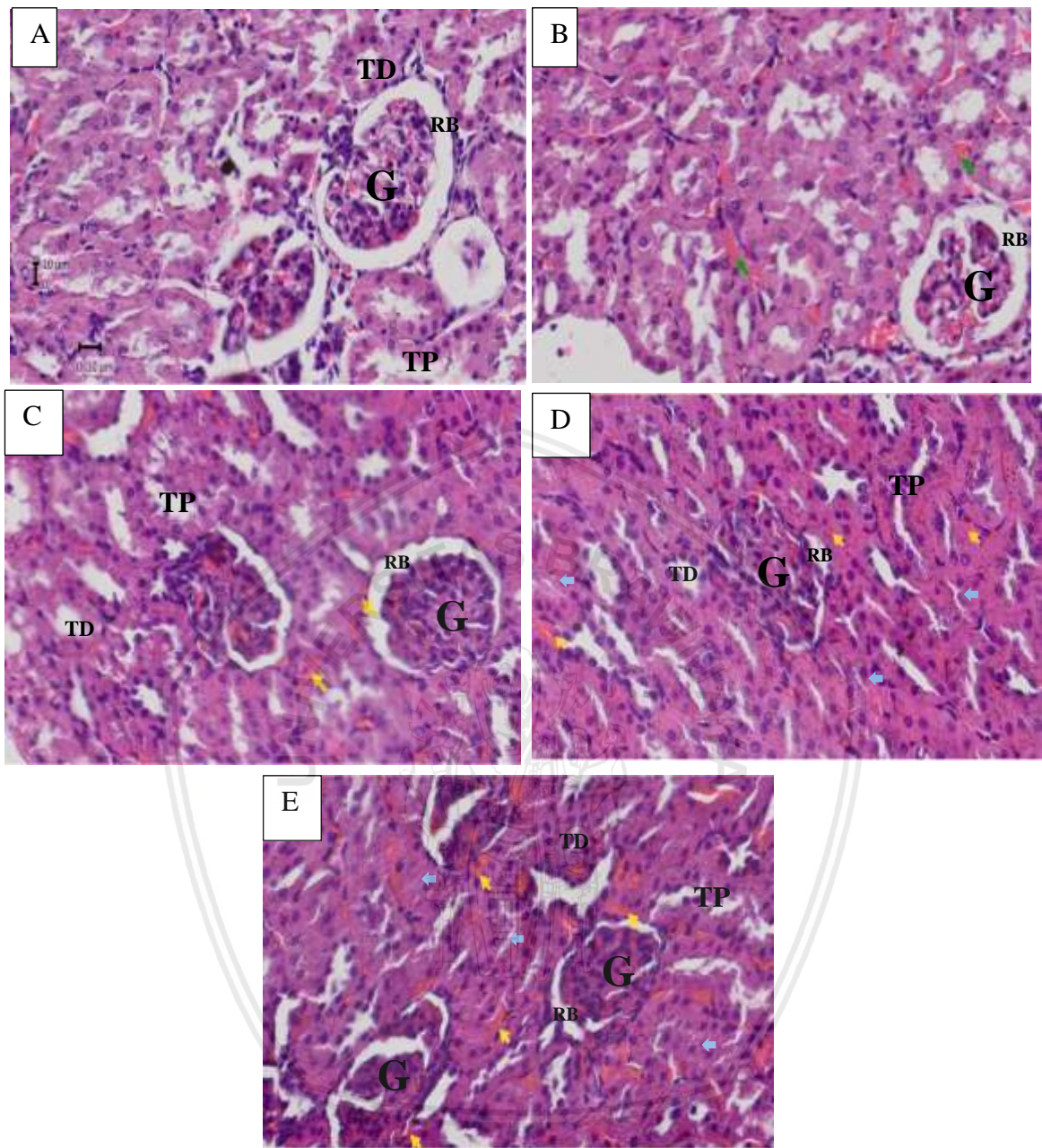
Prinsip dasar pengukuran aktivitas SOD adalah reaksi antara xantin dan xantin oksidase yang digunakan menghasilkan radikal superoksida yang kemudian diukur SOD yang mampu mengkatalis radikal superoksida. Sehingga dapat diartikan aktivitas SOD merupakan kemampuan SOD untuk menangkap dan menetralsir radikal bebas (Kristina dkk, 2016). Oleh karena itu aktivitas SOD yang terus menurun dari kelompok kontrol negatif hingga kelompok perlakuan 4 (P4) seiring dengan konsentrasi tawas yang bertambah menunjukkan semakin banyak radikal bebas yang masuk akibat air minum tawas, sehingga SOD yang masih mampu untuk mengikat radikal bebas berkurang.

Hasil ini juga didukung dengan hasil pemeriksaan kadar MDA (**Lampiran 10.**) yang terus meningkat secara signifikan seiring bertambahnya konsentrasi, menandakan banyak terjadi peroksidasi lipid karena antioksidan yaitu SOD tertekan aktivitasnya.

## 5.2 Pengaruh Pemberian Air Minum dengan Tawas terhadap Histopatologi Ginjal Tikus Putih (*Rattus norvegicus*)

Histopatologi ginjal tikus putih (*Rattus norvegicus*) pada masing – masing kelompok diamati dengan mikroskop cahaya dengan perbesaran 400x. Hasil pengamatan selanjutnya dijelaskan secara deskriptif kualitatif. Adapun bagian yang diamati yaitu glomerulus, tubulus kontortus proksimal, tubulus kontortus distal , juga ruang Bowmann.

Secara histologis organ ginjal dengan potongan melintang terbagi menjadi dua daerah yang cukup jelas. Daerah perifer yang terlihat lebih gelap disebut korteks dan daerah yang lebih cerah disebut medula. Ginjal tersusun atas unit – unit fungsional kecil yang disebut nefron. Unit nefron terdiri dari glomerulus, tubulus kontortus proksimal, tubulus kontortus distal, lengkung henle, dan tubulus kolektivus. Daerah perifer ginjal dibentuk oleh susunan teratur saluran mikroskopis nefron. Sekitar 80% nefron di ginjal berada pada darah korteks dan didominasi oleh glomerulus, tubulus kontortus proksimal, dan tubulus kontortus distal, sedangkan 20% nefron berada di medula didominasi oleh lengkung henle dan tubulus kolektivus (Silverthron, 2014).



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

Keterangan :

A = Kontrol Negatif

B = Kelompok Perlakuan 1

C = Kelompok Perlakuan 2

D = Kelompok Perlakuan 3

E = Kelompok Perlakuan 4

G = Glomerulus

TP = Tubulus Kontortus Proksimal

TD = Tubulus Kontortus Distal

RB = Ruang Bowmann

↑ = Hemoragi

↑ = Kongesti

↑ = Penyempitan lumen tubulus

Hasil pengamatan secara mikroskopis pada histopatologi ginjal tikus kelompok kontrol negatif (**K-**) menunjukkan kondisi ginjal dalam keadaan normal, terdiri atas glomerulus yang dikelilingi kapsula Bowman, tubulus kontortus proksimal, dan tubulus kontortus distal. Hal ini ditunjukkan dengan epitel tubulus kontortus berbentuk kuboid simpleks dengan inti sel dan batas antar sel terlihat jelas, berikut juga dengan lumen tubulusnya. Tidak ada kerusakan pada glomerulus, epitel kapsula bowman berbentuk skuamus simpleks, dan terdapat ruang antara glomerulus dan kapsula Bowmann yang disebut Bowmann space terlihat cukup lebar (**Gambar 5.1**).

Glomerulus merupakan bagian dari nefron yang berfungsi untuk menjala proses filtrasi darah. Struktur glomerulus tersusun atas anyaman kapiler yang dilapisi oleh lapisan tipis sel endotel, sel dan matriks mesangial dibagian tengah, sel epitel khusus yang disebut podosit dan juga membran basal (Wallig *et. al*, 2017). Pada irisan jaringan glomerulus terlihat seperti benda lonjong atau bulat yang terdiri dari sekumpulan kapiler yang mengandung banyak sel darah merah dan dibatasi oleh ruangan kecil (Bevelander dan Ramaley, 1998).

Perbedaan yang nampak antara tubulus kontortus proksimal dan tubulus kontortus distal dapat dilihat pada ukuran sel, mikrofilil dan bentuk lumen. Kedua tubulus sama – sama tersusun atas epitel kuboid simpleks, namun tubulus proksimal memiliki sel yang lebih besar, dengan mikrofilil yang panjang. Lumen tubulus kontortus proksimal terlihat berbentuk lonjong dan lumen terkadang terlihat berisi. Sedangkan pada tubulus kontortus distal,

sel epitel lebih kecil ukuranya dengan mikrofili yang pendek, lumen berbentuk bulat dan tampak kosong ( Mescher, 2016)

Gambaran histopatologi kelompok perlakuan 1 (**P1**) yaitu kelompok tikus yang diberi paparan air minum tawar dengan konsentrasi 1250 ppm (**Gambar 5.1**) dan kelompok perlakuan 2 (**P2**) yang diberi paparan air minum tawar dengan konsentrasi 1500 ppm selama 21 hari (**Gambar 5.1**) belum jauh berbeda dari histopatologi ginjal yang ditunjukkan oleh kontrol negatif. Struktur glomerulus terlihat, tidak ada penyempitan pada *Bowmann's space* atau jarak antara glomerulus dan kapsula Bowmann terlihat jelas. Struktur tubulus terlihat bagus, tidak ditemukan nekrosis, tidak ada penyempitan lumen dan batas antar tubulus (interstitial) terlihat jelas. Namun ditemukan beberapa bentukan kongesti pada kapiler diantara tubulus pada kelompok perlakuan 1 (**P1**) sedangkan pada kelompok perlakuan 2 (**P2**) ditemukan beberapa bentukan hemoragi pada tubulus.

Hasil pengamatan pada gambaran histopatologi kelompok 3 (**P3**) yaitu kelompok yang diberi paparan air minum tawar dengan konsentrasi 1750 ppm, selama 21 hari (**Gambar 5.1**), ditemukan banyak bentukan hemoragi pada dan penyempitan lumen pada beberapa tubulus. Pada gambaran histopatologi kelompok ini juga terlihat adanya hipertrofi pada glomerulus, yang ditandai dengan membesarnya ukuran glomerulus. Pembesaran glomerulus ini menyebabkan *Bowmann space* menyempit sehingga glomerulus dan kapsula bowman seperti menyatu.



Sedangkan gambaran histopatologi ginjal tikus pada kelompok perlakuan 4 (**P4**) yaitu kelompok yang diberi paparan air minum tawas dengan konsentrasi 2000 ppm menunjukkan peningkatan kerusakan dari kelompok sebelumnya. Kerusakan terjadi baik pada tubulus maupun sel glomerulus. Pada glomerulus terlihat adanya penyempitan ruang Bowmann, glomerulus dan kapsula Bowmann tampak menyatu. Terlihat hemoragi di beberapa tempat baik pada tubulus dan interstitial bahkan juga pada glomerulus. Tampak terjadi pembesaran atau hipertrofi pada glomerulus. Epitel kuboid beberapa tubulus tampak membesar, batas antar sel menipis dan tidak jelas, dan tampak banyak lumen tubulus yang menyempit dan menyebabkan batas antar tubulus atau interstitial tidak jelas (**Gambar 5.1**).

**Tabel 5.2** Hasil Pengamatan Histopatologi Ginjal Tikus Putih (*Rattus norvegicus*)

Kelompok	Penyempitan Ruang Bowmann	Hipertrofi Glomerulus	Haemoragi	Konges-ti	Penyempitan lumen tubulus
KN	-	-	-	-	-
1	-	-	-	+	-
2	-	-	+	-	-
3	++	++	+	-	++
4	+++	+++	+++	-	+++

Keterangan : (-) tidak ada, (+) sedikit, (++) sedang, (+++) banyak

Pengaruh paparan air minum yang mengandung tawas atau aluminium sulfat mulai terlihat mulai pada kelompok perlakuan 1 (**P1**) yaitu air minum konsentrasi 1250 ppm dan sangat terlihat pada tikus kelompok perlakuan 4 (**P4**) (**Tabel 5.2**). Pada kelompok 1 (**P1**) ditemukan adanya kongesti pada

pembuluh darah kapiler pada sekitar tubulus. Kongesti merupakan pembendungan darah di dalam kapiler atau pembuluh darah akibat adanya gangguan sirkulasi. Kongesti juga merupakan gejala patologis pertama dari kerusakan jaringan dan terjadi peningkatan jumlah darah di dalam pembuluh darah sehingga pembuluh darah tampak melebar (Selvi dkk, 2016)

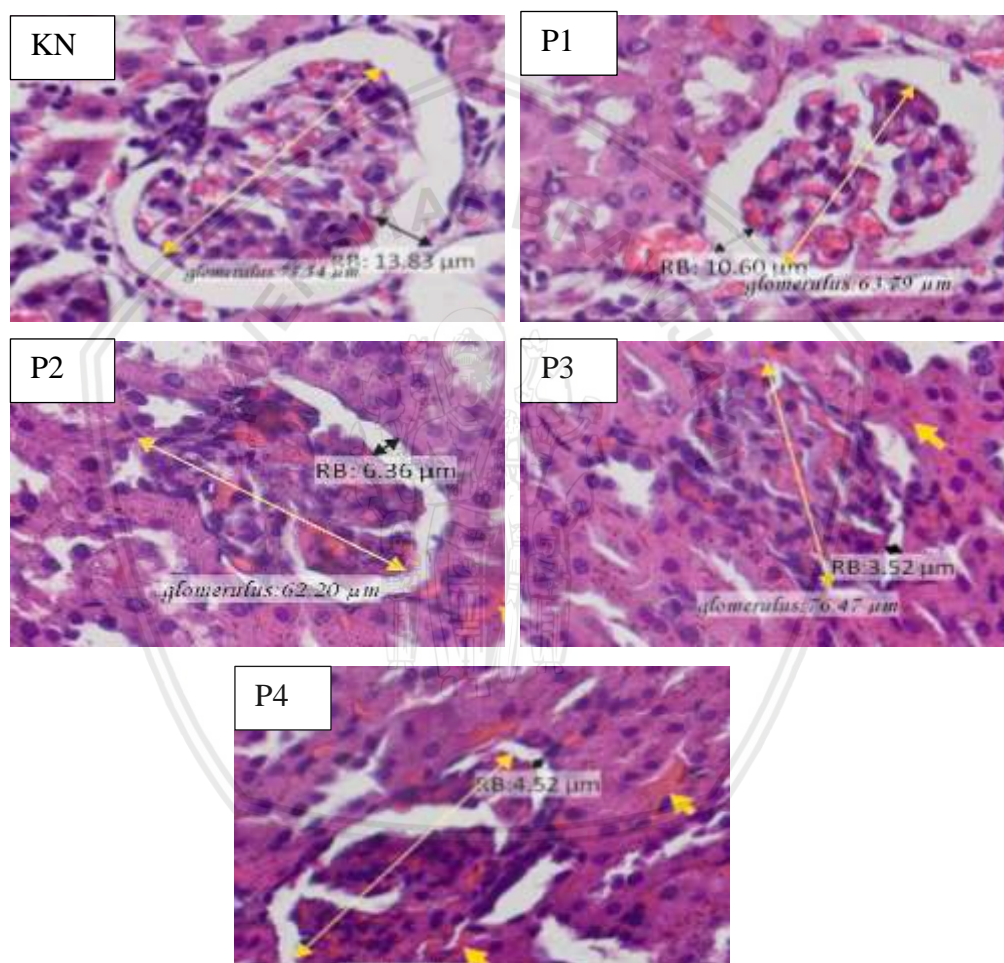
Hemoragi ditemukan mulai kelompok perlakuan 2 (**P3**) hingga pada kelompok perlakuan 4 (**P4**) baik pada interstitial, tubulus, maupun glomerulus. Hemoragi merupakan perdarahan yang ditandai adanya ekstrasvasi atau keluarnya sel darah dari pembuluh darah disertai penimbunan darah dalam jaringan dan ruang tubuh (Marangoni, 2007). Keluarnya darah dari pembuluh terjadi akibat dari kerusakan dinding pembuluh darah. Rusaknya dinding pembuluh darah tersebut terjadi akibat ada kerusakan membran sel epitel pada pembuluh darah oleh peroksidasi lipid yang disebabkan karena kondisi stress oksidatif.

Selain itu seiring kenaikan konsentrasi mulai dari kelompok perlakuan 3 (**P3**) hingga kelompok perlakuan 4 (**P4**) terjadi glomerulus terlihat membesar atau terjadi hipertrofi, perbedaan antar kelompok terlihat pada **Gambar 5.2**. Hipertrofi adalah kerusakan jaringan yang ditandai dengan penambahan ukuran sel. Karakteristik dari hipertrofi dapat dilihat dengan membesarnya sel-sel pada glomerulus dan menyempitnya ruang Bowman. Hipertrofi glomerulus terjadi karena adanya akumulasi senyawa yang bersifat toksik, walaupun konsentrasinya rendah namun dengan paparan yang cukup lama dalam tubuh dapat menyebabkan kerusakan (Takashima dan Hibiya,

1995; Arifin *et al.*, 2004). Aluminium dalam tawas sebagian besar difiltrasi di ginjal dan dieksresikan melalui urin (Shirley *and* Lote, 2005), sehingga beban filtrasi glomerulus meningkat. Meningkatnya aktivitas filtrasi glomerulus juga menjadi salah satu pemicu terjadi hipertrofi glomerulus (Silva, 2008). Hipertrofi pada glomerulus maka akan disertai dengan penyempitan ruang bowman. Ruang bowman merupakan ruang dalam kapsula bowman yang menampung cairan yang di saring atau hasil filtrasi (Mescher, 2016). Kedua hal tersebut menyebabkan terjadi gangguan filtrasi (Setyaningsih dkk., 2006). Kerusakan pada glomerulus dapat mengganggu sistem vaskular peritubular dan berpotensi untuk mengalirkan zat racun ke tubulus (Nurdiniyah dkk., 2015).

Penyempitan lumen tubulus banyak ditemukan pada kelompok perlakuan 3 (**P3**) dan kelompok perlakuan 4 (**P4**). Penyempitan lumen tubulus dapat disebabkan karena kemampuan ginjal untuk mengkonsentrasikan substansi xenobiotik di dalam sel. Jika suatu zat kimia disekresi secara aktif dari darah ke urin, zat kimia terlebih dahulu diakumulasikan dalam tubulus proksimal atau jika substansi kimia ini direabsorpsi dari urin maka akan melalui sel epitel tubulus dengan konsentrasi tinggi. Proses pemekatan tersebut mengakibatkan zat-zat toksik ini terakumulasi di ginjal dan menyebabkan penyempitan pada lumen tubulus proksimal (Rolizawaty dkk, 2013). Gambaran mikroskopis berupa sel-sel epitel tubulus proksimal yang membengkak karena terjadi pergeseran air ekstraseluler ke dalam sel. Pergeseran cairan ini terjadi karena tingginya

radikal bebas oleh tawas menyebabkan gangguan transport ion. Gambaran pembengkakan merupakan bentuk degenerasi yang paling ringan serta bersifat reversible. Kerusakan tubulus akibat paparan zat racun dapat menyebabkan terbentuknya debris tubulus yang dapat menghambat aliran urin (Robbins, 2007)



**Gambar 5.2** Gambaran Perbedaan Glomerulus dan Ruang Bowmann Antar Kelompok (Perbesaran 400x.) Keterangan: RB= Ruang Bowmann; (  $\leftrightarrow$  ) = jarak ruang bowmann ; (  $\leftrightarrow$  ) = diameter glomerulus

Aluminium sulfat dipecah di dalam air dan masuk ke tubuh dan diserap dalam bentuk  $Al^{3+}$ .  $Al^{3+}$  di dalam sel dan jaringan meningkatkan oksidasi biologis dengan membentuk *aluminium superoxide* ( $AlO_2^-$ ) yang

bertindak sebagai pro-oksidan (Pandey, 2013). Bentuk ini merupakan bentuk radikal bebas yang tidak mempunyai keseimbangan oksidatif sehingga berusaha berusaha menarik elektron dari molekul disekitar asam lemak tidak jenuh atau *Polyunsaturated Fatty Acid* (PUFA) yang merupakan penyusun fosfolipid pada membran sel. Reaksi ini disebut peroksidasi lipid. Tawas dalam bentuk  $Al^{3+}$  juga akan berikatan dengan protein *carrier* atau pembawa besi di dalam darah, yaitu transferin. Hal tersebut akan mengurangi pengikatan  $Fe^{3+}$  oleh membran sel, sehingga terjadi peningkatan jumlah  $Fe^{3+}$  bebas didalam sel.  $Fe^{3+}$  merupakan bentuk ion yang stabil secara oksidatif. Ion ini mempunyai peranan penting dalam berbagai proses biologis tubuh seperti dalam respirasi dan sebagai kofaktor metabolisme sel seperti oksidasi mitokondrial. Namun, jika Ion besi dalam bentuk  $Fe^{3+}$  bersifat bebas maka dapat mengkatalisasi dekomposisi hidroperoksida menjadi radikal hidroksil dan dapat ikut menginisiasi terjadinya peroksidasi lipid (Pandey, 2013 ; Pannequin *et, al.*, 2002). Peroksidasi lipid terus menerus akan mengganggu fluiditas dan meningkatkan permeabilitas membran sel sehingga merusak integritas membran dan mengakibatkan kehilangan fungsi seluler dan menyebabkan kerusakan sel, yang diawali dengan kebengkakan atau pembesaran sel hingga terjadi kematian sel (Al-Dera, 2016).

Meskipun terjadi penambahan tingkat kerusakan mulai dari P1 hingga P4, namun tidak ditemukan adanya kerusakan sel yang irreversibel seperti nekrosis sel. Hal ini Menandakan kerusakan yang ditimbulkan oleh paparan air minum tawas pada konsentrasi 1250 ppm, 1500 ppm, 1750 ppm, dan 2000

ppm belum menimbulkan kerusakan yang tergolong parah maupun kehilangan fungsi organ dalam jumlah besar. Hal ini didukung dengan hasil pemeriksaan kadar BUN dan Kreatinin (**Lampiran 11**) serum yang tidak menunjukkan adanya kenaikan yang signifikan.



## BAB VI KESIMPULAN DAN SARAN

### 6.1 Kesimpulan

Berdasarkan hasil penelitian dan pembahasan yang telah dilakukan, maka dapat disimpulkan bahwa :

1. Pemberian air mimun yang mengandung tawas menurunkan aktivitas *Superoxide dismutase* (SOD) ginjal tikus putih (*Rattus norvegicus*).
2. Pemberian air minum yang mengandung tawas berpengaruh terhadap histopatologi ginjal tikus putih (*Rattus norvegicus*), ditandai dengan adanya hipertrofi glomerulus dan tubulus, hemoragi, dan penyempitan *Bowmann space* dan penyempitan lumen tubulus pada kelompok perlakuan.

### 6.2 Saran

Diperlukan penelitian yang lebih lanjut tentang tawas pada air minum dengan variasi dosis dan waktu paparan yang lebih lama sehingga nantinya dapat mengetahui pengaruh jangka panjang dalam tubuh.

## DAFTAR PUSTAKA

- [KEMENKES] Kementerian Kesehatan Republik Indonesia. Peraturan Menteri Kesehatan Republik Indonesia Nomor 492/ Menkes/ PER/ IV/ 2010 tentang Persyaratan Kualitas Air Minum
- [MSDS] Material Safety Data Sheet. 2009. *Aluminium Sulfate sc-214530*. Santa Cruz Biothecnology Inc. Diunduh pada 13 Desember 2018 pukul 20.41
- [HSDB] Hazardous Substance Data Bank. Aluminum Sulfat. 2004. Diakses pada 12 Maret 2019 dari <https://toxnet.nlm.nih.gov/cgi-bin/sis/search/a?dbs+hsdb:@term+@DOCNO+5067>
- Abbas, A.K., A.H. Lichtman, dan S. Pillai. 2015. *Celluler and Molecular Immunology*, 6th ed. California : Saunders Elsevier
- Abreu, I.A., D.E. Cabelli. 2010. Superoxide Dismutases-A Review Of The Metal-Associated Mechanistic Variations. *Biochim Biophys Acta*. 2010 Feb; 1804(2) : 263-74
- Ananda, P.R., A. Ismail. 2016. Pengaruh Pemberian Tawas Dengan Dosis Bertingkat Dalam Pakan Selama 30 Hari Terhadap Gambaran Histopatologi Hepar Tikus Wistar. *Jurnal Kedokteran Diponegoro*. Vol. 5 No.3 Agustus 2016.
- Al- Dera, H. 2016. Protective effect of resveratrol against aluminum chloride induced nephrotoxicity in rat. *Saudi Med J* 2016; Vol 27 (4)
- Antoniraj. 2014. How To Purify Muddy Water. [www.Instructables.Com](http://www.Instructables.Com) [Diakses 15 Oktober 2018]
- Arifin, H., Y. S. Rahmi, dan N. Marusin. 2004. Kajian Toksisitas Ekstrak Etanol Daun Kompri (*Symphytum officinale L*). *Jurnal Sains dan Teknologi Farmasi*, 9 (1) : 28-35
- Ayudyahrini, M., R. Effendi, N. Gamayanti. 2013. Estimasi Dosis Aluminium Sulfat pada Proses Penjernihan Air Menggunakan Metode *Genetic Algorithm*. *Jurnal Teknik POMITS* Vol. 1 No. 1 (2013) 1-6
- Aziz, T., D.Y. Pratiwi, L. Rethiana. 2013. Pengaruh Penambahan Tawas  $Al_2(SO_4)_3$  Dan Kaporit  $Ca(OCl)_2$  Terhadap Karakteristik Fisik Dan Kimia Air Sungai Lambidaro. *Jurnal Teknik Kimia* No.3, Vol. 19, Agustus 2013.
- Bevelander, G. dan J. A. Ramaley. 1998. *Dasar-Dasar Histologi Edisi Kedelapan*. Jakarta: Erlangga.
- Birben, E., U.M. Sahiner, C. Sackesem, S. Erzurum, and O. Kalayc. 2012. Oxidative Stress and Oxidative Defence. *World Organ Journal*, 5, 9-19



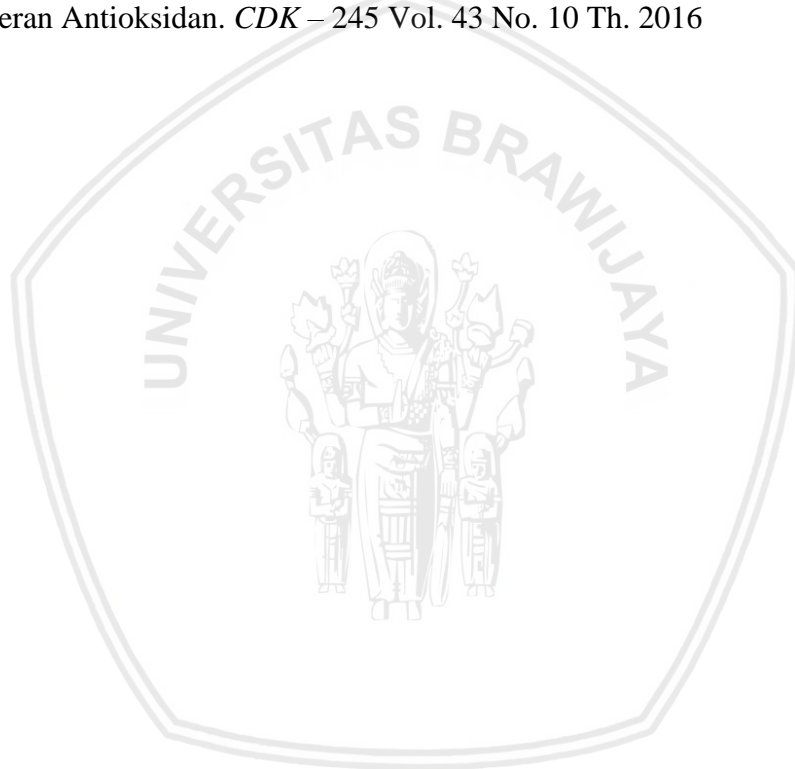


- Darmawan, B.A. 2011. Evaluasi Pengendalian Kualitas Air Minum Pada Depot Air Minum Isi Ulang di Kabupaten Sleman Yogyakarta. *Khazanah* Vol IV No. 1 Juni 2011
- Domingo, J.L. 2003. *Aluminum (Aluminium) Toxicology*. US: Elsevier
- Dowling, K.M. 2017. The Role of Oxidative Stress in Methamphetamine-induced Toxicity and Sources of Variation in Design of Animal Studies. *Current Neuropharmacology* 2017, 15, 300-314
- Ellis, H. 2006. *Clinical Anatomy: Applied Anatomy for Student & Junior Doctors*. 11th edition. USA: Blackwell Publishing
- Fatimah, S. S. 2008. *Perangkat Perkuliahan : Kimia Industri*. Bandung: Universitas Pendidikan Indonesia
- Guyton, A.C., J.E. Hall. 2016. *Guyton And Hall Textbook Of Medical Physiology, Thirteenth Edition*. US : Elsevier
- Haribi, R., S. Darmawati, T. Hartiti. 2009. Kelainan Fungsi Hati dan Ginjal Tikus Putih (*Rattus norvegicus, L.*) Akibat Suplementasi Tawas dalam Pakan. *Jurnal Kesehatan Universitas Muhammadiyah Semarang* Volume 2 Nomor 2 (2009)
- Hendrich, H. J. 2006. Taxonomy and Stocks and Strains. *The Laboratory Rat 2nd Edition*. US: Elsevier
- Husein, A.T.T. dan Trihono. 1996. *Buku Ajar Nefrologi Anak*. Jakarta: Ikatan Dokter Indonesia
- Kabel, A.M. 2014. Free Radicals and Antioxidants: Role of Enzymes and Nutrition. *World Journal of Nutrition and Health*, 2014, Vol. 2, No. 3, 35-38
- Khan, H., M.F. Khan, B.A. Khan, G. Razaque, N. Haque, B. Akhter and B. Zareen. 2012. Evaluation of the Intercation of Aluminium Metal with Glutathione in Human Blood Components. *Biomedical Research* 2012; 23 (2) : 237- 240
- Kurniawan S.N. 2017. Sinyal Neuron Neuronal Signaling. *Mnj*, Vol.01, No.02, Juli 2015
- Mailloux R.J., J.Lemire, V.D. Appanna. 2011. Hepatic Response To Aluminum Toxicity: Dyslipidemia And Liver Diseases. *Elsevier Experimental Cell Research* 317 (2011) 2231 – 2238
- Marangoni, M.A. 2007. Renal function and histology after acute hemorrhage in rats under dexmedetomidine action. *Acta Cirurgica Brasileira*. 22(4): 291-298.
- Mescher, A. 2016. *Junqueira's Basic Histology Text and Atlas 14th Ed*. US: McGraw – Hill Education

- Nisa, T. 2017. Pengaruh Pemberian Tawas Dengan Dosis Bertingkat dalam Pakan Selama 30 Hari Terhadap Histopatologi Ginjal Tikus Wistar. *Jurnal Kedokteran Diponegoro*. Vol. 6 No.3 Juli 2017
- Nordberg, G.F., B.A. Fowler, M. Nordberg, L. Friberg. 2007. *Handbook on The Toxicology of Metals 3rd Edition*. California: Elsevier
- Nurdiniyah, Nazaruddin, Sugito, M.N. Salim, Y. Fahrimal, S. Aisyah. 2015. Pengaruh Pemberian Ekstrak Kulit Batang Jaloh Terhadap Gambaran Mikroskopis Ginjal Tikus Putih (*Rattus norvegicus*) Yang Diinfeksi *Trypanosoma evansi*. *Jurnal Medika Veterinaria* Vol. 9 No. 2
- Otitoju, O., I.N.E. Onwurah, G.T.O. Otitoju, C.E. Ugwu. 2008. Oxidative Stress and Superoxide Dismutase Activity in Brain of Rats Fed with Diet Containing Permethrin. *BIOKEMISTRI*. 20(2): 93-98 (Desember 2008)
- Otto, G., C.L. Franklin, C.B. Clifford. 2015. Biology and Diseases of Rats. *Laboratory Animal Medicine Third Edition*. London: Elsevier. 151 – 208
- Pandey, G. 2013. A Review on Toxic Effect of Aluminium Exposure on Male Reproductive System and Probable Mechanism of Toxicity. *International Journal of Toxicology and Applied Pharmacology* 2013; 3 (3) : 48-57
- Pannequin, J., K.J. Barnham, F. Hollande. 2002. Ferroc Ions Are Essential for The Biological Activity of the Hormon Glycine-extended Gastrin. *The Journal of Biological Chemistry*. Vol 277, No. 50, Issue of December 13, pp 48602-48609
- Peckham, M. 2014. *At A Glance Histologi*. Jakarta: Erlangga. Hal: 54- 55.
- Price, S.A., dan Wilson, L.M. 2006. *Patofisiologi, Konsep Klinis Proses-Proses Penyakit, Edisi 6*, hal. 1271; Huriawati H, Natalia S, Pita Wulansari, Dewi Asih (eds). Jakarta: Penerbit Buku Kedokteran, EGC
- Rajkumar, S. M.R Praveen, D. Gajjar, A.R. Vasavada, B. Alapure, D. Patel, and S. Kapur. 2008. Activity of Superoxide Dismutase Isoenzymes in Lens Epithelial Cells Derived From Different Type of Age Related Cataract. *J Cataract Refract Surg*, 2008 Mar ; 34(3) : 470-4
- Rifa'i, J. 2007. Pemeriksaan Kualitas Air Bersih dengan Koagulan Alum dan PAC di IPA Jurug PDAM Kota Surakarta. Skripsi. Surakarta: Universitas Sebelas Maret
- Robbins. 2007. Robbins and Cotran Pathologic Basis of Diseases, Seventh edition. Philadelphia: Elsevier Inc
- Roosdiana, A., D.A Oktavianie, Y. P. Lestari. 2017. Pengaruh Rhodamin B dan Sakarin Terhadap Aktivitas *Superoxide Dismutase* (SOD) Ginjal Tikus Putih (*Rattus norvegicus*). *Prosiding Seminar Nasional Kimia UNY 2017*
- Rolizawaty, H. Budiman, H. Laila, Herrialfian. Pengaruh Ekstrak Etanol Sarang Semut (*Myrmecodia sp.*) Terhadap Gambaran Histopatologi Ginjal Mencit

- (*Mus musculus*) Jantan yang Hiperurusemia. *Jurnal Medika Veterineria* Vol. 7 No. 2, Agustus 2013
- Sadikin. 2003. *Antioksidan, Radikal Bebas, dan Penuaan*. [www.chem-is.try.com](http://www.chem-is.try.com) Diakses pada 6 November 2018
- Santosa, B. 2009. Pengaruh Suplementasi Seng Terhadap Kerusakan Tubulus GINJAL DAN Sistem Hematopiesis Tikus (*Rattus norvegicus*) yang Diberi Tawas. [Thesis] Universitas Diponegoro
- Sayuti, K., R. Yenrina. 2015. *Antioksidan Alami dan Sintetik*. Padang: Andalas University Press
- Selvi, N.Z., M. Riauwati, H. Syawal. 2016. Histopatology Kidney of *Pangasius hypophthalmus* That Are Immersed in Curcumin and Were Infected by *Aeromona hydrophila*. *Jurnal Online Mahasiswa Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan* Vol 3. No 2. (2016)
- Setyaningsih, R.D., N.S. Handajani, M. Harini. 2006. Pengaruh Pemberian Ekstrak Brokoli (*Brassica oleracea* var botrytis L.) terhadap Struktur Mikroanatomi Hepar dan Ren Mencit (*Mus musculus* L.) setelah Pemberian Pb Asetat Secara Oral. *Biofarmasi* 4 (1) : 14-21
- Shirley, D. G., C.J. Lote. 2005. Renal Handling of Aluminium. *Nephron Physiol.*2005; 101: p99-p103
- Silva PTD, Oloris SCS, Avanzo JL, Fukumasu H, Silva da TC, Hernandez-Blazquez FJ, Dagli MLZ. 2008. Compensatory kidney hypertrophy/hyperplasia after nephrectomy in mice : alterations of connexin 43 (Cx43) phosphorylated isoforms. *Braz J Vet Pathol* 1(1): 3-9.
- Silverthorn, D. U. (2014). *Fisiologi Manusia ( Sebuah Pendekatan Terintegrasi) Edisi 6*. Jakarta: Penerbit Buku Kedokteran : EGC
- Sinaga, F.A. 2016. Stress Oksidatif dan Status Antioksidan pada Aktivitas Fisik Maksimal. *Jurnal Generasi Kampus* Vol. 9 No. 2 September 2016
- Singla, N and D.K. Dhawan. 2014. Zinc Modulate Aluminium – Induced Oxidative Stress and Cellular Injury in Rat Brain. *Mettalomics* 2014, 6 : 1941- 1950
- Subandi. 2010. *Kimia Organik*. Yogyakarta: Dee Publish
- Takashima, F. dan T. Hibiya. 1995. *An Atlas of Fish Normal and Pathological Features*. Japan : Kodansha.
- Tan, Y. 2017. Anatomy, Physiology, and Husbandary of Laboratory Animals. *Fundamentals of Laboratory Animal Science*. US: CRC Press. 132 -186

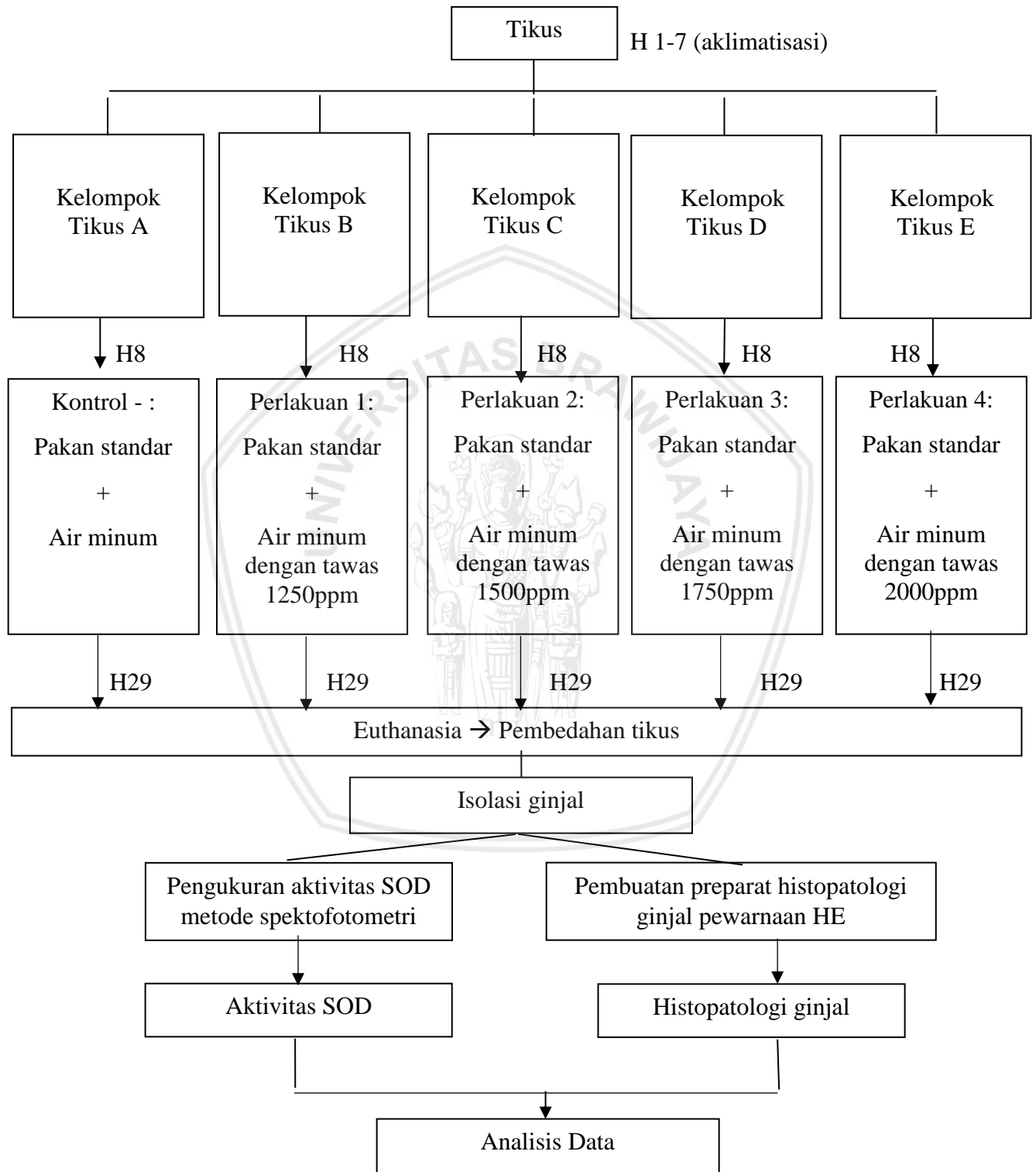
- Valko, M., C.J. Rhodes, J. Moncol, M. Izakovic, M, Mazur. 2006. Free Radicals, Metals and Antioxidant in Oxidative Stress – Induced Cancer. *Chem. Biol. Interact* 160: 1-40
- Winarsi, H. 2007. *Antioksidan Alami dan Radikal Bebas*. Yogyakarta : Kanisius
- Young, B., P. Woodford, G. O’Dowd. 2014. *Wheater’s Functional Histology A Text and Colour Atlas 6th Ed*. Philadelphia: Elsevier
- Young, I.S. and J.V. Woodside. 2001. Antioxidants in Health and Disease. *Journal of Clinical Pathology*, 54, 176-186
- Zalukhu, M.L., A.R. Pyma, R.T. Pinzon. Proses Menua, Stress Oksidatif dan Peran Antioksidan. *CDK – 245 Vol. 43 No. 10 Th. 2016*



# LAMPIRAN



### Lampiran 1. Kerangka Operasional Penelitian



## Lampiran 2. Perhitungan Dosis Tawas dan Pembuatan Air Minum dengan Tawas

### 2.1 Perhitungan Dosis Tawas

$$1 \text{ ppm} = 1 \text{ mg / l}$$

$$\text{Konsentrasi tawas} = 99\%$$

$$\text{Jumlah Tawas} = \frac{\text{besar ppm / konsentrasi}}{1 \text{ l}}$$

#### 1. Konsentrasi 1250 ppm

$$\text{Jumlah tawas} = \frac{1250/0,99}{1 \text{ l}} = 1262 \text{ mg/l}$$

#### 2. Konsentrasi 1500 ppm

$$\text{Jumlah tawas} = \frac{1500/0,99}{1 \text{ l}} = 1515 \text{ mg/l}$$

#### 3. Konsentrasi 1750 ppm

$$\text{Jumlah tawas} = \frac{1750/0,99}{1 \text{ l}} = 1767 \text{ mg/l}$$

#### 4. Konsentrasi 2000 ppm

$$\text{Jumlah tawas} = \frac{2000/0,99}{1 \text{ l}} = 2020 \text{ mg/l}$$

### 2.2 Langkah Kerja Pembuatan Tawas

Tawas

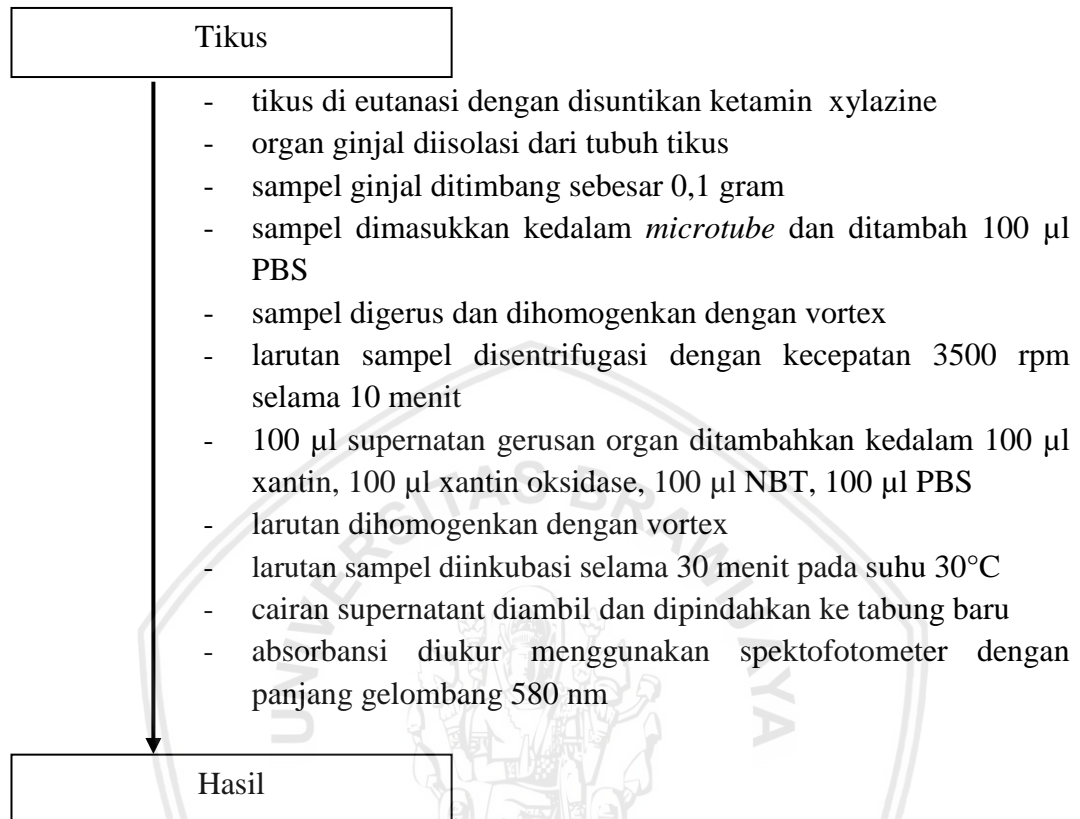
- konsentrasi tawas dihitung
- tawas ditimbang sesuai hasil perhitungan konsentrasi
- lima buah wadah penampungan air disiapkan
- wadah dicuci dengan air mengalir dan dikeringkan selama 20 menit
- 1000 ml aquadest dimasukkan ke masing – masing wadah penampungan

- tawas ditambahkan ke wadah dengan jumlah yang telah dihitung untuk berbagai konsentrasi
- larutan diaduk menggunakan spatula kaca hingga homogen

Air minum dengan tawas





**Lampiran 3. Pengukuran Aktivitas *Superoxide Dismutase* (SOD) Ginjal**

#### Lampiran 4. Pembuatan Preparat Histopatologi Ginjal

##### Tikus Putih (*Rattus norvegicus*)

- tikus dieuthanasi dengan ketamin xylazine
- organ ginjal diisolasi
- sampel dipotong
- dehidrasi dilakukan dengan merendam jaringan dalam larutan etanol bertingkat mulai dari 70% selama 24 jam, kemudian 80% selama 2 jam, dilanjutkan etanol 90% sampai absolut masing – masing 20 menit
- sampel jaringan dipindahkan kedalam larutan penjernihan, yaitu Xylol I , II, III.
- sampel dimasukkan kedalam parafin cair kemudian ditempatkan dalam inkubator bersuhu 58 – 60 °C
- parafin cair dituangkan ke cetakan kemudian sampel organ hasil infiltrasi ditanam ke cetakan
- blok organ dipotong dengan mikrotom dengan ketebalan 5-6µm
- hasil irisan dipindah kedalam air hangan 38 - 40°C
- hasil irisan diangkat dan diletakan diatas gelas objek.
- irisan jaringan dimasukkan kedalam xilol
- irisan jaringan dimasukkan kedalam alkohol 95 %, 90%, 80%, 70% secara berurutan masing – masing 3 menit
- irisan jaringan dicuci dengan air mengalir
- irisan jaringan dicelupkan ke pewarna hematoksilin selama 1 menit, kemudian dicuci

- irisan jaringan dicelupkan ke eosin selama 1 menit dilanjutkan proses dehidrasi dan *clearing* kembali
- irisan jaringan ditempelkan di *object glass* dan direkatkan dengan entelan

Hasil



## Lampiran 5. Laik Etik Penelitian



**KOMISI ETIK PENELITIAN  
UNIVERSITAS BRAWIJAYA**

**KETERANGAN KELAIKAN ETIK  
"ETHICAL CLEARANCE"**

No: 1024-KEP-UB

**KOMISI ETIK PENELITIAN (ANIMAL CARE AND USE COMMITTEE)  
UNIVERSITAS BRAWIJAYA**

**TELAH MEMPELAJARI SECARA SEKSAMA RANCANGAN PENELITIAN YANG  
DIUSULKAN, MAKA DENGAN INI MENYATAKAN BAHWA:**

**PENELITIAN BERJUDUL : PENGARUH PEMBERIAN AIR MINUM TAWAS  
TERHADAP KADAR SERUM GLUTAMIC PIRUVIC  
TRANSMINASE (SGPT) DAN SERUM GLUTAMIC  
OXALOACETIC TRANSMINASE (SGOT) PADA TIKUS**

**PENELITI : ANNISA LARASATI**

**UNIT/LEMBAGA/TEMPAT : UNIVERSITAS BRAWIJAYA**

**DINYATAKAN : LAIK ETIK**

Malang, 25 Oktober 2018  
Kepada Komisi Etik Penelitian  
Universitas Brawijaya



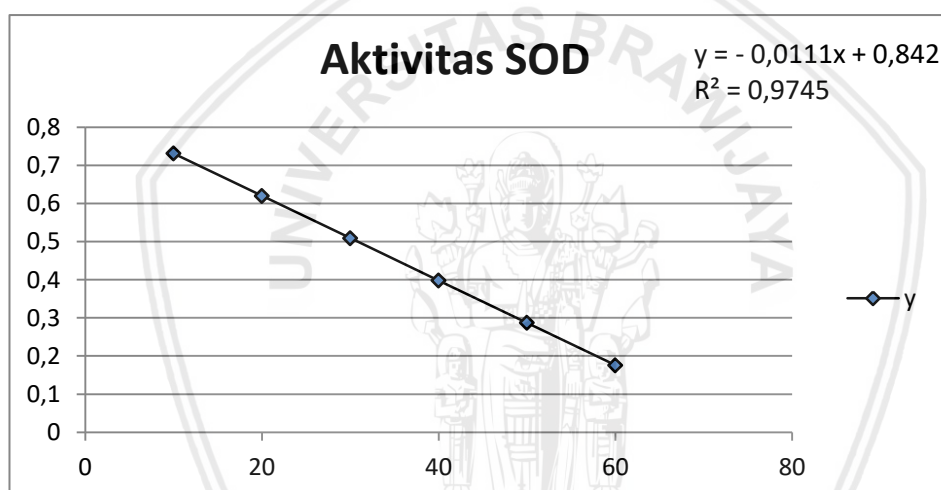
**Prof. Dr. drh. Aulanni'am, DES.**  
NIP. 19600903 198802 2 001

## Lampiran 6. Perhitungan Aktivitas SOD Ginjal

### A. Kurva Standar *Superoxide Dismutase* (SOD)

**Tabel L6.1** Data Pengukuran Larutan Standar SOD  $\lambda = 580 \text{ nm}$

Aktivitas SOD (U/100mg)	Absorbansi
10	0,731
20	0,62
30	0,509
40	0,398
50	0,287
60	0,176



**Gambar L6.1** Kurva Standar *Superoxide Dismutase* (SOD)

### B. Pengukuran Aktivitas *Superoxide Dismutase* (SOD) Ginjal Tikus Putih (*Rattus norvegicus*)

Aktivitas SOD ginjal tikus putih dapat diketahui dengan memasukan nilai absorbansi hasil pengukuran spektrofotometer ke dalam persamaan kurva standar SOD yaitu :

$$y = - 0,0111x + 0,842$$

Dengan aktivitas SOD sebagai nilai x sedangkan y merupakan nilai absorbansi.

**C. Data Aktivitas *Superoxide Dismutase* (SOD) Ginjal Tikus Putih**

Kelompok	Sampel	Absorbansi	Aktivitas SOD (unit/100 mg)	Rata- Rata Kelompok
Kontrol Negatif	K(-)1	0,392	40,541	42.072
	K(-)2	0,317	47,297	
	K(-)3	0,388	40,901	
	K(-)4	0,403	39,550	
Perlakuan 1	P1.1	0,427	37,387	39.234
	P1.2	0,392	40,541	
	P1.3	0,417	38,288	
	P1.4	0,390	40,721	
Perlakuan 2	P2.1	0,410	38,919	37.094
	P2.2	0,444	35,856	
	P2.3	0,407	39,189	
	P2.4	0,460	34,414	
Perlakuan 3	P3.1	0,449	35,405	32.951
	P3.2	0,492	31,532	
	P3.3	0,489	31,802	
	P3.4	0,475	33,063	
Perlakuan 4	P4.1	0,492	31,532	28.334
	P4.2	0,560	25,405	
	P4.3	0,512	29,730	
	P4.4	0,546	26,667	

**D. Presentasi Penurunan Aktivitas *Superoxide Dismutase* (SOD) Ginjal Tikus Putih (*Rattus norvegicus*)**

1. Perlakuan 1 ( paparan air minum tawas konsentrasi 1250 ppm)

% Penurunan Aktivitas SOD

$$= 100\% \times \frac{\text{Rataan Kontrol Negatif} - \text{Rataan Perlakuan 1}}{\text{Rataan Kontrol Negatif}}$$

$$= 100\% \times \frac{42.072 - 39.234}{42.072} = 6,74\%$$

2. Perlakuan 2 ( paparan air minum tawas konsentrasi 1500 ppm)

% Penurunan Aktivitas SOD

$$= 100\% \times \frac{\text{Rataan Kontrol Negatif} - \text{Rataan Perlakuan 1}}{\text{Rataan Kontrol Negatif}}$$

$$= 100\% \times \frac{42.072 - 37.094}{42.072} = 11,83\%$$

3. Perlakuan 3 ( paparan air minum tawas konsentrasi 1750 ppm)

% Penurunan Aktivitas SOD

$$= 100\% \times \frac{\text{Rataan Kontrol Negatif} - \text{Rataan Perlakuan 1}}{\text{Rataan Kontrol Negatif}}$$

$$= 100\% \times \frac{42.072 - 32.951}{42.072} = 21,67\%$$

4. Perlakuan 4 ( paparan air minum tawas konsentrasi 2000 ppm)

% Penurunan Aktivitas SOD

$$= 100\% \times \frac{\text{Rataan Kontrol Negatif} - \text{Rataan Perlakuan 1}}{\text{Rataan Kontrol Negatif}}$$

$$= 100\% \times \frac{42.072 - 28.334}{42.072} = 32,65\%$$

## Lampiran 7. Pengamatan Gejala Klinis

		Gejala Klinis														
		Pasif					Lemas					Mencret / Diare				
		Kelompok Perlakuan														
		K-	P1	P2	P3	P4	K-	P1	P2	P3	P4	K-	P1	P2	P3	P4
Hari ke -	1	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	2	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	3	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	4	-	-	-	-	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	5	-	-	-	-	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	6	-	-	-	-	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	7	-	-	-	-	+	-	-	-	-	+	-	-	-	-	-
	8	-	-	-	-	+	-	-	-	-	+	-	-	-	-	+
	9	-	-	-	+	+	-	-	-	-	+	-	-	-	-	-
	10	-	-	-	+	+	-	-	-	-	+	-	-	-	-	-
	11	-	-	-	+	+	-	-	-	-	+	-	-	-	-	-
	12	-	-	-	+	+	-	-	-	+	+	-	-	-	-	+
	13	-	-	-	+	+	-	-	-	+	+	-	-	+	-	-
	14	-	-	-	+	+	-	-	-	+	+	-	-	-	+	+
	15	-	-	-	+	+	-	-	-	+	+	-	-	+	-	+
	16	-	-	-	+	+	-	-	+	+	+	-	-	-	+	+
	17	-	-	-	+	+	-	-	+	+	+	-	-	-	+	-
	18	-	-	-	+	+	-	+	+	+	+	-	-	-	+	-
	19	-	-	-	+	+	-	+	+	+	+	-	-	-	-	-
	20	-	-	-	+	+	-	+	+	+	+	-	-	-	+	-
	21	-	-	-	+	+	-	+	+	+	+	-	+	-	-	-

Keterangan : Ada (+) ; Tidak ada (-)



## Lampiran 8. Hasil Uji Statistika Aktivitas *Superoxide Dismutase* (SOD)

### A. Uji Normalitas

#### Tests of Normality

kelompok	Kolmogorov-Smirnov <sup>a</sup>			Shapiro-Wilk		
	Statistic	df	Sig.	Statistic	df	Sig.
SOD kontrol negatif	.380	4	.	.776	4	.065
P1	.285	4	.	.864	4	.275
P2	.282	4	.	.875	4	.316
P3	.242	4	.	.880	4	.339
P4	.224	4	.	.947	4	.696

a. Lilliefors Significance Correction

### B. Statistika Deskriptif

#### Descriptives

SOD

	N	Mean	Std. Deviation	Std. Error	95% Confidence Interval for Mean		Minimum	Maximum
					Lower Bound	Upper Bound		
kontrol negatif	4	42.072	3.5297	1.7648	36.456	47.689	39.6	47.3
P1	4	39.234	1.6559	.8279	36.599	41.869	37.4	40.7
P2	4	37.094	2.3406	1.1703	33.370	40.819	34.4	39.2
P3	4	32.951	1.7671	.8836	30.139	35.762	31.5	35.4
P4	4	28.334	2.8008	1.4004	23.877	32.790	25.4	31.5
Total	20	35.937	5.4352	1.2153	33.393	38.481	25.4	47.3

### C. Uji Homogenitas

#### Test of Homogeneity of Variances

SOD

Levene Statistic	df1	df2	Sig.
1.164	4	15	.366

### D. One Way Analysis of Variances

#### ANOVA

SOD

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	466.341	4	116.585	18.420	.000
Within Groups	94.939	15	6.329		
Total	561.281	19			

### E. Uji Post Hoc

#### Multiple Comparisons

SOD

Tukey HSD

(I) kelompok	(J) kelompok	Mean Difference (I-J)	Std. Error	Sig.	95% Confidence Interval	
					Lower Bound	Upper Bound
kontrol negatif	P1	2.8380	1.7789	.522	-2.655	8.331
	P2	4.9778	1.7789	.085	-.515	10.471
	P3	9.1217*	1.7789	.001	3.629	14.615
	P4	13.7387*	1.7789	.000	8.246	19.232
P1	kontrol negatif	-2.8380	1.7789	.522	-8.331	2.655
	P2	2.1397	1.7789	.750	-3.353	7.633
	P3	6.2837*	1.7789	.022	.791	11.777
	P4	10.9007*	1.7789	.000	5.408	16.394

P2	kontrol negatif	-4.9778	1.7789	.085	-10.471	.515
	P1	-2.1397	1.7789	.750	-7.633	3.353
	P3	4.1440	1.7789	.189	-1.349	9.637
	P4	8.7610*	1.7789	.001	3.268	14.254
P3	kontrol negatif	-9.1217*	1.7789	.001	-14.615	-3.629
	P1	-6.2837*	1.7789	.022	-11.777	-.791
	P2	-4.1440	1.7789	.189	-9.637	1.349
	P4	4.6170	1.7789	.121	-.876	10.110
P4	kontrol negatif	-13.7387*	1.7789	.000	-19.232	-8.246
	P1	-10.9007*	1.7789	.000	-16.394	-5.408
	P2	-8.7610*	1.7789	.001	-14.254	-3.268
	P3	-4.6170	1.7789	.121	-10.110	.876

\*. The mean difference is significant at the 0.05 level.

## F. Uji Tukey

SOD

Tukey HSD

kelompok	N	Subset for alpha = 0.05		
		1	2	3
P4	4	28.334		
P3	4	32.951	32.951	
P2	4		37.094	37.094
P1	4			39.234
kontrol negatif	4			42.072
Sig.		.121	.189	.085

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

## Lampiran 9. Hasil Pengukuran Aktivitas *Superoxide Dismutase* (SOD) Ginjal



**KEMENTERIAN RISET, TEKNOLOGI, DAN PENDIDIKAN TINGGI  
UNIVERSITAS BRAWIJAYA  
FAKULTAS KEDOKTERAN  
LABORATORIUM FARMAKOLOGI**

Jalan Veteran, Malang 65145, Jawa Timur – Indonesia Telp. (62)(341) 569117;  
567192 Pes. 134, 135 – Fax. (62)(341) 564755  
E-mail: [sekr.fk@ub.ac.id](mailto:sekr.fk@ub.ac.id) Website: <http://fk.ub.ac.id>

### Kadar SOD Ginjal a/n Tiara

No	Kode	Abs SOD ginjal	Kadar SOD (unit/100 mg)
1	Kontrol	0,392	40,541
2	Kontrol	0,317	47,297
3	Kontrol	0,388	40,901
4	Kontrol	0,403	39,550
5	P1.1	0,427	37,387
6	P1.2	0,392	40,541
7	P1.3	0,417	38,288
8	P1.4	0,39	40,721
9	P2.1	0,41	38,919
10	P2.2	0,444	35,856
11	P2.3	0,407	39,189
12	P2.4	0,46	34,414
13	P3.1	0,449	35,405
14	P3.2	0,492	31,532
15	P3.3	0,489	31,802
16	P3.4	0,475	33,063
17	P3.5	0,487	31,982
18	P4.1	0,492	31,532
19	P4.2	0,485	32,162
20	P4.3	0,56	25,405
21	P4.4	0,512	29,730
22	P4.5	0,546	26,667

Malang, 19 Februari 2019  
a/n Kepala Lab. Farmakologi FKUB  
Ko Penelitian

Dr. Husnul Khotimah SSI, MKes  
NIP. 197511252005012001

### Lampiran 10. Hasil Pengukuran Kadar Malondialdehida (MDA)



**KEMENTERIAN RISET, TEKNOLOGI, DAN PENDIDIKAN TINGGI  
UNIVERSITAS BRAWIJAYA  
FAKULTAS KEDOKTERAN  
LABORATORIUM FARMAKOLOGI**

Jalan Veteran, Malang 65145, Jawa Timur – Indonesia Telp. (02)(341) 569117;  
567192 Pes. 134, 135 – Fax. (02)(341) 564755  
E-mail: [sekr.fk@ub.ac.id](mailto:sekr.fk@ub.ac.id) Website: <http://fk.ub.ac.id>

#### Kadar MDA Hepar a/n Waddran

No	Kode/Kel	Abs MDA Duodenum	Kadar MDA (ng/100 mg)
1	Kontrol	0,052	0,079
2	Kontrol	0,055	0,089
3	Kontrol	0,062	0,112
4	Kontrol	0,059	0,102
5	P1.1	<b>0,06</b>	0,106
6	P1.2	0,059	0,102
7	P1.3	0,07	0,139
8	P1.4	0,058	0,099
9	P2.1	0,065	0,122
10	P2.2	0,082	0,178
11	P2.3	0,084	0,185
12	P2.4	0,089	0,201
13	P3.1	0,097	0,228
14	P3.2	0,081	0,175
15	P3.3	0,092	0,211
16	P3.4	0,093	0,214
17	P4.1	0,089	0,201
18	P4.2	0,094	0,218
19	P4.3	0,11	0,270
20	P4.4	0,098	0,231
21	P4.5	0,127	0,326

Malang, 19 Februari 2019  
a/n Kepala Lab. Farmakologi FKUB  
Ko Penelitian

Dr. Husnul Khotimah SSI, MKes  
NIP. 197511252005012001



## Lampiran 11. Hasil Pengukuran BUN dan Kreatinin



**KEMENTERIAN RISET, TEKNOLOGI, DAN PENDIDIKAN TINGGI**  
**UNIVERSITAS BRAWIJAYA**  
**FAKULTAS KEDOKTERAN**  
**LABORATORIUM PATOLOGI KLINIK**

Jalan Veteran Malang - 65145, Jawa Timur - Indonesia  
Telp. (62) (0341) 569117, 567192 Ext. 178 - Fax. (62) (0341) 564755  
<http://rl.ub.ac.id/labpatologi/klirik> e-mail : [pl.klirik@ub.ac.id](mailto:pl.klirik@ub.ac.id)

---

**HASIL LABORATORIUM PATOLOGI KLINIK**

No. Registrasi : 2019011001      Spesimen : RATTUS  
Nama : BAYU HENDRA LAKSMANA      Tgl. Terima : 10 Januari 2019  
Instansi : PKH UNIBRAW      Tgl. Selesai : 10 Januari 2019  
Alamat/Telp. : 081235286892      Judul TA : PENGARUH PEMBERIAN AIR MINUM TAWAS  
TERHADAP KADAR BUN DAN KREATININ PADA  
TIKUS PUTIH

**HASIL PEMERIKSAAN KIMIA KLINIK FAAL GINJAL : UREUM ; BUN**

NO	KODE SPESIMEN	JENIS PEMERIKSAAN	UREUM	BUN	SATUAN	NILAI RUJUKAN	KETERANGAN
1	SERUM K NEG1	Ureum ; BUN	32.3	15.1	mg/dL		
2	SERUM K NEG2	Ureum ; BUN	36.2	16.9	mg/dL		
3	SERUM K NEG3	Ureum ; BUN	30.6	14.3	mg/dL		
4	SERUM K NEG4	Ureum ; BUN	34.7	16.2	mg/dL		
5	SERUM P1.1	Ureum ; BUN	40.2	18.8	mg/dL		
6	SERUM P1.2	Ureum ; BUN	29.6	13.8	mg/dL		
7	SERUM P1.3	Ureum ; BUN	46.6	21.5	mg/dL		
8	SERUM P1.4	Ureum ; BUN	39.2	18.3	mg/dL		
9	SERUM P2.1	Ureum ; BUN	38.0	17.8	mg/dL		
10	SERUM P2.2	Ureum ; BUN	36.2	16.9	mg/dL		
11	SERUM P2.3	Ureum ; BUN	39.0	18.2	mg/dL		
12	SERUM P2.5	Ureum ; BUN	43.3	20.2	mg/dL		
13	SERUM P3.1	Ureum ; BUN	43.8	20.5	mg/dL		
14	SERUM P3.2	Ureum ; BUN	38.3	17.9	mg/dL		
15	SERUM P3.3	Ureum ; BUN	34.9	16.3	mg/dL		
16	SERUM P3.4	Ureum ; BUN	41.2	19.3	mg/dL		
17	SERUM P3.5	Ureum ; BUN	43.2	20.2	mg/dL		
18	SERUM P4.1	Ureum ; BUN	33.5	15.7	mg/dL		
19	SERUM P4.2	Ureum ; BUN	49.3	23.0	mg/dL		
20	SERUM P4.3	Ureum ; BUN	38.6	18.0	mg/dL		
21	SERUM P4.4	Ureum ; BUN	44.3	20.7	mg/dL		
22	SERUM P4.5	Ureum ; BUN	37.7	17.6	mg/dL		



Kejala Lab. Patologi Klinik,  
dr. Dina Kusma Hanggara, Sp.PK, M.Biomed.  
NIP 198504092009121003

Malang, 10 Januari 2019  
Pemeriksa/Analisis,  
  
Widhiastuti, Amd AK  
NIP 197402042000032002

## Lampiran 12. Dokumentasi Kegiatan Penelitian

### A. Persiapan Hewan Coba



### B. Pembuatan Air minum Tawas dengan berbagai dosis



### C. Pemberian Air Minum Tawas Pada Hewan Coba



**D. Nekropsi, Pengambilan Darah dan Isolasi Organ pada Hewan coba**



**E. Sampel Organ**

