



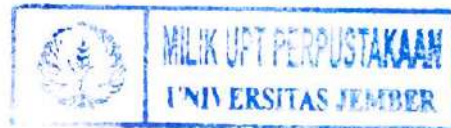
**PENGARUH JUS BUAH ALPUKAT (*Persea americana* M.)
TERHADAP GAMBARAN HISTOPATOLOGI GINJAL
TIKUS WISTAR (*Rattus narvegicus*) YANG DIBERI
PARASETAMOL DOSIS TOKSIK**

SKRIPSI

Asal :	Hadiah Pembelian	Klass 615.882 MAD P
Tanggal Tgl :	05 NOV 2010	
Penyus : _____		
Penyusun :		

Oleh

Elanda Putri Madyaningtias
NIM 072010101013



**PEGARUH JUS BUAH ALPUKAT (*Persea americana* M.)
TERHADAP GAMBARAN HISTOPATOLOGI GINJAL
TIKUS WISTAR (*Rattus narvegicus*) YANG DIBERI
PARASETAMOL DOSIS TOKSIK**

SKRIPSI

diajukan guna melengkapi tugas akhir dan memenuhi salah satu syarat
untuk menyelesaikan pendidikan di Fakultas Kedokteran (S1)
dan mencapai gelar Sarjana Kedokteran

Oleh

Elanda Putri Madyaningtias
NIM 072010101013

**FAKULTAS KEDOKTERAN
UNIVERSITAS JEMBER
2010**

PERSEMBAHAN

Skripsi ini saya persembahkan untuk :

1. Orang tua saya tercinta, Ayahanda Sutarno atas segala yang sudah diberikan kepada saya, nasehat-nasehat, pengertian, kesabaran selama ini serta Ibunda Eny Wahyoeti atas kasih sayangnya, semangatnya mendukung setiap langkah saya dan selalu ada setiap saat. Tidak lupa untuk kepercayaan kalian yang begitu besar kepada saya untuk bisa menjadi seorang dokter. Senyum dan kebahagiaan ayah dan ibu adalah harapan terbesar ananda.
2. Adik saya tersayang, Anggita Putri Anggraeni yang selalu mendukung saya dan menjadi teman curhat saya.
3. Seseorang yang menyayangi saya dengan tulus dan tak pernah henti memberikan support kepada saya, Kukuh Prasetyo Ismayanto.
4. Guru-guru tercinta mulai dari TK sampai Perguruan Tinggi yang tak pernah putus membimbing serta memberi ilmu yang bermanfaat dengan penuh kesabaran.
5. Almamater Fakultas Kedokteran Universitas Jember.

MOTO

“Tidak ada jaminan kesuksesan, namun tidak mencobanya adalah jaminan kegagalan”

(Bill Clinton)

“Capailah hasil, jangan kesempurnaan”

(Wishnubroto Widarso)



PERNYATAAN

Saya yang bertanda tangan di bawah ini :

Nama : Elanda Putri Madyaningtias

NIM : 072010101013

menyatakan dengan sesungguhnya bahwa skripsi yang berjudul “Pengaruh Jus Alpukat (*Persea americana. M*) terhadap Gambaran Histopatologi Ginjal Tikus Wistar (*Rattus narvegicus*) yang diberi Parasetamol Dosis Toksik” adalah benar-benar hasil karya sendiri, kecuali kutipan yang sudah saya sebutkan sumbernya, belum pernah diajukan pada institusi mana pun, dan bukan karya jiplakan. Saya bertanggung jawab atas keabsahan dan kebenaran isinya sesuai dengan sikap ilmiah yang harus dijunjung tinggi.

Demikian pernyataan ini saya buat dengan sebenarnya, tanpa adanya tekanan dan paksaan dari pihak manapun serta bersedia mendapat sanksi akademik jika ternyata di kemudian hari pernyataan ini tidak benar.

Jember, 27 Oktober 2010

Yang menyatakan,



Elanda Putri M.

NIM 072010101013



SKRIPSI

**PENGARUH JUS BUAH ALPUKAT (*Persea americana M.*) TERHADAP
GAMBARAN HISTOPATOLOGI GINJAL TIKUS WISTAR
(*Rattus narvegicus*) YANG DIBERI PARASETAMOL
DOSIS TOKSIK**

Oleh

Elanda Putri Madyaningtias
NIM 072010101013

Pembimbing:

Dosen Pembimbing Utama : dr. Heni Fatmawati, M. Kes

Dosen Pembimbing Anggota : dr. Rena Normasari

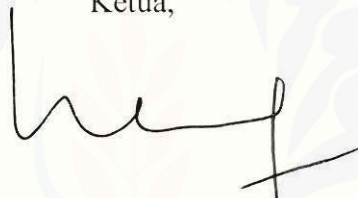
PENGESAHAN

Skripsi berjudul “Pengaruh Jus Buah Alpukat (*Persea americana M.*) terhadap Gambaran Histopatologi Ginjal Tikus Wistar (*Rattus narvegicus*) yang diberi Parasetamol Dosis Toksik” telah diuji dan disahkan oleh Fakultas Kedokteran Universitas Jember pada :

hari, tanggal : Rabu, 27 Oktober 2010

tempat : Fakultas Kedokteran Universitas Jember

Tim Penguji
Ketua,



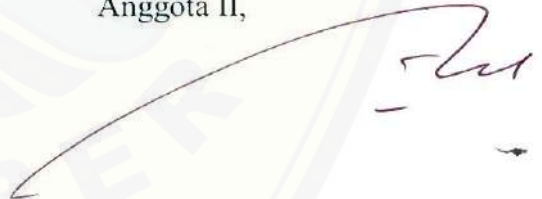
dr. Heni Fatmawati, M. Kes
NIP. 197602122005012001

Anggota I,



dr. Rena Normasari
NIP. 198305122008122002

Anggota II,



dr. Muh. Ihwan Narwanto, M. Sc
NIP. 198002182005011001

Mengesahkan,

Dekan Fakultas Kedokteran Universitas Jember



dr. Enny Suswati, M. Kes
NIP. 197002141999032001

RINGKASAN

Pengaruh Jus Buah Alpukat (*Persea americana M.*) terhadap Gambaran Histopatologi Ginjal Tikus Wistar (*Rattus narvegicus*) yang diberi Parasetamol Dosis Toksik; Elanda Putri Madyaningtias, 072010101013: 2010: 84 halaman; Fakultas Kedokteran Universitas Jember.

Salah satu obat yang sangat familiar dan sering digunakan oleh masyarakat ialah parasetamol. Parasetamol merupakan golongan obat bebas yang dijual di apotek dan dapat dibeli tanpa menggunakan resep. Hal inilah yang menyebabkan kesalahan penggunaan baik cara maupun dosisnya. Parasetamol (Asetaminofen) merupakan metabolit fenasetin dengan efek antipiretik yang sama dan telah digunakan sejak tahun 1983. Pada pemakaian dengan dosis terapi obat ini aman untuk digunakan, akan tetapi pada dosis yang cukup tinggi dapat menimbulkan keracunan.

Toksisitas parasetamol pada prinsipnya diperantarai oleh suatu metabolit reaktif di dalam hati yaitu *N-asetil-p-benzoquinonimina* (NAPQI). NAPQI ini bersifat radikal bebas, sehingga untuk menetralsir metabolit ini diperlukan antioksidan. Buah alpukat merupakan salah satu buah yang mengandung antioksidan yang cukup besar. Tujuan penelitian ini adalah untuk mengetahui pengaruh pemberian jus buah alpukat (*Persea americana M.*) dalam mencegah kerusakan sel ginjal akibat pemberian parasetamol dosis toksik pada tikus wistar (*Rattus narvegicus*).

Penelitian dilakukan di Laboratorium Biomedik Fakultas Farmasi Universitas Jember pada bulan Oktober 2010. Sebanyak 30 ekor tikus wistar jantan dibagi dalam 5 kelompok yaitu masing-masing 6 ekor tikus dalam kelompok kontrol negatif ($K_{(-)}$), kontrol positif ($K_{(+)}$), perlakuan 1 (P_1), perlakuan 2 (P_2) dan perlakuan 3 (P_3). Kelompok $K_{(-)}$ diberi placebo berupa larutan CMC 1%, kelompok $K_{(+)}$ diberi larutan parasetamol 2.500 mg/kgBB (dosis tunggal),

kelompok P₁ diberi jus buah alpukat 0,5 gr/kgBB/hari selama 10 hari dan larutan parasetamol pada hari ke-8, kelompok P₂ diberi jus buah alpukat 1,5 gr/kgBB/hari selama 10 hari dan larutan parasetamol pada hari ke-8 dan kelompok P₃ diberi jus buah alpukat 4,5 gr/kgBB/hari selama 10 hari dan larutan parasetamol pada hari ke-8. Semua larutan diberikan dengan cara disonde pada masing-masing tikus. Pada hari ke-10 seluruh tikus dikorbankan untuk pembuatan preparat ginjal. Pembuatan preparat histologi ginjal dilakukan dengan metode parafin dan pewarnaan HE. Parameter yang digunakan adalah luas kerusakan sel ginjal dalam 16 lapang pandang dan dianalisis dengan menggunakan uji *One Way* ANOVA.

Hasil penelitian menunjukkan rata-rata luas kerusakan ginjal untuk kelompok K₍₋₎ adalah sebesar 0,46% dan K₍₊₎ sebesar 21,50%, sedangkan untuk kelompok P₁, rata-rata luas kerusakan hati adalah 16,49%, kelompok P₂ sebesar 10,02% serta kelompok P₃ sebesar 6,56%. Berdasarkan hasil uji statistik (Lampiran G), terdapat perbedaan yang bermakna antara kelompok kontrol dan kelompok perlakuan. Kesimpulan dari penelitian ini adalah jus buah alpukat (*Persea americana M.*) dapat mencegah kerusakan sel ginjal akibat pemberian parasetamol dosis toksik.

PRAKATA

Puji dan syukur kehadiran Allah SWT atas segala rahmat dan hidayah-Nya sehingga penulis dapat menyelesaikan skripsi yang berjudul “Pengaruh Jus Buah Alpukat (*Persea Americana. M*) terhadap Gambaran Histopatologi Ginjal Tikus Wistar (*Rattus narvegicus*) yang diberi Parasetamol Dosis Toksik”. Skripsi ini disusun untuk memenuhi salah satu syarat untuk menyelesaikan pendidikan strata satu (S1) di Fakultas Kedokteran Universitas Jember.

Mulai dari pelaksanaan penelitian hingga penyusunan skripsi ini tidak lepas dari bantuan berbagai pihak, oleh karena itu penulis ingin menyampaikan ucapan terima kasih kepada :

1. dr. Enny Suswati, M. Kes, selaku Dekan Fakultas Kedokteran Universitas Jember atas segala fasilitas dan kesempatan yang diberikan selama menempuh pendidikan di Fakultas Kedokteran Universitas Jember;
2. dr. Heni Fatmawati, M. Kes, selaku Dosen Pembimbing Utama, yang dengan penuh kesabaran telah meluangkan waktu, tenaga, pikiran dan perhatian, serta memberikan bimbingan dan petunjuk dalam penyusunan skripsi ini;
3. dr. Rena Normasari, selaku Dosen Pembimbing Anggota I yang telah memberikan ide, saran, bimbingan, petunjuk, koreksi, dan semangat yang diberikan hingga skripsi ini bisa selesai;
4. dr. Muh. Ihwan Narwanto, M. Sc, selaku Dosen Pembimbing Anggota II yang banyak memberikan kritik, saran, dan masukan yang membangun dalam penulisan skripsi ini;
5. dr. Alif Mardijana, Sp. KJ, selaku dosen pembimbing akademik yang telah memberikan arahan dan bimbingan selama melaksanakan studi;
6. Ibunda Eny Wahyoeti dan Ayahanda Sutarno tercinta. Terima kasih atas dukungan moril, materi, doa, dan semua curahan kasih sayang yang tidak akan pernah putus;

7. Adikku tersayang, Anggita Putri Anggraeni yang selalu memberikan semangat, canda yang mewarnai hidupku;
8. Kukuh Prasetyo Ismayanto, terima kasih atas doa, kesabaran, bantuan baik materiil maupun moril, kasih sayang dan cinta yang diberikan kepadaku;
9. Sahabat-sahabatku di Malang, Faried, Ema, Intan, dan Debrina yang selalu menantiku pulang dengan gelar dokter;
10. Sahabat-sahabatku di jember yang memulai penititan hidup baru di Jember bersama-sama, Ainun Amaliyah, Fariza Fadhillah, Berlian Putri Anggraeni.
Luv u all!;
11. Rekan kerja penelitianku, Qiqi, Anin, dan Defyna, terima kasih untuk kerjasama dan pengalaman yang berharga;
12. Lintang, teman serumah selama 2 tahun, terima kasih dukungannya. Semoga kita menjadi orang sukses;
13. TBM VERTEX FK UNEJ jaya;
14. Mbak Nana Farmasi. Terima kasih atas waktu dan tenaga yang diberikan;
15. Pak Noto FK, Mbak Erlis FK, dan semua civitas FK, serta Mas Bagus FKG;
16. *Aesculapius*, semua angkatan 2007 yang aku cintai;
17. Semua pihak yang telah membantu terselesaikannya penulisan skripsi ini.

Penulis menyadari bahwa karya tulis ilmiah ini jauh dari kesempurnaan, oleh karena itu penulis menerima segala kritik dan saran dari semua pihak demi kesempurnaan karya tulis ilmiah ini. Akhirnya, penulis berharap semoga karya tulis ilmiah ini dapat bermanfaat.

Jember, 27 Oktober 2010

Penulis

DAFTAR ISI

	Halaman
HALAMAN SAMPUL	i
HALAMAN JUDUL	ii
HALAMAN PERSEMBAHAN	iii
MOTO	iv
LEMBAR PERNYATAAN	v
HALAMAN PEMBIMBINGAN	vi
LEMBAR PENGESAHAN	vii
RINGKASAN	viii
PRAKATA	x
DAFTAR ISI	xii
DAFTAR TABEL	xv
DAFTAR GAMBAR	xvi
DAFTAR LAMPIRAN	xvii
BAB 1. PENDAHULUAN	1
1.1 Latar Belakang	1
1.2 Rumusan Masalah	3
1.3 Tujuan Penelitian	3
1.4 Manfaat Penelitian	3
BAB 2. TINJAUAN PUSTAKA	5
2.1 Parasetamol	5
2.1.1 Sifat Farmakologi dan Penggunaan Terapeutik	5
2.1.2 Farmakokinetik dan Metabolisme	6
2.1.3 Patogenesis Toksisitas Parasetamol pada Ginjal.....	7
2.2 Ginjal	9
2.2.1 Anatomi Umum	9
2.2.2 Anatomi Mikroskopik Ginjal	10

2.2.3 Vaskularisasi	11
2.3 Jejas Sel	12
2.3.1 Definisi Jejas dan Adaptasi Sel	12
2.3.2 Penyebab Jejas Sel	13
2.3.3 Mekanisme Jejas Sel	13
2.3.4 Jenis Jejas	14
2.4 Morfologi Jejas dan Perubahan Struktur Jaringan Ginjal oleh Zat Kimia	14
2.5 Oksidan dan Radikal Bebas	18
2.6 Antioksidan	20
2.6.1 Manfaat dan Peran Antioksidan	22
2.7 Buah Alpukat	23
2.7.1 Taksonomi Buah Alpukat	23
2.7.2 Deskripsi dan Penyebaran Buah Alpukat	23
2.7.3 Kandungan dan Manfaat Buah Alpukat	24
2.8 Kerangka Konseptual	27
2.9 Hipotesis Penelitian	27
BAB 3. METODE PENELITIAN	28
3.1 Jenis Penelitian	28
3.2 Rancangan Penelitian	28
3.3 Besar Sampel	30
3.4 Tempat dan Waktu Penelitian	31
3.5 Variabel Penelitian	31
3.5.1 Variabel Bebas	31
3.5.2 Variabel Tergantung	31
3.5.3 Variabel Kendali	31
3.6 Definisi Operasional Variabel	31
3.6.1 Parasetamol	31
3.6.2 Jus Buah Alpukat	32
3.6.3 Larutan Placebo	32
3.6.4 Kerusakan Sel Ginjal	32

3.6.5 Tikus Wistar Jantan	33
3.6.6 Waktu dan Lama Penelitian	33
3.6.7 Pemeliharaan dan Perlakuan Hewan Coba	33
3.7 Instrumen & Bahan Penelitian	34
3.7.1 Instrumen Penelitian	34
3.7.2 Bahan Perlakuan	34
3.7.3 Bahan Pemeriksaan	35
3.8 Prosedur Penelitian	35
3.8.1 Adaptasi Hewan Coba	35
3.8.2 Perlakuan Hewan Coba	35
3.8.3 Pengambilan Ginjal dan Sediaan Histopatologi Ginjal	36
3.9 Analisis Data	36
3.10 Alur Penelitian	37
BAB 4. HASIL DAN PEMBAHASAN	38
4.1 Hasil Penelitian	38
4.1.1 Data Hasil Penelitian	38
4.1.2 Hasil Uji Analisis	42
4.2 Pembahasan	44
BAB 5. KESIMPULAN DAN SARAN	50
5.1 Kesimpulan	50
5.2 Saran	50
DAFTAR PUSTAKA	51
LAMPIRAN	57

DAFTAR TABEL

	Halaman
2.1 Kandungan per 100 gram buah alpukat	25
2.2 Kandungan protein dan asam amino per 100 gram buah alpukat	26
2.3 Kandungan vitamin per 100 gram buah alpukat	26
2.4 Kandungan mineral per 100 gram buah alpukat	26
3.1 Tabel <i>One-Way</i> Anova	30
4.1 Hasil pemeriksaan histopatologi hati ginjal wistar jantan	38
4.2 Hasil Nilai Signifikasi Data Perlakuan Uji Mann-Whitney	43

DAFTAR GAMBAR

	Halaman
2.1 Struktur formula parasetamol dan derivatnya	5
2.2 Skema metabolisme parasetamol	8
2.3 Potongan melintang permukaan ginjal	9
2.4 Penampang korteks dan medulla ginjal	11
2.5 Vaskularisasi ginjal	12
2.6 Gambaran histologis ginjal normal	17
2.7 Gambaran histopatologis ginjal kelompok perlakuan	18
2.8 Buah alpukat	24
3.1 Rancangan skematis penelitian	29
3.2 Alur penelitian	37
4.1 Diagram kerusakan ginjal	39
4.2 Gambaran histopatologi sel ginjal normal	40
4.3 Gambaran ginjal yang mengalami kerusakan	41

DAFTAR LAMPIRAN

	Halaman
A. Penentuan Dosis Parasetamol	57
B. Lampiran Perhitungan Dosis Jus Buah Alpukat	59
C. Komposisi Makanan	61
D. Penghitungan Luas Kerusakan Ginjal	62
E. Uji Normalitas Kerusakan Ginjal	71
F. Uji Homogenitas Kerusakan Ginjal	72
G. Uji Kruskal-Wallis pada Kerusakan Ginjal	73
H. Cara Penghitungan Kerusakan Ginjal	79
I. Teknik Pemrosesan Jaringan Dengan Teknik <i>Parafin Fixed Embedded</i> dan Teknik Pengecatan <i>Hematoksin Eosin</i>	80
J. Foto-Foto Penelitian	83



BAB 1. PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

Ginjal merupakan suatu organ yang berfungsi untuk membuang bahan-bahan sampah tubuh dari hasil pencernaan atau yang diproduksi oleh metabolisme. Fungsi lain ginjal adalah mengontrol volume dan komposisi cairan tubuh (Guyton and Hall, 2008). Fungsi ginjal dapat terganggu bahkan sampai terjadi kerusakan. Kerusakan ginjal tersebut dapat terjadi karena beberapa hal, diantaranya karena berkurangnya ekskresi ginjal terhadap zat yang tidak diperlukan lagi, meningkatnya ekskresi ginjal terhadap zat yang penting bagi tubuh, dan juga bisa diinduksi oleh penggunaan parasetamol dosis toksik (Silbernagl, 2007). Penggunaan parasetamol dosis toksik dapat menginduksi terjadinya nefrotoksik. Nefrotoksik adalah berbagai hal yang bersifat toksik atau destruktif terhadap sel-sel ginjal (Dorland, 2006).

Parasetamol merupakan obat yang paling laku dan paling banyak dikonsumsi orang selain amoxicillin. Semua orang bisa memperoleh parasetamol dengan mudah karena parasetamol dijual bebas tanpa harus menggunakan resep dokter sehingga sering terjadi overdosis obat secara sengaja atau tidak sengaja (Samuel, 2009). Di Inggris, hampir 50% kasus keracunan obat terjadi akibat parasetamol dengan angka mortalitas 100-200 per tahun (Sia and Chan, 2006).

Overdosis parasetamol dapat terjadi pada penggunaan akut atau penggunaan berulang. Overdosis parasetamol akut terjadi jika seseorang mengkonsumsi parasetamol dalam dosis besar dalam waktu 8 jam atau kurang, kematian bisa terjadi (mencapai 3-4%) jika digunakan sampai 15 g (Heard, 2008).

Parasetamol atau asetaminofen adalah metabolit fenasetin yang mempunyai efek analgesik. Obat ini adalah penghambat prostaglandin yang lemah pada jaringan perifer dan tidak memiliki efek anti-inflamasi yang bermakna. Pada dosis terapi, kadang-kadang timbul peningkatan ringan enzim hati tanpa ikterus,

keadaan ini reversibel bila obat dihentikan. Pada dosis yang lebih besar, dapat timbul pusing, mudah terangsang, dan disorientasi. Pemakaian 15 g asetaminofen bisa berakibat fatal, kematian disebabkan oleh hepatotoksisitas yang berat dengan nekrosis lobulus sentral, kadang-kadang berhubungan dengan nekrosis tubulus ginjal akut (Katzung, 2006).

Pada dosis terapi (500 mg – 2 g), 5-15% obat ini umumnya dikonversi oleh enzim sitokrom P450 di hati menjadi metabolit reaktifnya, yang disebut *N-acetyl-p-benzoquinoneimine* (NAPQI). Proses ini disebut aktivasi metabolik, dan NAPQI berperan sebagai radikal bebas yang memiliki lama hidup sangat singkat. Meskipun metabolisme parasetamol melalui ginjal tidak begitu berperan, jalur aktivasi metabolik ini terdapat pada ginjal dan penting secara toksikologi. Pada keadaan normal, NAPQI akan didetoksikasi secara cepat oleh enzim glutation dari hati. Glutation mengandung gugus sulfhidril yang akan mengikat secara kovalen radikal bebas NAPQI, menghasilkan konjugat sistein. Sebagian lagi akan diasetilasi menjadi konjugat asam merkapturat, kemudian keduanya akan diekskresikan melalui urine (Ghosh and Shil, 2007).

Pada paparan parasetamol dosis toksik, jumlah dan kecepatan pembentukan NAPQI melebihi kapasitas hati dan ginjal untuk mengisi ulang cadangan glutation yang diperlukan. NAPQI kemudian menyebabkan kerusakan intraseluler diikuti nekrosis (kematian sel) hati, dan bisa menyebabkan kerusakan ginjal (Sia and Chan, 2006).

Ada beberapa cara untuk mencegah kerusakan ginjal akibat overdosis parasetamol, salah satunya dengan menggunakan antioksidan untuk melawan NAPQI yang berlebihan. Antioksidan adalah suatu zat yang dapat menghambat atau memperlambat proses oksidasi. Salah satu antioksidan alami adalah buah alpukat (Shah, 2004).

Alpukat (*Persea americana* M.) adalah tumbuhan yang berasal dari Meksiko dan Amerika Tengah, kini banyak dibudidayakan di daerah-daerah tropis lainnya (Berdanier *et al.*, 2008). Alpukat memiliki kandungan nutrisi yang sangat tinggi, antara lain mengandung 11 vitamin dan 14 mineral yang bermanfaat. Alpukat kaya akan protein, riboflavin (vitamin B12), niasin (vitamin B3),

potasium (kalium), vitamin C, dan glutathion (Ginter *et al.*, 2002). Alpukat (*P. americana M.*) merupakan sumber glutathion tertinggi, yaitu 17,7 mg per 100 g alpukat (Dorantes, 2006). Glutathion yang dimiliki alpukat sangat tinggi jika dibandingkan dengan pisang, apel, blewah, maupun anggur, kandungan glutathion alpukat mencapai 3 kali lipat (Apriadi, 2008).

Melalui penelitian ini, peneliti ingin mengetahui adakah pengaruh pemberian jus buah alpukat terhadap proteksi kerusakan ginjal dari pemberian parasetamol dosis toksik. Maka dari itu peneliti melakukan penelitian yang berjudul “Pengaruh Jus Buah Alpukat (*Persea americana M.*) terhadap Gambaran Histopatologi Ginjal Tikus Wistar (*Rattus narvegicus*) yang diberi Parasetamol Dosis Toksik”.

1.2 Rumusan Masalah

- 1.2.1 Bagaimana pengaruh jus buah alpukat terhadap gambaran histopatologi sel ginjal akibat pemberian parasetamol dosis toksik?
- 1.2.2 Bagaimana pengaruh perbedaan pemberian dosis jus buah alpukat terhadap gambaran histopatologi sel ginjal akibat pemberian parasetamol dosis toksik?

1.3 Tujuan Penelitian

Untuk mengetahui pengaruh pemberian jus buah alpukat (*Persea americana M.*) terhadap gambaran histopatologi sel ginjal akibat pemberian parasetamol dosis toksik.

1.4 Manfaat Penelitian

Manfaat dari penelitian ini adalah :

- a. Memberikan informasi kepada masyarakat tentang efek proteksi buah alpukat terhadap gambaran histopatologi sel ginjal tikus wistar pada pemberian parasetamol dosis toksik.

- b. Memberikan sumbangan ilmu pengetahuan dan teknologi kedokteran tentang efek proteksi buah alpukat terhadap gambaran histopatologi sel ginjal tikus wistar pada pemberian parasetamol dosis toksik.
- c. Sebagai acuan untuk penelitian lebih lanjut.



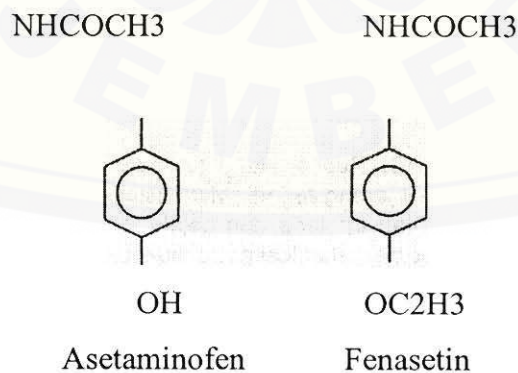
BAB 2. TINJAUAN PUSTAKA

2.1 Parasetamol (Asetaminofen)

2.1.1 Sifat Farmakologis dan Penggunaan Terapeutik

Parasetamol (Asetaminofen) merupakan metabolit fenasetin dengan efek antipiretik yang sama dan telah digunakan sejak tahun 1893 (Farmakologi FKUI, 2007). Parasetamol merupakan obat lain pengganti aspirin yang efektif sebagai obat analgesik-antipiretik; namun, tidak seperti aspirin, aktivitas antiradangannya lemah sehingga bukan merupakan obat yang berguna untuk menangani kondisi radang. Obat ini sangat luas dipakai, terutama pada rumah tangga dikarenakan oleh toleransinya yang baik, efek samping yang minimal, dan dapat diperoleh tanpa menggunakan resep. Namun, overdosis akut menyebabkan kerusakan hati fatal, dan beberapa melaporkan adanya gangguan pada ginjal (Goodman and Gilman, 2007).

Derivat para amino fenol yaitu fenasetin dan asetaminofen dapat dilihat strukturnya pada Gambar 2.1.



Gambar 2.1 Struktur formula parasetamol dan derivatnya (Sumber : Farmakologi FKUI, 2007)

Di Indonesia penggunaan parasetamol sebagai analgesik dan anti piretik telah menggantikan penggunaan salisilat (Farmakologi FKUI, 2007). Obat ini akan sangat bermanfaat bagi pasien yang dikontraindikasikan menggunakan aspirin, misalnya pasien ulser lambung. Dosis oral parasetamol yang biasa sebesar 325-1000 mg (secara rectal 650 mg), dan dosis total harian tidak boleh melebihi 4000 mg. Untuk anak-anak, dosis tunggal sebesar 40-480 mg, bergantung pada usia dan bobot badan, tidak boleh lebih dari lima dosis diberikan dalam 24 jam. Dosis 10 mg/Kg BB dapat juga digunakan (Goodman and Gilman, 2007). Parasetamol tersedia sebagai obat tunggal, berbentuk tablet 500 mg atau sirup yang mengandung 120 mg/5 ml. Selain itu, parasetamol terdapat sebagai sediaan kombinasi tetap, dalam bentuk tablet maupun cairan (Farmakologi FKUI, 2007).

2.1.2 Farmakokinetika dan Metabolisme

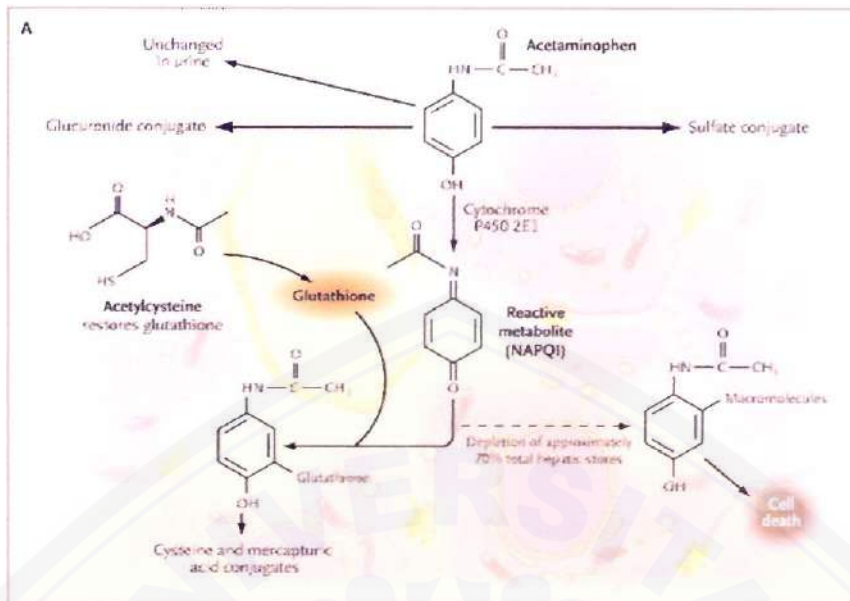
Asetaminofen diabsorpsi dengan cepat dan hampir sempurna dari saluran cerna. Konsentrasi dalam plasma mencapai puncak dalam 30 sampai 60 menit, waktu paruh dalam plasma sekitar 2 jam setelah dosis terapeutik. Asetaminofen terdistribusi relatif seragam hampir di seluruh cairan tubuh. Pengikatan obat ini pada protein plasma beragam; hanya 20% sampai 50% yang mungkin terikat pada konsentrasi yang ditemukan selama intoksikasi akut. Setelah dosis terapeutik, 90% sampai 100% obat ini mungkin ditemukan dalam urine selama hari pertama, terutama setelah konjugasi hepatic dengan asam glukuronat, asam sulfat, atau sistein; sejumlah kecil metabolit hasil hidrosilasi dan deasetilasi juga telah terdeteksi. Anak-anak mempunyai kemampuan lebih kecil untuk glukuronidasi obat ini daripada orang dewasa. Sebagian kecil asetaminofen mengalami N-hidrosilasi yang diperantarai sitokrom P450 membentuk N-asetil-benzokuinoneimin, suatu senyawa antara yang sangat reaktif. Metabolit ini biasanya bereaksi dengan gugus sulfhidril pada glutathion. Namun, setelah ingesti asetaminofen dosis besar, metabolit ini terbentuk dalam jumlah yang cukup untuk menghilangkan glutathion hepatic (Goodman and Gilman, 2007).

2.1.3 Patogenesis Toksisitas Parasetamol pada Ginjal

Toksisitas parasetamol yang utama ialah hasil dari metabolisme obat di hepar dan jaringan ekstrahepatik. Hanya 1% dari obat yang diekskresikan tanpa mengalami perubahan di urine. Pada dosis terapi dewasa, normalnya parasetamol dikongjugasi sekitar 63% oleh glukuronid dan 34% oleh sulfat, reaksi ini terjadi di hepar dan menghasilkan metabolit larut air yang diekskresikan melalui ginjal. Kurang dari 5% dari obat ini dioksidasi oleh sistem enzim mikrosomal P-450 menjadi bentuk reaktif yaitu *N-acetyl-p-benzoquinone imine* (NAPQI). Pada dosis terapi, metabolit elektrofilik ini akan direduksi oleh *glutathione* dan kemudian diekskresikan sebagai asam merkaptopurik, suatu bahan yang tidak beracun.

Pada kelebihan konsumsi parasetamol, persediaan sulfat dan *glutathione* sangat kurang. Hal ini menyebabkan metabolisme obat ini dialihkan pada sistem CYP-450, dimana pada akhirnya semakin banyak pula NAPQI yang terbentuk. Saat mengkonsumsi parasetamol dengan dosis yang berlebih, terjadi kekurangan *glutathione* hebat sejalan dengan produksi metabolit yang massif, yang akan menggalakkan toksisitas. Metabolit elektrofilik tersebut kemudian akan membentuk ikatan dengan *sulphydryl* dan *glutathione moieties* pada protein selular. Proses ini mengganggu homeostasis dengan mengakibatkan aktivasi dari enzim lisosom dan *caspases* yang menginisiasi apoptosis, atau kematian sel terprogram. Hal ini telah didemonstrasikan pada hepar dan ginjal binatang coba. Kematian sel itulah yang menyebabkan nekrosis jaringan dan disfungsi organ (lihat Gambar 2.2).

Mekanisme toksisitas parasetamol pada hepar telah banyak dideskripsikan, namun lebih sedikit pada ginjal. Ada beberapa mekanisme yang potensial terhadap toksisitas ginjal berdasarkan data pada binatang coba dan manusia. Mekanisme yang mungkin diantaranya adalah *cytochrome P-450 pathway*, *prostaglandin synthetase*, *N-deacetylase Enzymes*.



Gambar 2.2 Metabolisme parasetamol (Sumber : Heard, 2008)

Enzim mikrosomal CYP-450 pada proses ini ditemukan pada hepar dan ginjal. Kerusakan ginjal dan jumlah metabolit reaktif di jaringan dapat dikurangi bila terdapat *CYP-450 inhibitor piperonyl butoxide*. Dan lagi, telah dilaporkan bahwa kondisi yang disertai dengan peningkatan aktivitas dari sistem CYP-450 memperburuk toksisitas parasetamol. Contohnya pada alkoholik kronik dan konsumsi obat yang menginduksi enzim ini, yaitu antikonvulsan.

Potensial mekanisme lain dari toksisitas parasetamol berhubungan dengan *prostaglandin endoperoxidase synthetase (PGES)*, meskipun mekanisme ini lebih kepada kejadian kronik daripada yang akut. PGES adalah enzim pada ginjal yang mengaktivasi parasetamol menjadi metabolit toksik. Proses ini kebanyakan terjadi pada medulla ginjal, sebaliknya, CYP-450 lebih berperan pada korteks ginjal. Meski terdapat perbedaan, pada akhirnya dua-duanya akan sama, yaitu membentuk metabolit toksik, yang lalu terikat secara kovalen terhadap protein selular, diikuti dengan kematian sel dan nekrosis jaringan.

Enzim *N-deacetylase* juga diimplikasikan sebagai penyebab nefrotoksitas, meski peranannya masih belum jelas. Telah diketahui bahwa enzim yang bereaksi terhadap parasetamol atau NAPQI, mendeasetilasi substrat tersebut menjadi *para-aminophenol*, yang mana nantinya akan dirubah menjadi

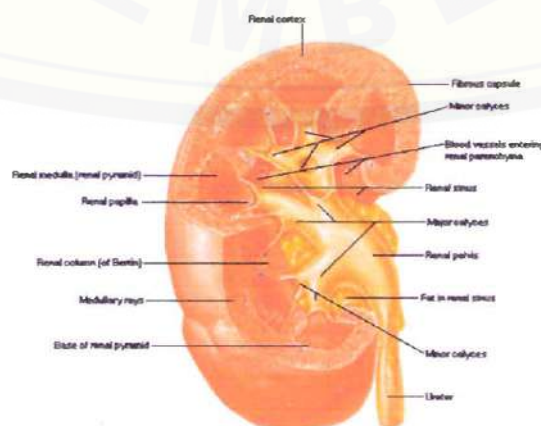
radikal bebas yang bisa berikatan dengan protein selular. Proses ini dapat terjadi dengan kombinasi reaksi sistem enzim CYP-450 dan telah diteliti pada binatang coba (Mazer *et al.*, 2008).

2.2 Ginjal

2.2.1 Anatomi Umum

Ginjal manusia berbentuk seperti kacang merah, dengan panjang antara 10-12 cm, dan tebal 3,5-5 cm, terdapat di bagian posterior abdomen bagian atas, pada masing-masing sisi vertebra lumbal atas. Ginjal terletak retroperitoneal dari vertebra T12 sampai L3. Ginjal kiri letaknya sedikit lebih rendah dibandingkan yang kanan. Berat ginjal pada pria dewasa adalah 125-170 gram dan pada wanita dewasa 115-155 gram (Sloane, 2004). Ginjal dibungkus oleh simpai jaringan fibrosa yang tipis yang dapat dilepaskan dengan mudah dari parenkim di bawahnya (Leeson *et al.*, 2001).

Pada tepi medial ginjal terdapat cekungan tempat masuknya pelvis renalis, arteri, dan vena renalis, sistem limfatik, dan sebuah pleksus saraf ke dalam sinus ginjal. Pelvis renalis adalah pelebaran ujung atas ureter (Tisher and Willcox, 2002). Pelvis ini terbagi menjadi mangkuk besar dan kecil, yaitu kaliks mayor dan minor. Biasanya ada 2 kaliks mayor dan 8 sampai 12 kaliks minor. Setiap kaliks minor meliputi tonjolan jaringan ginjal berbentuk kerucut yang disebut papilla ginjal yang berlubang-lubang karena bermuaranya 10-25 buah duktus koligens (lihat Gambar 2.3) (Leeson *et al.*, 2001).



Gambar 2.3 Potongan melintang permukaan ginjal (Sumber : Sloane, 2004)

Ginjal dapat dibagi menjadi bagian korteks dan medulla. Pada manusia, medulla membentuk 8-18 piramid ginjal yang dasarnya terletak pada pertemuan kortiko-medular. Apeks dari piramid ginjal meluas sampai ke pelvis renalis yang masing-masing membentuk sebuah papilla. Mulai dari dasar piramid, bagian medulla terdiri dari duktus koledokus serta lanjutan dari tubulus proksimal dan tubulus distal yang meluas hingga ke korteks. Berdasarkan pembagian dari nefron, medulla dapat dibagi menjadi medulla sisi luar dan medulla sisi dalam yang termasuk juga papilla renalis (Tisher and Willcox, 2002). Diantara piramid medulla yang berdekatan terdapat perluasan substansi korteks dan disebut kolom ginjal (Leeson *et al.*, 2001).

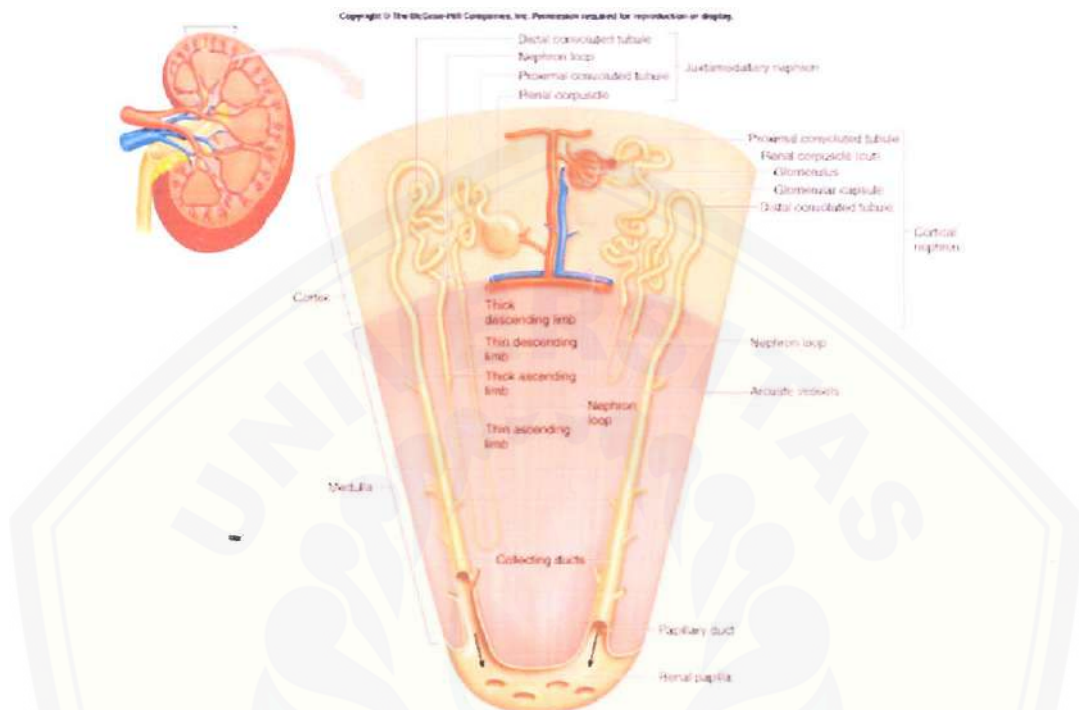
Masing-masing piramid dengan korteks yang berkaitan dan yang mendasarinya dianggap sebagai satu lobus, oleh karena itu disebut ginjal multipiramidal dan multilobar. Beberapa mamalia tingkat lebih rendah (misalnya tikus dan kelinci) mempunyai ginjal unilobar atau unipiramidal. Lobus ginjal pada manusia dewasa tidak dibatasi dan permukaan ginjal licin. Permukaan ginjal pada fetus dan anak-anak tidak teratur dan digambarkan berlobus (Leeson *et al.*, 2001).

Setiap ginjal manusia terdiri dari sekitar 1,2 juta nefron. Nefron adalah satuan unit fungsional dari ginjal yang terdiri dari suatu korpus renalis atau glomerulus dan tubulus-tubulus lainnya yang berhubungan. Bagian tubular dari nefron terdiri dari tiga subbagian besar, yaitu tubulus kontortus proksimal (TKP), ansa henle, dan tubulus kontortus distal (TKD). Tubulus kontortus distal berlanjut ke dalam sistem duktus koledokus yang terpisah dari sistem ureter, dan secara tegas dikatakan bahwa tubulus ini bukan merupakan bagian dari nefron. Ansa henle termasuk tubulus rektus proksimal (pars rektus dari tubulus proksimal), segmen limbus tipis dan cabang asenden tebal (pars rektus dari tubulus distal) (Tisher and Willcox, 2002).

2.2.2 Anatomi Mikroskopik Ginjal

Ginjal terdiri dari dua bagian, yaitu korteks dan medulla. Bagian korteks terdapat glomerulus, tubulus kontortus proksimalis, tubulus kontortus distalis, dan

makula densa. Bagian medulla terdapat henle tebal desendens dan ascendens, henle tipis, dan duktus koligens (lihat Gambar 2.4).

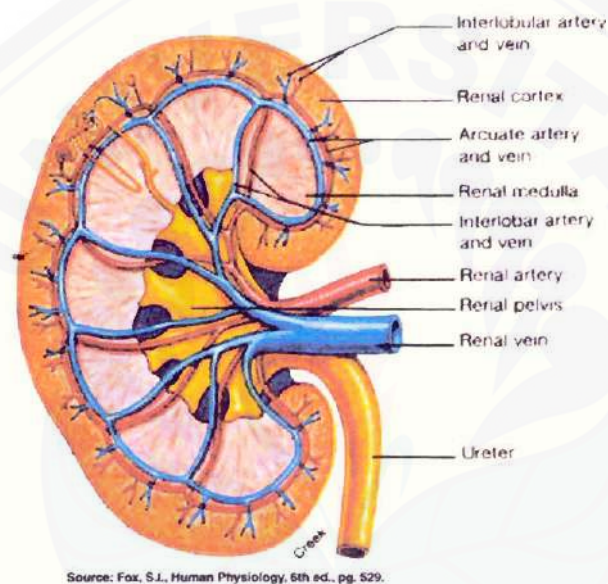


Gambar 2.4 Penampang korteks dan medulla ginjal (Sumber : Junqueira and Carneiro, 2007)

2.2.3 Vaskularisasi

Aliran darah ke ginjal sangat besar, jumlahnya mencapai 1200 mL/menit (25% dari curah jantung). Arteri renalis dibagi menjadi cabang segmen anterior dan posterior pada hilus ginjal. Dari arteri-arteri segmental, arteri lobaris melanjutkan diri ke papil, kemudian arteri-arteri dibagi menjadi arteri interlobaris yang naik disepanjang tepi piramida ginjal. Pada pertemuan kortikomedular. Arteri-arteri melanjutkan diri menjadi arteri arkuata yang kemudian bercabang ke permukaan ginjal. Dari arteri-arteri arkuata, arteri interlobularis naik ke dalam korteks yang kemudian memberikan cabang-cabang arteriol aferen ke glomerulus. Darah keluar dari glomerulus melalui arteriol eferen yang membentuk jaringan kapiler peritubular dalam korteks. Arteriol eferen dari glomerulus jukstamedular turun ke dalam medulla eksterna dan membentuk gulungan vaskular yang

mengandung vasa rekta yang disuplai dari medulla interna dan eksterna. Darah dari aliran kapiler menuju ke interlobular, arkuata, dan vena-vena interlobaris yang disertai oleh arteri interlobaris, akhirnya meninggalkan ginjal melalui vena renalis. Jaringan limfatik terdapat dalam korteks ginjal kapsul ginjal, dan sistem limfatik tidak terlihat dalam medulla. Di dalam korteks semua mengikuti arteri-arteri dan dikelilingi oleh jaringan periarterial interstisial (lihat Gambar 2.5) (Tisher and Willcox, 2002).



Gambar 2.5 Vaskularisasi ginjal (Sumber : Lab. Anatomi-Histologi FK Unair, 2004)

2.3 Jejas Sel

2.3.1 Definisi Jejas dan Adaptasi Sel

Semua bentuk jejas jaringan dimulai dengan perubahan molekul atau struktur sel. Dalam keadaan normal, sel berada dalam keadaan stabil. Sel-sel bereaksi terhadap pengaruh yang merugikan dengan cara beradaptasi, mengalami jejas yang tidak menetap, atau mengalami jejas menetap dan mati (Robbins *et al.*, 2007).

Adaptasi sel terjadi bila stres fisiologik berlebihan atau suatu rangsangan yang patologik menyebabkan terjadinya keadaan baru yang berubah yang mempertahankan kelangsungan hidup sel. Sebagai contoh adalah hipertrofi

(bertambahnya massa sel) atau atrofi (penyusutan massa sel) (Robbins *et al.*, 2007), pembengkakan sel, penyimpanan dan penimbunan zat metabolik atau zat lain di dalam sitoplasma, hiperplasia, dan metaplasia (Damjanov, 2000).

2.3.2 Penyebab Jejas Sel

Jejas sel disebabkan oleh berbagai faktor, antara lain (Robbins *et al.*, 2007):

a. Hipoksia (penurunan oksigen) yang terjadi sebagai akibat:

- 1) Iskemia yaitu kehilangan pasokan darah.
- 2) Oksigenasi tidak mencukupi, misalnya pada kegagalan jantung paru.
- 3) Hilangnya kemampuan darah untuk mengangkut oksigen, misalnya pada anemia dan keracunan karbonmonoksida.

b. Faktor fisik, termasuk trauma, panas, dingin, radiasi, dan renjatan listrik.

c. Bahan kimia dan obat-obatan.

d. Infeksi yaitu virus, riketsia, bakteri, jamur, dan parasit.

e. Reaksi imunologik.

f. Kelainan genetik.

g. Ketidakseimbangan gizi.

2.3.3 Mekanisme Jejas Sel

Perubahan morfologik jejas sel menjadi nyata setelah beberapa sistem biokimia yang penting terganggu. Empat aspek biokimia yang penting sebagai perantara jejas dan kematian sel antara lain (Robbins *et al.*, 2007):

a. Radikal bebas

Radikal bebas ini berasal dari oksigen yang terbentuk pada banyak keadaan patologik dan menyebabkan efek yang merusak pada struktur dan fungsi sel.

b. Hilangnya homeostasis kalsium dan meningkatnya kalsium intrasel. Iskemi dan toksin tertentu menyebabkan masuknya ion kalsium ke dalam sel dan lepasnya ion kalsium dari mitokondria dan retikulum endoplasmik. Peningkatan kalsium sitosolik mengaktifkan fosfolipase yang memecah fosfolipid membran, protease yang menguraikan protein membran dan sitoskeletal, ATPase yang mempercepat pengurangan ATP, dan endonuklease yang terkait dengan

fragmentasi kromatin.

c. Depleksi ATP

ATP dibutuhkan untuk proses yang penting seperti transportasi pada membran, sintesis protein, dan pertukaran fosfolipid.

d. Defek permeabilitas membran

Membran dapat dirusak langsung oleh toksin, agen fisik dan kimia, serta komponen litik.

2.3.4 Jenis Jejas

Menurut Robbins *et al.*, 2007, jenis-jenis jejas diantaranya adalah :

a. Jejas Reversibel

Jejas sel reversibel adalah perubahan patologik yang dapat kembali jika rangsangan dihilangkan atau jika penyebabnya ringan. Manifestasi awal dan umum pada jejas hipoksik non-fetal ialah pembengkakan sel akut.

b. Jejas Ireversibel

Jejas ireversibel adalah perubahan patologik yang menetap dan menyebabkan kematian sel. Jejas irreversible ditandai oleh vakuolisasi keras mitokondria, kerusakan membran plasma yang luas, pembengkakan lisosom, dan terlihatnya densitas mitokondria yang besar dan amorf. Jejas membran lisosom disusul oleh bocornya enzim ke dalam sitoplasma dan karena aktivasinya terjadi pencernaan enzimatik komponen sel dan inti.

2.4 Morfologi Jejas dan Perubahan Struktur Jaringan Ginjal oleh Zat Kimia

Bahan-bahan kimia menyebabkan jejas sel melalui dua mekanisme (Robbins *et al.*, 2007):

- a. Secara langsung, misalnya merkuri dari merkuri klorida terikat pada gugus SH protein membran sel yang menyebabkan peningkatan permeabilitas dan inhibisi transportasi yang tergantung pada ATPase.
- b. Konversi menjadi metabolit toksik reaktif. Metabolit toksik ini menyebabkan jejas sel baik dengan ikatan kovalen langsung pada lipid dan protein membran atau dengan pembentukan radikal bebas reaktif.

Mekanisme yang mempengaruhi terjadinya jejas pada ginjal selain jenis zat kimia, dosis, dan lamanya paparan adalah (Price and Wilson, 2006):

- a. Tingginya volume aliran darah ginjal yang membawa racun dalam jumlah besar.
- b. Luas area yang kontak dengan racun, baik di glomerulus maupun epitel tubulus yang memungkinkan terjadinya interaksi dan uptake racun.
- c. Kemampuan ginjal untuk mentransfer bahan aktif.
- d. Pemecahan obat yang mungkin timbul di tubulus ginjal dan merangsang pembentukan metabolit racun dan bahan tidak beracun.
- e. Mekanisme pemekatan ginjal yang bisa meningkatkan konsentrasi bahan yang tidak terabsorpsi di urin dan interstisial.

Kelompok utama nefrotoksikan adalah logam berat, antibiotik, analgesik, dan hidrokarbon berhalogen tertentu. Semua bagian nefron secara potensial dapat dirusak oleh efek toksikan. Beratnya beberapa efek beragam dari satu perubahan biokimia atau lebih sampai kematian sel, dan efek ini dapat muncul sebagai perubahan kecil pada fungsi ginjal atau gagal ginjal total (Cotran *et al.*, 2000).

Beberapa bentuk perubahan struktur jaringan korteks ginjal akibat jejas oleh zat kimia, antara lain (Cotran *et al.*, 2000):

- a. Degenerasi

Degenerasi merupakan perubahan dalam morfologi sel yang ditimbulkan oleh akumulasi dari metabolit-metabolit atau zat-zat lain dalam sel yang mengalami kerusakan oleh cedera sebelumnya (Thompson and Cotton, 2002).

Jenis-jenis Degenerasi

1. Pembengkakan berawan (cloudy swelling) atau degenerasi keruh

Merupakan perubahan artefaktual akibat proses autolitik dalam sel-sel setelah kematian atau fiksasi yang buruk. Disebabkan oleh infeksi, cedera fisikokimiawi dan kekurangan gizi. Ditemukan pada setiap sel, khususnya sel parenkim dari hepar, ginjal, dan jantung. Sel-sel agak membengkak dan ini memperlihatkan sitoplasma yang granuler dan berkabut, mitokondria sedikit membengkak. Pembengkakan berawan ini merupakan perubahan degeneratif

yang terdeteksi paling dini dari suatu sel dan bersifat reversibel (Thompson and Cotton, 2002).

2. Degenerasi Hidrofik

Karakteristik dengan penumpukan air dalam sel. Hal ini disebabkan oleh kerusakan mitokondria, terhentinya produksi ATP dan kegagalan dari pompa natrium yang menyebabkan peningkatan tekanan osmotik dalam sel. Perubahan dalam permeabilitas membran sel terhadap zat lain dapat ditimbulkan oleh bahan-bahan toksik. Degenerasi hidrofik ini disebabkan oleh gangguan air dan elektrolit yang berat, khususnya kehilangan kalium; bahan-bahan fisikokimiawi, seperti luka bakar, kloroform, dan karbonditriklorida; infeksi; setelah cloudy swelling yang berlangsung lama. Degenerasi ini ditemukan pada sel hepar dan tubulus kontortus ginjal. Vakuol tampak dalam sitoplasma dimana vakuol ini dapat bergabung membentuk suatu vakuol yang besar. Retikulum endoplasmik kasar memperlihatkan dilatasi dan sisterna yang besar. Mitokondria membengkak dengan kehilangan krista. Keadaan ini bersifat reversibel, tetapi merupakan indikasi dari kerusakan yang berat dan dapat berlanjut pada kematian sel jika faktor penyebab tetap bertahan (Thompson and Cotton, 2002).

Degenerasi yang terjadi pada ginjal dapat mengenai glomerulus dan tubulus kontortus proksimal.

b. Nekrosis

Nekrosis adalah perubahan morfologik yang mengikuti kematian sel pada jaringan atau organ hidup (Robbins *et al.*, 2007). Kematian sel ini akibat cedera irreversibel (Damjanov, 2000).

1. Gambaran Nekrosis

a) Perubahan Inti

Kromatin tampak lebih gelap dan terkondensasi (piknosis). Membran inti kemudian mengalami ruptur dan kromatin mengalami fragmentasi menjadi agregat kecil yang berpulas gelap (karioreksis). Hilangnya bahan inti menunjukkan kariolisis (Thompson and Cotton, 2002).

b) Perubahan Sitoplasmik

Perubahan yang terjadi pada sitoplasma meliputi cloudy swelling, degenerasi hidrofik, degenerasi lemak, degenerasi hialin (Thompson and Cotton, 2002).

2. Nekrosis Koagulatif

Nekrosis ini disebabkan oleh denaturasi protein selular yang menimbulkan massa padat dari sel nekrotik (Thompson and Cotton, 2002). Sel tidak mengalami lisis, kerangka luar sel relatif utuh. Inti menghilang dan sitoplasma yang mengalami asidifikasi menjadi eosinofilik (Damjanov, 2000). Jenis nekrosis ini yang paling umum terdapat pada miokardium, ginjal, hati, dan organ-organ lain (Robbins *et al.*, 2007).

c. Apoptosis

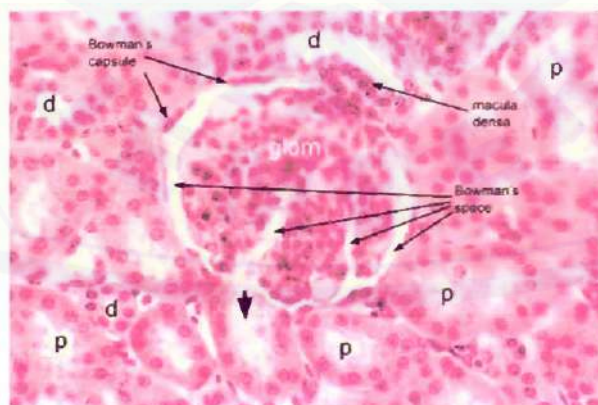
Apoptosis adalah kematian sel yang terprogram pada tingkat DNA yang terjadi akibat proses fisiologik dan patologik.

d. Jejas pada Pembuluh Darah

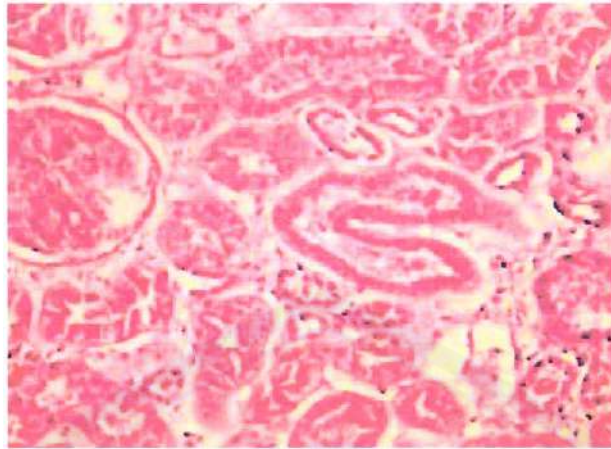
Dapat berupa kongesti maupun dilatasi.

e. Neoplasma

Perbandingan sel ginjal normal dan sel ginjal yang mengalami degenerasi bisa dilihat pada Gambar 2.6 dan Gambar 2.7 di bawah ini.



Gambar 2.6 Gambaran histologi ginjal normal. Tampak permukaan kortek terlihat *intake* dan tubulus kontortus terlihat normal (Cotran *et al.*, 2000). (perbesaran 400x)



Gambar 2.7 Gambaran histopatologi kerusakan ginjal. Tampak *focal loss* dari sel epitel tubulus dan *partial occlusion* dari lumen tubulus karena debris-debris sel (Cotran, 2000). (perbesaran 400x)

2.5 Oksidan dan Radikal Bebas

Sering kali pengertian oksidan dan radikal bebas di bidang kedokteran dianggap sama karena keduanya memiliki kemiripan sifat. Aktivitas kedua senyawa ini sering menghasilkan akibat yang sama walaupun prosesnya berbeda (Wijaya, 1996 ; Suryohudoyo, 2005). Di bidang ilmu kimia, pengertian oksidan dan radikal bebas dibedakan. Oksidan adalah senyawa penerima elektron yaitu senyawa-senyawa yang dapat menarik elektron (Wijaya, 1996 ; Suryohudoyo, 2005). Oksidan dapat merusak sel, menyebabkan keadaan patologis dan dicurigai berperan dalam proses penuaan. Perusakan sel terjadi akibat terganggunya komponen struktural sel maupun struktur fungsionalnya. Sumber oksidan perusak sel dapat berasal dari tubuh sendiri (endogen) dan berasal dari luar (eksogen) (Jadav *et al.*, 2000).

Radikal bebas adalah sekelompok bahan kimia baik berupa atom maupun molekul yang memiliki elektron tidak berpasangan pada lapisan luarnya. Merupakan juga suatu kelompok bahan kimia dengan reaksi jangka pendek yang memiliki satu atau lebih elektron bebas (Droge, 2002) dan akan menyerang molekul stabil yang terdekat dan mengambil elektronnya, zat yang terambil elektronnya akan menjadi radikal bebas juga sehingga akan memulai suatu reaksi berantai yang baru (Arief, 2007). Jadi oksidan dan radikal bebas keduanya dapat

menarik suatu elektron. Setiap radikal bebas adalah oksidan karena dapat menarik elektron, tetapi tidak setiap oksidan merupakan radikal bebas (Lautan, 1997 ; Suryohudoyo, 2005).

Walaupun oksigen (O_2) esensial untuk kebanyakan proses kehidupan, molekul tersebut dapat berubah menjadi molekul yang memiliki toksisitas tinggi. Satu dari kebanyakan senyawa reaktif adalah superoksida anion (O_2^-) yang merupakan radikal bebas. Radikal bebas adalah atom atau molekul yang mengandung elektron yang tidak berpasangan pada orbit luarnya. Molekul terdiri atas atom dengan elektron yang berpasangan pada kulit terluarnya, namun pada suatu kondisi, molekul atau atom yang memiliki elektron yang tidak berpasangan biasanya mengambil elektron lain dari sekitarnya untuk dijadikan sebagai pasangannya. Radikal bebas umumnya merusak molekul lain, misalnya molekul pada sel (Cambel and Smith, 2000).

Radikal bebas diproduksi secara endogen dan diperoleh pula secara eksogen. Secara endogen, radikal bebas diproduksi oleh mitokondria, membran plasma, lisosom, retikulum endoplasma, dan inti sel. Secara eksogen, radikal bebas berasal dari asap rokok, polutan radiasi, obat-obatan, dan pestisida. Sumber utama reaksi radikal bebas pada mamalia adalah pada rantai penapasan, fagositosis, sintesis prostaglandin, sistem sitokrom P-450, reaksi non enzimatis O_2 dan radiasi ion.

Reaksi radikal bebas dapat dibagi menjadi tiga tahap, yaitu:

- a. Tahap inisiasi, yaitu tahapan yang menyebabkan terbentuknya radikal bebas.
- b. Tahap propagasi, yaitu tahap dimana radikal bebas cenderung bertambah banyak dengan membuat reaksi rantai dengan molekul lain.
- c. Tahap terminasi, apabila terjadi reaksi antara radikal bebas dengan radikal bebas lain atau antara radikal bebas dengan suatu senyawa pembasmi radikal (scavenger).

Radikal bebas akan merusak molekul yang elektronnya ditarik oleh radikal bebas tersebut sehingga menyebabkan kerusakan sel, gangguan fungsi sel, bahkan kematian sel. Molekul utama di dalam tubuh yang dirusak oleh radikal bebas adalah DNA, lemak, dan protein.

Radikal bebas yang merusak DNA dapat mengganggu beberapa bagian DNA dan menyebabkan pertumbuhan sel yang tidak terkontrol, yang dapat mengakibatkan kanker. Radikal bebas yang merusak DNA dapat menyebabkan kerusakan oksidasi low density lipoproteins (LDLs), sehingga mengakibatkan terjadinya aterosklerosis. Radikal bebas juga merusak sel endotel sehingga mengurangi kemampuan sel bereaksi cepat dan efisien untuk mempertahankan aliran darah yang optimum di organ-organ vital. Hal tersebut meningkatkan terjadinya serangan jantung, stroke, gagal ginjal, dan hipertensi. Radikal bebas juga menyebabkan terjadi proses glikosilasi (kompleks karbohidrat dan protein). Proses ini mengakibatkan timbulnya penyakit diabetes melitus, pembentukan katarak, kerusakan arteri, menurunkan gerakan sendi, dan menimbulkan penyakit kronik yang lain. Dalam keadaan fisiologis, radikal bebas yang secara normal terbentuk dan reaksi redoks biologi akan dinetralisasi, sebelum terjadi perusakan berat pada sel (Setiati, 2003).

2.6 Antioksidan

Antioksidan adalah senyawa kimia yang memiliki kemampuan untuk memberikan hidrogen radikal. Sebagai akibatnya, senyawa tersebut mampu mengubah sifat radikal menjadi nonradikal dan terjadi perubahan oksidasi radikal oleh antioksidan. Struktur molekul antioksidan bukan hanya memiliki kemampuan melepas atom hidrogen tetapi juga mengubah radikal menjadi reaktivitas rendah sehingga tidak terjadi reaksi dengan lemak. Antioksidan terdiri atas antioksidan endogen yang dihasilkan oleh tubuh sendiri dan antioksidan eksogen yang berasal dari makanan (Jadav *et al.*, 2000).

Antioksidan menjadi bentuk aktif pada oksigen reaktif termasuk pada step inisiasi oksidasi, atau dapat memecah rantai reaksi oksidatif dengan cara bereaksi dengan radikal peroksida membentuk ikatan antioksidan-radikal yang stabil sehingga tidak terjadi reaksi selanjutnya atau bentuk nonradikal (Howell and Saeed, 2001). Pertahanan antioksidan pada sel mampu mencegah terjadinya peroksidasi lipida dan beberapa molekul biologi yang mengalami kerusakan. Dalam hal ini ada tiga level pertahanan sebagai dasar pada sistem eliminasi

kerusakan dengan cara menghambat inisiasi atau propagasi dan perbaikan kembali. Level pertahanan antioksidan pada enzim termasuk lipolitik (fosfolipase), proteolitik (peptidase atau protease), dan enzim yang lain, yaitu DNA repair (ligase, nuklease, polimerase), dan sejumlah transferase. Hambatan terhadap enzim bergantung pada reaktivitas senyawa fenol terhadap sisi rantai asam amino enzim (Rohn, 2002).

Terdapat beberapa zat yang dapat mengurangi reaksi radikal bebas dengan memutuskan rantai reaksi, yaitu (1) enzim antioksidan (superoksid dismutase SOD), katalase, glutathion peroksidase, dan SOD mimics); (2) spin trap (3) komponen yang memutuskan rantai (komponen sintesis seperti *butylated hydroxytoluene* (BHT)), *butylated hydroxyanisole* (BHA), *2-mercaptoethylamine* (2-MEA), *ethoxyquin*, *21-aminosteroids*, dan *2-methylaminochromans* (lazaroids); dan komponen alamiah seperti α -tokoferol, asam askorbat, β -karoten, melatonin, dan α -lipoic acid).

Antioksidan endogen/antioksidan primer terdiri atas enzim-enzim dan berbagai senyawa yang disintesis tubula yang bekerja dengan cara mencegah pembentukan radikal bebas baru. Contoh antioksidan endogen adalah superoksid dismutase (SOD), glutathion peroksidase (GPx), peroksidase/katalase, dan glutathion (GSH). Sistem antioksidan endogen diperkuat oleh sistem antioksidan eksogen yang diperoleh dari bahan makanan.

Antioksidan eksogen dikenal juga sebagai antioksidan sekunder karena menangkap radikal dan mencegah reaksi berantai. Contohnya adalah vitamin E (tokoferol), vitamin C (askorbat), karoten, asam urat, bilirubin, dan albumin. Antioksidan yang berasal dari makanan adalah vitamin C, beta karoten (provitamin A), retinol (vitamin A), alfa tokoferol (vitamin E), beberapa asam amino, sulfhidril tripeptid glutathion, basa DNA, beberapa zat gula, seruloplasmin metaloprotein sirkulasi dan transferrin. Vitamin C berfungsi menangkap radikal superoksid dan radikal hidroksi sedangkan tokoferol adalah free radical scavenger terbaik pada suasana hidrofobik pada membran sel. Tokoferol yang mudah larut dalam lipid memproteksi lipid dan protein darah. Terdapat antioksidan tersier yang memperbaiki kerusakan biomolekuler yang disebabkan oleh radikal bebas,

contohnya enzim yang memperbaiki DNA dan metionin sulfoksida reduktase (Setiati, 2003).

2.6.1 Manfaat dan Peran Antioksidan

Sebagian besar penelitian pada binatang telah menunjukkan bertambah panjang rentang hidup pada binatang yang mendapatkan suplementasi antioksidan untuk menambah kekuatan antioksidan endogen dalam mengurangi reaksi radikal bebas.

Sampai saat ini, berbagai studi epidemiologi pada manusia tentang manfaat terapi suplementasi antioksidan masih menjadi kontroversi. Suatu penelitian vitamin E, beta karoten, dan vitamin C mungkin menurunkan resiko penyakit jantung koroner. Berbagai penelitian jangka pendek menunjukkan bahwa suplementasi antioksidan alamiah maupun sintetik menurunkan stress oksidatif. Namun, penelitian jangka panjang pada pasien resiko tinggi kejadian jantung menunjukkan bahwa suplementasi vitamin E tidak bermanfaat.

Mekanisme antioksidan dalam tubuh mammalia dapat berlangsung baik intrasel maupun ekstrasel. Antioksidan endogen yang berperan intrasel antara lain adalah dismutase superoksida, katalase, dan peroksidase glutathion. Sedangkan antioksidan endogen yang bekerja ekstrasel antara lain adalah albumin, haptoglobin, transferin dan seruloplasmin.

Selain antioksidan endogen yang merupakan bagian alami, asli dari tubuh, juga terdapat sejumlah antioksidan eksogen. Sesuai dengan namanya, antioksidan ini masuk ke dalam tubuh melalui makanan (zat gizi) yang dimakan dari hari ke hari. β - karoten (vitamin A), asam askorbat (vitamin C), dan α - tokoferol (vitamin E) adalah contoh antioksidan eksogen yang telah kita ketahui dengan baik.

Secara umum antioksidan yang bereaksi dengan ROS dan radikal bebas, memberikan dampak umum berupa pencegahan terjadinya 'stress' oksidatif, pencegahan penyakit kronis, serta perlambatan berbagai gangguan/penyakit degeneratif. Secara khusus dampak antioksidan adalah antara lain menghindari kerusakan DNA karena oksidasi, mencegah kelainan/perubahan pada pembuluh

darah (aterosklerosis), mengurangi/ memperbaiki efek buruk/ toksik obat kemoterapi atau obat lain (Setiati, 2003).

2.7 Buah Alpukat (*Persea americana M.*)

2.7.1 Taksonomi Buah Alpukat

Berdasarkan penggolongan dan tata nama tumbuhan, buah alpukat termasuk ke dalam klasifikasi sebagai berikut :

Kingdom	: <i>Plantae</i> (Tumbuh-tumbuhan)
Divisi	: <i>Spermatophyta</i> (Tumbuhan berbiji)
Kelas	: <i>Dicotyledoneae</i> (Biji berkeping satu)
Ordo	: <i>Lurales</i>
Famili	: <i>Lauraceae</i>
Genus	: <i>Persea</i>
Spesies	: <i>Persea americana Mill.</i> (Buah alpukat)

2.7.2 Deskripsi dan Penyebaran Buah Alpukat

Alpukat atau avokad berasal dari bahasa Aztek yaitu ahuacatl. Buah ini memang berasal dari daerah tempat suku Aztek berasal, yaitu di daerah Amerika Tengah dan Meksiko (lihat Gambar 2.8). Awalnya buah ini mulai diperkenalkan oleh Martin Fernandez de Enrico, salah seorang pemimpin pasukan Spanyol, kepada orang-orang Eropa. Sejak itulah, buah alpukat mulai disebar (Prihatman, 2000).

Alpukat masuk Indonesia sejak abad ketujuh belas, dibawa oleh para pedagang Spanyol. Namun saat itu penyebarannya masih terbatas di daerah pegunungan, dimana di daerah pegunungan banyak terdapat tempat pemukiman para turis. Tidak seperti buah-buahan tropis, buah alpukat relatif tidak banyak mengandung air dan tidak manis, karena itu sulit untuk menarik minat konsumen lokal. Buah alpukat mulai mendapat perhatian luas pada tahun 1997 setelah ada sebuah rumah kebun mengampanyekan nutrisi penting buah alpukat (Harjadi, 2010).

Tanaman alpukat (*Persea americana* Mill atau *Persea gratissima* Gaertn) memiliki wujud atau bentuk pohon bermacam-macam, mulai dari pohon lurus dengan batang yang kokoh kuat sampai pohon-pohon yang lebih kecil merimbun seperti semak. Tanaman alpukat asal biji dapat mencapai ketinggian 15 m - 20 m, sedangkan tanaman alpukat hasil mengenten dan mengokulasi lebih rendah. Batangnya alpukat bercabang rendah dengan tajuk pohon berdaun rapat. Daunnya alpukat berwarna hijau tua, berbentuk runcing sampai agak melebar, sepanjang 10 cm-20 cm, daun-daun muda berwarna agak kemerah-merahan atau merah anggur.

Bunga alpukat berjenis kelamin dua, tumbuh tersusun dalam mulai pada tunas pucuk dan tunas terminal. Bunga alpukat memiliki sifat unik: meskipun berjenis kelamin dua, penyerbukan sendiri tidak pernah terjadi. Tanaman alpukat tergolong tanaman yang berbunga banyak. Bunga alpukat memiliki sifat yang disebut dikogami (dichogami), yaitu putik dan benangsari pada bunga masak secara tidak bersamaan. Bila putik dan benangsari masak secara bersamaan disebut bunga homogami. Bunga dikogami seperti bunga alpukat ini tidak mungkin melakukan penyerbukan sendiri. Putik bunganya berfungsi bila mengalami penyerbukan silang dari bunga pohon lain.



Gambar 2.8 Buah alpukat (Sumber : Nutrient data, 2010)

2.7.3 Kandungan dan Manfaat Buah Alpukat

Dibalik rasanya yang manis menyegarkan, buah alpukat kaya akan manfaat. Banyak orang percaya buah ini dapat menurunkan kolesterol dan menyeimbangkan gula darah. Buah alpukat mengandung vitamin C, beta beta karoten,

kalsium dan karbohidrat. Yang pasti buah alpukat tinggi serat sebagai pengikat zat karsinogen penyebab kanker dan memperlancar proses pencernaan (Budi, 2006). Dalam penelitian terhadap ekstrak air dan methanol, buah alpukat menunjukkan bahwa kedua ekstrak memiliki aktifitas antioksidan dengan kemampuan antioksidasi pada ekstrak air yang lebih tinggi daripada ekstrak methanol (ekstrak air 1,08 % sedangkan methanol 2,98%) (Nutrient data, 2010).

Buah alpukat mengandung antioksidan eksogen. Beberapa vitamin seperti vitamin A, riboflavin (vitamin B₂), vitamin E, dan vitamin C (Berdanier *et al.*, 2008). Menurut Nutrient data, 2010, selain vitamin tersebut, alpukat juga memiliki vitamin K, tiamin, niasin, vitamin B₆, folat, vitamin B₁₂. Vitamin-vitamin ini berfungsi sebagai antioksidan.

Antioksidan lain yang dimiliki alpukat adalah glutathion. Jika dibandingkan dengan pisang, apel, blewah, maupun anggur, kandungan glutathion alpukat mencapai 3 kali lipat (Apriadji, 2008). Glutathion tersebut mencapai 17,7 mg per 100 gram alpukat (Dorantes, 2006). Untuk mengetahui kandungan buah alpukat, lihat tabel 2.1 , tabel 2.2 , tabel 2.3 , dan tabel 2.4 di bawah ini.

Tabel 2.1 Kandungan per 100 gram buah alpukat

Nutritional value per 100 g (3,5 oz)					
Kandungan	Massa	Kandungan	Massa	Kandungan	Massa
Energi	670 kal	Riboflavin (Vit B2)	0,013 mg (9%)	Besi	0,55 mg (4%)
Karbohidrat	8,53 g	Niacin (Vit. B3)	1,738 mg (12%)	Magnesium	29 mg (8%)
Gula	0,66 g	Pantothenic acid B5	1,389 mg (28%)	Phosphorus	52 mg (7%)
Serat	6,7 g	Vitamin B6	0,257 mg (20%)	Potassium	485 mg (10%)
Lemak	14,66 g	Folate (Vit. B9)	81 mg (20%)	Zinc	0,64 mg (6%)
- saturated	2,13 g				
- monounsaturated	9,80 g				
- polyunsaturated	1,82 g				
Protein	2 g	Vitamin C	10 mg (17%)		
Thiamine (Vit. B1)	0,067 mg (5%)	Kalsium	12 mg (1%)		

Percentages are relative to US recommendations for adults.

Tabel 2.2 Kandungan protein dan asam amino

Protein dan Asam Amino		
Jumlah Persajian		% AKG
Protein	2.0 g	4 %
Triptofan	25.0 mg	
Treonin	73.0 mg	
Isoleusin	84.0 mg	
Leusin	143 mg	
Lisin	132 mg	
Metionin	38.0 mg	
Sistin	27.0 mg	
Fenilalanin	232 mg	
Tirosin	49.0 mg	
Valin	107 mg	
Arganin	88.0 mg	
Histidin	49.0 mg	
Alanin	109 mg	
Asam Aspartat	236 mg	
Asam Glutamat	287 mg	
Glisin	104 mg	
Prolin	98.0 mg	
Serin	114 mg	
Hidroksiprolin	-	-

Tabel 2.3 Kandungan vitamin

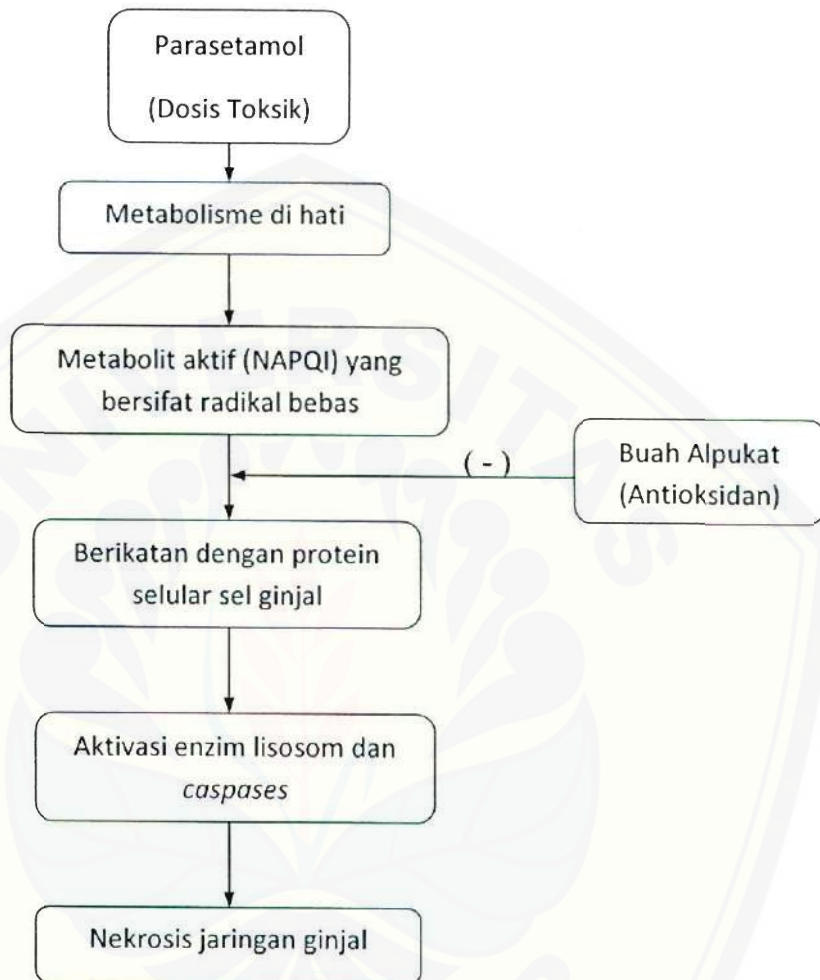
Vitamin		
Jumlah Persajian		% AKG
Vitamin A	146 IU	3 %
Retinol Activity Equivalent	7.0 mcg	
Alpha Karoten	24.0 mcg	
Beta Karoten	62.0 mcg	
Beta Cryptoxanthin	28.0 mcg	
Licopene	0.0 mcg	
Lutein+Zeaxanthin	271 mcg	
Vitamin C	10.0 mg	17 %
Vitamin D	~	~
Vitamin E (Alpha Tocoferol)	2.1 mg	10 %
Beta Tocoferol	0.1mg	
Gamma Tocoferol	0.3 mg	
Delta Tocoferol	0.0 mg	
Vitamin K	21.0 mg	26 %
Tiamin	0.1 mg	4 %
Riboflavin	0.1 mg	8 %
Niasin	1.7 mg	9 %
Vitamin B6	0.3 mg	13 %
Folat	81.0mcg	20 %
Vitamin B12	0.0 mcg	0 %
Asam Pantotenat	1.4 mg	14 %
Kolin	14.2 mg	
Betain	0.7 mg	

Tabel 2.4 Kandungan mineral

Mineral		
Jumlah Persajian		%AKG
Kalsium	12.0 mg	1 %
Besi	0.5 mg	3 %
Magnesium	29.0 mg	7 %
Fosfor	52.0 mg	5 %
Potassium	485 mg	14 %
Seng	0.6 mg	4 %
Tembaga	0,2 mg	9 %
Mangan	0,1 mg	7 %
Selenium	0,4mcg	1 %

Sumber: USDA Nutrient database, 2010

2.8 Kerangka Konseptual



Gambar 2.9 Skema kerangka konseptual

2.9 Hipotesis Penelitian

- Pemberian jus buah alpukat dapat mencegah kerusakan sel ginjal akibat pemberian parasetamol dosis toksik.
- Terdapat perbedaan antara pemberian jus buah alpukat dengan dosis 0,5 g/kgBB/hari, 1,5 g/kgBB/hari, dan 4,5 g/kgBB/hari.



BAB 3. METODE PENELITIAN

3.1 Jenis Penelitian

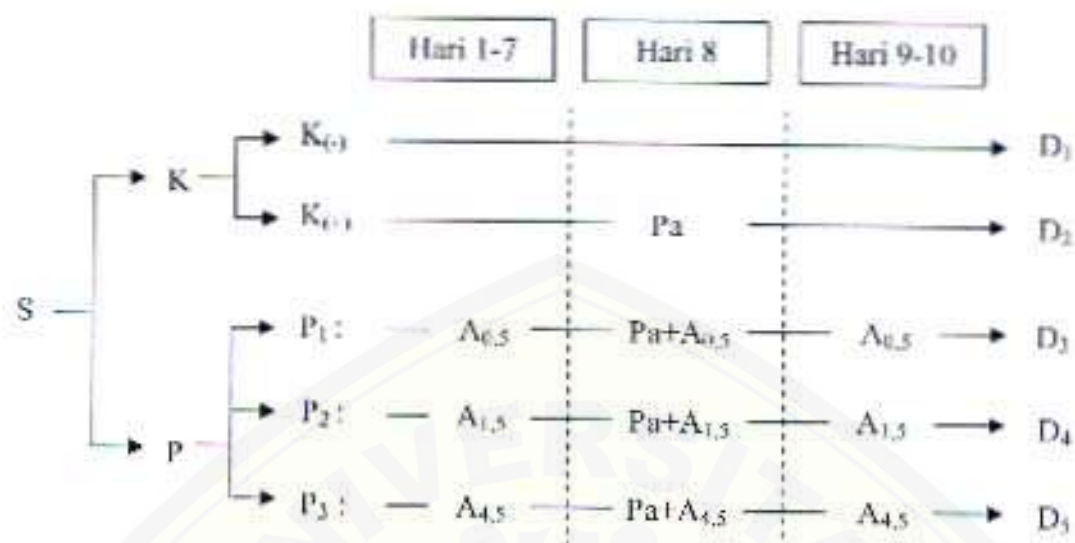
Jenis penelitian yang digunakan pada penelitian ini adalah penelitian eksperimental laboratoris.

3.2 Rancangan Penelitian

Rancangan penelitian yang digunakan adalah *Post Test Only Control Group Design*. Rancangan tersebut dipilih dengan asumsi bahwa di dalam suatu populasi tertentu, tiap unit populasi adalah homogen yaitu karakteristik antar semua unit populasi adalah sama. Pengukuran awal tidak dilakukan karena dianggap sama untuk semua kelompok yang berasal dari satu populasi, sehingga dapat dikembangkan rancangan eksperimental tanpa ada pengukuran awal (*pretest*), tetapi hanya pengukuran akhir (*posttest*) (Pratiknya, 2003).

Rancangan penelitian ini dilakukan dengan membagi sampel dalam kelompok kontrol dan kelompok perlakuan melalui randomisasi. Rancangan ini diperluas dengan melibatkan lebih dari satu variabel bebas, dengan kata lain perlakuan dilakukan pada lebih dari satu kelompok dengan bentuk perlakuan yang berbeda. Setelah semua perlakuan selesai, dilakukan observasi (*posttest*) pada semua kelompok untuk diperoleh kesimpulan mengenai perbedaan diantaranya melalui analisis data tertentu (Notoatmojo, 2002).

Secara sistematis rancangan penelitian digambarkan sebagai berikut: (lihat Gambar 3.1)



Gambar 3.1 Rancangan skematis penelitian

Keterangan:

- S - Sampel
- $K_{(-)}$ = Kelompok kontrol negatif dengan pemberian larutan placebo peroral
- $K_{(+)}$ = Kelompok kontrol positif dengan pemberian larutan placebo peroral selama 10 hari dan parasetamol dosis toksik (tunggal = 2.500 mg/kgBB) pada hari ke-8
- P_1 - Kelompok perlakuan 1 dengan dosis jus buah alpukat sebanyak 0,5 g/kgBB/hari selama 10 hari dan parasetamol dosis toksik (tunggal = 2.500 mg/kgBB) pada hari ke-8
- P_2 = Kelompok perlakuan 2 dengan dosis jus buah alpukat sebanyak 1,5 g/kgBB/hari selama 10 hari dan parasetamol dosis toksik (tunggal = 2.500 mg/kgBB) pada hari ke-8
- P_3 - Kelompok perlakuan 3 dengan dosis jus buah alpukat sebanyak 4,5 g/kgBB/hari selama 10 hari dan parasetamol dosis toksik (tunggal = 2.500 mg/kgBB) pada hari ke-8
- P_a = Parasetamol dengan dosis toksik tunggal 2.500 mg/kgBB pada hari ke-8
- $A_{0,5}$ - Jus buah alpukat dengan dosis 0,5 g/kgBB/hari
- $A_{1,5}$ - Jus buah alpukat dengan dosis 1,5 g/kgBB/hari
- $A_{4,5}$ - Jus buah alpukat dengan dosis 4,5 g/kgBB/hari
- $P_a+A_{0,5}$ = Parasetamol dosis toksik tunggal 2.500 mg/kgBB dan jus buah alpukat dengan dosis 0,5 g/kgBB/hari
- $P_a+A_{1,5}$ - Parasetamol dosis toksik tunggal 2.500 mg/kgBB dan jus buah alpukat dengan dosis 1,5 g/kgBB/hari
- $P_a+A_{4,5}$ = Parasetamol dosis toksik tunggal 2.500 mg/kgBB dan jus buah alpukat dengan dosis 4,5 g/kgBB/hari
- D_1 - Data kelompok kontrol negatif dengan pemberian larutan placebo peroral
- D_2 = Data kelompok kontrol positif dengan pemberian larutan placebo peroral selama 10 hari dan parasetamol dosis toksik (tunggal = 2.500 mg/kgBB) pada hari ke-8

- D₃ = Data kelompok perlakuan 1 dengan dosis jus buah alpukat sebanyak 0,5 g/kgBB/hari selama 10 hari dan parasetamol dosis toksik (tunggal = 2.500 mg/kgBB) pada hari ke-8
- D₄ = Data kelompok perlakuan 2 dengan dosis jus buah alpukat sebanyak 1,5 g/kgBB/hari selama 10 hari dan parasetamol dosis toksik (tunggal = 2.500 mg/kgBB) pada hari ke-8
- D₅ = Data kelompok perlakuan 3 dengan dosis jus buah alpukat sebanyak 4,5 g/kgBB/hari selama 10 hari dan parasetamol dosis toksik (tunggal = 2.500 mg/kgBB) pada hari ke-8

3.3 Besar Sampel

Populasi hewan yang akan digunakan dalam percobaan ini tikus Wistar jantan dengan kondisi sehat, umur 2 bulan dan beratnya seragam yaitu 200-300 gram (lihat Tabel 3.1) (Smith and Mangkoewidjojo, 1998).

Tabel 3.1 One-Way Anova

Power	Average n	Total k	Total N	Alpha	Beta	Std Dev of Means (Sm)	Standard Deviation (S)	Effect Size
0.23359	2.00	5	10	0.05000	0.76641	0.80	1.00	0.8000
0.48009	3.00	5	15	0.05000	0.51991	0.80	1.00	0.8000
0.68528	4.00	5	20	0.05000	0.31472	0.80	1.00	0.8000
0.82531	5.00	5	25	0.05000	0.17469	0.80	1.00	0.8000
0.90950	6.00	5	30	0.05000	0.09050	0.80	1.00	0.8000
0.95569	7.00	5	35	0.05000	0.04431	0.80	1.00	0.8000
0.97931	8.00	5	40	0.05000	0.02069	0.80	1.00	0.8000
0.99072	9.00	5	45	0.05000	0.00928	0.80	1.00	0.8000
0.99598	10.00	5	50	0.05000	0.00402	0.80	1.00	0.8000

n= rata-rata jumlah sampel

k= jumlah kelompok perlakuan

Total N= total jumlah sampel dari seluruh kelompok perlakuan

Berdasarkan tabel di atas didapatkan jumlah minimal tikus yang akan digunakan oleh peneliti sebanyak 6 ekor tikus untuk masing-masing kelompok. Jadi peneliti menggunakan 30 ekor tikus yang dibagi dalam lima kelompok yaitu 2 kelompok kontrol (kontrol negatif dan kontrol positif) dan 3 kelompok perlakuan. Perbedaan ketiga kelompok perlakuan ini adalah dosis jus buah alpukat sebesar 0,5 g/kgBB/hari, 1,5 g/kgBB/hari, dan 4,5 g/kgBB/hari. Namun, ketiganya mendapatkan perlakuan yang sama yaitu diberi parasetamol dosis toksik (tunggal) yaitu 2500 mg/kgBB pada hari ke-8.

(BB) tikus (dalam kg), dan dilarutkan dalam aquadest sampai diperoleh volume 2 ml. Larutan parasetamol ini diberikan pada tikus per oral melalui sonde, dan diberikan dengan dosis tunggal pada hari ke-8 (Perhitungan dosis lihat pada lampiran).

Dosis toksik parasetamol adalah 2000 - 2500 mg/kgBB (dosis tunggal). Pada penelitian ini digunakan dosis parasetamol 2500 mg/kgBB untuk memperoleh dosis toksiknya (Adeneye *et al.*, 2008).

3.6.2 Jus Buah Alpukat

Buah alpukat yang sudah masak ditimbang sebanyak 100 g. Kemudian dihaluskan menggunakan blender dan ditambahkan air sebanyak 100 ml menjadi bentuk jus, lalu disaring menggunakan saringan teh sehingga menghasilkan cairan jus yang lebih halus. Jus buah alpukat diberikan dengan dosis masing-masing 0,5 g/kgBB/hari; 1,5 g/kgBB/hari; dan 4,5 g/kgBB/hari untuk kelompok perlakuan 1, 2, dan 3 (Perhitungan dosis lihat pada lampiran).

Kebutuhan glutathione harian adalah 15 mg/kgBB/hari, glutathione yang terkandung dalam 100 g alpukat adalah 17,7 mg (Dorantes, 2006). Sehingga didapatkan dosis median untuk jus buah alpukat adalah 85 g/kgBB/hari kemudian dikonversi dari manusia ke tikus sehingga didapatkan dosis 1,5 g/kgBB/hari. Ratio yang digunakan dalam penelitian adalah 1:3:9 maka didapatkan dosis masing-masing 0,5 g/kgBB/hari; 1,5 g/kgBB/hari; dan 4,5 g/kgBB/hari untuk kelompok perlakuan 1, 2, dan 3.

3.6.3 Larutan Placebo

Larutan placebo adalah larutan CMC 1%, yang dibuat dengan cara melarutkan 1 gr CMC ke dalam aquadest dalam jumlah tertentu sampai diperoleh volume 100 ml.

3.6.4 Kerusakan Sel Ginjal

Perubahan sel-sel ginjal tikus adalah perubahan seluruh sel-sel ginjal tikus yang diamati secara mikroskopik. Ciri-ciri sel yang mengalami degenerasi adalah

sel-sel agak membengkak dan memperlihatkan sitoplasma yang granuler dan berkabut, mitokondria sedikit membengkak. Ciri-ciri sel yang mengalami nekrosis adalah kromatin tampak lebih gelap dan terkondensasi (piknosis). Membran inti kemudian mengalami ruptur dan kromatin mengalami fragmentasi menjadi agregat kecil yang berpulas gelap (karioreksis). Hilangnya bahan inti menunjukkan kariolisis (Thompson and Cotton, 2002).

Penghitungan luas kerusakan ginjal menggunakan software image-J yang sebelumnya diamati dibawah mikroskop. Kerusakan ginjal ini diamati secara kuantitatif dengan perbesaran seragam, yaitu 400x dan menggunakan 16 lapang pandang. Luas kerusakan ginjal dalam satu lapang pandang dijumlahkan dan kemudian dipresentasikan dengan luas lapang pandang. Hasil dari luas kerusakan dalam 16 lapang pandang dijumlahkan dan dicari rata-ratanya untuk menentukan presentase luas kerusakan ginjal pada satu sampel.

3.6.5. Tikus Wistar Jantan

Tikus Wistar jantan yaitu tikus dari strain Wistar berjenis kelamin jantan relatif lebih kuat dan agar penelitian tidak terganggu oleh kehamilan, dengan rata-rata berat badan 200-300 gram dan umur berkisar 2-3 bulan, karena pada umur ini hewan coba telah matur.

3.6.6 Waktu dan Lama Perlakuan

Perlakuan dilakukan pada saat hewan coba tenang. Lama perlakuan adalah 10 hari agar dapat dilihat efek yang timbul pada ginjal hewan coba terhadap pemberian jus buah alpukat. Pada hari ke-8 diberikan parasetamol dosis toksik (tunggal) dan ditunggu 48 jam untuk melihat efek toksik akutnya yang kemudian semua tikus dibunuh (Handajani, 2008; Gunawan *et al.*, 2009).

3.6.7 Pemeliharaan dan Perlakuan Hewan Coba

Pemeliharaan dan perawatan hewan coba di sebuah kandang berukuran 45 x 30 x 20 cm. Dimana kandang kontrol negatif dan positif masing-masing berisi 6 ekor hewan coba dan kandang perlakuan 1, 2 dan 3 juga masing-masing berisi 6

ekor hewan coba dengan pemberian makanan campuran pelet (komposisi lihat pada lampiran) dan minum berupa air kran pada semua kandang, hanya saja ditambahkan jus buah alpukat masing-masing 0,5 g/kgBB/hari; 1,5 g/kgBB/hari; dan 4,5 g/kgBB/hari untuk kelompok perlakuan 1, 2, dan 3. Kandang berulaskan sekam kering, sekam diganti setiap tiga hari sekali agar kebersihan terjaga.

3.7 Instrumen & Bahan Penelitian

3.7.1 Instrumen Penelitian

Alat untuk pemeliharaan hewan coba:

- Kandang hewan coba berukuran 45x30x20 cm
- Botol minuman hewan coba
- Wadah makanan hewan coba
- Kawat dan kasa penutup kandang
- Sekam untuk alas kandang

Alat untuk perlakuan (sonde lambung tikus untuk memasukkan jus buah alpukat dan parasetamol). Alat untuk pengambilan ginjal hewan coba serta mengamati sediaan histopatologi ginjal hewan coba:

- Mikrotom
- Gunting
- Papan fiksasi
- Jarum pentul
- Pinset
- Scapel
- Objek gelas
- Kaca penutup

3.7.2 Bahan Perlakuan

Parasetamol, jus buah alpukat, CMC 1%, aquadest, larutan eter, dan formalin 10%.

3.7.3 Bahan Pemeriksaan

Bahan yang digunakan dalam penelitian ini adalah organ ginjal tikus yang sudah mendapat perlakuan, alkohol, xylol, paraffin, pewarnaan HIF (Proses pembuatan preparat/sediaan pada lampiran).

3.8 Prosedur Penelitian

Prosedur penelitian yang dipakai merujuk pada penelitian Adeneye *et al.*, 2008.

3.8.1 Adaptasi Hewan Coba

Sebelum penelitian dimulai, tikus diadaptasikan terlebih dahulu selama satu minggu di Laboratorium Biomedik Fakultas Farmasi Universitas Jember. Makanan diberikan dalam jumlah tertentu berdasarkan berat badan, berdasarkan standar laboratorium (10 gram/kgBB). Minuman diberikan secara *ad libitum*.

3.8.2 Perlakuan Hewan Coba

Tikus strain wistar jantan sebanyak 30 ekor yang telah diadaptasikan selama satu minggu dibagi menjadi 5 kelompok, 2 kelompok kontrol dan 3 kelompok perlakuan. Kelompok K_{-1} adalah kelompok kontrol yang diberi placebo berupa larutan CMC 1%. Kelompok K_{-2} adalah kelompok kontrol yang diberi placebo berupa larutan CMC 1% dilanjutkan dengan pemberian larutan parasetamol dosis toksik, kelompok P_1 diberi jus buah alpukat 0,5 g/KgBB/hari, dilanjutkan dengan pemberian larutan parasetamol dosis toksik, kelompok P_2 diberi jus buah alpukat 1,5 g/KgBB/hari, dilanjutkan dengan pemberian larutan parasetamol dosis toksik, sedangkan kelompok P_3 diberi jus buah alpukat 4,5 g/KgBB/hari, dilanjutkan dengan pemberian larutan parasetamol dosis toksik.

Pemberian jus buah alpukat dilakukan per oral dengan menggunakan alat bantu sonde lambung, yang bertujuan mencegah jus buah alpukat dimuntahkan dalam jumlah yang telah ditetapkan. Hal ini dilakukan 1x/hari, setiap hari, selama 10 hari, kecuali pemberian parasetamol yang hanya dilakukan 1x pada hari ke-8 yang juga dilakukan per oral. Berat badan tikus ditimbang 2 kali, sebelum perlakuan dan setelah perlakuan, dengan tujuan menyesuaikan dosis obat dengan

berat badan tikus. Selain itu juga diperhatikan mengenai makanan, yang diberikan sesuai berat badan, dan minumannya, yang diberikan secara *ad libitum*.

3.8.3 Pengambilan Ginjal dan Sediaan Histopatologi Ginjal Hewan Coba

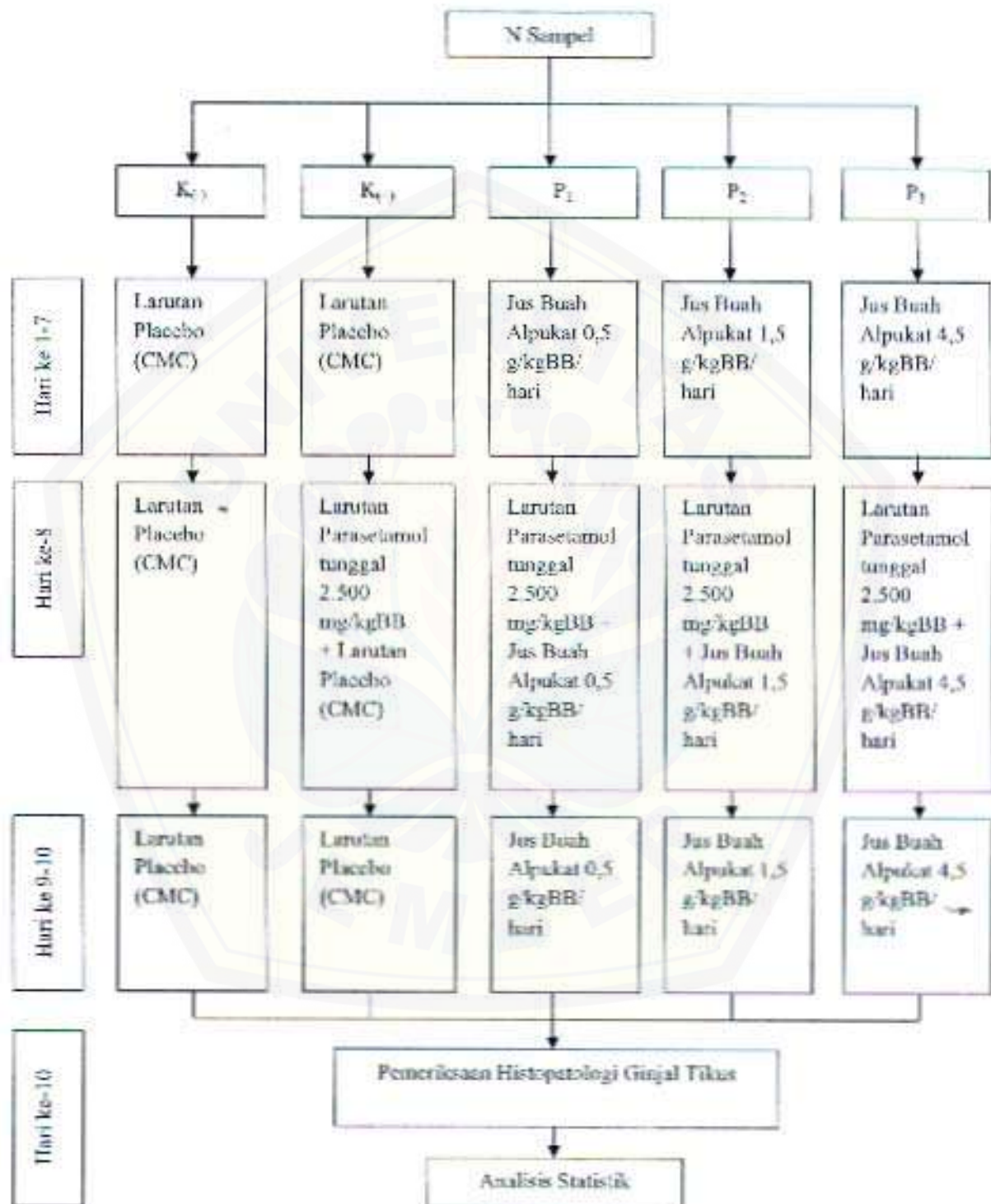
Ditulai dengan pembiusan tikus menggunakan larutan eter. Kemudian pengambilan ginjal hewan coba dengan beralaskan papan fiksasi dan hewan coba difiksasi menggunakan jarum pentul yang ditusukkan pada ujung keempat ekstremitasnya. Setelah itu abdomen hewan coba didiseksi dan ginjalnya diambil. Ginjal diletakkan pada toples yang berisi larutan formalin 10% kemudian tutup toples dengan rapat.

Toples-toples yang telah terisi ginjal hewan coba dibawa ke Laboratorium Patologi Anatomi Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Jember untuk dijadikan sediaan histopatologi.

3.9 Analisis Data Penelitian

Untuk mengetahui perbedaan gambaran histopatologi kelima kelompok digunakan uji *One Way Anova*.

3.10 Alur Penelitian





BAB 5. KESIMPULAN DAN SARAN

5.1 Kesimpulan

Berdasarkan penelitian yang telah dilakukan, dapat disimpulkan sebagai berikut:

- a. Parasetamol dosis toksik dapat menyebabkan kerusakan sel ginjal secara signifikan.
- b. Jus buah alpukat (*Persea americana M.*) memiliki pengaruh protektif terhadap gambaran histopatologi ginjal akibat pemberian parasetamol dosis toksik
- c. Semakin besar dosis jus buah alpukat, efek proteksi yang diberikan semakin besar pula.

5.2 Saran

Dari hasil penelitian yang diperoleh, saran yang dapat diambil adalah sebagai berikut:

Dapat dilakukan penelitian dengan memperbanyak variasi dosis jus buah alpukat yang dipakai dengan dosis yang lebih besar.

DAFTAR PUSTAKA

- Abraham, Premila. 2005. Vitamin C may be Beneficial in the Prevention of Paracetamol-Induced Renal Damage. *Clinical and Experimental Nephrology*. Vol. 9 (1): 24-30.
- Adeneye, Olagunju, Bencho, Eliss, Adisa, Idowu, Oyedeji, Isioyo, Braimoh, Oladejo, and Alana. 2008. Nephroprotective Effects of The Aqueous Root Extract of *Harungana madagascariensis* (L.) in Acute and Repeated Dose Acetaminophen Renal Injured Rats. *International Journal of Applied Research in Natural Products*. Vol. 1 (1): 6-14.
- Almatsier, S. 2001. *Prinsip Dasar Ilmu Gizi*. Jakarta: Gramedia.
- Apriliaji, W. H. 2008. *Alpukat - Cegah Stroke & Bikin Awet Muda*. <http://tubuhsehat.blogdetik.com/2008/09/10/alpukat-cegah-stroke-bikin-awet-muda/> (13 april 2010).
- Arbor, Assays. 2009. *DetectA® Ghitathione Colorimetric Detection Kit*. www.arborassays.com/products/inserts/K006-III.pdf (28 Agustus 2010).
- Arief, S. 2007. *Radikal Bebas* [online]. http://www.klinikmedis.com/index.php/viewarticle&catid=35%3Agcetriatri&id=87%3Aradikalbebas&option=com_content&Itemid=56062242113752-xOzu6 (21 Mei 2010)
- Barrett, B. J. and Parfrey, P. S. 2006. Preventing Nephropathy Induced by Contrast Medium. *N Engl J Med*. Vol. 354: 379-386.
- Berdanier, C., Dwyer, J., and Feldman, E. 2008. *Handbook of Nutrition and Food*. Jakarta : Gramedia.
- Budi, Sutomo. 2006. *Gizi dan Kuliner*. <http://www.gizidankuliner.com> (7 Mei 2010).
- Cambel and Smith. 2000. Renal Function Testing. *American Journal of Kidney Diseases*. Vol. 47 (1): 174-183.

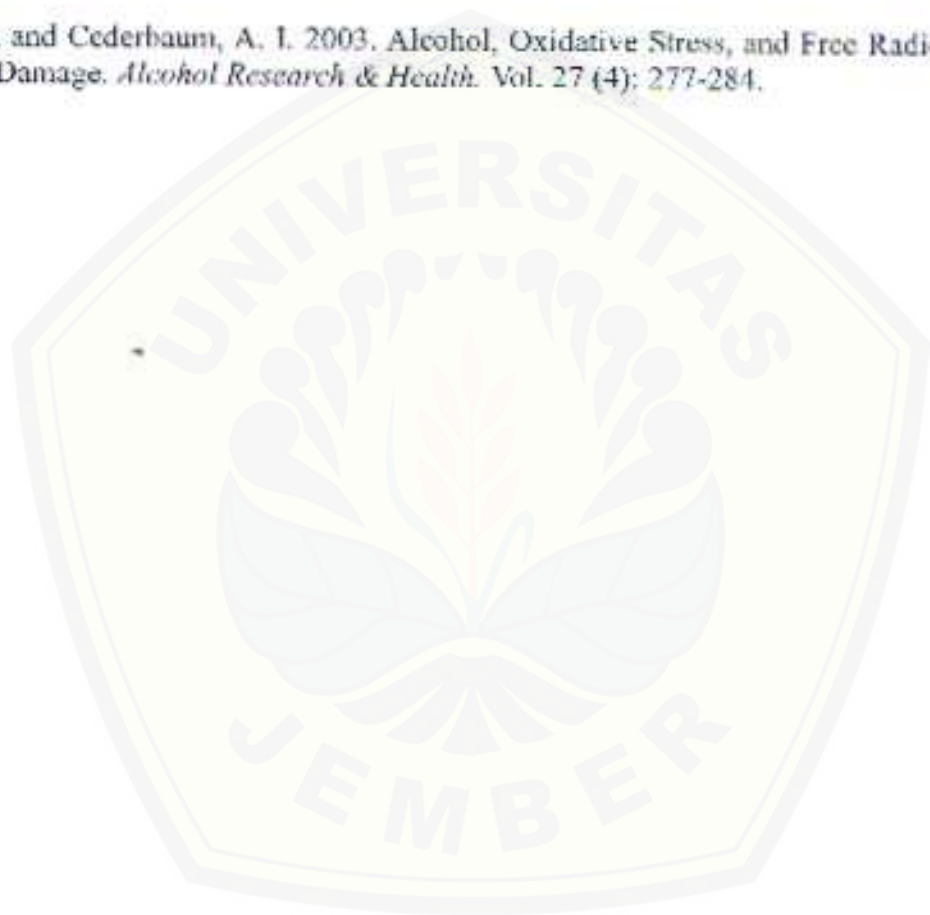
- Cotran, R. S., Kumar, V., and Collins, T. 2000. *Pathologic Basis of Disease. Sixth edition*. Philadelphia:WB Saunders Company.
- Damjanov, I. 2000. *Buku Teks dan Atlas Berwarna Histopatologi*. Jakarta: Widya Medika.
- Dorantes, Lidia, FAO. 2006. *Avocado Post Harvest Operation Chapter*. http://www.fao.org/inpho/content/compend/text/ch30/ch30_01.htm Rome, Italy. (16 April 2010).
- Dorland. 2006. *Kamus Kedokteran Dorland edisi 29*. Jakarta : EGC.
- Droge, W. 2002. *Free Radicals in The Physiological Control of Cell Function*, *Physiol Rev.* 82:47-95,
- Erdiyanto, Ayyub. 2009. "Efek Pemberian Vitamin C dan Vitamin E dalam Menurunkan Enzim Transaminase Tikus Wistar Jantan yang Diberi Stres Fisik." Tidak Diterbitkan. Skripsi. Jember; Fakultas Kedokteran Universitas Jember.
- Farmakologi FKUI. 2007. *Farmakologi dan Terapi, Edisi 5*. Jakarta: Bagian Farmakologi Fakultas Kedokteran Universitas Indonesia.
- Ghosh, A. and Sil, P. C. 2007. Anti-oxidative Effect of a Protein from *Cajanus indicus* L. against Acetaminophen-induced Hepato-nephro Toxicity. *Journal of Biochemistry and Molecular Biology*. Vol. 40 (6): 1039-1049.
- Ginter, E., Bobek, P., and Jurcovicova, M. 2002. Role of Ascorbic Acid in Lipid Metabolism. In: *Ascorbic acid, chemistry, metabolism and uses (Edited by: Seith PA, Toblert, BM)*. Washington, DC: American Chemical Society.
- Goodman, L.S. and Gilman, A. 2007. *Dasar Farmakologi Terapi, Vol. 1*. Jakarta: EGC.
- Gunawan, Setiabudy, Nafrialdi, dan Elysabeth. 2009. *Farmakologi dan Terapi, Edisi 5*. Jakarta: Departemen Farmakologi dan Terapeutik, FK-UI.
- Guyton, Arthur and Hall, John. 2008. *Buku Ajar Fisiologi Kedokteran, edisi 9*. Jakarta :EGC.

- Handajani, F. 2008. *Pengaruh Pemberian Ekstrak Buah Merah (Pandanus conoideus lam) pada Kadur SGPT dan γ -GT Tikus Putih (Rattus novergicus) yang diinduksi parasetamol dosis tinggi*. Surabaya: Faculty of Medical Airlangga University.
- Hariyatni. 2004. *Kemampuan Vitamin E sebagai Antioksidan terhadap Radikal Bebas pada Lanjut Usia*. MIPA UMS. Vol. 14 (1): 52 – 60.
- Harjadi. 2010. *NSAID: Acute Renal Failure and Nephrotic Syndrome*. <http://pedneph.info/NewFiles/NSAID%20-%20Acute%20renal%20failure%20and%20nephrotic%20syndrome.pdf> (25 Juli 2010).
- Heard, K. J. 2008. Acetylcysteine for Acetaminophen Poisoning. *N Engl J Med*, Vol. 359 (3): 285-292.
- Howel and Seed. 2001. "Diagnostic Evaluation of the Patient with Acute Renal Failure". Dalam Schrier, R. W. (Ed.). *Atlas of Diseases of The Kidney Volume 1*. Philadelphia: Current Medicine.
- Jadav, Nimbakar, Kalkumi, and Madhavi. 2000. *Lipid oxidation in biological and food systems*. Food Antioxidant, Marchel Dekker Inc.
- Junqueira, Luiz Carlos and Carneiro, Jose. 2007. *Teks & Atlas Histologi Dasar*. Jakarta : EGC.
- Katzung, B. G. 2006. *Basic And Clinical Pharmacology 10th Edition*. San Fransisco : McGraw Hill.
- Laboratorium Anatomi-Histologi. 2004. *Hand Out Histologi, Paket II*. Surabaya : Fakultas Kedokteran Universitas Airlangga.
- Lautan, J. 1997. *Radikal Bebas pada Eritrosis dan Leukosit*. Cermi Dunia Kedokteran. 116, hlm 49-52.
- Lesson, C. Roland, Leeson, Thomas S., Paparo, Anthony. 2001. *Buku Ajar Histologi, Edisi 5*, Terjemahan oleh dr. Jan Tambajong,dkk., 2004. Jakarta: EGC.

- Linawati, Apriyanto, Susanti, Wijayanti, dan Donatus. 2006. *Efek Hepatoprotektif Rebusan Herba Putri-Mahu (Mimosa Pigra, L.) pada Tikus Terangsang Parasetamol*. Yogyakarta: Fakultas Farmasi Universitas Sanata Dharma Yogyakarta.
- Maulana, A. I. 2010. "Pengaruh Ekstrak Tauge (*Phaseolus Radiatus*) terhadap Kerusakan Sel Ginjal Mencit (*Mus Musculus*) yang Diinduksi Parasetamol.". Surakarta: Fakultas Kedokteran Universitas Sebelas Maret.
- Mazer, M., Pharm, D., and Perrone, Jeanmarie. 2008. *Acetaminophen-Induced Nephrotoxicity : Pathophysiology, Clinical Manifestations, and Management*. Philadelphia: Department of Emergency Medicine, University of Pennsylvania School of Medicine.
- Mohora, Greabu, Muscurel, Dujă, and Totan. 2007. The Sources and the Targets of Oxidative Stress in the Etiology of Diabetic Complications, *J. Biophys.* Vol. 17 (2): 63-84.
- Notoatmodjo, S. 2002. *Metodologi Penelitian Kesehatan*. Jakarta: Rineka Cipta.
- Nutrient Data. 2010. *Nutrition Facts Avocados, Raw, All Commercial Varieties*. <http://www.nutritiondata.com/facts/fruits-and-fruit-juices/1843/2> (31 Juni 2010).
- Pratiknya, A.W. 2003. *Dasar-dasar Metodologi Penelitian Kedokteran dan Kesehatan*. Jakarta : PT.Raja Grafindo Persada.
- Price, S. A. and Wilson, M. L. 2006. *Patofisiologi : Konsep Klinis Proses-Proses Penyakit*. Edisi 6 Volume 2. Jakarta : EGC.
- Prihatman, Kernal. 2000. *Alpukat/Avokad (Persea americana Mill / Persea gratissima Gaertn)*. Jakarta : Kantor Deputi Menegristek Bidang Penduyagunaan dan Pemasyarakatan Ilmu Pengetahuan dan Teknologi.
- Rhon, W. 2002. *Toksikologi Dasar: Atas Organ Sasaran dan Penilaian Resiko*. Edisi Kedua, (206-215). Jakarta: Penerbit UI.
- Robbins, S. L., Kumar, V., and Cotran, R. S. 2007. *Buku Ajar Patologi I, Edisi 4*. Oswari, J (editor). Jakarta: EGC.

- Saito, C., Zwingmann, C., and Jaeschke, H. 2010. Novel Mechanisms of Protection Against Acetaminophen Hepatotoxicity in Mice by Glutathione and N-Acetylcysteine. *Hepatology*. Vol. 51 (1): 246-254.
- Samuel. 2009. *Parasetamol, Tak Seaman yang Dikira*. <http://www.dechicarc.com/Parasetamol-Tak-Seaman-yang-Dikira-1588.html> (22 Mei 2010).
- Setiati, Siti. 2003. *Proses Menuat*, Jakarta : Jurnal Kedokteran & Farmasi Medika No. 6 Tahun XXIX.
- Shah, Priya. 2004. Food Sources That Boost Glutathione Naturally. <http://ezinearticles.com/?Food-Sources-That-Boost-Glutathione-Naturally&id=1177> (30 Mei 2010).
- Shiddiqi, Toumi. 2008. "Pengaruh Minyak Jintan Hitam (*nigella sativa*) terhadap Kerusakan Histologis Ginjal Mencit (*mus musculus*) yang Diinduksi Parasetamol.". Surakarta: Fakultas Kedokteran Universitas Sebelas Maret.
- Sia, J. Y. S. and Chan, Y. C. 2006. Case Report: Paracetamol Poisoning in a 2-year-old child – From International Overview to the Role of the Hong Kong Poison Information Centre. *Hong Kong j. emerg. med.* Vol.13(4): 225-231.
- Silbermagl, Lang. 2007. *Teks&Atlas Berwarna Patofisiologi*. Jakarta : EGC.
- Sloane, Ethel. 2004. *Anatomi dan Fisiologi untuk Pemula*. Jakarta : EGC.
- Smith J. B. and Mangkoewidjojo, S. 1998. *Pemeliharaan, Pembiakan dan Penggunaan Hewan Percobaan di Daerah Tropis*. Jakarta : UI Press.
- Suryohudoyo, P. 2005. *Oxidant and Antioxidant defense in Health and Disease*. Post Graduate Program Airlangga University in Collaboration With Institute Berlin Germany. Surabaya. Hlm 1-17.
- Thompson, A. D. and Cotton, R. E. 2002. *Catatan Kuliah Patologi*. Edisi III. R. F. Maulany. (Penerjemah). Jakarta:EGC.
- Tisher, C.C. and Willecox, C. S. 2002. *Buku Saku Nefrologi, Edisi 3*. Widayanti D, Wulandari.(Penerjemah).Jakarta:EGC.

- Tuhu, P. F. S. 2008. "Efek analgetika Ekstrak Etanol Daun Kayu Putih (*Melaleuca leucolendron L*) pada Mencit Jantan.". Surakarta: Fakultas Farmasi Universitas Muhammadiyah Surakarta.
- Wijaya, A. 1996. Radikal bebas dan Parameter Status Antioksidan. *Forum diagnosticum Lab Klinik Prodia*. 1: 1-12.
- Wu, D., and Cederbaum, A. I. 2003. Alcohol, Oxidative Stress, and Free Radical Damage. *Alcohol Research & Health*. Vol. 27 (4): 277-284.



LAMPIRAN A. PENENTUAN DOSIS PARASETAMOL.

Perhitungan dosis parasetamol berdasarkan berat badan dapat dilihat pada Tabel A.1.

No	Kelompok	Berat Badan (gr)	Parasetamol (mg)
1.	K(-)	238	595
		227	567,5
		205	512,5
		220	550
		225	562,5
		217	542,5
2.	K(+)	235	587,5
		233	582,5
		210	525
		224	560
		226	565
		216	540
3.	P1	237	592,5
		230	575
		200	500
		220	550
		226	565
		218	545
4.	P2	270	675
		230	575
		210	525
		223	557,5
		226	565
		226	565
5.	P3	235	587,5
		230	575
		200	500
		222	555
		225	562,5
		225	562,5

Tabel A.1 Perhitungan dosis parasetamol

Dosis toksik parasetamol= 2000 - 2500 mg/kgBB (dosis tunggal). Pada penelitian ini digunakan dosis parasetamol= 2500 mg/kgBB.

Larutan parasetamol ini diberikan pada tikus per oral dengan sonde lambung satu kali pemberian pada hari ke 8 yaitu: 0,02 gr bubuk CMC + 2500 mg/kgBB bubuk parasetamol + aquadest sampai diperoleh volume 2 ml



LAMPIRAN B. PERHITUNGAN DOSIS JUS BUAH ALPUKAT

Tabel B.1 Konversi perhitungan dosis untuk berbagai jenis (spesies) hewan uji

	Mencit 20 g	Tikus 200 g	Marmot 400 g	Kelinci 1,5 kg	Kucing 2 kg	Kera 4 kg	Anjing 12 kg	Manusia 70 kg
Mencit 20 g	1,0	7,0	12,25	27,8	29,7	64,1	124,2	387,9
Tikus 200 g	0,14	1,0	1,74	3,9	4,2	9,2	17,8	56,0
Marmot 400 g	0,08	0,57	1,0	2,25	2,4	5,2	10,2	31,5
Kelinci 1,5 kg	0,04	0,25	0,44	1,0	1,08	2,4	4,5	14,2
Kucing 2 kg	0,03	0,23	0,41	0,92	1,0	2,2	4,1	13,0
Kera 4 kg	0,016	0,11	0,19	0,42	0,45	1,0	1,9	6,1
Anjing 12 kg	0,008	0,06	0,10	0,22	0,24	0,52	1,0	3,1
Manusia 70 kg	0,0026	0,018	0,031	0,07	0,076	0,16	0,32	1,0

Sumber: Ngatidjan dalam Atmilia (2010).

Dosis glutathion harian = 15 mg/kgBB/hari.

Glutathion alpukat = 17,7 mg/100 gr.

Dosis median jus buah alpukat adalah

$$X = \frac{15 \text{ mg/kgBB/hari} \times 100 \text{ gr}}{17,7 \text{ mg}}$$

$$X = 84,74 \text{ gr/kgBB/hari}$$

$$= 85 \text{ gr/kgBB/hari}$$

Konversi dari manusia (70 kg) ke tikus (200 gr) = $85 \times 0,018 = 1,5 \text{ gr/kgBB/hari}$

Ratio yang digunakan dalam penelitian ini adalah 1 : 3 : 9. Maka, besar dosis pada masing-masing perlakuan adalah

Perlakuan I = 1,5 gr/kgBB/hari : 3

= 0,5 gr/kgBB/hari

Perlakuan II = 1,5 gr/kgBB/hari

Perlakuan III = 1,5 gr/kgBB/hari x 9

= 4,5 gr/kgBB/hari

LAMPIRAN C. KOMPOSISI MAKANAN

Turbo-521-CP

Pakan

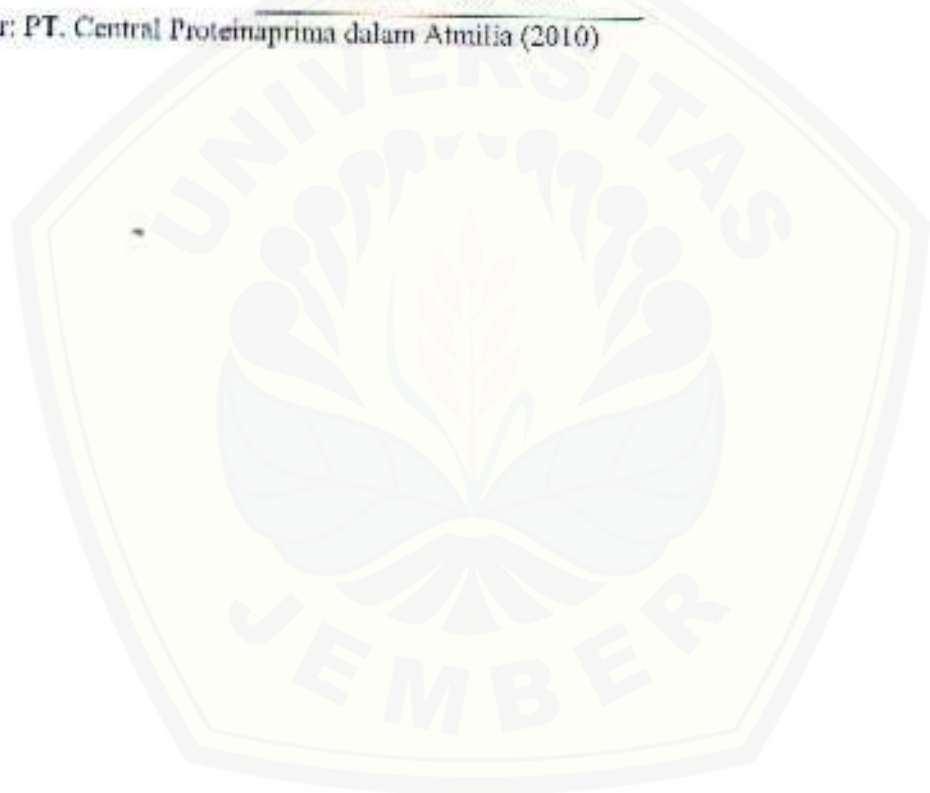
Kadar air : max 12%

Lemak : min 3%

Serat : max 8%

Protein : min 10%

Sumber: PT. Central Proteinaprima dalam Atmilia (2010)



Diambil dari: <https://www.industrydocuments.ucsf.edu/docs/qv17>

Item	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15
1. Bahan	34178	18224	27121	27274	28121	34221	34221	34221	34221	34221	34221	34221	34221	34221	34221
2. Biaya produksi	34221	34221	34221	34221	34221	34221	34221	34221	34221	34221	34221	34221	34221	34221	34221
3. Penjualan	34221	34221	34221	34221	34221	34221	34221	34221	34221	34221	34221	34221	34221	34221	34221
4. Keuntungan	34221	34221	34221	34221	34221	34221	34221	34221	34221	34221	34221	34221	34221	34221	34221

Catatan: ...

Perlakuan 3

Kelompok Perilaku 1

Empire 1

Item	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15
1. Bahan	21121	15211	14211	13211	12211	11211	10211	9211	8211	7211	6211	5211	4211	3211	2211
2. Biaya produksi	21211	15211	14211	13211	12211	11211	10211	9211	8211	7211	6211	5211	4211	3211	2211
3. Penjualan	21211	15211	14211	13211	12211	11211	10211	9211	8211	7211	6211	5211	4211	3211	2211
4. Keuntungan	21211	15211	14211	13211	12211	11211	10211	9211	8211	7211	6211	5211	4211	3211	2211

Catatan: ...

Kelompok Perilaku 2

Empire 2

Item	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15
1. Bahan	21121	15211	14211	13211	12211	11211	10211	9211	8211	7211	6211	5211	4211	3211	2211
2. Biaya produksi	21211	15211	14211	13211	12211	11211	10211	9211	8211	7211	6211	5211	4211	3211	2211
3. Penjualan	21211	15211	14211	13211	12211	11211	10211	9211	8211	7211	6211	5211	4211	3211	2211
4. Keuntungan	21211	15211	14211	13211	12211	11211	10211	9211	8211	7211	6211	5211	4211	3211	2211

Catatan: ...

Kelompok Perilaku 3

Empire 3

Item	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15
1. Bahan	21121	15211	14211	13211	12211	11211	10211	9211	8211	7211	6211	5211	4211	3211	2211
2. Biaya produksi	21211	15211	14211	13211	12211	11211	10211	9211	8211	7211	6211	5211	4211	3211	2211
3. Penjualan	21211	15211	14211	13211	12211	11211	10211	9211	8211	7211	6211	5211	4211	3211	2211
4. Keuntungan	21211	15211	14211	13211	12211	11211	10211	9211	8211	7211	6211	5211	4211	3211	2211

Catatan: ...

LAMPIRAN E. UJI NORMALITAS KERUSAKAN GINJAL

		Tests of Normality					
Kelompok		Kolmogorov-Smirnov ^a			Shapiro-Wilk		
		Statistic	df	Sig.	Statistic	df	Sig.
Kerusakan	K1	.203	6	.200	.981	6	.829
	K2	.181	6	.200	.944	6	.694
	P1	.193	6	.200	.950	6	.737
	P2	.308	6	.078	.860	6	.224
	P3	.178	6	.200	.921	6	.610

a. Lilliefors Significance Correction

*. This is a lower bound of the true significance.

LAMPIRAN F. UJI HOMOGENITAS KERUSAKAN GINJAL**Uji Homogenitas****Test of Homogeneity of Variances**

Kerusakan

Levene Statistic	df1	df2	Sig.
5.359	4	25	.003

Uji Homogenitas Transformasi**Test of Homogeneity of Variances**

tr_kerusakan

Levene Statistic	df1	df2	Sig.
3.009	4	25	.035

LAMPIRAN G. UJI KRUSKAL-WALLIS PADA KERUSAKAN GINJAL

NPar Tests

Kruskal-Wallis Test

Ranks

	Kelompok	N	Mean Rank
Kerusakan	K1	6	3,60
	K2	6	27,17
	P1	6	21,83
	P2	6	14,67
	P3	6	10,33
	Total		30

Test Statistics^{a,b}

	Kerusakan
Chi-Square	26,912
df	4
Asymp. Sig.	,000

a. Kruskal-Wallis Test

b. Grouping Variable: Kelompok

Mann-Whitney Test

K1-K2

Ranks

	Kelompok	N	Mean Rank	Sum of Ranks
Kerusakan	K1	6	3,50	21,00
	K2	6	9,50	57,00
Total		12		

Test Statistics^b

	Kerusakan
Mann-Whitney U	.000
Wilcoxon W	21.000
Z	-2.882
Asymp. Sig. (2-tailed)	.004
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	.002 ^a

Not corrected for ties.

Grouping Variable: Kelompok

1-P1

Ranks

	Kelompok	N	Mean Rank	Sum of Ranks
Kerusakan	K1	6	3.50	21.00
	F1	6	9.50	57.00
Total		12		

Test Statistics^a

	Kerusakan
Mann-Whitney U	.000
Wilcoxon W	21.000
Z	-2.882
Asymp. Sig. (2-tailed)	.004
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	.002 ^a

Not corrected for ties.

Grouping Variable: Kelompok

K1-P2**Ranks**

	Kelompok	N	Mean Rank	Sum of Ranks
Kerusakan	K1	6	3.50	21.00
	P2	6	9.50	57.00
	Total	12		

Test Statistics^a

	Kerusakan
Mann-Whitney U	.000
Wilcoxon W	21.000
Z	-2.887
Asymp. Sig. (2-tailed)	.004
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	.002 ^b

a. Not corrected for ties.

b. Grouping Variable: Kelompok

K1-P3**Ranks**

	Kelompok	N	Mean Rank	Sum of Ranks
Kerusakan	K1	6	3.50	21.00
	P3	6	9.50	57.00
	Total	12		

Test Statistics^a

	Kerusakan
Mann-Whitney U	.000
Wilcoxon W	21.000
Z	-2.882
Asymp. Sig. (2-tailed)	.004
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	.002 ^b

a. Not corrected for ties.

b. Grouping Variable: Kelompok

K2-P1**Ranks**

	Kelompok	N	Mean Rank	Sum of Ranks
Kerusakan	K2	6	9,17	55,00
	P1	6	3,83	23,00
Total		12		

Test Statistics^b

	Kerusakan
Mann-Whitney U	2,000
Wilcoxon W	23,000
Z	-2,502
Asymp. Sig. (2-tailed)	,010
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	,009 ^a

a. Not corrected for ties.

b. Grouping Variable: Kelompok

K2-P2**Ranks**

	Kelompok	N	Mean Rank	Sum of Ranks
Kerusakan	K2	6	9,50	57,00
	P2	6	3,50	21,00
Total		12		

Test Statistics^b

	Kerusakan
Mann-Whitney U	,000
Wilcoxon W	21,000
Z	-2,882
Asymp. Sig. (2-tailed)	,004
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	,002 ^a

a. Not corrected for ties.

b. Grouping Variable: Kelompok

K2-P3

Ranks

Kelompok	N	Mean Rank	Sum of Ranks
Kerusakan K2	6	9.50	57.00
P3	6	3.50	21.00
Total	12		

Test Statistics^a

	Kerusakan
Mann-Whitney U	.000
Wilcoxon W	21.000
Z	-2.882
Asymp. Sig. (2-tailed)	.004
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	.002 ^a

a. Not corrected for ties.

b. Grouping Variable: Kelompok

P1-P2

Ranks

Kelompok	N	Mean Rank	Sum of Ranks
Kerusakan P1	6	9.50	57.00
P2	6	3.50	21.00
Total	12		

Test Statistics^a

	Kerusakan
Mann-Whitney U	.000
Wilcoxon W	21.000
Z	-2.882
Asymp. Sig. (2-tailed)	.004
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	.002 ^a

a. Not corrected for ties.

b. Grouping Variable: Kelompok

P1-P3

Ranks

Kelompok	N	Mean Rank	Sum of Ranks
Kerusakan P1	6	9.50	57.00
P3	6	3.50	21.00
Total	12		

Test Statistics^b

	Kerusakan
Mann-Whitney U	.000
Wilcoxon W	21.000
Z	-2.882
Asymp. Sig. (2-tailed)	.004
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	.002 ^a

a. Not corrected for ties.

b. Grouping Variable: Kelompok

P2-P3

Ranks

Kelompok	N	Mean Rank	Sum of Ranks
Kerusakan P2	6	8.67	52.00
P3	6	4.33	26.00
Total	12		

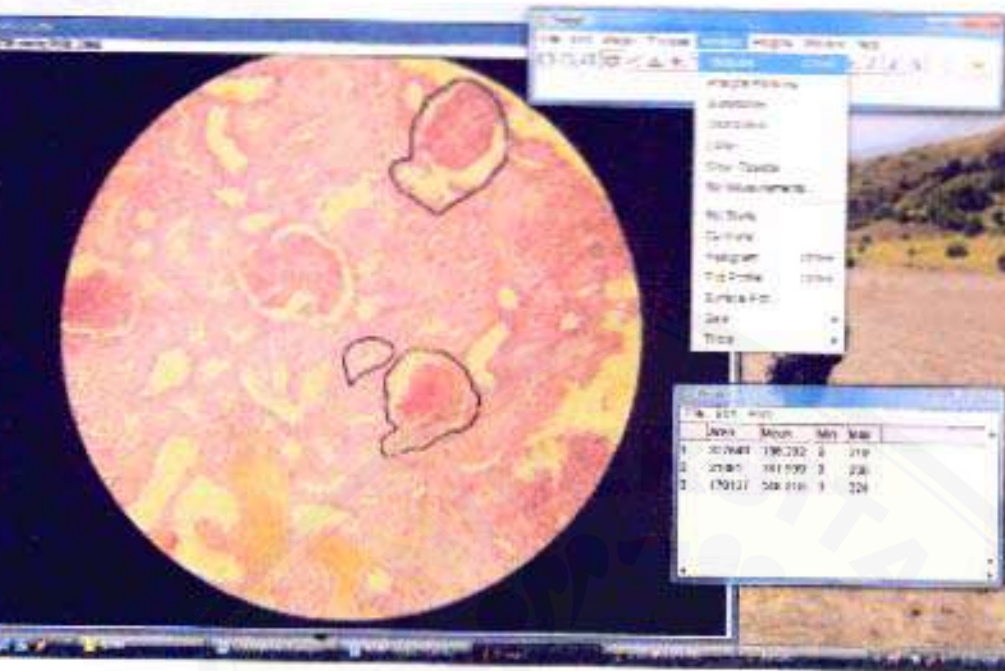
Test Statistics^b

	Kerusakan
Mann-Whitney U	5.000
Wilcoxon W	26.000
Z	-2.082
Asymp. Sig. (2-tailed)	.037
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	.041 ^a

a. Not corrected for ties.

b. Grouping Variable: Kelompok

EMPIRAN H. CARA PENGHITUNGAN KERUSAKAN GINJAL



LAMPIRAN 1. TEKNIK PEMROSESAN JARINGAN DENGAN
PARAFFIN FIXED EMBEDDED DAN
 PENGECAIAN HEMATOKSILIN EOSIN

A1. Teknik pemrosesan jaringan dengan teknik *paraffin fixed embedded*

- Melakukan proses fiksasi, dehidrasi, clearing, dan impregnasi mencelupkan jaringan ke dalam larutan seperti di bawah ini : waktu yang telah ditentukan.

Tabung	Larutan	Waktu	Proses
1	Formalin 70%	12-18 jam	Fiksasi
2	Alkohol 70%	1 jam	Dehidra
3	Alkohol 95%	1 jam	Dehidra
4	Alkohol 95%	2 jam	Dehidra
5	Alkohol 100%	1 jam	Dehidra
6	Alkohol 100%	1 jam	Dehidra
7	Alkohol 100%	1 jam	Dehidra
8	Alkohol 100%	1 jam	Dehidra
9	Xylol	1 jam	Clearing
10	Xylol	1 jam	Clearing
11	Xylol	2 jam	Clearing
12	Parafin (56-58°C)	2 jam	Impreg
13	Parafin (56-58°C)	2 jam	Impreg
14	Parafin (56-58°C)	2 jam	Impreg

2. *Embedding* dan penyayatan jaringan dengan mikrotom

- Alat cetak yang berbentuk logam dengan bentuk silu atas permukaan kaca yang telah diolesi gliserin. Pen ini untuk mempermudah pemisahan alat cetak dari b sudah beku.

- b) Dua tempat parafin cair, yaitu parafin sebagai bahan *embedding* dan parafin sebagai media penyesuaian temperatur jaringan yang akan ditanam, disiapkan dengan temperatur optimum.
- c) Parafin cair pada tempat pertama dituangkan ke dalam alat cetak hingga penuh pada permukaannya, lalu jaringan ditanam pada posisi yang sesuai dengan permukaan jaringan yang menempel pada kaca dan diusahakan rata.
- d) Alat cetak dilepas bila parafin sudah cukup keras lalu blok jaringan diberi label dan siap disayat.
- e) Blok parafin tadi ditempelkan pada alat pemegangnya yang berupa lempengan logam yang sudah dipanasi. Perhatikan sisi blok mana yang akan dipotong kemudian didinginkan pada suhu kamar agar melekat erat.
- f) Pisau mikrotom dipegang pada pegangan mikrotom dan membentuk sudut 5-10°. Pisau harus selalu tajam dan permukaannya rata.
- g) *Waterbath* disiapkan dengan mengatur suhu air di bawah titik leleh parafin (4-48°C)
- h) Blok yang sudah menempel pada pemegangnya dipasang pada mikrotom dan siap dilakukan pemotongan tipis dengan ketebalan yang dikehendaki, umumnya 4-8 mikron.
- i) Hasil pemotongan berupa pita tipis denganhati-hati dipindahkan ke dalam *waterbath* agar sayatan jaringan mengembang dengan baik.
- j) Sayatan diseleksi dan dipindahkan ke atas kaca obyek yang telah diolesi mayer albumin (putih telur) atau polisin sebagai bahan perekatnya dan sudah diberi label pada blok.

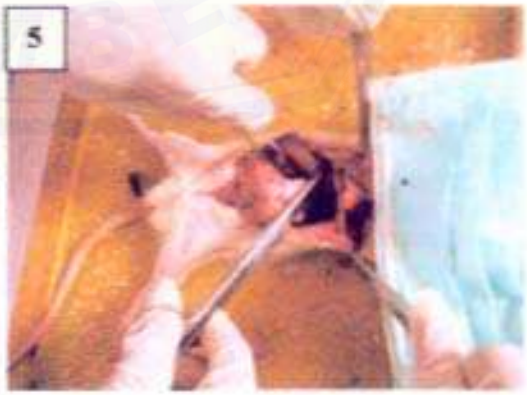
Sediaan dibiarkan kering dan dimasukkan ke dalam oven dengan suhu optimum (58-60°C) selama 30 menit, dan sediaan siap dicat.

A.2. Teknik pengecatan Hematoksilin Eosin

1. Sediaan dicelup dalam larutan xylol bak I selama 2 menit.
2. Pindahkan dalam larutan xylol II selama 2 menit.

3. Dalam alkohol absolut 2 bak, bak I dan bak II, masing-masing 1 menit.
4. Dalam alkohol 95% 2 bak, bak I dan bak II, masing- masing 1 menit.
5. Cuci dalam air mengalir selama 10 menit
6. Masukkan dalam larutan mayer hematoksilin selama 15 menit.
7. Cuci kembali dengan air.
8. Masukkan ke dalam eosin antara 15 detik sampai 2 menit.
9. Masukkan dalam alkohol 95% 2 bak, bak I dan bak II, masing- masing 1 menit.
10. Dalam alkohol absolut 3 bak, bak , bak II dan bak III, masing- masing 2 menit.
11. Terakhir, dalam xylol bak I, bak II dan bak III, masing-masing 2 menit.
12. *Mounting.*

LAMPIRAN J. FOTO-FOTO PENELITIAN



6



7



Keterangan :

1. Proses pembuatan larutan parasetamol
2. Tikus Wistar Jantan™
3. Pembiusan Pada Tikus
4. Proses penyondcan tikus
5. Proses pengambilan organ ginjal
6. Organ ginjal dan hati tikus
7. Alat-alat penelitian

