



**EFEK PEMBERIAN TEPUNG KEDELAI (*Glycine max* (L.) Merr.)
SEBAGAI NEFROPROTEKTOR TERHADAP GAMBARAN
HISTOPATOLOGI GINJAL TIKUS WISTAR JANTAN
YANG DIINDUKSI DIAZINON**

SKRIPSI

Oleh
Tegar Syaiful Qodar
152010101049

**FAKULTAS KEDOKTERAN
UNIVERSITAS JEMBER**

2018



**EFEK PEMBERIAN TEPUNG KEDELAI (*Glycine max* (L.) Merr.)
SEBAGAI NEFROPROTEKTOR TERHADAP GAMBARAN
HISTOPATOLOGI GINJAL TIKUS WISTAR JANTAN
YANG DIINDUKSI DIAZINON**

SKRIPSI

diajukan guna melengkapi tugas akhir dan memenuhi salah satu syarat
untuk menyelesaikan Program Studi Pendidikan Dokter (S1)
dan mencapai gelar Sarjana Kedokteran

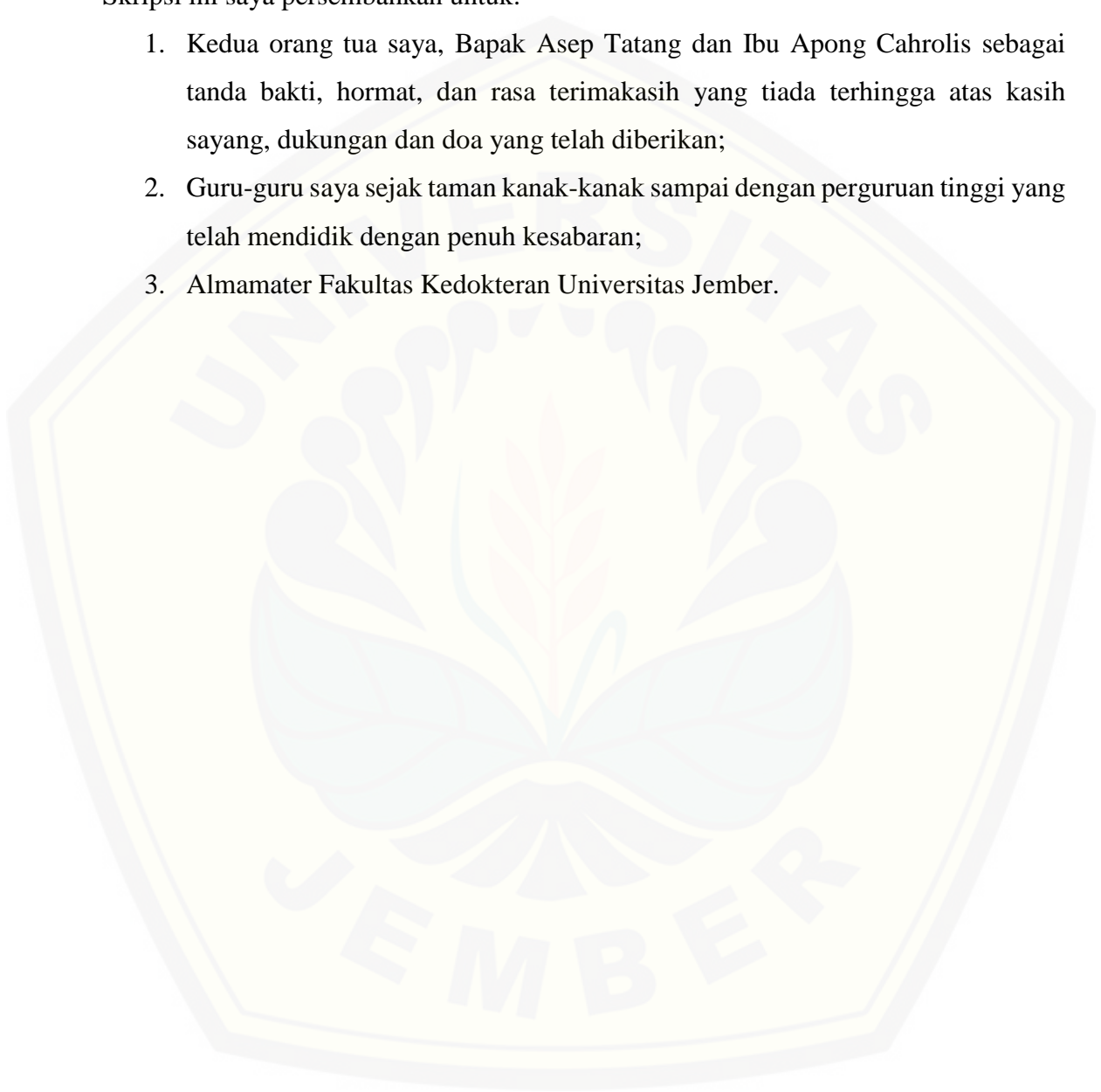
Oleh
Tegar Syaiful Qodar
152010101049

FAKULTAS KEDOKTERAN
UNIVERSITAS JEMBER
2018

PERSEMBAHAN

Skripsi ini saya persembahkan untuk:

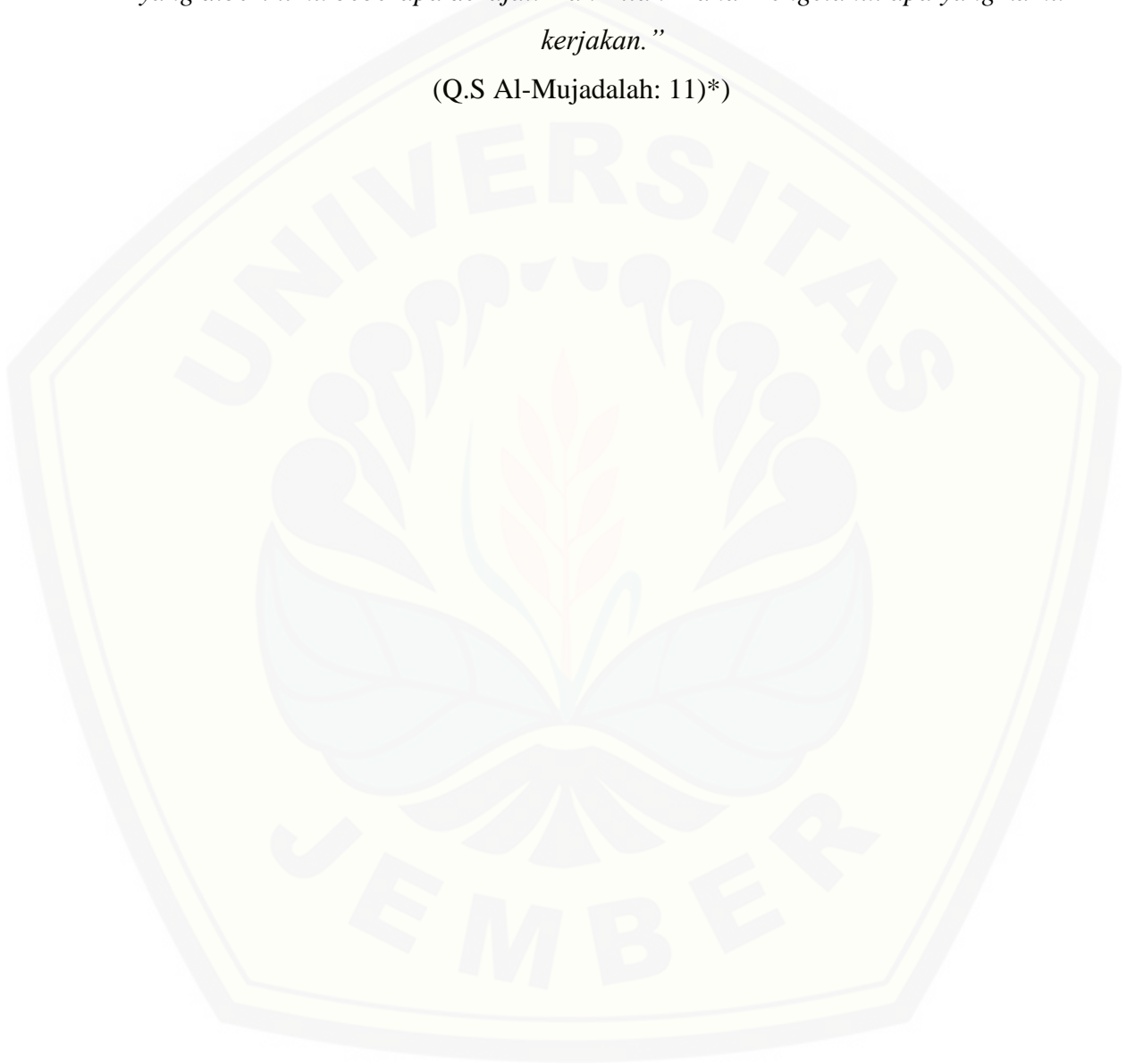
1. Kedua orang tua saya, Bapak Asep Tatang dan Ibu Apong Cahrolis sebagai tanda bakti, hormat, dan rasa terimakasih yang tiada terhingga atas kasih sayang, dukungan dan doa yang telah diberikan;
2. Guru-guru saya sejak taman kanak-kanak sampai dengan perguruan tinggi yang telah mendidik dengan penuh kesabaran;
3. Almamater Fakultas Kedokteran Universitas Jember.



MOTO

“...Allah akan meninggikan orang-orang yang beriman di antaramu dan orang-orang yang diberi ilmu beberapa derajat. Dan Allah Maha Mengetahui apa yang kamu kerjakan.”

(Q.S Al-Mujadalah: 11)*



*) Departemen Agama Republik Indonesia. 2006. Al-Qur'an dan Terjemahannya. CV. Pustaka Agung Harapan

PERNYATAAN

Saya yang bertanda tangan di bawah ini:

Nama : Tegar Syaiful Qodar

NIM : 152010101049

Menyatakan dengan sesungguhnya bahwa karya ilmiah saya yang berjudul “Efek Pemberian Tepung Kedelai (*Glycine Max* (L.) Merr.) sebagai Nefroprotektor terhadap Gambaran Histopatologi Ginjal Tikus Wistar Jantan yang Diinduksi Diazinon” 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 ada tekanan dan paksaan dari pihak mana pun serta bersedia mendapat sanksi akademik jika ternyata pernyataan ini tidak benar.

Jember, 28 Desember 2018

Yang menyatakan,

Tegar Syaiful Qodar
NIM 152010101049

SKRIPSI

**EFEK PEMBERIAN TEPUNG KEDELAI (*Glycine max* (L.) Merr.)
SEBAGAI NEFROPROTEKTOR TERHADAP GAMBARAN
HISTOPATOLOGI GINJAL TIKUS WISTAR JANTAN
YANG DIINDUKSI DIAZINON**

Oleh
Tegar Syaiful Qodar
NIM 152010101049

Pembimbing:

Dosen Pembimbing I : dr. Desie Dwi Wisudanti, M.Biomed.

Dosen Pembimbing II : dr. Ayu Munawaroh Aziz, M.Biomed.

PENGESAHAN

Skripsi berjudul “Efek Pemberian Tepung Kedelai (*Glycine Max* (L.) Merr.) sebagai Nefroprotektor terhadap Gambaran Histopatologi Ginjal Tikus Wistar Jantan yang Diinduksi Diazinon” ini telah diuji dan disahkan oleh Fakultas Kedokteran Universitas Jember pada:

Hari , Tanggal : Jumat, 28 Desember 2018

Tempat : Fakultas Kedokteran Universitas Jember

Tim Penguji :

Ketua,

Anggota I,

dr. Rena Normasari, M.Biomed.

dr. Pipiet Wulandari, Sp. JP.

NIP 198305122008122002

NIP 198207202008012013

Anggota II,

Anggota III,

dr. Desie Dwi Wisudanti, M.Biomed.

dr. Ayu Munawaroh Aziz, M.Biomed.

NIP 198212112008122002

NIP 198903132014042002

Mengesahkan,

Dekan Fakultas Kedokteran Universitas Jember

dr. Supangat, M.Kes, Ph. D., Sp. BA.

NIP 197304241999031002

RINGKASAN

Efek Pemberian Tepung Kedelai (*Glycine max* (L.) Merr.) sebagai Nefroprotektor terhadap Gambaran Histopatologi Ginjal Tikus Wistar Jantan yang Diinduksi Diazinon; Tegar Syaiful Qodar, 152010101049; 2018; 100 halaman; Program Studi Pendidikan Dokter Fakultas Kedokteran Universitas Jember.

Diazinon adalah insektisida jenis organofosfat yang cara kerjanya dengan menghambat enzim *asetilkolinestrase*. Diazinon sangat berpotensi membahayakan kesehatan manusia dikarenakan sifatnya yang sangat mudah diabsorpsi oleh tubuh. Selain itu, sifat lipofilik dari diazinon sangat mempermudah interaksi diazinon dengan membran sel dan menyebabkan gangguan pada sebagian besar organ visceral manusia, terutama ginjal dikarenakan diazinon akan dibuang lewat sistem empedu dan urin. Diazinon ketika masuk ke dalam tubuh akan dimetabolisme di hati dan berubah menjadi diazoxon yang memiliki sifat prooksidan sebagai bentuk metabolit aktif. Sebagai zat yang memiliki sifat prooksidan, diazoxon akan memicu peningkatan jumlah radikal bebas, serta aktifitas antioksidan alami dalam tubuh manusia terutama SOD, *Catalase*, dan GSH. Peningkatan jumlah ROS, RNS, dan penurunan jumlah antioksidan alami akan menyebabkan sel-sel dalam tubuh manusia rusak. Maka dari itu dibutuhkan suatu nefroprotektor untuk mencegah kerusakan yang lebih parah.

Kacang kedelai (*Glycine max* (L.) Merr.) dipilih sebagai solusi menghadapi masalah tersebut dikarenakan kandungan nutrisi di dalamnya mengandung antioksidan yang mampu bertindak sebagai nefroprotektor. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui efek nefroprotektor kacang kedelai (*Glycine max* (L.) Merr.) terhadap gambaran histopatologi ginjal tikus wistar jantan yang diinduksi diazinon.

Jenis penelitian ini merupakan *true experimental* dengan rancangan *post test only control group design*. Metode pengambilan sampel yang digunakan yaitu *simple random sampling* dengan jumlah sampel ditentukan menggunakan rumus Federer. Hewan coba penelitian ini menggunakan tikus wistar jantan (*Rattus norvegicus*) yang

dikelompokkan menjadi 5 kelompok secara acak. Kelompok-kelompok tersebut adalah kelompok kontrol normal yang hanya diberi normal salin saja selama 28 hari, kelompok kontrol negatif yang diberi normal salin selama 28 hari, kemudian dilanjutkan dengan pemberian diazinon yang sudah dilarutkan dengan *corn oil* dengan dosis 40 mg/kgBB selama 5 hari, serta 3 kelompok perlakuan yang diberi tepung kedelai yang dilarutkan dalam air dengan dosis 1 g/ 10 mL, 1,5 g/ 10 mL, dan 2 g/ 10 mL selama 28 hari, kemudian dilanjutkan dengan pemberian diazinon 40 mg/kgBB selama 5 hari. Pemberian diazinon maupun tepung kedelai dilakukan per oral menggunakan sonde lambung. Pada akhir penelitian tikus dikorbankan dengan cara dibius menggunakan eter dan diambil seluruh organ ginjalnya. Selanjutnya dilakukan pembuatan preparat histologi dari organ ginjal tersebut dengan pewarnaan HE, kemudian diperiksa menggunakan mikroskop cahaya dengan perbesaran 400x. Data yang didapat berupa nilai skoring histopatologi ginjal dalam bentuk data ordinal, selanjutnya data dikonversi ke dalam bentuk data interval menggunakan *method of successive interval* (MSI). Setelah data dikonversi, rata-rata skoring histopatologi ginjal dan standar deviasi tiap kelompok ialah kontrol normal (K1) $2,427 \pm 0,191$; kontrol negatif (K2) $4,272 \pm 0,221$; kelompok perlakuan 1 (K3) $3,468 \pm 0,318$; kelompok perlakuan 2 (K4) $3,227 \pm 0,271$; kelompok perlakuan 3 (K5) $2,875 \pm 0,211$. Hasil skoring histopatologi ginjal selanjutnya dilakukan analisis data menggunakan *One Way ANOVA* dan dilanjutkan uji *Post Hoc Tukey HSD*. Hasil uji *One Way ANOVA* menunjukkan adanya perbedaan yang signifikan minimal pada dua kelompok yang dibandingkan ($p < 0,05$). Hasil uji *Post hoc Tukey HSD* menunjukkan bahwa kelompok yang mendapatkan dosis tepung kedelai paling tinggi (2 g/ 10 mL) memiliki gambaran histopatologi yang mendekati dengan gambaran histopatologi kelompok kontrol normal, dibuktikan dengan tidak adanya perbedaan yang signifikan dalam uji *pos hoc Tukey HSD* ($p=0,064$). Melalui kedua uji analisis data yang dilakukan pada penelitian ini, dapat disimpulkan bahwa tepung kedelai (*Glycine max* (L.) merr.) dapat mencegah terjadinya kerusakan pada ginjal tikus yang diinduksi diazinon ditinjau dari gambaran histopatologi.

PRAKATA

Puji syukur ke hadirat Allah SWT atas segala rahmat dan karunia-Nya sehingga penulis dapat menyelesaikan skripsi yang berjudul “Efek Pemberian Tepung Kedelai (*Glycine Max* (L.) Merr.) sebagai Nefroprotektor terhadap Gambaran Histopatologi Ginjal Tikus Wistar Jantan yang Diinduksi Diazinon”. Skripsi ini disusun untuk memenuhi salah satu syarat menyelesaikan pendidikan strata satu (S1) pada Fakultas Kedokteran Universitas Jember.

Penyusunan skripsi ini tidak lepas dari bantuan berbagai pihak. Oleh karena itu, penulis menyampaikan terima kasih kepada:

1. dr. Supangat, M.Kes, Ph. D., Sp. BA. selaku Dekan Fakultas Kedokteran Universitas Jember dan mentor teladan di lingkungan Fakultas Kedokteran Universitas Jember;
2. dr. Desie Dwi Wisudanti, M.Biomed. selaku Dosen Pembimbing Utama dan dr. Ayu Munawaroh Aziz, M.Biomed. selaku Dosen Pembimbing Anggota yang telah meluangkan waktu, pikiran, tenaga, dan perhatiannya dalam penulisan tugas akhir ini;
3. dr. Rena Normasari, M.Biomed. dan dr. Pipiet Wulandari, Sp. JP. sebagai dosen penguji yang banyak memberikan kritik, saran, dan masukan yang membangun dalam penulisan skripsi ini;
4. Bapak Asep Tatang dan Ibu Apong Cahrolis, orang tua tercinta terimakasih atas semua bantuan moril dan materiil yang telah diberikan serta doa dan kasih sayang yang tak terbatas kepada penulis;
5. Dwi Lista Ligarsari, adik perempuan tercinta yang selalu memberikan semangat kepada penulis;
6. Mbak Nuris selaku analis Laboratorium Biokimia, Mbak Lilik selaku analis Laboratorium Farmakologi, dan Mas Agus yang telah memberikan bantuan dalam penelitian ini;

7. Rekan-rekan kerja saya, Mbak Verantika Indra Susetiyo, Toyyibatul Hidayati, Firman Herdiana, dan Mbak Sofi Aliyatul H. yang telah membantu dan selalu memberikan dorongan serta semangat selama penelitian;
8. Sahabat-sahabat saya Firman Herdiana, Mizan Maulana, Eko Dakhola F., M. Fikri Udin, Nizar Fiska Bayu A., dan M. Rosyid Ridho, yang telah memberikan semangat untuk cepat menyelesaikan penelitian ini;
9. Keluarga Ashaabul Jannah yang saya cintai karena Allah SWT;
10. Keluarga besar “Coccyx” angkatan 2015 tercinta yang telah berjuang bersama-sama demi sebuah gelar Sarjana Kedokteran;
11. Keluarga besar Badan Perwakilan Mahasiswa dan *Islamic Medical Student Association* Fakultas Kedokteran Universitas Jember;
12. Almamater Fakultas Kedokteran Universitas Jember;
13. Semua pihak yang tidak bisa saya sebutkan satu per satu.

Penulis mengaharap kritik dan saran yang membangun dari semua pihak demi kesempurnaan karya tulis ilmiah ini. Semoga karya tulis ini dapat bermanfaat.

Jember, 28 Desember 2018

Penulis

DAFTAR ISI

	Halaman
HALAMAN SAMPUL	i
HALAMAN JUDUL	ii
HALAMAN PERSEMBAHAN	iii
HALAMAN MOTO	iv
HALAMAN PERNYATAAN	v
HALAMAN PEMBIMBINGAN	vi
HALAMAN 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	4
1.3 Tujuan	4
1.4 Manfaat Penelitian	4
1.4.1 Manfaat Teoritis	4
1.4.2 Manfaat Praktis	4
BAB 2. TINJAUAN PUSTAKA	5
2.1 Diazinon	5
2.1.1 Definisi	5
2.1.2 Sifat Fisik dan Kimia.....	5
2.1.3 Patomekanisme Nefrotoksisitas Diazinon.....	6
2.1.4 Manifestasi Kerusakan pada Ginjal secara Mikroskopis	9

2.2 Ginjal	10
2.2.1 Anatomi dan Fisiologi Ginjal	10
2.2.2 Histologi Ginjal	11
2.3 Kacang Kedelai	14
2.3.1 Definisi	14
2.3.2 Kandungan	15
2.3.3 Antioksidan pada Kedelai	16
2.4 Tepung Kedelai	18
2.4.1 Definisi	18
2.4.2 Kandungan	18
2.5 Pemeriksaan Histopatologi	20
2.5.1 Histopatologi Ginjal	20
2.5.2 Skoring Histopatologi Ginjal	24
2.6 Kerangka Teori	29
2.7 Kerangka Konsep	31
2.8 Hipotesis Penelitian	31
BAB 3. METODE PENELITIAN	32
3.1 Jenis Penelitian	32
3.2 Rancangan Penelitian	32
3.3 Populasi dan Sampel Penelitian	33
3.3.1 Populasi	33
3.3.2 Sampel	33
3.4 Tempat dan Waktu Penelitian	34
3.5 Variabel Penelitian	34
3.5.1 Variabel Bebas	34
3.5.2 Variabel Terikat.....	34
3.5.3 Variabel Terkendali.....	35
3.6 Definisi Operasional	35
3.6.1 Tepung Kedelai	35

3.6.2 Diazinon	35
3.6.3 Gambaran Histopatologi Ginjal	36
3.7 Alat dan Bahan Penelitian	36
3.7.1 Alat Penelitian	36
3.7.2 Bahan Penelitian.....	37
3.8 Prosedur Penelitian	37
3.8.1. Uji Kelayakan Etik	37
3.8.2. Perawatan Hewan Coba	37
3.8.3. Pembuatan Tepung Kedelai	38
3.8.4. Pemberian Tepung Kedelai	40
3.8.5. Penginduksian Diazinon.....	40
3.8.6. Pembuatan Preparat Histopatologi Ginjal	40
3.8.7. Pengamatan Preparat Histopatologi Ginjal	41
3.9 Analisis Data	42
3.10 Alur Penelitian.....	43
BAB 4. HASIL DAN PEMBAHASAN	44
4.1 Hasil Penelitian.....	44
4.1.1 Skoring Histopatologi Ginjal	44
4.2 Pembahasan	48
BAB 5. KESIMPULAN DAN SARAN	53
5.1 Kesimpulan	53
5.2 Saran.....	53
DAFTAR PUSTAKA	54
LAMPIRAN.....	65

DAFTAR TABEL

	Halaman
2.1 Kandungan gizi 100 g kacang kedelai.	16
2.2 Kandungan kimia tepung kedelai.....	18
2.3 Perbandingan aktivitas antioksidan dalam kacang kedelai dan produk turunannya.....	19
2.4 Kandungan isoflavon dalam tepung kedelai.....	19
2.5 Skoring histopatologi ginjal Anggraini	25
2.6 Skoring histopatologi Suhita <i>et al.</i>	26
2.7 Persentase rasio ginjal abnormal Venient <i>et al.</i>	27
3.1 Skoring histopatologi Anggraini	36
3.2 Pembagian kelompok tikus	38
4.1 Tabel rata-rata hasil konversi skoring histopatologi ginjal tikus.	46
4.2 Hasil uji normalitas (<i>Shapiro Wilk</i>).....	47
4.3 Hasil uji homogenitas (<i>Lavene</i>).....	47
4.4 Hasil uji komparasi (<i>One Way ANOVA</i>).....	47
4.5 Hasil uji <i>post hoc Tukey HSD</i>	48

DAFTAR GAMBAR

	Halaman
2.1 Struktur kimia diazinon.....	5
2.2 Pembentukan NO dalam sel endotel.....	7
2.3 Metabolisme GSNO.....	8
2.4 Posisi ginjal dalam tubuh manusia.....	10
2.5 Nefron dan tubulus <i>collectivus</i>	12
2.6 Histologi ginjal.....	12
2.7 Kacang kedelai.....	14
2.8 Pelebaran lumen tubulus dan akumulasi sel debris.....	20
2.9 Vakuolisasi tubulus ginjal.....	21
2.10 Pelebaran ruang Bowman.....	21
2.11 Degenerasi tubulus ginjal.....	22
2.12 Hiperplasia tubulus atipikal.....	23
2.13 Kariomegali.....	23
2.14 Badan inklusi dalam epitel tubulus ginjal.....	24
2.15 Kerangka teori.....	29
2.16 Kerangka konsep.....	31
3.1 Skema rancangan penelitian.....	32
3.2 Skema pembuatan tepung kedelai.....	39
3.3 Skema perlakuan terhadap hewan coba.....	43
4.1 Gambaran histopatologi ginjal tikus kelompok K1, K2, K3, K4, dan K5 dengan perbesaran 400x.....	45

DAFTAR LAMPIRAN

3.1	Tabel daftar volume maksimal larutan sediaan uji yang dapat diberikan pada berbagai hewan uji.....	64
3.2	Tabel perhitungan konversi dosis untuk berbagai jenis hewan uji.....	65
3.3	Tabel dosis diazinon.....	66
3.4	Analisis kacang kedelai.....	67
3.5	Etik penelitian.....	69
3.6	Rekomendasi bebas plagiasi.....	71
4.1	Skoring histopatolgi ginjal tikus orang ke-1.....	72
4.2	Skoring histopatologi ginjal tikus orang ke-2.....	75
4.3	Tabel rata-rata per individu skoring histopatologi ginjal tikus orang ke-1 dan orang ke-2 hasil konversi.....	78
4.4	Analisis data statistik.....	79
4.5	Dokumentasi penelitian.....	82

BAB 1. PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

Kabupaten Jember merupakan salah satu wilayah di provinsi Jawa Timur yang memiliki potensi tinggi akan hasil alamnya, oleh karena itu bercocok tanam merupakan salah satu mata pencaharian utama bagi masyarakat Kabupaten Jember. Seiring dengan perkembangan zaman permasalahan mulai muncul ditandai dengan menurunnya jumlah rumah tangga usaha pertanian yang semula berjumlah 464.275 rumah tangga pada tahun 2003 menjadi 325.062 rumah tangga pada tahun 2013, sedangkan pertumbuhan populasi manusia di Kabupaten Jember setiap tahun terus mengalami peningkatan (Badan Pusat Statistik Kab. Jember, 2013). Peningkatan jumlah populasi manusia diiringi dengan penurunan jumlah petani menyebabkan permintaan pasar akan kebutuhan pangan yang berasal dari lahan pertanian semakin meningkat. Hal ini terlihat bahwa pada tahun 1950 konsumsi beras nasional berada pada angka 53%, sedangkan pada tahun 2012 naik menjadi 95% (Ainurrahman, 2015). Penggunaan pestisida menjadi salah satu pilihan petani untuk meningkatkan produktivitas mereka dalam menghadapi permintaan pasar yang semakin meningkat (Suharyanto *et al.*, 2015).

Penggunaan pestisida tidak bisa lepas dari risiko terjadinya keracunan, terutama kepada para petani yang kontak langsung dengan pestisida. Susilowati *et al.* (2017) menyimpulkan bahwa, terdapat hubungan yang erat antara kadar serum *cholinesterase* dalam tubuh petani penyemprot dengan pengetahuan petani yang kurang mengenai pestisida dan perilaku merokok selama melakukan penyemprotan. Hal ini menunjukkan minimnya pengetahuan petani terhadap pestisida yang mereka gunakan, serta ketidakpatuhan para petani terhadap aturan ketika menggunakan pestisida akan meningkatkan risiko terjadinya keracunan. Menurut data yang dikeluarkan oleh Badan Pengawas Obat dan Makanan (BPOM), kasus keracunan pestisida di Indonesia yang terjadi pada tahun 2016 sebanyak 771 kasus. Berdasarkan penelitian yang dilakukan oleh Linn *et al.* (2008) bahwa di Taiwan terdapat 4799 kasus keracunan pestisida jenis organofosfat mulai Juli 1985 sampai Desember 2006. Kasus keracunan pestisida tertinggi terjadi di negara-negara

berkembang, hal ini disebabkan karena masih rendahnya tingkat kesadaran para petani untuk menggunakan alat pelindung diri (APD) ketika bekerja (Damalas dan Abdollahzadeh, 2016).

Pestisida yang sering digunakan di Indonesia ialah jenis organofosfat (Raini, 2007). Penggunaan pestisida jenis organofosfat di Kabupaten Jember masih tergolong banyak. Hal ini didukung oleh data penelitian yang dilakukan oleh Aribowo *et al.* (2016) yang menyatakan bahwa, di Desa Umbulsari, Kecamatan Umbulsari, Kabupaten Jember ditemukan 73 dari 88 petani jeruk melakukan perawatan tanaman jeruk menggunakan diazinon. Diazinon adalah insektisida jenis organofosfat yang cara kerjanya menghambat enzim asetilkolinestrase (AchE). Tanpa adanya enzim AchE, asetilkolin (Ach) akan menumpuk di dalam celah sinaps yang dapat menyebabkan inkoordinasi, konvulsi, dan kematian pada hama serangga (Li *et al.*, 2002). *United States Environmental Protection Agency* (US EPA) menggolongkan diazinon bukan hanya sebagai insektisida saja, tetapi juga sebagai akarisisida dan nematisida. Namun sejak tahun 2002 dan 2004 penggunaan diazinon telah dilarang oleh US EPA, karena dapat membahayakan kesehatan manusia. Diazinon sangat berpotensi membahayakan kesehatan manusia disebabkan oleh sifat lipofilik dari diazinon menjadikannya sangat mudah diabsorpsi oleh tubuh baik melalui kulit, saluran nafas, dan saluran pencernaan. Setelah masuk ke dalam tubuh, diazinon akan berinteraksi dengan membran sel dan menyebabkan gangguan pada sebagian besar organ viseral (Videria *et al.*, 2001). Selain itu penyerapan diazinon oleh kulit dan usus akan meningkat bila dilarutkan dalam pelarut lemak, selanjutnya diazinon akan disimpan dalam jaringan lemak dan sisanya dibuang lewat sistem empedu dan urin (Singh dan Hundal, 2016).

Menurut Altuntas *et al.* (2004) diazinon tidak hanya memiliki efek neurotoksik saja, tetapi juga dapat merusak sel melalui oksidasi lemak (*Lipid Peroxidation*). Menurut penelitian yang dilakukan oleh Shah dan Iqbal (2010) telah terbukti bahwa kadar *glutathione* (GSH) yang bertindak sebagai antioksidan alami dalam tubuh mengalami penurunan pada hewan coba yang diinduksi dengan diazinon secara oral. Hal ini akan menimbulkan terjadinya penumpukan *reactive oxygen species* (ROS) dan akan memicu proses *lipid peroxidation* yang akan

merusak sel akibat stres oksidatif dan berujung pada kerusakan organ. Penggunaan diazinon yang berlebihan akan semakin meningkatkan risiko terjadinya kerusakan organ, terutama organ ginjal. Adanya kerusakan pada suatu organ dapat dideteksi menggunakan pemeriksaan biokimia dan pemeriksaan histopatologi. Pemeriksaan histopatologi ginjal merupakan salah satu *golden standard* untuk diagnosis, penilaian prognostik, dan panduan terapi berbagai penyakit yang menyerang ginjal (Brachemi dan Bolle, 2014).

Kerusakan ginjal oleh diazinon dapat dicegah menggunakan suatu nefroprotektor. Senyawa fenol dapat bertindak sebagai nefroprotektor dengan cara mencegah terjadinya kerusakan jaringan ginjal akibat stres oksidatif (Xue *et al.*, 2016). Kacang kedelai (*Glycine max* (L.) Merr.) dan produk turunannya memiliki aktivitas senyawa fenol yang sangat baik (Shukla *et al.*, 2016). Produk turunan kacang kedelai yang memiliki aktivitas antioksidan paling tinggi ialah tepung kedelai (Pratt dan Birac, 1979). Berdasarkan penelitian yang dilakukan oleh Malencic *et al.* (2007) senyawa fenol utama yang ditemukan dalam kacang kedelai antara lain *tannin*, *proanthocyanidin*, dan flavonoid. Kandungan *tannin* dalam kacang kedelai bervariasi antara 0,88-2,06 g *catechin*/kg, *protoanthocyanidin* bervariasi antara 1,04-3,31 g *leucoanthocyanidin*/kg, dan flavonoid bervariasi antara 0,32-0,61 g rutin/kg.

Sejauh ini penelitian mengenai pemberian tepung kedelai sebagai nefroprotektor terhadap kerusakan ginjal akibat paparan diazinon masih terbatas, sehingga diperlukan penelitian lebih lanjut. Penelitian ini dirancang untuk mengetahui efek pemberian tepung kedelai (*Glycine max* (L.) Merr.) sebagai nefroprotektor terhadap gambaran histopatologi ginjal tikus wistar jantan yang diinduksi dengan diazinon.

1.2 Rumusan Masalah

Apakah pemberian tepung kedelai (*Glycine max* (L.) Merr.) memiliki efek sebagai nefroprotektor terhadap gambaran histopatologi ginjal tikus wistar jantan yang diinduksi diazinon?

1.3 Tujuan

Tujuan penelitian ini ialah mengetahui efek pemberian tepung kedelai (*Glycine max* (L.) Merr.) sebagai nefroprotektor terhadap gambaran histopatologi ginjal tikus wistar jantan yang diinduksi diazinon.

1.4 Manfaat Penelitian

1.4.1 Manfaat Teoritis

- a. Sebagai informasi ilmiah mengenai potensi kacang kedelai (*Glycine max* (L.) Merr.) sebagai prevensi perubahan patologis struktur organ ginjal.
- b. Menjadi acuan dilakukannya penelitian lebih lanjut mengenai potensi kacang kedelai (*Glycine max* (L.) Merr.) dalam bidang agromedis dan toksikologi.

1.4.2 Manfaat Praktis

- a. Dapat digunakan sebagai bahan pertimbangan bagi masyarakat luas, khususnya masyarakat agroindustri untuk menggunakan tepung kedelai (*Glycine max* (L.) Merr.) sebagai upaya mencegah terjadinya kerusakan ginjal akibat penggunaan pestisida saat bekerja.
- b. Dapat memberikan wawasan dan informasi kepada masyarakat luas tentang manfaat lain dari kacang kedelai (*Glycine max* (L.) Merr.).

BAB 2. TINJAUAN PUSTAKA

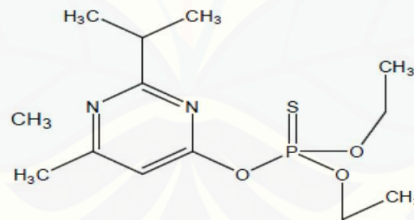
2.1 Diazinon

2.1.1 Definisi

Diazinon adalah insektisida jenis organofosfat yang sering digunakan sejak tahun 1956 untuk mengendalikan serangga dan hama tanah pada tanaman hias, buah-buahan, dan tanaman ladang. Diazinon bekerja dengan cara menghambat enzim AchE. Enzim ini berfungsi untuk memecah Ach yang bersifat merangsang saraf otot supaya tidak tertumpuk di dalam celah sinaps (Beydilli *et al.*, 2015).

2.1.2 Sifat Fisik dan Kimia

Sifat fisik dan kimia diazinon antara lain berbentuk cair seperti minyak, tidak berwarna, tenggelam dalam air, mempunyai *flash point* (titik nyala) sekitar 82-105° F, memiliki rumus molekul C₁₂H₂₁N₂O₃PS (Gambar 2.1), dengan berat molekul 304,4 g/mol, tingkat kelarutan dalam air 60 mg/L pada suhu 20°C, dan memiliki koefisien penyerapan tanah (KOC) sebesar 2,28 (ILO, 2017).



Gambar 2.1 Struktur kimia diazinon (Sumber: Kim *et al.*, 2017)

Diazinon merupakan senyawa organofosfat yang mudah masuk ke dalam lingkungan namun mudah juga terurai oleh lingkungan. Menurut Christensen (2009), 46% diazinon akan hilang dari tanah melalui degradasi secara kimiawi dan biologi dalam waktu 2 minggu. Tetapi ketika diazinon digunakan dalam jumlah yang besar, seperti digunakan untuk perawatan tanaman industri, atau digunakan langsung dari wadah yang besar seperti drum atau botol, akan membutuhkan waktu yang lama sampai benar-benar hilang dari lingkungan. Penggunaan diazinon seperti

ini tidak selalu mengarah pada efek samping akibat paparan secara langsung, namun juga dapat terpapar ketika kontak dengan lingkungan yang terpapar (US. *Department of Health and Human Services*, 2008).

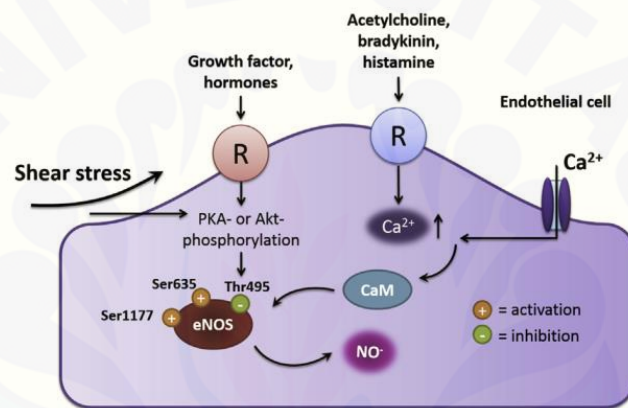
US EPA menggolongkan diazinon sebagai pestisida berspektrum luas, yang menyerang bukan hanya serangga saja melainkan organisme yang lain juga. Hal ini dibuktikan oleh penelitian yang dilakukan oleh Wulandari *et al.* (2007), ditemukan bahwa diazinon dapat membunuh tikus jantan dan betina dengan dosis masing-masing 96-967 mg/kgBB dan 66-635 mg/kgBB secara oral dan dapat membunuh tikus dengan dosis > 2000 mg/kgBB secara dermal. Nilai *lethal dose* (LD50) lain yang dilaporkan (dalam mg/kgBB) meliputi: 300-850 (tikus), 80-135 (mencit), 250-355 (marmut), 130 (kelinci), 8 (ayam), 3 (burung), 3,5 (bebek), dan 100 (babi) (Lorgue *et al.*, 1996; Tomlin, 2006).

2.1.3 Patomekanisme Nefrotoksisitas Diazinon

Radikal bebas seperti nitrit oksida (NO), anion superoksida (O_2^-), hidrogen peroksida (H_2O_2), dan radikal hidroksil (OH^-), terdiri atas spesies oksigen radikal dan non-radikal serta spesies nitrogen radikal dan non-radikal yang terbentuk akibat aktivitas metabolisme sel dalam tubuh (Patel *et al.*, 1999; Pearson dan Patel, 2016). Radikal bebas dapat terbentuk akibat proses endogen atau eksogen. Secara endogen salah satu cara pembentukan radikal bebas melalui proses relaksasi otot polos pada endotel, sedangkan secara eksogen dapat timbul akibat interaksi dengan senyawa *xenobiotic* (Ray *et al.*, 2012; Zhao *et al.*, 2015). Ketika produksi radikal bebas melebihi sistem pertahanan antioksidan seluler, baik melalui cara peningkatan jumlah radikal bebas atau penurunan jumlah antioksidan seluler akan terjadi suatu kondisi yang disebut stres oksidatif (Kemp *et al.*, 2008).

NO disebut juga sebagai *endothelium derived relaxing factor* (EDRF) secara fisiologis diproduksi oleh sel endotel dalam melakukan vasodilatasi (Gambar 2.2). Salah satu cara sel endotel memproduksi NO yaitu ketika Ach berikatan dengan reseptor spesifik yang terdapat pada membran endotel (*caveolin*) akan meningkatkan konsentrasi Ca^{2+} dalam sel endotel, yang kemudian akan berikatan dengan *calmodulin* (CaM) dan mengaktifkan *calmodulin-binding domain* dari

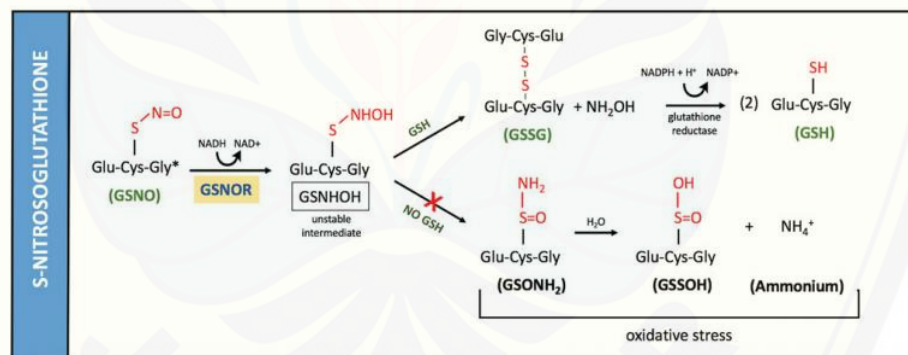
endothelial nitric oxide synthase (eNOS) untuk menghasilkan NO (Zhao *et al.*, 2015). Selanjutnya NO yang telah diproduksi dalam sel endotel sebagian akan langsung diteruskan ke otot polos pembuluh darah untuk memberikan efek relaksasi dan sebagiannya lagi akan dikeluarkan ke lumen pembuluh darah dan diikat oleh hemoglobin dalam eritrosit membentuk *S-nitrosohemoglobin* (SNOHb). SNOHb akan melepaskan NO kembali ke endotel ketika melewati jaringan dengan tekanan parsial oksigen rendah, untuk membuat pembuluh darah dalam jaringan tersebut vasodilatasi (Saldanha, 2017).



Gambar 2.2 Pembentukan NO dalam sel endotel (Sumber: Zhao *et al.*, 2015)

Cara kerja utama diazinon ialah menghambat enzim AchE. Ketika diazinon masuk ke dalam tubuh akan dimetabolisme di hati dan terbentuklah *diazoxon* sebagai bentuk metabolit aktif dari diazinon yang memiliki sifat prooksidan (Lari *et al.*, 2013). *Diazoxon* memiliki efek menghambat enzim AchE yang lebih poten dibandingkan diazinon itu sendiri (US EPA, 2006). Terhambatnya enzim AchE akan menyebabkan menumpuknya kadar Ach dalam tubuh yang berujung pada pembentukan NO berlebih, untuk menghilangkan NO dari dalam tubuh satu-satunya cara ialah dengan cara direaksikan (Kerwin *et al.*, 1995). Ketika kadar NO jumlahnya berlebih dalam sirkulasi maka GSH akan mengikatnya dan membentuk *S-nitrosoglutathione* (GSNO) (Fujii *et al.*, 2000; Galli *et al.*, 2002). GSNO membutuhkan lebih banyak GSH untuk dimetabolisme ke dalam bentuk yang lebih stabil, ketika kadar GSH tidak mencukupi maka akan memicu stres oksidatif

(Gambar 2.3). Ketika metabolisme GSNO oleh GSNOR menyimpang dan dikombinasikan dengan stres oksidatif maka produksi NO dan O_2^- akan meningkat (Squadrito dan Pryor, 1998; Barnett dan Buxton, 2017). Produksi NO dan O_2^- yang meningkat dalam tubuh akan berbahaya karena dapat memicu terbentuknya ikatan antara NO dengan O_2^- , yang akan menghasilkan senyawa bersifat radikal yaitu *peroxynitrite* ($ONOO^-$) (Mukhopadyay *et al.*, 2009). Senyawa $ONOO^-$ adalah RNS bersifat radikal kuat yang mampu merusak jaringan dan sel melalui *lipid peroxidation* (Radi *et al.*, 1991; Cross *et al.*, 1998). Semakin banyak radikal bebas yang terbentuk mengakibatkan aktivitas *superoxide dismutase* (SOD), GR, dan *catalase* selaku antioksidan alami dalam tubuh meningkat (Pearson dan Patel, 2016). Peningkatan jumlah radikal bebas tidak dapat diimbangi oleh antioksidan alami dalam tubuh, sehingga menyebabkan ketidakseimbangan antara jumlah antioksidan dan radikal bebas. Ketidakseimbangan tersebut meningkatkan reaksi *lipid peroxidation* yang akan berujung pada kerusakan jaringan yang lebih luas.



Gambar 2.3 Metabolisme GSNO (Sumber: Barnett *et al.*, 2017)

Selain dapat meningkatkan produksi radikal bebas, kadar NO yang berlebihan di dalam tubuh juga dapat mengakibatkan produksi ATP oleh mitokondria berkurang. NO dapat dengan mudah berdifusi ke dalam sel dan berinteraksi dengan mitokondria. NO mempengaruhi mitokondria dengan tiga cara utama: penghambatan respirasi yang reversibel; inaktivasi ireversibel enzim-enzim mitokondria; dan induksi *mitochondrial permeability transition* (mPT) (Murphy, 1999). Kadar NO yang sangat rendah sudah terbukti dapat menghambat respirasi

mitokondria dengan cara berikatan dengan *Heme a3* pada sitokrom c oksidase, yang bereperan penting dalam proses transport elektron untuk menghasilkan ATP (Brown dan Cooper, 1994). Difusi NO ke dalam sel akan menyebabkan produksi ONOO⁻ bertambah banyak karena berikatan dengan O₂⁻ yang secara terus-menerus diproduksi oleh mitokondria sebagai produk sampingan transport elektron. ONOO⁻ di dalam sel akan berinteraksi dengan mitokondria dan menghambat enzim SOD yang menyebabkan kerusakan pada *respiratory chain complex* I, II, dan III, serta enzim-enzim yang digunakan saat siklus Krebs seperti enzim *aconitase* (Hausladen dan Fridovich, 1994; Lizasoain *et al.*, 1996; MacMillan-Crow, 1996; Poderoso *et al.*, 1996). Kadar ONOO⁻ yang semakin banyak di dalam sel akan menyebabkan *efflux* Ca²⁺ mitokondria semakin meningkat. Stress oksidatif dan peningkatan jumlah Ca²⁺ di dalam sel akan menginduksi mPT. Konsekuensi penting dari gangguan produksi ATP oleh mitokondria ialah gangguan homeostasis kalsium seluler. Kurangnya ATP yang diproduksi oleh mitokondria akan menyebabkan kegagalan fungsi dari *ATP reliant ion transport pump* yang menyebabkan *influx* dari Ca²⁺ semakin meningkat, *influx* Ca²⁺ yang berlebihan akan meningkatkan *calcium-dependent enzyme* (*calpain*, *endonuclease*, *ATPase*, dan *phospholipase*). Penurunan produksi ATP dan meningkatnya kadar *calcium-dependent enzyme* akan mengakibatkan kerusakan sel baik melalui proses apoptosis maupun nekrosis (Zoratti dan Szabo, 1995).

2.1.4 Manifestasi Kerusakan pada Ginjal secara Mikroskopis

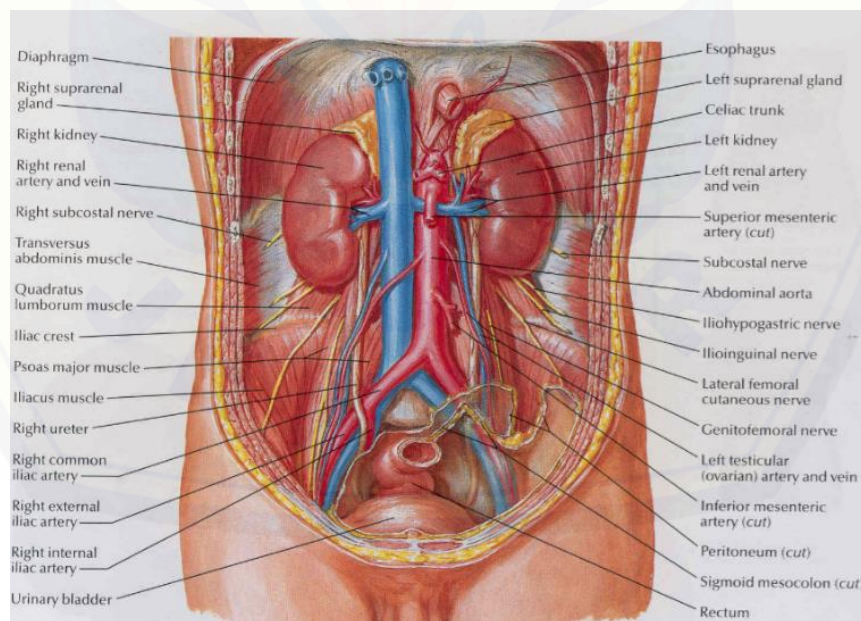
Diazinon sangat mudah sekali masuk ke dalam tubuh manusia. Hal ini karena diazinon memiliki sifat lipofilik, sehingga dapat dengan mudah diabsorpsi melalui kulit, saluran pencernaan, dan saluran pernafasan (Videria *et al.*, 2001; Kim *et al.*, 2017). Pemberian diazinon pada tikus menunjukkan gangguan fungsi ginjal yang dikonfirmasi oleh peningkatan kadar kreatinin serum, BUN dan asam urat. Selain itu, pemeriksaan histopatologi ginjal menunjukkan bahwa ginjal tikus yang diinduksi diazinon mengalami kerusakan secara signifikan. Kerusakan ginjal akibat diazinon secara histopatologis lebih dominan terjadi pada korteks ginjal dibandingkan medula. Hal ini terjadi karena distribusi diazinon dan metabolitnya

yang tidak merata dalam jaringan ginjal. Sekitar 90% dari total aliran darah ginjal memasuki korteks melalui aliran darah. Dengan demikian, konsentrasi diazinon dan metabolitnya relatif lebih tinggi pada korteks ginjal daripada medula (Yehia *et al.*, 2007; Al-Attar dan Al-Taisan, 2010; Salih, 2010; Sarhan dan Al-Sahhaf, 2011; Al-Attar dan Abu Zeid, 2013; Al-Attar, 2014).

2.2 Ginjal

2.2.1 Anatomi dan Fisiologi Ginjal

Ginjal atau ren adalah salah satu organ saluran kemih berwarna coklat kemerahan yang terletak di belakang peritoneum sebelah atas. Ukuran ginjal orang dewasa rata-rata 11,5 cm x 6 cm x 3,5 cm. Berat ginjal kurang lebih 0,4% dari berat badan manusia, yakni sekitar 120-170 gram (Purnomo, 2003). Ginjal berbentuk menyerupai kacang dengan bagian cekung menghadap ke medial. Pada bagian cekung ginjal terdapat hilus ginjal yang merupakan tempat keluar masuknya pembuluh darah, pembuluh limfe, saraf, dan ureter (Gambar 2.4) (Snell, 2008).



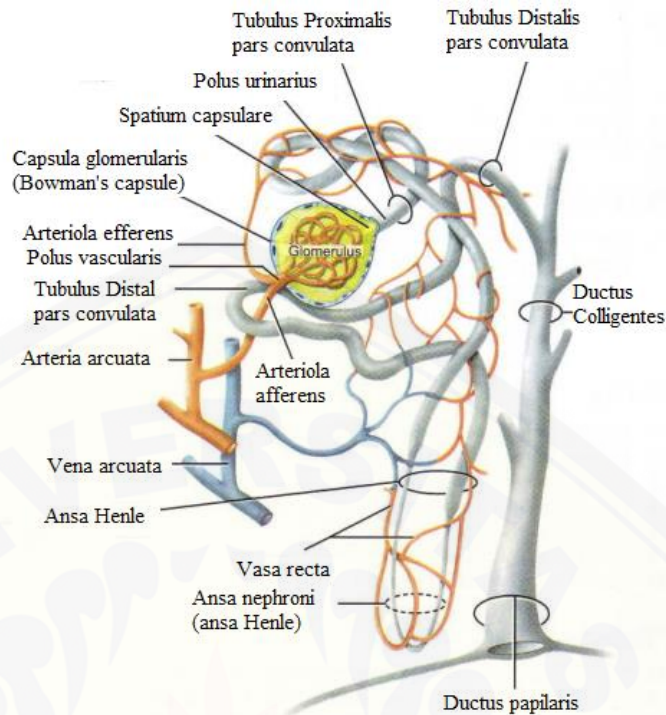
Gambar 2.4 Posisi ginjal dalam tubuh manusia (Sumber: Netter, 2014)

Arteri renalis ialah percabangan langsung dari *aorta abdominalis* yang berfungsi sebagai pembuluh darah utama yang bertugas mengalirkan darah dari seluruh tubuh masuk ke dalam ginjal (Drake, *et al.*, 2013). Struktur anatomis ginjal dibagi menjadi dua bagian yaitu medula di bagian dalam dan korteks di bagian luar ginjal. Medula ginjal terdiri atas beberapa *renal pyramid* yang berbentuk segitiga yang basis piramidnya menghadap ke korteks ginjal. Basis dari setiap piramid akan berakhir pada *papilla renalis* yang menyambungkannya langsung pada *pelvis renalis* kemudian keluar ginjal menuju ureter (Snell, 2008).

Ginjal mengeluarkan produk akhir dari metabolisme dan kelebihan air. Tindakan ini penting untuk mengontrol konsentrasi berbagai zat di dalam tubuh, menjaga keseimbangan elektrolit dan keseimbangan cairan di sekitar jaringan. Ginjal juga memiliki fungsi endokrin, memproduksi dan melepaskan *eritropoietin*, yang mempengaruhi pembentukan sel darah merah; *renin*, yang mempengaruhi tekanan darah; *1,25-di-hydroxycholecalciferol* (bentuk aktif metabolik vitamin D), yang terlibat dalam kontrol penyerapan kalsium dan metabolisme mineral; dan berbagai faktor terlarut lainnya yang mengatur metabolisme (Standring, 2008).

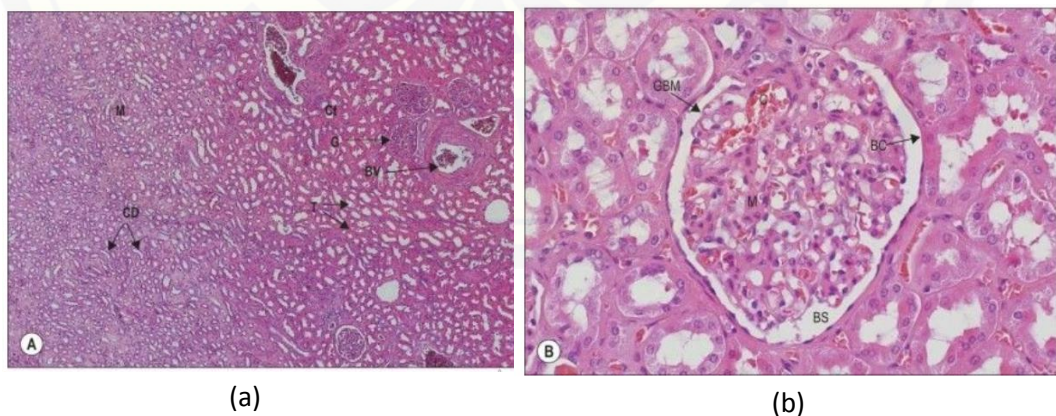
2.2.2 Histologi Ginjal

Ginjal terdiri atas banyak tubulus uriniferous yang berbelit-belit. Setiap tubulus terdiri atas dua bagian embriologis yang berbeda, yaitu *nefron* yang menghasilkan urin, dan *tubulus collectivus* yang melengkapi konsentrasi urin dan membawa urin masuk ke dalam kaliks ginjal, pelvis ginjal, ureter dan kandung kemih (Gambar 2.5).



Gambar 2.5 Nefron dan *tubulus collectivus* (Sumber: Eroschenko, 2013)

Nefron terdiri atas *renal corpuscle* yang bertugas memfiltrasi darah, dan tubulus ginjal yang bertugas meresorpsi filtrat untuk membentuk urin (Gambar 2.6 A). *Tubulus collectivus* membawa urin dari beberapa tubulus ginjal ke *terminal papillary duct*, menuju kaliks minor yang berada di puncak *papilla renalis* (Standring, 2008).



(a) Korteks ginjal. Perbesaran 40x; (b) Glomerulus. Perbesaran 400x

Gambar 2.6 Histologi ginjal (Sumber: Standring, 2008)

Renal corpuscles terdiri atas kumpulan kapiler yang disebut *glomerulus* (Gambar 2.6 B). Glomerulus dilapisi oleh dua lapis sel yaitu sel podosit pada bagian dalam dan epitel skuamosa selapis pada bagian luar, dua lapis sel ini disebut *Bowman's capsule*. Tonjolan-tonjolan panjang sitoplasma dari sel podosit akan menyelimuti kapiler glomerulus yang berpori, dari tonjolan inilah muncul pedikulus yang akan membentuk celah filtrasi untuk menyaring darah yang masuk ke dalam *renal corpuscles*. Bagian/tempat masuknya darah ke dalam glomerulus disebut *vascular pole* (kutub vaskular), sedangkan di sisi yang berlawanan terdapat *urinary pole* (kutub urin) yang merupakan bagian/tempat urin hasil filtrasi keluar dari *renal corpuscles* (Eroschenko, 2013).

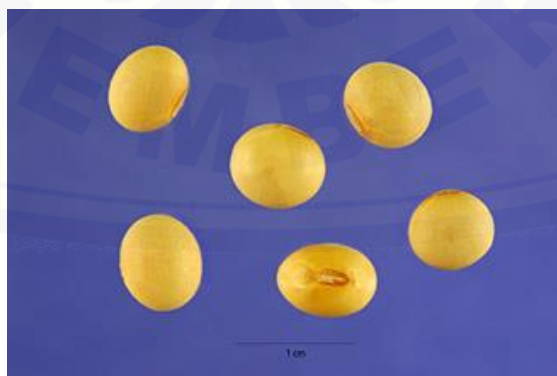
Hasil filtrasi dari glomerulus selanjutnya akan masuk ke dalam tubulus ginjal, yang terbentang dari *renal corpuscles* sampai *tubulus collectivus*. Tubulus ginjal dibagi ke dalam beberapa segmen yang masing-masing memiliki fungsi berbeda. Segmen tubulus ginjal yang pertama disebut *tubulus contortus proximal*. Disebut proksimal karena terletak dekat dengan *renal corpuscles*, sedangkan kontortus artinya berkelok-kelok. Segmen tubulus ginjal ini berfungsi mengembalikan banyak filtrat (molekul penting yang masih dapat digunakan tubuh) ke dalam darah di kapiler peritubulus, dengan secara aktif memompa molekul kecil keluar dari lumen tubulus ke ruang *interstitial* (air kemudian mengikuti gradien konsentrasi). Segmen kedua ialah *loop of henle*, segmen ini berfungsi sebagai tempat penyerapan air untuk mempertahankan kondisi hipertonik dalam medula ginjal. Segmen ketiga ialah *tubulus contortus distal* yang merupakan lanjutan dari *loop of henle*. Fungsi dari segmen ini sama seperti *tubulus contortus proximal* yaitu mengembalikan banyak filtrat ke dalam darah di kapiler peritubulus. Segmen terakhir dari tubulus ginjal ialah *tubulus collectivus*, lapisan epitel dari *tubulus collectivus* memiliki kemampuan khusus dapat menyesuaikan permeabilitasnya terhadap air yang dipengaruhi oleh *anti-diuretic hormone* (ADH) (Eroschenko, 2013).

2.3 Kacang Kedelai

2.3.1 Definisi

Kacang kedelai (*Glycine max* (L.) Merr) adalah tanaman jenis polong-polongan yang dapat tumbuh tanpa memerlukan air dalam jumlah yang besar (Winarsi, 2010). Kacang kedelai merupakan salah satu panganan hasil bumi yang banyak dikonsumsi oleh masyarakat dunia (Xue *et al.*, 2016). Di dunia kacang kedelai dikenal dengan beberapa nama botani, namun pada tahun 1948 telah disepakati bahwa nama botani yang dapat diterima istilah ilmiahnya ialah *Glycine max* (L.) Merill. Gambar dari kacang kedelai dapat dilihat pada Gambar 2.7. Klasifikasi kacang kedelai ialah sebagai berikut:

Kingdom	: <i>Plantae</i> (Tumbuhan)
Subkingdom	: <i>Tracheobionta</i> (Tumbuhan berpembuluh)
Super Divisi	: <i>Spermatophyta</i> (Menghasilkan biji)
Divisi	: <i>Magnoliophyta</i> (Tumbuhan berbunga)
Kelas	: <i>Magnoliopsida</i> (Dikotiledon)
Sub Kelas	: <i>Rosidae</i>
Ordo	: <i>Fabales</i>
Famili	: <i>Fabaceae/Leguminosae</i> (Polong-polongan)
Genus	: <i>Glycine</i>
Spesies	: <i>Glycine max</i> (L.) Merr



Gambar 2.7 Kacang kedelai (Sumber: Yarrow dan Yarrow, 1999)

2.3.2 Kandungan

Kacang kedelai termasuk tanaman yang memiliki kadar protein tinggi (Aparicio *et al.*, 2010). Selain protein, kacang kedelai juga mengandung senyawa fenol. Senyawa fenol termasuk ke dalam salah satu senyawa fitokimia penting yang memiliki aktivitas antioksidan atau antimutagen (Haliza *et al.*, 2007). Kandungan gizi kacang kedelai dapat dilihat pada Tabel 2.1. Kandungan asam amino dalam kacang kedelai, khususnya triptofan dan metionin memiliki fungsi sebagai antioksidan terhadap beberapa jenis radikal bebas. Namun, fungsi antioksidan tersebut kurang mampu bertindak sebagai antioksidan terhadap *water or lipidsoluble radicals* karena terhalangi oleh asam amino lain dalam kacang kedelai. Asam amino triptofan dan metionin akan menjadi antioksidan yang efektif terhadap radikal bebas apabila didenaturasi atau dihidrolisis terlebih dahulu (Elias *et al.*, 2005).

Tabel 2.1 Kandungan gizi 100 g kacang kedelai

Komponen	Satuan	Porsi yang dapat Dimakan	Berat Kering
Air	g	12,57	0
Abu	g	5,3	6,1
Protein	g	40,3	46,2
Lemak	g	16,7	19,1
Karbohidrat	g	24,9	28,2
Serat	g	3,2	3,7
Kalsium	mg	221,7	254
Fosfor	mg	681,8	781
Besi	mg	9,6	11
Thiamin	mg	0,42	0,48
Riboflavin	mg	0,13	0,15
Niasin	mg	0,58	0,67
Asam Pantotenat	µg	375,4	430
Pyridoxin	µg	157	180
Vitamin B12	µg	0,13	0,15
Biotin	µg	30,6	35
Asam Amino Esensial			
Isoleusin	mg	1912	2190
Leusin	mg	3127	3582
Lisin	mg	2300	2634
Metionin	mg	446	511
Sistin	mg	349	400
Phenilalanin	mg	1996	2283
Tirosin	mg	1306	1496
Treonin	mg	1667	1909
Triptofan	mg	465	533
Valin	mg	1925	2205
Asam Amino Non Esensial			
Arginin	mg	2355	2697
Histidin	mg	930	1065
Alanin	mg	1764	2021
Asam Aspartat	mg	5097	5838
Asam Glutamat	mg	7328	8394
Glisin	mg	1712	1961
Prolin	mg	1783	2042
Serin	mg	2145	2457

(Sumber: Hermana *et al.*, 1996)

2.3.3 Antioksidan pada Kedelai

Antioksidan merupakan senyawa yang dapat menekan aktivitas radikal bebas supaya tidak terjadi kerusakan akibat oksidasi sel. Antioksidan dapat mencegah kerusakan sel akibat reaksi oksidasi di dalam tubuh manusia. Untuk dapat menghambat radikal bebas, tubuh manusia sudah memiliki mekanisme pertahanan alami yaitu dengan adanya antioksidan enzimatik seperti enzim SOD, *catalase*, *glutathione peroxidase* (GPx), dan antioksidan non enzimatik (Ma *et al.*, 2015). Selain terdapat di dalam tubuh, antioksidan juga dapat diperoleh dari sumber makanan yang kita makan sehari-hari salah satunya ialah kacang kedelai. Kacang kedelai mengandung senyawa fenol yang termasuk salah satu senyawa fitokimia penting yang memiliki aktivitas antioksidan atau antimutagen (Haliza *et al.*, 2007).

Senyawa fenol berperan penting dalam tubuh manusia yang digunakan sebagai vitamin dan/atau pelindung terhadap stres oksidatif. Senyawa fenol juga berperan penting dalam ketahanan tanaman dan pertahanan terhadap infeksi mikroba yang berhubungan erat dengan ROS (Grassman *et al.*, 2002). Banyak senyawa fenol ditemukan dalam jaringan tanaman yang berpotensi memiliki efek antioksidan, seperti flavonoid, tannin dan prekursor lignin semuanya dapat bekerja sebagai senyawa pembilas ROS (ROS-scavenging compounds).

Konsep dasar mekanisme *ROS-scavenging activity* dari senyawa fenol ialah kemampuan antioksidan untuk menyumbangkan elektron ke radikal bebas dan menghasilkan struktur radikal yang lebih stabil dan kurang berbahaya (Koleckar *et al.*, 2008). Senyawa fenol utama yang ditemukan dalam kacang kedelai antara lain *tannin*, *proanthocyanidin*, dan flavonoid (Malencic *et al.*, 2007). Kandungan *tannin* dalam kacang kedelai bervariasi antara 0,88-2,06 g *catechin*/kg, *protoanthocyanidin* bervariasi antara 1,04-3,31 g *leucoanthocyanidin*/kg, dan flavonoid bervariasi antara 0,32-0,61 g rutin/kg.

Tannin adalah senyawa fenol kelas *astringent* yang mengikat dan mengendapkan protein dan berbagai senyawa organik lainnya termasuk asam amino dan alkaloid. Dalam beberapa penelitian telah terbukti bahwa *tannin* dapat memetabolisme beberapa senyawa radikal bebas seperti *superoxide radical*, *hydroxyl radical* dan NO (Ho *et al.*, 1999; Metodiewa *et al.*, 1999; Bors dan Michel, 1999; Yoshimura *et al.*, 2003; Goncalves *et al.*, 2005). Peran utama *tannin* dalam *ROS-scavenging activity* ialah dengan menghambat enzim-enzim prooksidatif (NOS, *xanthine oxidase*, dan *lipoxygenase*) sehingga proses pembentukan ROS menjadi terhambat (Ishii *et al.*, 1999; Shibata *et al.*, 2003; Fogliani *et al.*, 2005). *Proanthocyanidin* adalah senyawa fenol yang merupakan oligomer dari flavonoid. Peran *proanthocyanidin* dalam *ROS-scavenging activity* salah satunya ialah dengan menghambat terjadinya *lipid peroxidation*. Dalam penelitian yang dilakukan oleh Witztum (1994) dan Osakabe *et al.* (2002), telah terbukti bahwa *proanthocyanidin* dapat menghambat proses oksidasi pada *low-density lipoprotein* (LDL). Flavonoid merupakan salah satu turunan senyawa fenol yang memiliki dua cincin fenil. Kandungan utama flavonoid dalam kacang kedelai ialah golongan *isoflavonoid*

yakni, *genistein* dan *daidzein*. *Daidzein* akan dimetabolisme oleh sitokrom P450 dalam hati menjadi *8-hydroxydaidzein* (8-OH-daidzein), sedangkan *genistein* dimetabolisme di dalam usus menjadi *O-demethylangolensin* (O-DMA) dan *1,3,5-trihydroxybenzene* (1,3,5-THB). Studi *electron spin resonance* (ESR) menunjukkan bahwa ketika *genistein* dan *daidzein* diubah menjadi O-DMA, 1,3,5-THB dan 8-OH-daidzein akan meningkatkan kemampuan antioksidan mereka terhadap radikal hidroksil dan superoksida anion (Rimbach *et al.*, 2003). Pengaruh antioksidan isoflavon tidak secara eksklusif dimediasi hanya oleh sifat-sifat *ROS-scavenging activity* intrinsiknya saja. Penelitian sebelumnya telah membuktikan bahwa isoflavon juga bertindak dengan meningkatkan aktivitas enzim antioksidan seperti *catalase*, *SOD*, *glutathione peroxidase* (GPx) dan *glutathione reductase* (GR) (Wei *et al.*, 1995).

2.4 Tepung Kedelai

2.4.1 Definisi

Tepung kedelai sering disebut juga *soyflour* atau *grit* adalah tepung yang terbuat dari kacang kedelai kering. Kacang kedelai kering akan ditumbuk sampai menjadi bentuk tepung/serbuk, selanjutnya tepung/serbuk tersebut diayak sampai didapatkan tepung kedelai halus (Cahyani *et al.*, 2012).

2.4.2 Kandungan

Kandungan kimia tepung kedelai tersaji dalam Tabel 2.2.

Table 2.2 Kandungan kimia tepung kedelai

Komposisi	Kandungan
Air %	4,87
Protein %	34,39
N Terlarut %	4,60
N Amino %	0,05
Lemak %	25,53
Gula Reduksi %	0,12
Abu %	3,72
Nilai Cerna Protein	75,49

(Sumber: Widodo, 2001)

Tepung kedelai memiliki aktivitas antioksidan paling tinggi dibandingkan dengan produk turunan dari kacang kedelai lainnya. Hal ini didukung oleh penelitian sebelumnya yang dilakukan oleh Pratt dan Birac (1979) yang membandingkan antara kacang kedelai dan produk turunan kacang kedelai lainnya (Tabel 2.3).

Tabel 2.3 Perbandingan aktivitas antioksidan dalam kacang kedelai dan produk turunannya

<i>Extract</i>	<i>Soybean in Extract (g/ 100 mL)</i>	<i>Antioxidant Index^a</i>	<i>Peroxide no.^b</i>
<i>Soybeans (fresh)</i>	0	1.0	1000
	10	8.7	62
	20	11.2	41
<i>Soybeans (dried)</i>	0	1.0	1000
	10	10.3	55
	20	14.5	37
<i>Soy Concentrate</i>	0	1.0	1000
	10	7.2	57
	20	10.0	49
<i>Soy Protein Isolate</i>	0	1.0	1000
	10	4.7	128
	20	8.0	42

^a *Coupled oxidation of carotene and linoleic acid. Antioxidant index = rate of bleaching of control/ rate of bleaching of β -carotene in test solution. Bleaching rate measured at 470 nm*

^b *Peroxide number (meq/kg) of linoleic acid incubated at 37° C with 1% extract for 5 days. Method: Dahl and Holman, Anal. Chem, 33: 1960 (1961)*

(Sumber: Pratt dan Birac, 1979)

Selain itu Bhagwat *et al.* (2008) menjelaskan bahwa kandungan isoflavon pada tepung kedelai lebih tinggi dibanding tepung kedelai yang dihilangkan kandungan lemaknya. Kandungan isoflavon dalam tepung kedelai dapat dilihat pada Tabel 2.4.

Tabel 2.4 Kandungan isoflavon dalam tepung kedelai

No	Olahan Kedelai	Daidzein	Genistein	Glycitein	Total Isoflavon
1	<i>Soy Flour (textured)</i>	67,69	69,42	20,02	172,55
2	<i>Soy Flour (defatted)</i>	64,55	87,31	15,08	150,94
3	<i>Soy Flour (full-fat, raw)</i>	72,92	98,77	16,12	178,10
4	<i>Soybean (curd, fermented)</i>	12,18	21,12	2,30	34,68
5	<i>Soybean (flakes, defatted)</i>	37,47	91,22	14,23	131,53
6	<i>Soybean (flakes, full-fatt)</i>	21,75	39,57	1,12	62,31

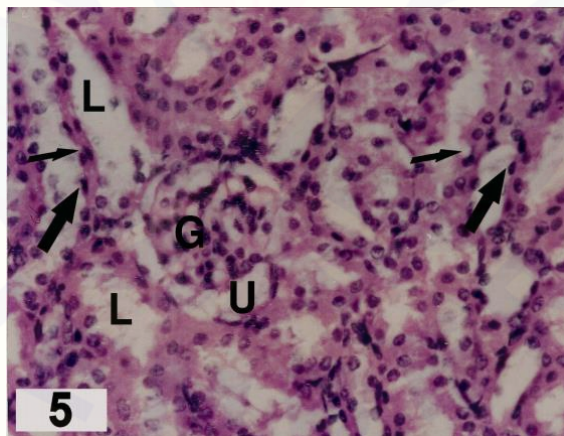
(Sumber: Bhagwat *et al.*, 2008)

2.5 Pemeriksaan Histopatologi

2.5.1 Histopatologi Ginjal

Kerusakan ginjal akut jika ditinjau dari segi histopatologis meliputi pelebaran lumen tubulus, akumulasi sel-sel debris dalam lumen, vakuolisasi lumen tubulus, pelebaran ruang Bowman, degenerasi, hiperplasia, kariomegali, dan benda-benda inklusi (Lerolle *et al.*, 2010; Gu *et al.* 2016).

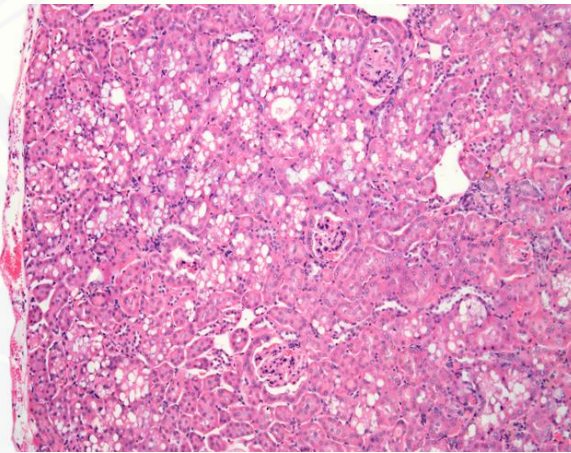
Pelebaran lumen tubulus terjadi disebabkan oleh sel-sel pada tubulus ginjal yang mengalami kematian, sehingga terlihat lumen tubulus mengalami pelebaran. Hal ini terjadi karena kerusakan yang terjadi pada glomerulus menyebabkan laju filtrasi menurun, sehingga akan memberatkan kerja tubulus dalam mengekskresikan zat terlarut. Dalam keadaan ini setiap sel pada tubulus ginjal mengalami diuresis osmotik disertai kehilangan air obligatorik yang dapat menyebabkan sel-sel tersebut mengalami kematian (Price dan Wilson, 2005). Kematian sel tubulus akan meninggalkan sisa-sisa kematian sel atau debris di dalam lumen tubulus (Gambar 2.8).



Gambar 2.8 Pelebaran lumen tubulus dan akumulasi sel debris. Perbesaran 400x (Sumber: Hemmaid, 2010)

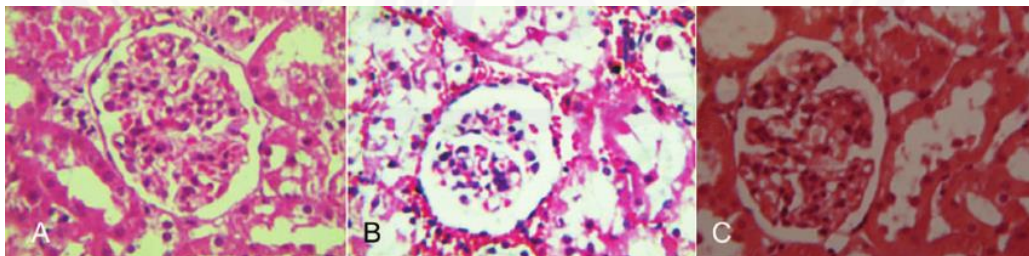
Vakuolisasi dapat diartikan sebagai vesikel tunggal yang besar (makrovesikular) atau sebagai vesikel yang lebih kecil (mikrovesikular) (Gambar 2.9). Vakuolisasi dapat terjadi karena beberapa hal. Salah satu penyebab vakuolisasi ialah tertimbunnya atau terkumpulnya senyawa aktif osmotik, seperti gula di dalam

lumen tubulus yang menyebabkan osmotik nefrosis (yang bermanifestasi sebagai vakuolisasi sitoplasma). Vakuolisasi sitoplasma dari epitel tubulus ginjal juga dapat terlihat pada ginjal yang terpapar bahan kimia yang merangsang fosfolipidosis, siklodekstrin, dan bahan kimia lain sehingga menyebabkan vakuolisasi melalui fagolisosom (Rees *et al.*, 1997; Bendele *et al.*, 1998; Johnson *et al.*, 1998; Nonoyama dan Fukuda., 2008).



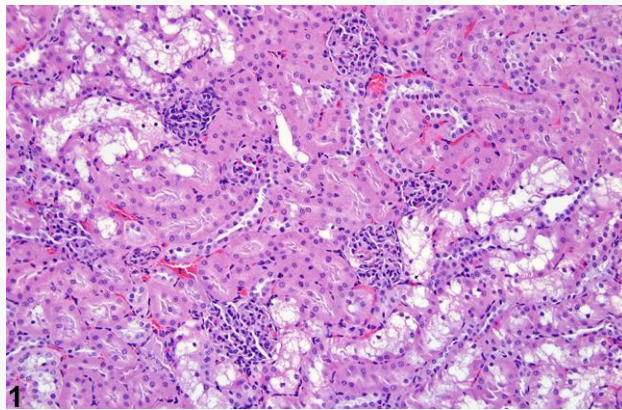
Gambar 2.9 Vakuolisasi tubulus ginjal. Perbesaran 400x (Sumber: Seely dan Brix, 2014)

Pelebaran ruang Bowman terjadi karena sel-sel pada glomerulus banyak mengalami kerusakan sehingga seolah-olah glomerulus mengalami penurunan jumlah sel dan mengakibatkan jarak antara glomerulus dan ruang Bowman melebar (Rohmah, 2014). Gambar pelebaran ruang Bowman dapat dilihat pada Gambar 2.10.



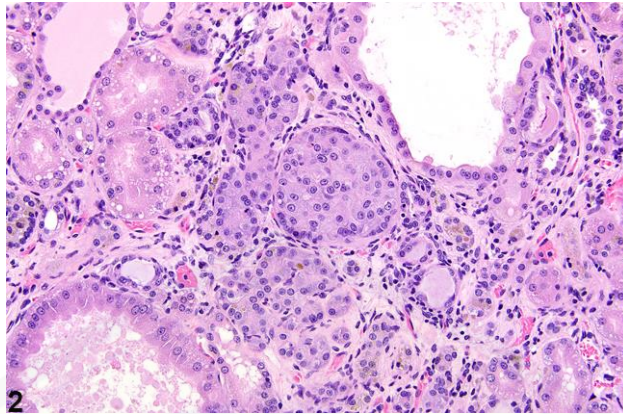
Gambar 2.10 Pelebaran ruang Bowman. Perbesaran 400x (Sumber: Ashtiyani *et al.*, 2013)

Degenerasi adalah suatu kerusakan nonspesifik yang dapat timbul dari berbagai etiologi yang mengganggu fungsi sel dan sering merupakan indikator awal dari nekrosis. Degenerasi dalam beberapa kasus didahului oleh vakuolisasi (Gambar 2.11). Secara umum degenerasi ditandai oleh beberapa fitur morfologi dan variabel sel, seperti pembengkakan sel dengan atau tanpa vakuolisasi sitoplasma, pewarnaan pucat, dan sitoplasma yang terfragmentasi. Degenerasi harus dibedakan dari apoptosis, yang merupakan proses normal pergantian sel di ginjal. Nekrosis umumnya termasuk pembengkakan sel, *nuclear pyknosis* dan/atau karioreksis, serta peluruhan sel. Degenerasi dapat bersifat reversibel atau irreversibel (Fraizer *et al.*, 2012).



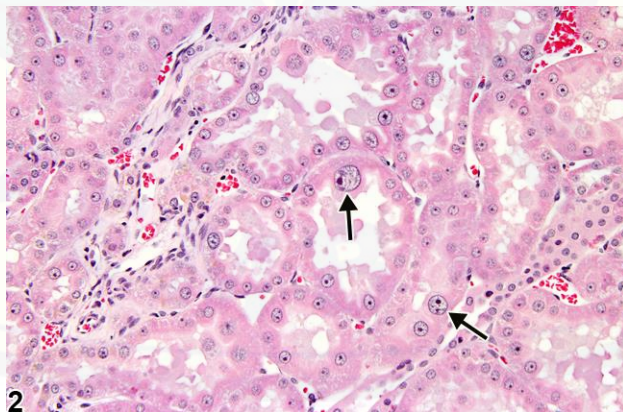
Gambar 2.11 Degenerasi tubulus ginjal. Perbesaran 400x (Sumber: Seely dan Brix, 2014)

Hiperplasia tubulus atipikal (HTA) dapat terjadi secara spontan, berkaitan dengan nefropati progresif kronis, atau sebagai akibat dari paparan zat kimia tertentu. HTA biasanya terjadi pada *tubulus contortus proximal*, tetapi *tubulus contortus distal* dan/atau *tubulus collectivus* juga bisa mengalaminya (Gambar 2.12). Hal ini dianggap sebagai lesi preneoplastik putatif yang merupakan bagian dari rangkaian yang mengarah kepada neoplasia (Hard dan Seely, 2005; Hard dan Seely, 2006; Frazier *et al.*, 2012; Greaves, 2012)



Gambar 2.12 Hiperplasia tubulus atipikal. Perbesaran 400x
(Sumber: Seely dan Brix, 2014)

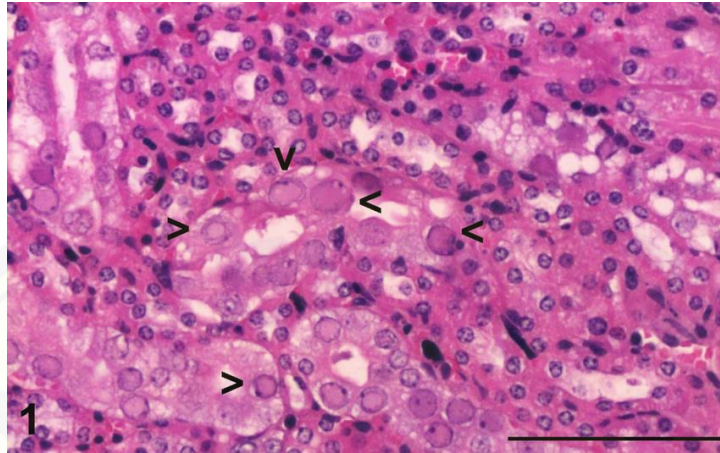
Kariomegali merupakan hasil dari replikasi asam nukleat tanpa melalui proses pembelahan inti sel. Hal ini ditandai dengan pembesaran inti sel terutama pada sel *tubulus contortus proximal*. Inti yang mengalami kariomegali biasanya hiperkromatik dengan beberapa anak inti (Gambar 2.13). Kariomegali biasanya terjadi akibat paparan zat kimia tertentu. Kariomegali umumnya dianggap preneoplastik, yang mengarah ke neoplasia tubulus dalam studi kronis (Hard *et al.*, 1999; Fraizer *et al.*, 2012).



Gambar 2.13 Kariomegali. Perbesaran 400x (Sumber: Seely dan Brix, 2014)

Badan inklusi dalam epitel tubular ginjal biasanya terjadi pada kasus infeksi virus atau keracunan timbal, tetapi hal ini jarang terjadi pada kasus paparan zat kimia dari obat-obatan. Badan inklusi memiliki ciri eosinofilik, bulat, dan

dikelilingi oleh halo transparan dengan marginasi kromatin (Gambar 2.14) (Radi *et al.*, 2012).



Gambar 2.14 Badan inklusi dalam epitel tubulus ginjal. Perbesaran 400x (Sumber: McInnes *et al.*, 2015)

2.5.2 Skoring Histopatologi Ginjal

Adanya kerusakan pada ginjal dapat dideteksi dengan melakukan pemeriksaan biokimia dan pemeriksaan histopatologi. Pemeriksaan histopatologi merupakan salah satu *golden standard* untuk diagnosis, penilaian prognostik, dan panduan terapi berbagai penyakit yang menyerang ginjal (Brachemi dan Bolle, 2014).

Sistem skoring histopatologi ginjal dapat digunakan untuk mempermudah peneliti dalam menghitung perubahan histopatologi yang terjadi. Skoring histopatologi ginjal yang dapat digunakan antara lain:

a. Sistem Skoring Anggraini

Cara penilaian skoring Anggraini ialah dengan membaca tiap preparat jaringan ginjal dalam 5 lapang pandang dengan menggunakan perbesaran 400 kali. Pada setiap lapang pandang, dicari kerusakan (jenis lesi) sesuai kriteria yang ditentukan kemudian dimasukkan ke dalam kategori berikut. Kriteria kerusakan jaringan ginjal (jenis lesi) yang dicari dapat dilihat dalam Tabel 2.5.

Tabel 2.5 Skoring histopatologi ginjal Anggraini

Skor	Kriteria Kerusakan
1	Tidak terjadi kerusakan jaringan ginjal (pelebaran lumen tubulus, akumulasi sel-sel debris dalam lumen, vakuolisasi lumen tubulus, pelebaran ruang bowman, degenerasi, hiperplasia, kariomegali, dan benda-benda inklusi).
2	Bila ditemukan 1-2 kriteria diatas.
3	Bila ditemukan 3-5 kriteria diatas.
4	Bila ditemukan 6-8 kriteria diatas.

(Sumber: Anggraini, 2008)

Kelebihan sistem skoring Anggraini:

- Kriteria kerusakan yang dicari dapat mewakili kerusakan akut pada jaringan ginjal (Lerolle *et al.*, 2010; Gu *et al.*, 2015).
- Terdapat tahapan *masking (blinding)* yang digunakan untuk mencegah bias masuk ke dalam pemeriksaan dan penilaian jaringan (Gibson-Corley *et al.*, 2013).
- Dapat menjelaskan mekanisme kerusakan akibat perlakuan peneliti dengan melihat kerusakan umum yang sering terjadi pada setiap sampel (Gibson-Corley *et al.*, 2013).
- Kriteria kerusakan histopatologi ini didasarkan pada lesi-lesi spesifik pada jaringan ginjal (Gibson-Corley *et al.*, 2013).
- Konsistensi interpretasi dalam sistem skoring ini dapat terjaga karena kriteria yang diamati mudah dibedakan dan tidak memberatkan peneliti (Gibson-Corley *et al.*, 2013).
- Dalam setiap kategori atau derajat kerusakan dalam sistem skoring ini memiliki batas yang jelas untuk menunjukkan mana yang lebih parah kerusakannya dibandingkan yang lain (Gibson-Corley *et al.*, 2013)

Kekurangan sistem skoring Anggraini :

- Tidak bisa menjelaskan perjalanan penyakit atau kerusakan yang terjadi akibat perlakuan peneliti (Gibson-Corley *et al.*, 2013).

b. Sistem Skoring Suhita *et al.*

Cara penilaian skoring Suhita *et al.* (2013) ialah dengan membaca tiap preparat jaringan ginjal dalam 5 lapang pandang dengan menggunakan perbesaran 400 kali. Lalu setiap lapang pandang dicari perubahan histopatologi sesuai kriteria yang ditentukan. Perubahan histopatologi yang diamati dalam sistem ini ialah adanya degenerasi lemak (vakuolisasi), nekrosis, dan degenerasi hidrofik. Untuk mendapatkan data kuantitatif, skoring dilakukan pada setiap perubahan yang ditemukan (Tabel 2.6).

Table 2.6 Skoring histopatologi ginjal Suhita *et al.*

Skor	Item
0	Tidak terjadi nekrosis inti, degenerasi tubulus, dilatasi tubulus proksimal tiap lapang pandang.
1	Ditemukan lesi fokal seperti nekrosis inti, degenerasi tubulus, dilatasi tubulus proksimal tiap lapang pandang
2	Ditemukan lesi difus/merata seperti nekrosis inti, degenerasi tubulus, dilatasi tubulus proksimal tiap lapang pandang.

(Sumber: Suhita *et al.*, 2013)

Kelebihan sistem skoring Suhita *et al.* menurut Gibson-Corley *et al.* (2013):

- Terdapat tahapan *masking (blinding)* yang digunakan untuk mencegah bias masuk ke dalam pemeriksaan dan penilaian jaringan.
- Perubahan histopatologi yang diamati didasarkan pada lesi-lesi spesifik pada jaringan ginjal.
- Konsistensi interpretasi dalam sistem skoring ini dapat terjaga karena kriteria yang diamati mudah dibedakan dan tidak memberatkan peneliti.

Kekurangan sistem skoring Suhita *et al.*:

- Kriteria perubahan histopatologis yang diamati belum mewakili kerusakan akut pada jaringan ginjal (Lerolee *et al.*, 2010; Gu *et al.*, 2015).
- Multitafsir dalam menginterpretasikan lesi difus dan lesi fokal.

- Tidak dapat menjelaskan mekanisme kerusakan suatu zat yang diperiksa dengan melihat kerusakan umum yang sering terjadi pada setiap sampel, karena jarak antar skor atau derajat kerusakan terlalu jauh (Gibson-Corley *et al.*, 2013).
- Tidak bisa menjelaskan perjalanan penyakit atau kerusakan yang terjadi akibat perlakuan peneliti (Gibson-Corley *et al.*, 2013).

c. Sistem Skoring Venient

Gambaran histopatologi ginjal didapatkan dengan cara menghitung persentase sel abnormal, kemudian diamati menggunakan mikroskop cahaya dengan perbesaran 400 kali dalam ± 5 lapang pandang sejumlah 100 sel (Wibowo, 2012). Sistem skoring Venient *et al.* (2012) dapat dilihat pada Tabel 2.7.

Tabel 2.7 Persentase rasio ginjal abnormal Venient *et al.*

Skor	Persentase Kerusakan
1	Lesi <25% total lapang pandang
2	Lesi 25-<50% total lapang pandang
3	Lesi 50-<75% total lapang pandang
4	Lesi >75% total lapang pandang

(Sumber: Wibowo, 2012)

Kelebihan sistem skoring Venient *et al.* menurut Gibson-Corley *et al.* (2013):

- Terdapat tahapan *masking (blinding)* yang digunakan untuk mencegah bias masuk ke dalam pemeriksaan dan penilaian jaringan.
- Dapat menjelaskan mekanisme kerusakan suatu zat yang diperiksa dengan melihat kerusakan umum yang sering terjadi pada setiap sampel.
- Dalam setiap kategori atau derajat kerusakan dalam sistem skoring ini memiliki batas yang jelas untuk menunjukkan mana yang lebih parah kerusakannya dibandingkan yang lain.

Kekurangan sistem skoring Venient *et al.*:

- Membutuhkan sistem skoring lain untuk menentukan kriteria perubahan atau kerusakan histopatologis yang diamati.
- Konsistensi interpretasi dalam sistem skoring ini kurang karena kriteria yang diamati kerusakan per sel, sehingga rawan terjadi kesalahan dalam pembacaan dan melelahkan bagi peneliti (Gibson-Corley *et al.*, 2013).

d. Sistem Skoring Arsad

Klasifikasi perubahan histopatologi untuk jaringan ginjal dinilai sebagai berikut: (0) tidak menunjukkan perubahan, (1) menunjukkan kerusakan ringan, (2) menunjukkan kerusakan sedang, dan (3) menunjukkan kerusakan berat. Sementara itu tingkat kerusakan ditentukan oleh persentase sebagai berikut: Perubahan kurang dari 30% menunjukkan perubahan ringan, perubahan kurang dari 30%-50% menunjukkan perubahan sedang dan perubahan lebih dari 50% menunjukkan perubahan yang parah. Perubahan struktur histopatologi ginjal yang diamati antara lain, terdapat *granular cast*, *cellular cast*, dan degenerasi hidrofik (Arsad *et al.*, 2016).

Kelebihan sistem skoring Arsad menurut Gibson-Corley *et al.* (2013):

- Terdapat tahapan *masking (blinding)* yang digunakan untuk mencegah bias masuk ke dalam pemeriksaan dan penilaian jaringan.
- Dalam setiap kategori atau derajat kerusakan dalam sistem skoring ini memiliki batas yang jelas untuk menunjukkan mana yang lebih parah kerusakannya dibandingkan yang lain.
- Dapat menjelaskan mekanisme kerusakan suatu zat yang diperiksa dengan melihat kerusakan umum yang sering terjadi pada setiap sampel.

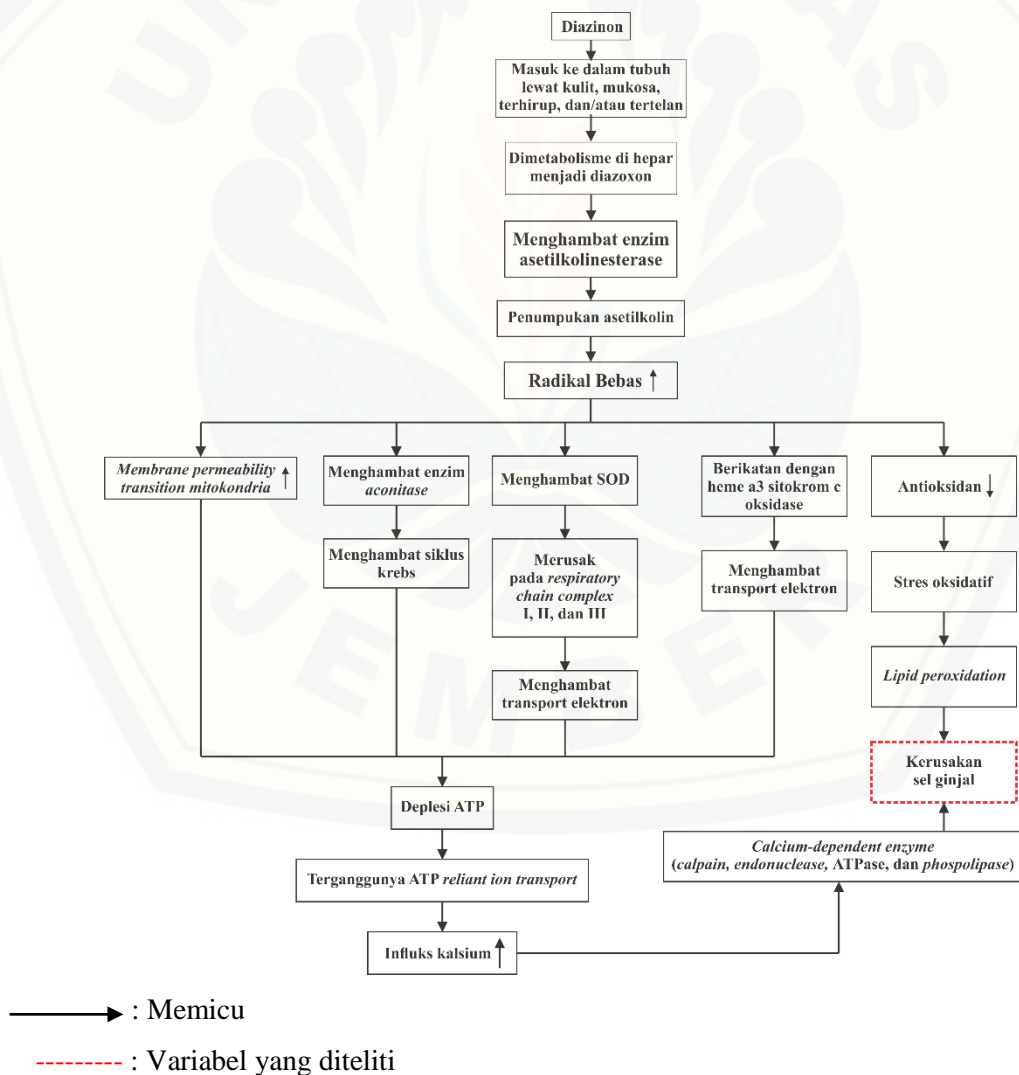
Kekurangan sistem skoring Arsad:

- Perubahan histopatologi yang diamati tidak didasarkan pada lesi-lesi spesifik jaringan ginjal (Gibson-Corley *et al.*, 2013).

- Konsistensi interpretasi dalam sistem skoring ini kurang karena kriteria yang diamati kerusakan per sel, sehingga rawan terjadi kesalahan dalam pembacaan dan melelahkan bagi peneliti (Gibson-Corley *et al.*, 2013).
- Kerusakan struktur jaringan yang diamati belum mewakili kerusakan akut pada jaringan ginjal (Lerolle *et al.*, 2010; Gu *et al.*, 2015).

2.6 Kerangka Teori

Kerangka teori penelitian ini dapat dilihat pada Gambar 2.15.

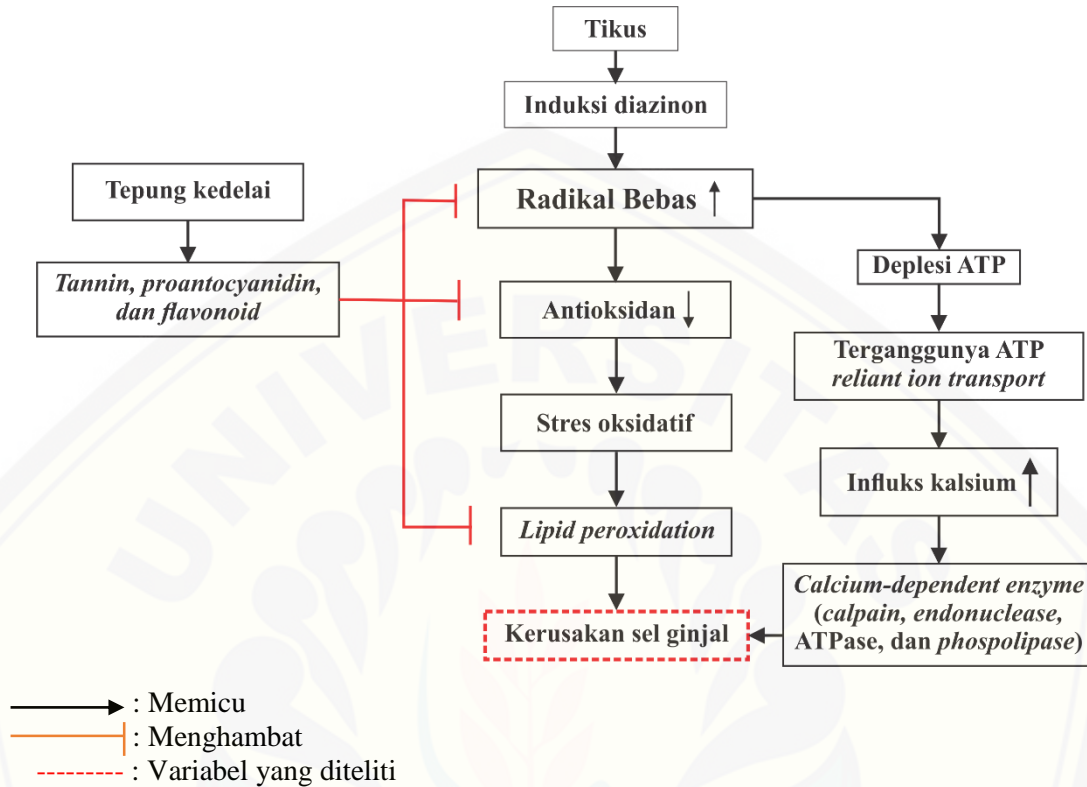


Gambar 2.15 Kerangka teori

Diazinon adalah pestisida jenis organofosfat yang digunakan untuk membunuh hama serangga dengan cara menghambat enzim AchE. Diazinon akan dimetabolisme dalam hati menjadi *diazoxon* yang merupakan bentuk metabolit aktif dengan efek menghambat enzim AchE lebih kuat dibandingkan diazinon itu sendiri. *Diazoxon* menghambat enzim AchE akan menyebabkan kadar Ach dalam tubuh meningkat. Kadar Ach yang meningkat akan memicu peningkatan produksi radikal bebas yang tidak terkontrol, radikal bebas yang berlebih tersebut akan dimetabolisme oleh antioksidan alami dalam tubuh. Namun ketika kadar antioksidan dalam tubuh tidak mencukupi, metabolisme tersebut akan menyimpang dan akan menciptakan kondisi stres oksidatif. Kondisi stres oksidatif dapat menyebabkan kerusakan sel lebih luas melalui *lipid peroxidation*. Selain dapat merusak sel melalui *lipid peroxidation*, radikal bebas juga dapat menyebabkan deplesi ATP dengan cara menghambat jalur respirasi dari mitokondria. Sel akan mengalami depolarisasi akibat kegagalan fungsi dari *ATP reliant ion transport pump* yang akan memicu *influx* Ca^{2+} semakin meningkat, meningkatnya *influx* Ca^{2+} akan memicu terbentuknya *calcium-dependant enzyme* (calpain, *endonuclease*, ATPase, dan *phospholipase*) yang akan memicu kerusakan sel baik secara apoptosis maupun nekrosis.

2.7 Kerangka Konsep

Kerangka konsep penelitian ini dapat dilihat pada Gambar 2.16.



Gambar 2.16 Kerangka konsep

2.8 Hipotesis Penelitian

Hipotesis penelitian ini ialah pemberian tepung kedelai (*Glycine max* (L.) Merr.) dapat mencegah kerusakan ginjal tikus yang diinduksi diazinon dilihat dari gambaran histopatologi ginjal.

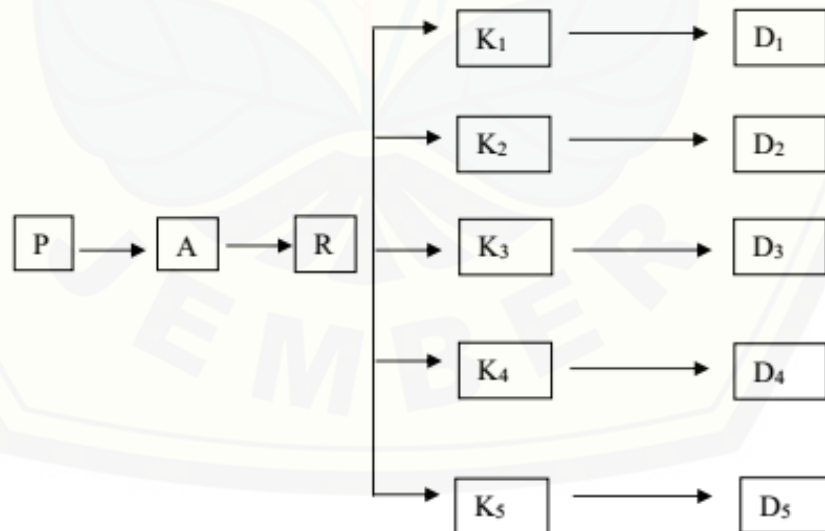
BAB 3. METODE PENELITIAN

3.1 Jenis Penelitian

Jenis penelitian ini ialah penelitian eksperimental sebenarnya (*true experimental laboratories*). Jenis rancangan yang digunakan dalam penelitian ini ialah *post test only control group design*. Pemilihan jenis rancangan ini karena peneliti menggunakan kelompok kontrol normal dan kelompok kontrol negatif sebagai perbandingan terhadap kelompok perlakuan.

3.2 Rancangan Penelitian

Rancangan penelitian yang digunakan ialah *post test only control group design*. Penilaiannya baru dilakukan setelah intervensi pada semua kelompok selesai, baik kelompok kontrol maupun kelompok perlakuan. Setelah hasil penelitian didapatkan, peneliti akan membandingkan antara kelompok kontrol dengan kelompok perlakuan. Rancangan penelitian dapat dilihat pada Gambar 3.1.



Gambar 3.1 Skema rancangan penelitian

Keterangan:

P	: Populasi
A	: Adaptasi hewan coba selama 7 hari
R	: Randomisasi
K ₁	: Kelompok kontrol normal
K ₂	: Kelompok kontrol negatif; diinduksi diazinon 40 mg/kgBB
K ₃	: Kelompok perlakuan; diinduksi larutan tepung kedelai 1 g/ 10 mL dan diazinon 40 mg/kgBB
K ₄	: Kelompok perlakuan; diinduksi larutan tepung kedelai 1,5 g/ 10 mL dan diazinon 40 mg/kgBB
K ₅	: Kelompok perlakuan; diinduksi larutan tepung kedelai 2 g/ 10 mL dan diazinon 40 mg/kgBB
D ₁	: Gambaran Histopatologi K ₁
D ₂	: Gambaran Histopatologi K ₂
D ₃	: Gambaran Histopatologi K ₃
D ₄	: Gambaran Histopatologi K ₄
D ₅	: Gambaran Histopatologi K ₅

3.3 Populasi dan Sampel Penelitian

3.3.1 Populasi

Populasi penelitian ini menggunakan tikus wistar jantan (*Rattus novergicus*) yang dibeli dari salah satu peternakan tikus di Malang. Untuk menentukan tikus yang digunakan sebagai sampel, ditetapkan kriteria inklusi dan eksklusi sebagai berikut:

- Kriteria inklusi: Tikus (*Rattus novergicus*) jantan galur wistar keturunan murni, dalam kondisi sehat (bergerak aktif), usia ± 3 bulan dengan berat 150-300 g, dan belum pernah digunakan dalam penelitian apapun.
- Kriteria eksklusi: Tikus yang menunjukkan perilaku tidak normal (tidak bergerak aktif, tampak lemah, atau terlihat sakit), tikus yang tidak mendapat perlakuan sesuai skema rancangan penelitian, dan tikus yang mati sebelum proses randomisasi.

3.3.2 Sampel

Sampel dalam penelitian ini dipilih dari populasi menggunakan teknik *simple random sampling* (random sederhana), yang kemudian dibagi ke dalam 5 kelompok. Peneliti menggunakan rumus Federer untuk menentukan besar sampel dalam penelitian ini, yaitu $(t-1)(r-1) \geq 15$.

$$\begin{aligned}\text{Jika } t = 5, \text{ maka } (t - 1)(r - 1) &\geq 15 \\ (5 - 1)(r - 1) &\geq 15 \\ 4(r - 1) &\geq 15 \\ 4r - 4 &\geq 15 \\ 4r &\geq 19 \\ r &\geq 4.75 \approx 5\end{aligned}$$

Pada rumus Federer t mewakili jumlah perlakuan, sedangkan r mewakili banyaknya replikasi. Berdasarkan hasil perhitungan di atas, jumlah sampel yang digunakan dalam penelitian ini ialah 5 ekor tikus untuk setiap kelompok. Jumlah total sampel yang digunakan dalam penelitian ini ialah 25 ekor tikus.

3.4 Tempat dan Waktu Penelitian

Penelitian ini dilaksanakan di empat tempat, yaitu di Laboratorium Rekayasa Proses Hasil Pertanian (RPHP) Fakultas Teknologi Pertanian Universitas Jember untuk pembuatan tepung kedelai, Laboratorium Fisiologi dan Farmakologi Fakultas Kedokteran Universitas Jember untuk pemeliharaan tikus, Laboratorium Patologi Anatomi RSD. Soebandi untuk pembuatan preparat histopatologi ginjal tikus, dan Laboratorium Patologi Anatomi Fakultas Kedokteran Universitas Jember untuk pemeriksaan histopatologi ginjal tikus. Penelitian ini dilaksanakan selama 3 bulan.

3.5 Variabel Penelitian

3.5.1 Variabel Bebas

Variabel bebas dalam penelitian ini ialah dosis larutan tepung kedelai (*Glycine max* (L.) Merr.) yang diberikan pada tikus wistar jantan (*Rattus norvegicus*).

3.5.2 Variabel Terikat

Variabel terikat dalam penelitian ini ialah gambaran histopatologi ginjal tikus wistar jantan (*Rattus norvegicus*).

3.5.3 Variabel Terkendali

Variabel terkontrol dalam penelitian ini antara lain:

- a. Usia hewan coba
- b. Jenis kelamin hewan coba
- c. Berat badan hewan coba
- d. Pemeliharaan dan perlakuan
- e. Waktu dan lama perlakuan
- f. Dosis dan frekuensi pemberian diazinon

3.6 Definisi Operasional

3.6.1 Tepung Kedelai

Tepung kedelai adalah kacang kedelai yang telah dikeringkan dan diproses hingga menjadi tepung. Jenis kedelai yang digunakan dalam penelitian ini ialah spesies *Glycine max* (L.) Merr. Kacang kedelai yang digunakan dalam penelitian ini merupakan kacang kedelai varian Baluran yang dibeli di Pasar Tanjung. Metode yang digunakan untuk membuat tepung kedelai ialah metode basah. Metode basah diawali dengan penyortiran biji kedelai, perendaman, perebusan, pengeringan, kemudian dilanjutkan dengan penggilingan dan pengayakan. Tepung kedelai sebelum diberikan pada tikus dilarutkan terlebih dahulu ke dalam akuades. Larutan tepung kedelai yang diberikan dibagi ke dalam 3 dosis, yaitu 1 g/ 10 mL, 1,5 g/ 10 mL, dan 2 g/ 10 mL. Pemberian tepung kedelai pada tikus dilakukan sebanyak 2 kali sehari selama 28 hari, dengan masing-masing pemberian sebanyak 5 mL menggunakan sonde lambung. Tepung kedelai yang digunakan pada penelitian ini dibuat di Laboratorium Rekayasa Proses Hasil Pertanian (RPHP) Fakultas Teknologi Pertanian Universitas Jember.

3.6.2 Diazinon

Diazinon adalah insektisida jenis organofosfat yang biasa digunakan untuk membunuh hama serangga. Dosis diazinon yang digunakan dalam penelitian ini ialah 40 mg/kgBB yang diberikan sehari sekali selama 5 hari menggunakan sonde lambung (Wulandari *et al.*, 2007). Diazinon yang digunakan ialah diazinon cair

(600 g/L), yang dibeli dari salah satu toko pertanian di Pasar Tanjung, Jember. Untuk mencapai dosis yang diinginkan, diazinon dilarutkan kedalam *corn oil* terlebih dahulu.

3.6.3 Gambaran Histopatologi Ginjal

Gambaran histopatologi ginjal adalah gambaran perubahan histopatologi ginjal tikus wistar jantan setelah perlakuan selesai. Dari setiap sampel ginjal dibuat preparat dengan potongan sagital dan diwarnai dengan teknik pewarnaan Hematoksilin-Eosin. Skoring derajat histopatologi ginjal yang digunakan dalam penelitian ini berdasarkan penelitian Anggraini (2008) (Tabel 3.1), dengan mengamati beberapa kriteria kerusakan. Kriteria kerusakan yang diamati yaitu, pelebaran lumen tubulus, akumulasi sel-sel debris dalam lumen, vakuolisasi lumen tubulus, pelebaran ruang bowman, degenerasi, hiperplasia, kariomegali, dan benda-benda inklusi.

Tabel 3.1 Skoring histopatologi ginjal Anggraini

Skor	Kriteria Kerusakan
1	Tidak terjadi kerusakan jaringan ginjal (pelebaran lumen tubulus, akumulasi sel-sel debris dalam lumen, vakuolisasi lumen tubulus, pelebaran ruang bowman, degenerasi, hiperplasia, kariomegali, dan benda-benda inklusi).
2	Bila ditemukan 1-2 kriteria diatas.
3	Bila ditemukan 3-5 kriteria diatas.
4	Bila ditemukan 6-8 kriteria diatas.

(Sumber: Anggraini, 2008)

3.7 Alat dan Bahan Penelitian

3.7.1 Alat Penelitian

Alat yang digunakan dalam penelitian ini, yaitu:

- Alat untuk pemeliharaan tikus menggunakan bak plastik, penutup kawat, tempat makan, botol minum, dan label.
- Alat untuk pembuatan tepung kedelai menggunakan ayakan 80 mesh, alat-alat gelas, oven, termometer, *colour reader*, *Minolta Cr-10*, sohxlet, tanur, dan neraca analitik.

- c. Alat untuk pemberian tepung kedelai menggunakan *beaker glass*, pengaduk, spuit sonde, dan *handscoon*.
- d. Alat untuk pemberian diazinon menggunakan *beaker glass*, pengaduk, spuit sonde, dan *handscoon*.
- e. Alat untuk mengambil ginjal tikus menggunakan papan fiksasi, scalpel, pisau bedah, dan *handscoon*.

3.7.2 Bahan Penelitian

Bahan yang digunakan dalam penelitian ini, yaitu:

- a. Bahan untuk pemeliharaan tikus menggunakan makanan *pellet*, air, dan sekam.
- b. Bahan untuk tepung kedelai menggunakan kedelai local varian Baluran.
- c. Bahan yang digunakan untuk menyonde, yaitu diazinon, tepung kedelai, akuades, *corn oil*, dan normal salin.
- d. Bahan untuk membuat sediaan histopatologi ginjal menggunakan Formalin 10%, Parafin, dan Hematoksin Eosin.

3.8 Prosedur Penelitian

3.8.1. Uji Kelayakan Etik

Subjek dalam penelitian ini ialah tikus yang sebelum dilakukan penelitian harus mendapat sertifikat kelayakan etik, sehingga perlu diajukan ke Komisi Etik Kedokteran terlebih dahulu. Prosedur ini memiliki tujuan menjamin keamanan peneliti dan hewan coba, melindungi hewan coba, serta memperjelas tujuan dan kewajiban peneliti.

3.8.2. Perawatan Hewan Coba

Sebelum penelitian dimulai, hewan coba diadaptasikan terlebih dahulu selama 7 hari di Laboratorium Fisiologi dan Farmakologi Fakultas Kedokteran Universitas Jember. Makanan yang digunakan sebagai pakan hewan coba ialah *pellet* dan minuman yang diberikan kepada hewan coba ialah akuades. Pemberian makanan dan minuman kepada hewan coba dilakukan secara *ad libitum* (seturut keinginan). Kandang yang digunakan untuk pemeliharaan hewan coba ialah bak

plastik berukuran 45 x 30 x 20 cm yang diberi alas sekam kering. Setiap kandang masing-masing berisi 1 ekor hewan coba. Jumlah hewan coba yang digunakan dalam penelitian ini 25 ekor yang dibagi kedalam 5 kelompok secara acak dengan kriteria tikus (*Rattus novergicus*) jantan galur wistar keturunan murni, dalam kondisi sehat (bergerak aktif), usia ± 3 bulan dengan berat 150-300 g, dan belum pernah digunakan dalam penelitian apapun. Usia tikus ± 3 bulan menjadi pilihan peneliti karena pada usia tersebut hewan coba telah matur. Hewan coba yang digunakan dalam penelitian ini ialah yang berjenis kelamin jantan karena relatif lebih kuat, tidak terpengaruh oleh kondisi hormonal, dan tidak terganggu oleh kehamilan. Berat badan hewan coba yang dipilih ialah 150-300 gram karena memudahkan peneliti untuk memberi perlakuan terhadap hewan coba dan memudahkan dalam pengambilan organ sampel. Penelitian ini dilakukan selama 40 hari (7 hari adaptasi hewan coba, 28 hari pemberian larutan tepung kedelai, dan 5 hari pemberian diazinon) (Ebuehi dan Okafor, 2016).

Jumlah kelompok yang digunakan dalam penelitian ini ialah 5 kelompok, dengan setiap kelompok terdiri atas 5 ekor tikus. Pembagian kelompok tikus dapat dilihat pada Tabel 3.2.

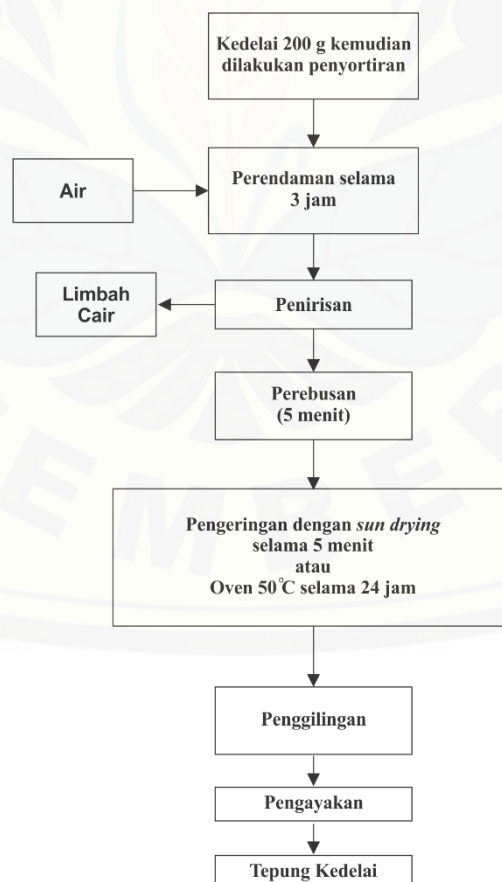
Tabel 3.2 Pembagian kelompok tikus

Nama Kelompok	Perlakuan yang Diberikan
Kelompok K ₁	Pemberian normal salin selama 28 hari per oral.
Kelompok K ₂	Pemberian normal salin selama 28 hari per oral dan dilanjutkan pemberian diazinon 40 mg/kgBB selama 5 hari per oral.
Kelompok K ₃	Pemberian tepung kedelai 1 g/ 10 mL per oral selama 28 hari dan dilanjutkan pemberian diazinon 40 mg/kgBB selama 5 hari peroral.
Kelompok K ₄	Pemberian tepung kedelai 1,5 g/ 10 mL per oral selama 28 hari dan dilanjutkan pemberian diazinon 40 mg/kgBB selama 5 hari peroral.
Kelompok K ₅	Pemberian tepung kedelai 2 g/ 10 mL per oral selama 28 hari dan dilanjutkan pemberian diazinon 40 mg/kgBB selama 5 hari peroral.

3.8.3. Pembuatan Tepung Kedelai

Sebelum tepung kedelai dibuat, kacang kedelai telah dideterminasi terlebih dahulu oleh anggota tim kelompok penelitian untuk memastikan spesies kacang kedelai yang digunakan. Pembuatan tepung kedelai dilakukan di Fakultas Teknologi Pertanian Universitas Jember. Proses pembuatan tepung kedelai dimulai

dengan melakukan penyortiran kacang kedelai yang akan digunakan sebagai bahan pembuatan tepung kedelai. Penyortiran ini dilakukan untuk mendapatkan kacang kedelai yang baik, sehingga diharapkan tepung kedelai yang dihasilkan memiliki kualitas yang baik. Setelah proses penyortiran selesai dilanjutkan dengan melakukan perendaman selama 3 jam. Setiap 200 g kacang kedelai direndam dalam air bersih sebanyak 600 mL. Setiap 1–1,5 jam sekali air rendaman diganti, lalu kacang kedelai ditiriskan. Setelah proses perendaman selesai, dilanjutkan dengan proses perebusan selama 5 menit. Kemudian setelah selesai direbus kacang kedelai dikeringkan dengan sinar matahari selama 4 jam dan dioven selama 24 jam pada suhu 50°C. Kacang kedelai kemudian digiling dan diayak menggunakan ayakan ukuran 80 mesh dan diulang sebanyak dua kali agar diperoleh tepung kedelai yang lebih optimal (Warisno dan Kres, 2010). Skema pembuatan tepung kedelai dapat dilihat di Gambar 3.2.



Gambar 3.2 Skema pembuatan tepung kedelai

3.8.4. Pemberian Tepung Kedelai

Berdasarkan penelitian yang dilakukan oleh Ebuehi dan Okafor (2016), pemberian roti yang terbuat dari campuran tepung gandum dan tepung kedelai dengan perbandingan 90:10 selama 28 hari pada tikus wistar jantan menunjukkan peningkatan kadar SOD, *catalase*, dan penurunan kadar *malondialdehyde* (MDA). Oleh karena itu, hewan coba dalam penelitian ini diberikan larutan tepung kedelai selama 28 hari setelah adaptasi selama 7 hari pada masing-masing kelompok. Larutan tepung kedelai hanya diberikan pada kelompok 3, 4, dan 5.

Larutan tepung kedelai yang diberikan pada tikus sejumlah 10 mL. Karena kapasitas maksimal lambung tikus hanya 5 mL, pemberian larutan tepung kedelai dibagi menjadi 2 kali sehari yaitu pada pagi dan sore hari. Larutan tepung kedelai selanjutnya diberikan pada tikus secara peroral (*force feeding*) dengan teknik sonde.

3.8.5. Penginduksian Diazinon

Pada penelitian ini diazinon sebelum diinduksikan pada tikus dilarutkan terlebih dahulu dalam *corn oil*. Hal ini karena diazinon memiliki kelarutan yang tinggi dalam lemak dan kelarutannya rendah dalam air sehingga perlu dilarutkan dalam *corn oil* untuk mendapatkan dosis induksi yang diinginkan (Moshiri, 2013). Penginduksian diazinon pada tikus dilaksanakan selama 5 hari, terhitung setelah selesai 28 hari pemberian larutan tepung kedelai. Hal ini didasarkan pada penelitian Wulandari (2007) pemberian diazinon 40, 50, dan 60 mg/kgBB pada tikus selama 5 hari terbukti sudah dapat menyebabkan kerusakan jaringan.

3.8.6. Pembuatan Preparat Histopatologi Ginjal

Pembuatan dan pewarnaan histopatologi ginjal tikus dilakukan dengan cara sebagai berikut:

- a. Terminasi dilakukan dengan cara tikus dimasukan ke dalam toples berisi kapas yang dibasahi dengan eter. Kemudian dilakukan laparatomi untuk mengambil seluruh ginjal tikus.
- b. Pemeriksaan histopatologi organ ginjal dilakukan untuk melihat adanya tanda-tanda kerusakan jaringan dengan menggunakan metode Parafin dan

menggunakan pewarnaan Hematoksin-Eosin (HE). Jaringan ginjal diambil, kemudian dibersihkan dari darah menggunakan NaCl 0,9%, dan segera setelah dibersihkan ginjal difiksasi dalam larutan Formalin 10%. Dibuuk sediaan dengan metode parafin, lalu jaringan dipotong dengan mikrotom setebal 3 sampai 5 mikron, kemudian dilakukan pengecatan dengan HE yang akan menyebabkan inti berwarna kebiruan dan sitoplasma berwarna merah. Pemeriksaan histopatologis dilakukan menggunakan mikroskop cahaya dengan pembesaran 400 kali pada 5 lapang pandang untuk setiap sediaan (Rohmani dan Rakhmawatie, 2015).

3.8.7. Pengamatan Preparat Histopatologi Ginjal

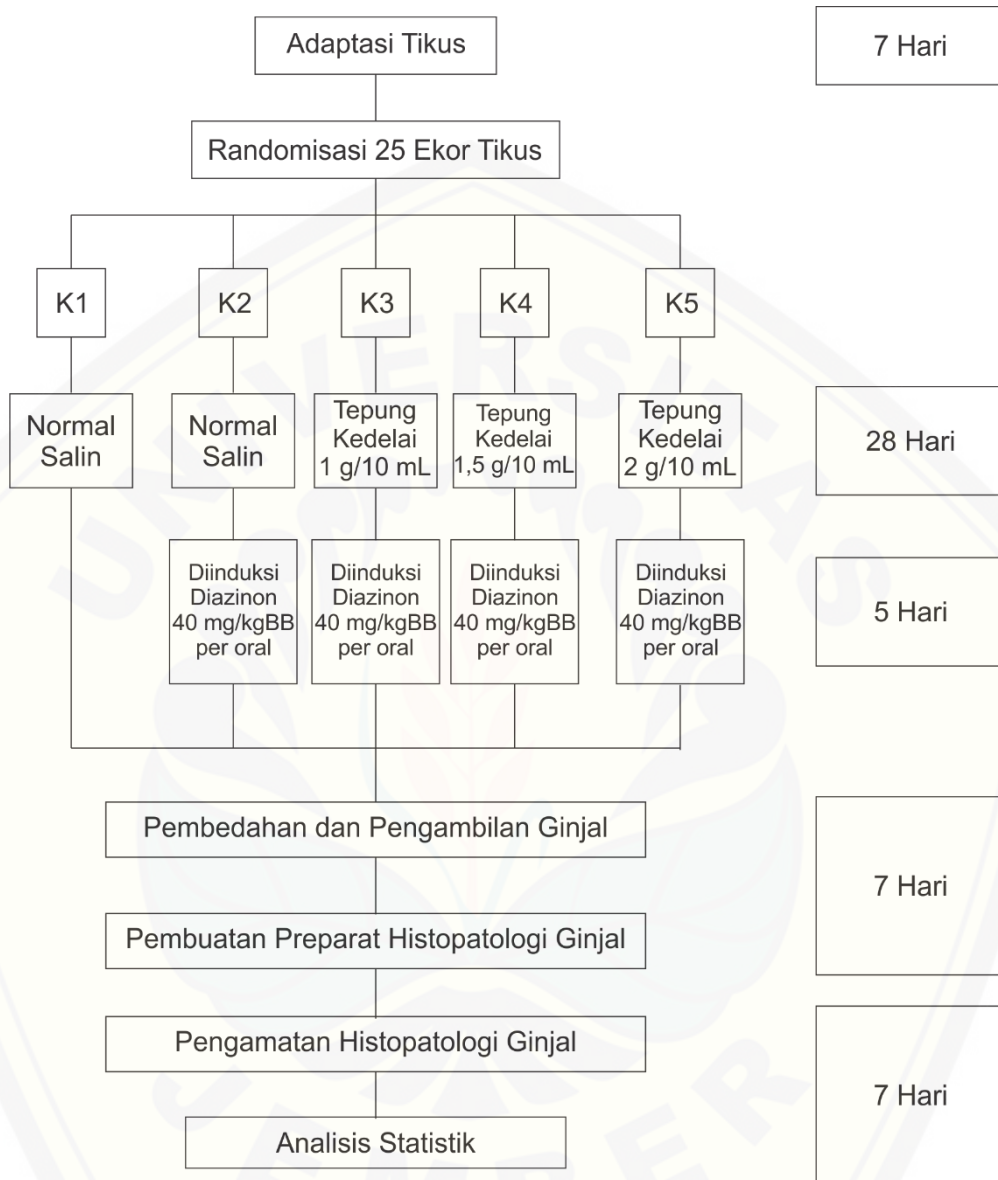
Studi histopatologis ginjal dari masing-masing kelompok diproses untuk dilihat di mikroskop cahaya guna membuktikan temuan biokimia dan untuk melihat kerusakan pada sel ginjal. Gambaran histopatologis yang diamati berupa pelebaran lumen tubulus, akumulasi sel-sel debris dalam lumen, vakuolisasi lumen tubulus, pelebaran ruang bowman, degenerasi, hiperplasia, kariomegali, dan benda-benda inklusi (Anggraini, 2008).

Pengamatan preparat menggunakan mikroskop cahaya dilakukan di Laboratorium Patologi Anatomi Fakultas Kedokteran Universitas Jember. Preparat histopatologi ginjal dari tikus akan diamati di bawah mikroskop cahaya dengan perbesaran 100x kemudian dilanjutkan dengan perbesaran 400x dengan metode *zig-zag* untuk memperhatikan seluruh lapang pandang dalam satu preparat. Dalam pengamatan preparat histologi, peneliti menggunakan sistem *double blind* dan pengamatan dilakukan oleh 2 orang. Peneliti terlebih dahulu mengambil foto lapang pandang yang akan diamati untuk menghindari bias dalam lokasi lapang pandang.

3.9 Analisis Data

Setelah skoring histopatologi ginjal selesai, data hasil skoring histopatologi ginjal yang diperoleh merupakan data ordinal. Selanjutnya data tersebut dikonversi menjadi data interval menggunakan *method of successive interval* (MSI). Data hasil konversi kemudian dianalisis menggunakan perangkat lunak komputer berupa program statistik. Data yang diperoleh diolah dengan program komputer *SPSS for Windows*. Uji statistik penelitian ini menggunakan uji komparasi. Sebelum dilakukan uji komparasi, peneliti melakukan uji normalitas dan uji homogenitas data terlebih dahulu. Uji normalitas yang digunakan peneliti ialah uji *Shapiro Wilk*, karena jumlah sampel <50 dan uji *Lavene* untuk mengetahui homogenitas. Apabila data yang diperoleh dinyatakan terdistribusi normal dan homogen, maka dilanjutkan dengan uji komparasi menggunakan uji *One Way ANOVA* ($p < 0,05$). Apabila data yang diperoleh dinyatakan tidak terdistribusi normal dan homogen, maka peneliti akan melanjutkan uji komparasi menggunakan uji *Kruskal-Wallis*. Jika hasilnya signifikan ($p < 0,05$) dilanjutkan dengan *Post Hoc*.

3.10 Alur Penelitian



Gambar 3.3 Skema perlakuan terhadap hewan coba

DAFTAR PUSTAKA

- Adamkovicova, M., R. Toman, M. Cabaj, P. Massanyi, M. Martiniakova, R. Omelka, V. Krajcovicova, dan H. Duranova. 2014. Effects of Subchronic Exposure to Cadmium and Diazinon on Testis and Epididymis in Rats. *The Scientific World Journal*. doi: 10.1155/2014/632581
- Ainurrahman, F. 2015. Analisis Faktor-faktor yang Mempengaruhi Konversi Lahan Sawah di Kabupaten Jember. *Skripsi*. Jember: Program Studi Agribisnis Fakultas Pertanian Universitas Jember.
- Al-Attar, A. M. 2014. Effect of Grapeseed Oil on Diazinon-induced Physiological and Histopathological Alterations in Rats. *Saudi Journal of Biological Science*. doi: 10.1016/j.sjbs.2014.12.010
- Al-Attar, A. M. dan I. M. Abu Zeid. 2013. Effect of Tea (*Camellia sinensis*) and Olive (*Olea europaea* L.) Leaves Extracts on Male Mice Exposed to Diazinon. *BioMed Res. Int.* 2013, 1–6.
- Al-Attar, A. M. dan W. A. Al-Taisan. 2010. Preventive Effects of Black Seed (*Nigella sativa*) Extract on Sprague Dawley Rats Exposed to Diazinon. *Aust. J. Basic Appl. Sci.* 4, 957–968.
- Altuntas, I., I. Kilinc, H. Orhan, R. Demirel, H. Koylu, dan N. Delibas. 2004. The Effects of Diazinon on Lipid Peroxidation and Antioxidant Enzymes in Erythrocytes in vitro. *Human and Experimental Toxicology*, 23: 9-13. doi: 10.1191/0960327104ht408oa
- Anggraini, D. R. 2008. Gambaran Makroskopis dan Mikroskopis Hati dan Ginjal Mencit Akibat Pemberian Plumbum Asetat. *Tesis*. Medan: Program Pasca Sarjana Universitas Sumatra Utara.
- Aparicio, I. M., C. Mateos-Peinado, A. Jimenez-Escrig, dan P. Ruperez. 2010. Multifunctional Antioxidant Activity of Polysaccharide Fractions from The Soybean By Product Okara. *Carbohydrate Polymers*, 82: 245-250.
- Aribowo, F. P., A. D. P. Sujoso, dan R. I. Hartanti. 2016. Faktor yang Berhubungan dengan Gejala Keracunan Akut Pestisida Organofosfat Pada Petani Jeruk (Studi Di Desa Umbulsari Kecamatan Umbulsari Kabupaten Jember). *Bagian Kesehatan Lingkungan dan Kesehatan Keselamatan Kerja Universitas Jember*.

- Arsad, S. S., N. M. Esa, dan H. Hamzah. 2016. Histopathologic Changes in Liver and Kidney Tissues from Male SpragueDawley Rats Treated with Rhabdiphora Decursiva (Roxb.) Schott Extract. *J. Cytol Histol*, S4: 001. doi: 10.4172/2157-7099.S4-001
- Arvid, B. M. dan A. A. Bjorn. 1999. Biomedical Electron Microscopy Illustrated Methods and Interpretations. *Academic Press*. San Diego, California USA. p. 80-100.
- Ashtiyani, S. C., H. Najafi, S. Jalalvandi, dan F. Hosseini. 2013. Protective Effects of Rosa Canina L Fruit Extracts on Renal Disturbances Induced by Reperfusion Injury in Rats. *Iranian journal of kidney diseases*, 7: 290-8.
- Badan Pusat Statistik Kabupaten Jember. 2013. *Angka Sementara Hasil Sensus Pertanian 2013*. Jember: BPS Kab. Jember
- Barnett, S. D. dan I. L. O. Buxton. 2017. The role of S-nitrosoglutathione Reductase (GSNOR) in Human Disease and Therapy, *Critical Reviews in Biochemistry and Molecular Biology*. doi: 10.1080/10409238.2017.1304353
- Bendele, A., J. Seely, C. Richey, G. Sennello, dan G. Shopp. 1998. Short Communication: Renal Tubular Vacuolation in Animals Treated with Polyethylene-glycol-conjugated Proteins. *Toxicol Sci*, 42: 152-157.
- Beydilli, H., N. Yilmaz, E. S. Cetin, Y. Topal, O. I. Celik, C. Sahin, H. Topal, I. H. Cigerci, dan H. Sozen 2015. Evaluation of the Protective Effect of Silibinin Against Diazinon Induced Hepatotoxicity and Free-Radical Damage in Rat Liver. *Iran Red Crescent Med J*. 17(4):e25310
- Bhagwat, S., D. B. Haytowitz, dan J. M. Holden. 2008. USDA Database for the Isoflavone Content of Selected Foods, Release 2.0. U.S. Department of Agriculture. *Agricultural Research Service*. Nutrient Data Laboratory.
- Bors, W. dan C. Michel. 1999. Antioxidant Capacity of Flavanols and Gallate Esters: Pulse Radiolysis Studies. *Free Radic. Biol. Med.*, 27(11-12): 1413-1426.
- Brachemi, S. dan G. Bolle. 2014. Renal Biopsy Practice: What is the Gold Standard?. *World J. Nephrol.*, 3(4): 287-294. doi: 10.5527/wjn.v3.i4.287
- Brown, G. C., dan C. E. Cooper. 1994. Nanomolar Concentrations of Nitric Oxide Reversibly Inhibit Synaptosomal Respiration by Competing with Oxygen at Cytochrome Oxidase. *FEBS Letters*, 356: 295-298.

- Cahyani, R. D., L. K. Nuswantara, dan A. Subrata. 2012. The Effect of Soy Meal Protein Protection by Mangrove Leaf Tannin on Ammonia Concentration, Rumen Undegraded Dietary Protein and Total Protein In Vitro. *Animal Agricultural Journal*, 1(1): 159-166.
- Christensen, W.A., W. O. James, R. L. Brewer, J. C. Prucha, W. O. Williams, A. M. Thaller, dan A. T. Hogue. 2009. Effect of Chlorination of Chill Water on the Bacteriologic Profile of Raw Chicken Carcasses and Giblets. *J. Am. Vet. Med. Assoc.* 200, 60-63
- Cross, A. H., P. T. Manning, R. M. Keeling, R. E Schmidt, dan T. P. Misko. Peroxynitrite Formation within the Central Nervous System in Active Multiple Sclerosis. *Journal of Neuroimmunology*, 88: 45-46.
- Damalas, C. A. dan G. Abdollahzadeh. 2016. Farmers' Use of Personal Protective Equipment during Handling of Plant Protection Products: Determinants of Implementation. *Sci Total Environ*, 571, 730-736. doi: 10.1016/j.scitotenv.2016.07.042
- Drake, R. L., A. W. Vogl, dan A. W. M. Mitchell. 2013. *Gray's Anatomy for Student*. 3rd ed. Philadelphia: Elsevier.
- Ebuehi, O. A. T. dan H. K. Okafor. 2016. Defatted Soya Flour Supplementation of Wheat Bread Confers Oxidative, Renal, Hepatic and Cardiovascular Protective Effects in Wistar Rats. *IJBcRR*, 10(1): 1-14.
- Elias, R. J., D. J. McClements, dan E. A. Decker. 2005. Antioxidant Activity of Cysteine, Tryptophan, and Methionine Residues in Continuous Phase β -Lactoglobulin in Oil-in-Water Emulsions. *J. Agric. Food Chem.*, 53: 10248-10253. doi: 10.1021/jf0521698
- Eroschenko, V. P. 2013. *Atlas Histologi di Fiore dengan Korelasi Fungsional*. 12th ed. Jakarta: EGC.
- Fogliani, B., P. Raharivelomanana, J. P. Bianchini, S. Bouraimamadjebi, dan E. Hnawia. 2005. Bioactive Ellagitannins from *Cunonia Macrophylla* an Endemic Cunoniaceae from New Caledonia. *Phytochemistry*, 66(2): 241-247.
- Fraizer, K. S., J. C. Seely, G. C. Hard, G. Betton, R. Burnett, S. Nakatsuji, A. Nishikawa, B. Durchfeld-Meyer, dan A. Bube. 2012. Proliferative and Nonproliferative Lesions of the Rat and Mouse Urinary System. *Toxicologic Pathology*, 40: 14S-86S
- Fujii, T. R. Hamaoka, J. Fujii, dan N. Taniguchi. 2000. Redox Capacity of Cells Affects Inactivation of Glutathione Reductase by Nitrosative Stress. *Biochemistry and Biophysics*, 378(1): 123-130. doi:10.1006/abbi.2000.1825

- Galli, F., R. Rossi, P. D. Simplicio, A. Floridi, dan F. Canestrari. 2002. Protein Thiols and Glutathione Influence the Nitric Oxide-Dependent Regulation of the Red Blood Cell Metabolism. *6*(2): 186-199. doi: doi:10.1006/niox.2001.0397
- Gibson-Corley, K. N., A. K. Olivier, dan D. K. Meyerholz. 2013. Principles for Valid Histopathologic Scoring in Research. *Vet Pathol*, 50(6): 1-22. doi: 10.1177/0300985813485099
- Goncalves, C., T. Dinis, dan M. T. Batista. Antioxidant properties of Proanthocyanidins of Uncaria Tomentosa Bark Decoction: A Mechanism for Anti-inflammatory Activity. 2005. *Phytochemistry*, 66(1): 89-98.
- Grassmann, J., S. Hippeli, dan E. F. Elstner. 2002. Plant's Defence and Its Benefits for Animals and Medicine: Role of Phenolics and Terpenoids in Avoiding Oxygen Stress. *Plant Physiol. Biochem*, 40, 471-478.
- Greaves, P. 2012. *Histopathology of Preclinical Toxicity Studies*. 4th ed. Amsterdam: Elsevier, 569-571.
- Gu, S., T. Yeh, S. Lin, dan F. Peng. 2016. Unfractionated Bone Marrow Cells Attenuate Paraquat-Induced Glomerular Injury and Acute Renal Failure by Modulating the Inflammatory Response. *Scientific Reports*. doi: 10.1038/srep23287
- Haliza, W., E. Y. Purwani, dan R. Thahir. 2007. Pemanfaatan Kacang-Kacangan Lokal sebagai Substitusi Bahan Baku Tempe dan Tahu. *Buletin Teknologi Pascapanen Pertanian*.
- Hard, G. C., C. L. Alden, R. H. Bruner, C. H. Frith, R. M. Lewis, R. A. Owen, K. Krieg, dan B. Durchfeld-Meyer. 1999. Non-proliferative Lesions of the Kidney and Lower Urinary Tract in Rats. In: *Guides for Toxicologic Pathology*. STP/ARP/AFIP, Washington, DC, 1-32.
- Hard, G. C. dan J. C. Seely. 2005. Recommendations for the Interpretation of Renal Tubule Proliferative Lesions Occurring in Rat Kidneys with Advanced Chronic Progressive Nephropathy (CPN). *Toxicol Pathol* 33: 641-649.
- Hard, G. C. dan J. C. Seely. 2006. Histological Investigation of Diagnostically Challenging Tubule Profiles in Advanced Chronic Progressive Nephropathy (CPN) in the Fischer 344 Rat. *Toxicol Pathol*, 34: 9410948.
- Hausladen, A., dan I. Fridovich. 1994. Superoxide and peroxynitrite inactivate Aconitases, Nitric Oxide does not, *J. Biol. Chem.*, 269: 29405-29408.

- Hemmaid, K. Z. 2010. Histological and Ultrastructural Alterations in the Renal Cortex of Rats Induced by the Egyptian Cobra (*Naja Haje*) Crude Venom. *Egypt. J. Exp. Biol.*, 6(2): 319 – 330.
- Hermana, M., Karmini, dan D. Karyadi. 1996. Health significance of Tempe for Human Nutrition. Proceedings of the Second International Soybean Processing and Utilization Conference. January 8-13. *Funny Publishing Limited Partnership*, Bangkok Thailand. p. 391-394.
- Ho, K. Y., J. S. Huang, C. C. Tsai, T. C. Lin, Y. F. Hsu, dan C. C. J. Lin. 1999. Antioxidant activity of tannin component from *vaccinium vitis-idaea* L. *J Pharm. Pharmacol*, 51: 1075-1078.
- International Labour Organization. 2017. Diazinon. Europe: *IPCS*.
- Ishii, R., K. Saito, M. Horie, T. Shibano, S. Kitanaka, dan F. Amano. 1999. Inhibitory Effects of Hydrolyzable Tannins from *Melastoma Dodecandrum* Lour. on Nitric Oxide Production by a Murine Macrophage-like Cell Line, RAW264.7, Activated with Lipopolysaccharide and Interferon-gamma. *Biol. Pharm. Bull.*, 22(6): 647-653.
- Johnson, R. C., B. J. Dovey-Hartman, J. Syed, M. W. Leach, D. W. Frank, D. P. Sinha, E. J. Mirro, J. M. Little, dan W. H. Halliwell. 1998. Vacuolation in Renal Tubular Epithelium of Cd-1 Mice: An Incidental Finding. *Toxicol Pathol*, 26: 789-792.
- Jusuf, A. A. 2009. Histoteknik Dasar. *Bagian Histologi Fakultas Kedokteran Universitas Indonesia*.
- Kemp, M., Y. M. Go, dan D. P. Jones. 2008. Non-equilibrium Thermodynamics of Thiol/disulfide Redox Systems: A Perspective on Redox Systems Biology. *Free Radic. Biol. Med.* 44: 921–937.
- Kerwin, J. F., J. R. Lancaster, dan P. L. Feldman. 1995. Nitric Oxide: A New Paradigm for Second Messengers. *J. Med. Chem.*, 38: 4343-4362.
- Kim, K. H., E. Kabir, dan S. A. Jahan. 2017. Exposure to pesticides and the associated human health effects. *Science of The Total Environment*, 575: 525–535.
- Koleckar, V., K. Kubikova, Z. Rehakova, K. Kuca, D. Jun, L. Jahodar, dan L. Opletal. 2008. Condensed and Hydrolysable Tannins as Antioxidants Influencing the Health. *Mini-Reviews in Medicinal Chemistry*, 8: 436-447.

- Lari, P., K. Abnous, M. Imenshahidi, M. Rashedinia, M. Razavi, dan H. Hosseinzadeh. 2013. Evaluation of Diazinon-induced Hepatotoxicity and Protective Effects of Crocin. *Toxicology and Industrial Health*, 1-10. doi: 10.1177/0748233713475519
- Lerolle, N., D. Nochy, E. Guerot, P. Bruneval, J. Fagon, J. Diehl, dan G. Hill. 2010. Histopathology of septic shock induced acute kidney injury: apoptosis and leukocytic infiltration. *Intensive Care Med.*, 36: 471-478. doi: 10.1007/s00134-009-1723-x
- Li, P. C. H., E. J. Swanson, dan F. A. P. C. Gobas. 2002. Diazinon and Its Degradation Products in Agricultural Water Courses in British Columbia, Canada. *Bull. Environ. Contam. Toxicol.*, 69: 59–65. doi: 10.1007/s00128-002-0010-0
- Linn T. J., F. G. Walter, D. Z. Hung, J. L. Tsai, S. C. Hu, J. S. Chang, J. Deng, P. B. Chase, K. Denninghoff, dan H. M. Chan. 2008. Epidemiology of Organophosphate Pesticide Poisoning in Taiwan. *Clinical Toxicology*, 46: 794-801. doi: 10.1080/15563650801986695
- Lizasoain, I., M. A. Moro, R. G. Knowles, V. Darley-USmar, dan S. Moncada. 1996. Nitric Oxide and Peroxynitrite Exert Distinct Effects on Mitochondrial Respiration which are Differentially Blocked by Glutathione or Glucose. *Biochem. J.*, 314: 877-880.
- Lorgue, G., J. Lechenet, dan A. Riviere. 1996. *Clinical Veterinary Toxicology*, Cambridge: Blackwell Science. p. 90.
- Ma, X., Z. Jiang, J. Zhang, dan Y. Hu. 2015. Isoflavone Ameliorates H₂O₂ Induced Injury by Activating the Antioxidant System of Sow Mammary Gland Cell, (November), 571–580.
- Malencic, D., M. Popovic, dan J. Milandinovic. 2007. Phenolic Content and Antioxidant Properties of Soybean (*Glycine max* (L.) Merr.) Seeds. *Molecules*, 12, 576-581.
- McInnes, E., M. Bennett, M. O'Hara, L. Rasmussen, P. Fung, P. Nicholls, M. Slaven, dan R. Stevenson. 2015. Intranuclear Inclusions in Renal Tubular Epithelium in Immunodeficient Mice Stain with Antibodies for Bovine Papillomavirus Type 1 L1 Protein. *Vet. Sci.*, 2: 84-96. doi: 10.3390/vetsci2020084
- MacMillan-Crow, L. A., J. P. Crow, J. D. Kerby, J. S. Beckman, dan J. A. Thompson. 1996. Nitration and Inactivation of Manganese Superoxide Dismutase in Chronic Rejection of Human Renal Allografts. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 93, 11853-11858.

- Metodiewa, D. A., A. K. C. Jaiswal, N. B. Cenas, E. B. Dickancaite, dan J. A. Segura-Aguilar. 1999. Quercetin may Act as a Cytotoxic Prooxidant after Its Metabolite Activation to Semiquinone and Quinoidal Product. *Free Radic. Biol. Med.*, 26(1-2): 107-116.
- Moshiri, M., M. Vahabzadesh, L. Etemad, dan H. Hosseinzadesh. 2013. Failure of Intravenous Lipid Emulsion to Reduce Diazinon-induced Acute Toxicity: a Pilot Study in Rats. *Iranian Journal of Pharmaceutical Research*. 4: 897-902.
- Mukhopadhyay, P., M. Rajesh, S. Batkay, Y. Kashiwaya, G. Hasko, L. Liaudet, C. Szabo, dan P. Pacher. 2009. Role of Superoxide, Nitric Oxide, and Peroxynitrite in Doxorubicin-induced Cell Death in vivo and in vitro. *Am J Physiol Heart Circ Physiol.*, 296: 1466-1483. doi:10.1152/ajpheart.00795.2008
- Murphy, M. P. 1998. Nitric Oxide and Cell Death. *Biochimica et Biophysica Acta*, 1411: 401-414.
- Netter F. H. 2014. *Atlas of Human Anatomy*. 6th ed. Jakarta: EGC
- Nonoyama, T. dan R. Fukuda. 2008. Drug-induced Phospholipidosis – Pathological Aspect and Its Prediction. *J Toxicol Pahtol*, 21: 9-24.
- Osakabe, N., A. Yasuda, M. Natsume, T. Takizawa, J. Terao, dan K. Kondo. 2002. Catechins and Their Oligomers Linked by C4 --> C8 Bonds are Major Cacao Polyphenols and Protect Low-density Lipoprotein from Oxidation in vitro. *Exp. Biol. Med.*, 227(1): 51-56.
- Patel R. P., J. McAndrew, H. Sellak, C. R. White, H. Jo, B. A. Freeman, dan V. M. Darley-Usmar. 1999. Biological Aspect of Reactive Nitrogen Species. *Biochimica et Biophysica Acta*, 1411(2-3): 385-400.
- Pearson, J. N. dan M. Patel. 2016. The Role of Oxidative Stress in Organophosphate and Nerve Agent Toxicity. *Ann. N.Y. Acad. Sci*, 1-8. doi: 10.1111/nyas.13115
- Poderoso, J. J., M. C. Carreras, C. Lisdero, N. Riobo, F. Schopfer, dan A. Boveris. 1996. Nitric Oxide Inhibits Electron Transfer and Increases Superoxide Radical Production in Rat Heart Mitochondria and Submitochondrial Particles. *Arch. Biochem. Biophys.*, 328: 85-92.
- Pratt, D. A. dan P. M. Birac. 1979. Source of Antioxidant Activity of Soybeans and Soy Products. *Jurnal of Food Science*, 44: 1720-1722.
- Price, S. dan L. Wilson. 2005. Patofisiologi: Konsep Klinis Proses-Proses Penyakit. Edisi 6. Jakarta: EGC.

- Purnomo, B. B. 2003. *Dasar-dasar Urologi*. Edisi 2. Jakarta: CV. INFOMEDIKA.
- Radi, R., J. S. Beckman, K. M. Bush, dan B. A. Freeman. 1991. Peroxynitrite-Induced Membrane Lipid Peroxidation: The Cytotoxic Potential of Superoxide and Nitric Oxide. *Archives of Biochemistry and Biophysics*, 288(2): 481-487.
- Radi, Z. A., Z. S. Stewart, F. A. Grzemeski, dan W. F. Bobrowski. 2012. Renal Pathophysiologic Role of Cortical Tubular Inclusion Bodies. *Toxicologic Pathology*, 41: 32-37.
- Raini, M. 2007. Toksikologi Pestisida dan Penanganan Akibat Keracunan Pestisida. *Media Litbang Kesehatan*, 17(3): 10-18.
- Ray, P. D., B. Huang, dan Y. Tsuji. 2012. Reactive Oxygen Species (ROS) Homeostasis and Redox Regulation in Cellular Signaling. *Cell Signal*, 24(5): 981–990. doi:10.1016/j.cellsig.2012.01.008.
- Rees, J. A., S. L. Old, dan P. C. Rowlands. 1997. An Ultrastructural Histochemistry and Light Microscopy Study of the Early Development of Renal Proximal Tubular Vacuolation after a Single Administration of the Contrast Enhancement Medium "Iotrolan"*1. *Toxicologic Pathology*, 25(2): 158-164.
- Rimbach, G., S. D. Pascual-Teresa, B. A. Ewins, S. Matsugo, Y. Uchida, A. M. Minihane, R. Turner, K. Vafeaidou, dan P. D. Weinberg. 2003. Antioxidant and Free Radical Scavenging Activity of Isoflavone Metabolites. *Xenobiotica*, 33(9): 913-925. doi: 10.1080/0049825031000150444
- Rohmah, M. 2014. Pengaruh Pemberian Infusa Daun Murbei (*Morus Alba L.*) terhadap Gambaran Histologi Glomerulus dan Tubulus Proksimal Tikus Putih (*Rattus Norvegicus*) Diabetes Mellitus Kronik. Fakultas Sains dan Teknologi Universitas Islam Negeri Maulana Malik Ibrahim Malang. 111 Hlm. Skripsi
- Rohmani, A. dan M. D. Rakhmawatie. 2015. Efek Ekstrak Kulit Manggis terhadap Gambaran Histopatologi Hepar Tikus Wistar yang diinduksi Formalin. FK Universitas Muhammadiyah Semarang.
- Saldanha, C. 2017. Human Erythrocyte Acetylcholinesterase in Health and Disease. *Molecules*, 22, 1499. doi: 10.3390/molecules22091499
- Salih, E. M. A. 2010. Toxic Effect of Dimethoate and Diazinon on The Biochemical and Hematological Parameters in Male Rabbits. *Jordan J. Biol. Sci.* 3, 77–82
- Sarhan, O. M. M. dan Z. Y. Al-Sahhaf. 2011. Histological and Biochemical Effects of Diazinon on Liver and Kidney of Rabbits. *Life Sci. J.* 8: 1183–1189.

- Seely, J. C. dan A. Brix. 2014. NTP Nonneoplastic Lesion Atlas. <https://ntp.niehs.nih.gov/nnl>. [Diakses pada 3 Oktober 2018].
- Shah, M. D. dan M. Iqbal. 2010. Diazinon-Induced Oxidative Stress and Renal Dysfunction in Rats. *Food and Chemical Toxicology*, 48(12): 3345–3353. doi: 10.1016/j.fct.2010.09.003.
- Shibata, T., K. Nagayama, R. Tanaka, K. Yamaguchi, T. dan Nakamura. 2003. Inhibitory Effects of Brown Algal Phlorotannins on Secretory Phospholipase A2s, Lipoxygenases and Cyclooxygenases. *J. Appl. Phycol.*, 15(1): 61-66.
- Shukla, S., J. Park, D. Kim, S. Hong, J. Lee, dan M. Kim. 2016. Total Phenolic Content, Antioxidant, Tyrosinase and A-Glucosidase Inhibitory Activities of Water Soluble Extracts of Noble Starter Culture Doenjang, a Korean Fermented Soybean Sauce Variety. *Food Control*, 59: 854-861. doi: 10.1016/j.foodcont.2015.07.003
- Singh, Z. dan S. S. Hundal. 2016. Toxic Effects of Organochlorine Pesticides: A Review. *American Journal of BioScience*, 4(3): 11-18. doi: 10.11648/j.ajbio.s.2016040301.13
- Snell, R. S. 2008. *Anatomi Klinis Berdasarkan Sistem*. Jakarta: Elsevier.
- Standring, S. 2008. *Gray's Anatomy the Anatomical Basis of Clinical Practice*. 40th ed. UK: Elsevier.
- Suharyanto, J. H. Mulyo, D. H. Darwanto, dan S. Widodo. 2015. Analisis Produksi dan Efisiensi Pengelolaan Tanaman Terpadu Padi Sawah di Provinsi Bali. *Penelitian Pertanian Tanaman Pangan*, 34(2): 131-144.
- Suhita, N. L. P. R., I. W. Sudira, dan I. B. O. Winaya. 2013. Histopatologi Ginjal Tikus Putih Akibat Pemberian Ekstrak Pegagan (*Centella asiatica*) Peroral. *Buletin Veteriner Udayana*, 5(2): 71-78.
- Susilowati, D. A., Suhartono, dan B. Widjanarko. 2017. Faktor Pengetahuan dan Perilaku Petani Penyemprot yang Berhubungan dengan Kadar Serum Cholinesterase di Kabupaten Brebes. Universitas Diponegoro, Semarang.
- Squadrito, G. L. dan W. A. Pryor. 1998. Oxidative Chemistry of Nitric Oxide: The Roles of Superoxide, Peroxynitrite, and Carbon Dioxide. *Free Radic Biol Med*, 25: 392–403.
- Tomlin, C. D. S. 2006. *The Pesticide Manual: A World Compendium*, 14th ed., Hampshire: British Crop Protection Council.

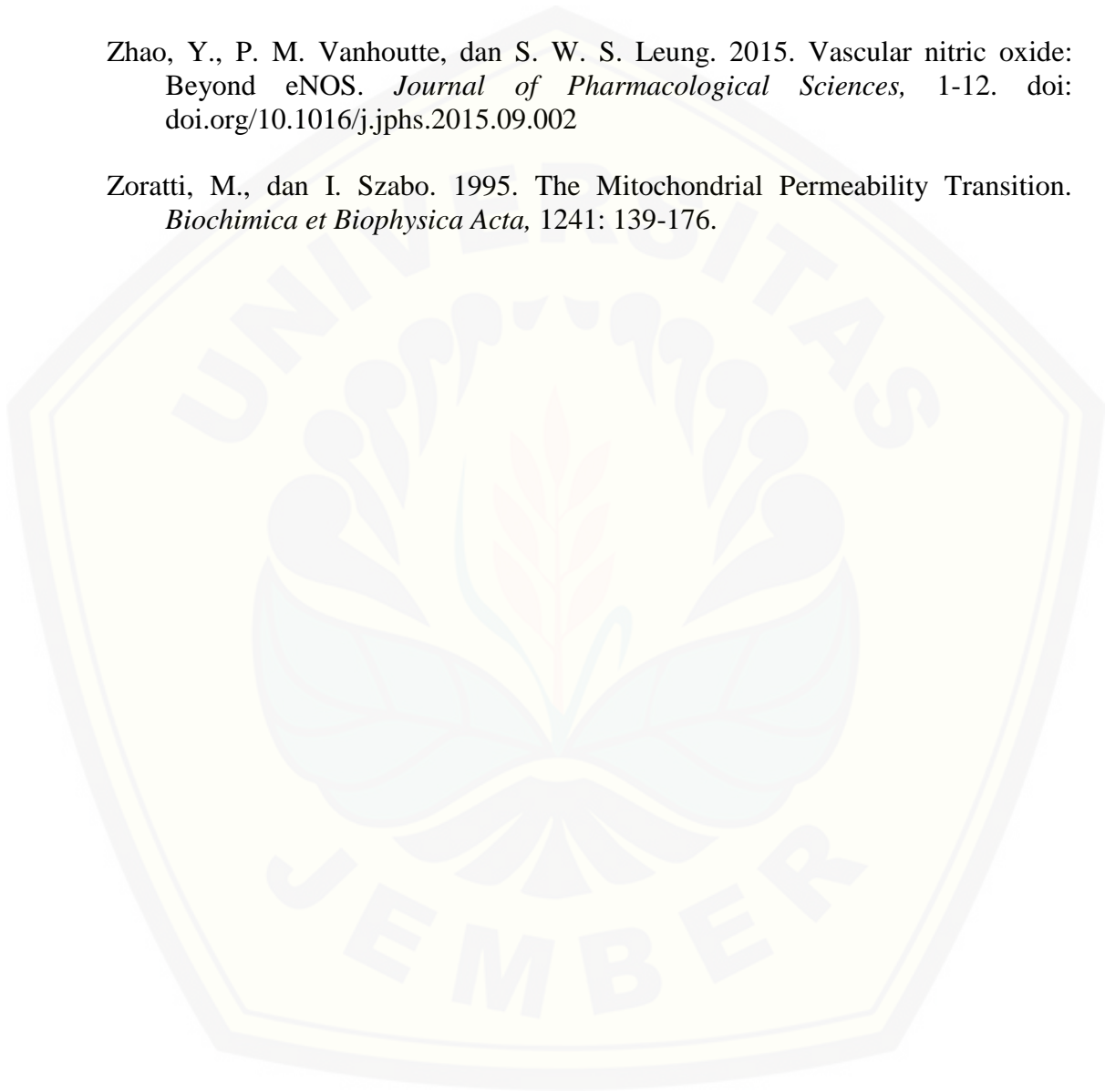
- U.S. Department of Health and Human Services. 2008. Toxicological Profile for Diazinon. Atlanta: Agency for Toxic Substances and Disease Registry.
- U.S. Department of Health and Human Services. 2006. *Draft Toxicological Profile for Diazinon*. Atlanta: Agency for Toxic Substances and Disease Registry.
- Videria, R. A., M. C. Antunes-Madeira, V. I. C. F. Lopes, dan V. M. C. Madeira. 2001. Changes Induced by Malathion, Methylparathion and Parathion on Membrane Lipid Physicochemical Properties Correlate with their Toxicity. *Biochimica et Biophysica Acta*, 1511: 360-368.
- Warisno dan D. Kres. 2010. *Meraup Untung dari Olahan Kedelai*. Jakarta: PT Agro Media Pustaka.
- Wei, H., R. Bowen, Q. Cai, S. Barnes, dan Y. Wang. 1995, Antioxidant and Antipromotional Effects of the Soybean Isoflavone Genistein. *Proceedings of the Society of Experimental Biology and Medicine*, 208: 124–130.
- Wibowo, M. 2012. Pengaruh Formalin Peroral Dosis Bertingkat selama 12 Minggu terhadap Gambaran Histopatologis Ginjal Tikus Wistar. Fakultas Kedokteran Universitas Diponegoro, Semarang. 49 Hlm. Skripsi.
- Widodo, S. 2001. Pengaruh Suhu dan Lama Perkecambahan Biji Kedelai (*Glycine max*) terhadap Mutu Kimia dan Nutrisi Tepung yang Dihasilkan. Skripsi. Fakultas Teknologi Pertanian, Universitas Brawijaya, Malang.
- Winarsi, H. 2010. *Antioksidan Alami dan Radikal Bebas*. Yogyakarta: Kanisius.
- Witztum, J. L. 1994. The Oxidation Hypothesis of Atherosclerosis. *Lancet*, 344(8925): 793-5.
- Wulandari, T., M. Harini, dan S. Listyawati. 2007. Pengaruh Ekstrak Daun Sambiloto (*Andrographis paniculata*) terhadap Struktur Mikroanatomi Hepar dan Kadar Glutamat Piruvat Transaminase Serum Mencit. *Bioteknologi*, 4(2): 53–58.
- Xue, Z., C. Wang, L. Zhai, W. Yu, H. Chang, X. Kou, dan F. Zhou. 2016. Bioactive Compounds and Antioxidant Activity of Mung Bean (*Vigna radiata* L.), Soybean (*Glycine max* L.) and Black Bean (*Phaseolus vulgaris* L.) during the Germination Process. *Czech J. Food Sci.*, 34(1): 68–78. doi: 10.17221/434/2015-CJFS
- Yehia, M. A., S. G. El-Banna, dan A. B. Okab. 2007. Diazinon Toxicity Affects Histophysiological and Biochemical Parameters in Rabbits. *Exp. Toxicol. Pathol.* 59: 215–225.

Yoshimura, Y., H. Nakazawa, dan F. Yamaguchi. 2003. Evaluation of the NO Scavenging Activity of Procyanidin in Grape Seed by Use of the TMA-PTIO/NOC 7 ESR System. *J. Agr. Food Chem*, 51(22): 6409-6412.

Yarrow, G.K., dan D.T. Yarrow. 1999. Managing wildlife. Sweet Water Press. Birmingham. <https://plants.usda.gov>. [Diakses pada 3 Oktober 2018].

Zhao, Y., P. M. Vanhoutte, dan S. W. S. Leung. 2015. Vascular nitric oxide: Beyond eNOS. *Journal of Pharmacological Sciences*, 1-12. doi: doi.org/10.1016/j.jphs.2015.09.002

Zoratti, M., dan I. Szabo. 1995. The Mitochondrial Permeability Transition. *Biochimica et Biophysica Acta*, 1241: 139-176.



LAMPIRAN

3.1 Tabel daftar volume maksimal larutan sediaan uji yang dapat diberikan pada berbagai hewan uji

Jenis Hewan Uji	Volume Maksimal (mL) sesuai Jalur Pemberian				
	i.v.	i.m.	i.p.	s.c.	p.o.
Mencit (20-30 gr)	0,5	0,5	1,0	0,5-10	1,0
Tikus (100 gr)	1,0	0,1	2-5	2-5	5,0
Hamster (50 gr)	-	0,1	1-2	2,5	2,5
Marmot (250 gr)	-	0,25	2-5	5,0	10,0
Merpati (300 gr)	2,0	0,5	2,0	2,0	10,0
Kelinci (2,5 kg)	5-10	0,5	10-20	5-10	20,0
Kucing (3 kg)	5-10	1,0	10-20	5-10	50,0
Anjing (5 kg)	10-20	5,0	20-50	10,0	100,0

Keterangan:

- i.v. : intravena
i.m. : intramuscular
i.p. : intraperitoneal
s.c. : subcutan
p.o. : peroral

(Suhardjono D. 1995. *Percobaan Hewan Laboratorium*. Yogyakarta: Gadjah Mada University Press, hal. 207)

3.2 Tabel perhitungan konversi dosis untuk berbagai jenis hewan uji

	Mencit 20 g	Tikus 200 g	Marmut 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	13,25	27,8	29,7	64,1	124,2	397,9
Tikus 200 g	0,14	1,0	1,74	3,9	4,2	9,2	17,8	56,0
Marmut 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	0,12	0,19	0,42	0,45	1,0	1,9	6,1
Anjing 12 kg	0,008	0,06	0,1	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

(Laurence and Bacharach, 1964, Evaluation of Drug Activities Pharmacometrics, cit: Ngatidjan, 1990, Metode Laboratorium dalam Toksikologi, reviewer: Hakim, L., Pusat Antar Universitas Bioteknologi Universitas Gadjah Mada, Yogyakarta)

3.3 Tabel dosis diazinon

Kelompok	Nomor perlakuan	Berat badan (g)	Dosis diazinon 40 mg/kgBB	Volume yang disondekan dalam corn oil (mL)
K2	1	247 g	9,88 mg	0,24 mL
	2	232 g	9,28 mg	0,23 mL
	3	206 g	8,24 mg	0,21 mL
	4	203 g	8,12 mg	0,20 mL
	5	300 g	12 mg	0,3 mL
K3	1	194 g	7,76 mg	0,19 mL
	2	226 g	9,04 mg	0,22 mL
	3	258 g	10,3 mg	0,25 mL
	4	211 g	8,44 mg	0,21 mL
	5	221 g	8,84 mg	0,22 mL
K4	1	214 g	8,56 mg	0,21 mL
	2	232 g	9,28 mg	0,22 mL
	3	262 g	10,48 mg	0,26 mL
	4	160 g	6,4 mg	0,16 mL
	5	154 g	6,16 mg	0,15 mL
K5	1	238 g	9,52 mg	0,23 mL
	2	215 g	8,6 mg	0,21 mL
	3	202 g	8,08 mg	0,20 mL
	4	228 g	9,12 mg	0,23 mL
	5	175 g	7 mg	0,17 mL

3.4 Analisis kacang kedelai



KEMENTERIAN RISET, TEKNOLOGI DAN PENDIDIKAN TINGGI
UNIVERSITAS JEMBER FAKULTAS PERTANIAN
JURUSAN BUDIDAYA PERTANIAN
Jl. Kalimantan Kampus Tegalboto, Jember 68121;
Telp.: (0331) 334054, Fax.: (0331) 338422, e-mail: soedradjad.faperta@unej.ac.id
www.unej.ac.id

Nomor : 053/UN25.1.3/BP/PS.8/2017 18 September 2017
Lampiran : 2 (lembar) lembar
Hal : Hasil Identifikasi Tumbuhan

Yth. : **Pembantu DEKAN I**
Fakultas Kedokteran
Universitas Jember

Menindaklanjuti surat saudara Nomor: 1549/UN25.1.11/LT/2017, tanggal 4 September 2017 tentang Permohonan Ijin Penelitian untuk identifikasi tanaman, maka bersama ini kami sampaikan hasil identifikasi morfologis 1 (satu) set contoh tanaman lengkap yang terdiri dari daun, batang, akar, dan buah beserta isinya (terlampir) dalam rangka penyusunan skripsi, atas nama:

Nama : Sofi Aliyatul Himah
NIM : 142010101037

Atas kepercayaannya disampaikan terimakasih.

Ketua

Ir. R. Soedradjad, M.T.
NIP. 195707181984031001

Tembusan:
1. Dekan Fakultas Pertanian UNEJ (sebagai Laporan)
2. Mahasiswa yang bersangkutan

HASIL IDENTIFIKASI MORFOLOGIS CONTOH TUMBUHAN

1. MORFOLOGI DAUN	
a. Bangun Daun	Lanset (<i>lanceolatus</i>)
b. Tepi Daun	Rata (<i>integer</i>)
c. Pangkal Daun	tumpul (<i>obtusus</i>)
d. Ujung Daun	Meruncing (<i>acuminatus</i>)
e. Tulang Daun	Menyirip (<i>Penninervis</i>)
f. Warna Ibu Tulang Daun	Hijau
g. Permukaan Atas	Berbulu halus (<i>Villosus</i>)
h. Permukaan Bawah	Berbulu halus (<i>Villosus</i>)
i. Warna Daun	Hijau Tua (bagian atas) dan Hijau Muda (bagian bawah)
j. Duduk Daun	Berhadapan (<i>folia opposita</i>)
k. Rumus Daun	-
l. Jenis Daun	Majemuk bertangkai tiga (<i>trifoliate leaves</i>)
2. MORFOLOGI BATANG	
a. Bentuk Batang	Bulat
b. Tipe Pertumbuhan Batang	Terbatas (<i>determinate</i>)
c. Permukaan Batang	Berbulu Halus
d. Arah Tumbuh	Ke atas
e. Percabangan	5 – 6 cabang
3. MORFOLOGI AKAR	
Sistem perakaran	Tunggang dan bercabang
4. MORFOLOGI BUNGA	Tanaman sudah berbuah (polong)
5. MORFOLOGI BUAH	Berbentuk polong berwarna hijau dan berbulu
6. MORFOLOGI BIJI	Berbentuk bulat telur berwarna hijau
7. MODIFIKASI ORGAN	
a. Jenis Modifikasi	Tidak ada
b. Lain-Lain	Tidak ada

Catatan:

1. Tumbuhan yang diidentifikasi berupa tanaman lengkap dan sudah membentuk polong.
2. Berdasar ciri morfologis, khususnya pada karakter akar, batang, daun, dan bunga dapat disimpulkan bahwa tumbuhan adalah Kedelai (*Glycine max L. Merr*) var Lokal/Baluran.

Jember, 18 September 2017
Pelaksana Identifikasi
PLP Laboratorium Agronomi,



Muhammad Sugiono
NIP. 196712182001121001

3.5 Etik Penelitian

 KEMENTERIAN RISET, TEKNOLOGI DAN PENDIDIKAN TINGGI
UNIVERSITAS JEMBER
KOMISI ETIK PENELITIAN
Jl. Kalimantan 37 Kampus Bumi Tegal Boto Telp/Fax (0331) 337877 Jember
68121 – Email : fk_unej@telkom.net

KETERANGAN PERSETUJUAN ETIK
ETHICAL APPROVA
Nomor : 1.269/H25.1.11/KE/2018

Komisi Etik, Fakultas Kedokteran Universitas Jember dalam upaya melindungi hak asasi dan kesejahteraan subyek penelitian kedokteran, telah mengkaji dengan teliti protokol berjudul :

The Ethics Committee of the Faculty of Medicine, Jember University, With regards of the protection of human rights and welfare in medical research, has carefully reviewed the proposal entitled :

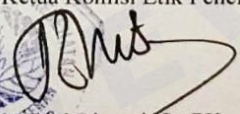

EFEK PEMBERIAN TEPUNG KEDELAI (*Glycine max (L.) Merr.*) SEBAGAI NEFROPROTEKTOR TERHADAP GAMBARAN HISTOPATOLOGI GINJAL TIKUS WISTAR JANTAN YANG DIINDUKSI DIAZINON

Nama Peneliti Utama : Tegar Syaiful Qodar
Name of the principal investigator

NIM : 152010101049

Nama Institusi : Fakultas Kedokteran Universitas Jember
Name of institution

Dan telah menyetujui protokol tersebut diatas.
And approved the above mentioned proposal.

Jember, 30 - 11 - 2018
Ketua Komisi Etik Penelitian

Rini Riyanti, Sp.PK


Tanggapan Anggota Komisi Etik

(Diisi oleh Anggota Komisi Etik, berisi tanggapan sesuai dengan butir-butir isian diatas dan telaah terhadap Protokol maupun dokumen kelengkapan lainnya)

Review Proposal :


1. Mohon diperhatikan perawatan dari hewan coba..
2. Mohon diperhatikan untuk proses pengambilan bahan sampel. Cara pengambilan diusahakan seminimal mungkin tidak menyebabkan nyeri pada hewan coba.
3. Mohon diperhatikan proses setelah pengambilan sampel.

Mengetahui
Ketua Komisi Etik Penelitian




dr. Rini Riyanti, Sp.PK

Jember, 29 November 2018
Reviewer



dr. Kristianingrum Dian Sofiana, M.Biomed

3.6 Rekomendasi bebas plagiasi



KEMENTERIAN RISET, TEKNOLOGI DAN PENDIDIKAN TINGGI
UNIVERSITAS JEMBER
FAKULTAS KEDOKTERAN
Jl. Kalimantan 1/37 Kampus Tegal Boto. Telp. (0331) 337877, Fax (0331) 324446
Jember 68121.

REKOMENDASI BEBAS PLAGIASI

Nomor : 9 /H25.1.11/KBSI/2018


Komisi bimbingan Skripsi dan Ilmiah, Fakultas Kedokteran Universitas Jember dalam upaya peningkatan kualitas dan originalitas karya tulis ilmiah mahasiswa berupa skripsi, telah melakukan pemeriksaan plagiasi atas skripsi yang berjudul :

**EFEK PEMBERIAN TEPUNG KEDELAI (*Glycine max* (L.) Merr.)
SEBAGAI NEFROPROTEKTOR TERHADAP GAMBARAN
HISTOPATOLOGI GINJAL TIKUS WISTAR JANTAN YANG
DIINDUKSI DIAZINON**

Nama Penulis : Tegar Syaiful Qodar
NIM. : 152010101049
Nama Institusi : Fakultas Kedokteran Universitas Jember

Telah menyetujui dan dinyatakan "BEBAS PLAGIASI"
Surat Rekomendasi ini dapat digunakan sebagaimana mestinya.

Jember, 20 Desember 2018
Komisi Bimbingan Skripsi & Ilmiah
Ketua,



Dr., dr. Yunita Armiyanti, M.Kes
NIP. 19740604 200112 2 002

4.1 Skoring histopatologi ginjal tikus orang ke-1

Tabel data skoring histopatologi ginjal tikus

K1	Skor	K2	Skor	K3	Skor	K4	Skor	K5	Skor
1.1.1	2	2.1.1	4	3.1.1	3	4.1.1	2	5.1.1	3
1.1.2	2	2.1.2	4	3.1.2	3	4.1.2	3	5.1.2	3
1.1.3	2	2.1.3	4	3.1.3	3	4.1.3	3	5.1.3	2
1.1.4	2	2.1.4	3	3.1.4	3	4.1.4	3	5.1.4	2
1.1.5	2	2.1.5	3	3.1.5	3	4.1.5	3	5.1.5	3
1.2.1	2	2.3.1	4	3.2.1	3	4.2.1	3	5.3.1	2
1.2.2	2	2.3.2	3	3.2.2	3	4.2.2	3	5.3.2	3
1.2.3	2	2.3.3	3	3.2.3	4	4.2.3	3	5.3.3	3
1.2.4	2	2.3.4	4	3.2.4	2	4.2.4	2	5.3.4	2
1.2.5	2	2.3.5	3	3.2.5	2	4.2.5	4	5.3.5	2
1.3.1	2	2.5.1	4	3.4.1	4	4.3.1	2	5.5.1	2
1.3.2	2	2.5.2	4	3.4.2	4	4.3.2	3	5.5.2	2
1.3.3	1	2.5.3	3	3.4.3	3	4.3.3	3	5.5.3	2
1.3.4	2	2.5.4	4	3.4.4	3	4.3.4	2	5.5.4	3
1.3.5	2	2.5.5	4	3.4.5	2	4.3.5	3	5.5.5	2
1.4.1	2	2.6.1	3	3.6.1	3	4.4.1	3	5.10.1	3
1.4.2	2	2.6.2	3	3.6.2	3	4.4.2	3	5.10.2	2
1.4.3	2	2.6.3	4	3.6.3	3	4.4.3	3	5.10.3	3
1.4.4	1	2.6.4	4	3.6.4	3	4.4.4	2	5.10.4	2
1.4.5	2	2.6.5	4	3.6.5	3	4.4.5	3	5.10.5	3
1.5.1	1	2.8.1	4	3.8.1	3	4.6.1	3	5.12.1	2
1.5.2	2	2.8.2	4	3.8.2	3	4.6.2	2	5.12.2	3
1.5.3	2	2.8.3	4	3.8.3	3	4.6.3	3	5.12.3	2
1.5.4	2	2.8.4	4	3.8.4	3	4.6.4	2	5.12.4	2
1.5.5	2	2.8.5	4	3.8.5	2	4.6.5	2	5.12.5	3

Pengamatan histopatologi ginjal tikus di bawah pengawasan dosen ahli

Mengetahui Dosen Ahli

dr. Rena Normasari, M. Biomed

Tabel konversi skoring histopatologi ginjal tikus

Kategori Skor Jawaban Ordinal	Frekuensi	Proporsi	Proporsi Kumulatif	Z	Densitas {f(z)}	Nilai Hasil Penskalaan
1	3	0.024	0.024	-1.977	0.056	1.000
2	48	0.384	0.408	-0.233	0.388	2.489
3	53	0.424	0.832	0.962	0.251	3.677
4	21	0.168	1.000		0.000	4.848
Jumlah	125					

Tabel data skoring histopatologi ginjal tikus hasil konversi

K1	Skor	K2	Skor	K3	Skor	K4	Skor	K5	Skor
1.1.1	2.489	2.1.1	4.848	3.1.1	3.677	4.1.1	2.489	5.1.1	3.677
1.1.2	2.489	2.1.2	4.848	3.1.2	3.677	4.1.2	3.677	5.1.2	3.677
1.1.3	2.489	2.1.3	4.848	3.1.3	3.677	4.1.3	3.677	5.1.3	2.489
1.1.4	2.489	2.1.4	3.677	3.1.4	3.677	4.1.4	3.677	5.1.4	2.489
1.1.5	2.489	2.1.5	3.677	3.1.5	3.677	4.1.5	3.677	5.1.5	3.677
1.2.1	2.489	2.3.1	4.848	3.2.1	3.677	4.2.1	3.677	5.3.1	2.489
1.2.2	2.489	2.3.2	3.677	3.2.2	3.677	4.2.2	3.677	5.3.2	3.677
1.2.3	2.489	2.3.3	3.677	3.2.3	4.848	4.2.3	3.677	5.3.3	3.677
1.2.4	2.489	2.3.4	4.848	3.2.4	2.489	4.2.4	2.489	5.3.4	2.489
1.2.5	2.489	2.3.5	3.677	3.2.5	2.489	4.2.5	4.848	5.3.5	2.489
1.3.1	2.489	2.5.1	4.848	3.4.1	4.848	4.3.1	2.489	5.5.1	2.489
1.3.2	2.489	2.5.2	4.848	3.4.2	4.848	4.3.2	3.677	5.5.2	2.489
1.3.3	1.000	2.5.3	3.677	3.4.3	3.677	4.3.3	3.677	5.5.3	2.489
1.3.4	2.489	2.5.4	4.848	3.4.4	3.677	4.3.4	2.489	5.5.4	3.677
1.3.5	2.489	2.5.5	4.848	3.4.5	2.489	4.3.5	3.677	5.5.5	2.489
1.4.1	2.489	2.6.1	3.677	3.6.1	3.677	4.4.1	3.677	5.10.1	3.677
1.4.2	2.489	2.6.2	3.677	3.6.2	3.677	4.4.2	3.677	5.10.2	2.489
1.4.3	2.489	2.6.3	4.848	3.6.3	3.677	4.4.3	3.677	5.10.3	3.677
1.4.4	1.000	2.6.4	4.848	3.6.4	3.677	4.4.4	2.489	5.10.4	2.489
1.4.5	2.489	2.6.5	4.848	3.6.5	3.677	4.4.5	3.677	5.10.5	3.677
1.5.1	1.000	2.8.1	4.848	3.8.1	3.677	4.6.1	3.677	5.12.1	2.489
1.5.2	2.489	2.8.2	4.848	3.8.2	3.677	4.6.2	2.489	5.12.2	3.677
1.5.3	2.489	2.8.3	4.848	3.8.3	3.677	4.6.3	3.677	5.12.3	2.489
1.5.4	2.489	2.8.4	4.848	3.8.4	3.677	4.6.4	2.489	5.12.4	2.489
1.5.5	2.489	2.8.5	4.848	3.8.5	2.489	4.6.5	2.489	5.12.5	3.677

Tabel rata-rata per individu skoring histopatologi ginjal tikus hasil konversi

K1	Skor	K2	Skor	K3	Skor	K4	Skor	K5	Skor
1.1	2.489	2.1	4.380	3.1	3.677	4.1	3.439	5.1	3.202
1.2	2.489	2.3	4.145	3.2	3.436	4.2	3.674	5.3	2.964
1.3	2.191	2.5	4.614	3.4	3.908	4.3	3.202	5.5	2.727
1.4	2.191	2.6	4.380	3.6	3.677	4.4	3.439	5.10	3.202
1.5	2.191	2.8	4.848	3.8	3.439	4.6	2.964	5.12	2.964



4.2 Skoring histopatologi ginjal tikus orang ke-2

Tabel data skoring histopatologi ginjal tikus

K1	Skor	K2	Skor	K3	Skor	K4	Skor	K5	Skor
1.1.1	3	2.1.1	2	3.1.1	4	4.1.1	3	5.1.1	3
1.1.2	2	2.1.2	4	3.1.2	4	4.1.2	3	5.1.2	3
1.1.3	3	2.1.3	4	3.1.3	3	4.1.3	2	5.1.3	2
1.1.4	2	2.1.4	3	3.1.4	3	4.1.4	2	5.1.4	2
1.1.5	3	2.1.5	4	3.1.5	4	4.1.5	3	5.1.5	3
1.2.1	3	2.3.1	4	3.2.1	2	4.2.1	3	5.3.1	2
1.2.2	2	2.3.2	3	3.2.2	2	4.2.2	3	5.3.2	3
1.2.3	2	2.3.3	3	3.2.3	3	4.2.3	3	5.3.3	3
1.2.4	2	2.3.4	3	3.2.4	3	4.2.4	3	5.3.4	1
1.2.5	1	2.3.5	4	3.2.5	3	4.2.5	4	5.3.5	2
1.3.1	2	2.5.1	4	3.4.1	3	4.3.1	1	5.5.1	2
1.3.2	3	2.5.2	3	3.4.2	4	4.3.2	2	5.5.2	2
1.3.3	2	2.5.3	4	3.4.3	2	4.3.3	3	5.5.3	2
1.3.4	1	2.5.4	4	3.4.4	3	4.3.4	3	5.5.4	3
1.3.5	2	2.5.5	4	3.4.5	3	4.3.5	3	5.5.5	2
1.4.1	3	2.6.1	3	3.6.1	2	4.4.1	3	5.10.1	3
1.4.2	2	2.6.2	4	3.6.2	3	4.4.2	2	5.10.2	2
1.4.3	2	2.6.3	2	3.6.3	3	4.4.3	3	5.10.3	3
1.4.4	3	2.6.4	4	3.6.4	2	4.4.4	3	5.10.4	2
1.4.5	2	2.6.5	4	3.6.5	3	4.4.5	2	5.10.5	3
1.5.1	2	2.8.1	4	3.8.1	2	4.6.1	3	5.12.1	2
1.5.2	2	2.8.2	3	3.8.2	4	4.6.2	3	5.12.2	3
1.5.3	3	2.8.3	4	3.8.3	2	4.6.3	2	5.12.3	3
1.5.4	3	2.8.4	3	3.8.4	2	4.6.4	3	5.12.4	2
1.5.5	1	2.8.5	4	3.8.5	3	4.6.5	3	5.12.5	2

Pengamatan histopatologi ginjal tikus di bawah pengawasan dosen ahli

Mengetahui Dosen Ahli

dr. Rena Normasari, M. Biomed

Tabel konversi skoring histopatologi ginjal tikus

Kategori Skor Jawaban Ordinal	Frekuensi	Proporsi	Proporsi Kumulatif	Z	Densitas {f(z)}	Nilai Hasil Penskalaan
1	5	0.040	0.040	-1.751	0.086	1.000
2	42	0.336	0.376	-0.316	0.380	2.281
3	57	0.456	0.832	0.962	0.251	3.436
4	21	0.168	1.000		0.000	4.649
Jumlah	125					

Tabel data skoring histopatologi ginjal tikus hasil konversi

K1	Skor	K2	Skor	K3	Skor	K4	Skor	K5	Skor
1.1.1	3.436	2.1.1	2.281	3.1.1	4.649	4.1.1	3.436	5.1.1	3.436
1.1.2	2.281	2.1.2	4.649	3.1.2	4.649	4.1.2	3.436	5.1.2	3.436
1.1.3	3.436	2.1.3	4.649	3.1.3	3.436	4.1.3	2.281	5.1.3	2.281
1.1.4	2.281	2.1.4	3.436	3.1.4	3.436	4.1.4	2.281	5.1.4	2.281
1.1.5	3.436	2.1.5	4.649	3.1.5	4.649	4.1.5	3.436	5.1.5	3.436
1.2.1	3.436	2.3.1	4.649	3.2.1	2.281	4.2.1	3.436	5.3.1	2.281
1.2.2	2.281	2.3.2	3.436	3.2.2	2.281	4.2.2	3.436	5.3.2	3.436
1.2.3	2.281	2.3.3	3.436	3.2.3	3.436	4.2.3	3.436	5.3.3	3.436
1.2.4	2.281	2.3.4	3.436	3.2.4	3.436	4.2.4	3.436	5.3.4	1.000
1.2.5	1.000	2.3.5	4.649	3.2.5	3.436	4.2.5	4.649	5.3.5	2.281
1.3.1	2.281	2.5.1	4.649	3.4.1	3.436	4.3.1	1.000	5.5.1	2.281
1.3.2	3.436	2.5.2	3.436	3.4.2	4.649	4.3.2	2.281	5.5.2	2.281
1.3.3	2.281	2.5.3	4.649	3.4.3	2.281	4.3.3	3.436	5.5.3	2.281
1.3.4	1.000	2.5.4	4.649	3.4.4	3.436	4.3.4	3.436	5.5.4	3.436
1.3.5	2.281	2.5.5	4.649	3.4.5	3.436	4.3.5	3.436	5.5.5	2.281
1.4.1	3.436	2.6.1	3.436	3.6.1	2.281	4.4.1	3.436	5.10.1	3.436
1.4.2	2.281	2.6.2	4.649	3.6.2	3.436	4.4.2	2.281	5.10.2	2.281
1.4.3	2.281	2.6.3	2.281	3.6.3	3.436	4.4.3	3.436	5.10.3	3.436
1.4.4	3.436	2.6.4	4.649	3.6.4	2.281	4.4.4	3.436	5.10.4	2.281
1.4.5	2.281	2.6.5	4.649	3.6.5	3.436	4.4.5	2.281	5.10.5	3.436
1.5.1	2.281	2.8.1	4.649	3.8.1	2.281	4.6.1	3.436	5.12.1	2.281
1.5.2	2.281	2.8.2	3.436	3.8.2	4.649	4.6.2	3.436	5.12.2	3.436
1.5.3	3.436	2.8.3	4.649	3.8.3	2.281	4.6.3	2.281	5.12.3	3.436
1.5.4	3.436	2.8.4	3.436	3.8.4	2.281	4.6.4	3.436	5.12.4	2.281
1.5.5	1.000	2.8.5	4.649	3.8.5	3.436	4.6.5	3.436	5.12.5	2.281

Tabel rata-rata per individu skoring histopatologi ginjal tikus hasil konversi

K1	Skor	K2	Skor	K3	Skor	K4	Skor	K5	Skor
1.1	2.974	2.1	3.933	3.1	4.164	4.1	2.974	5.1	2.974
1.2	2.256	2.3	3.921	3.2	2.974	4.2	3.679	5.3	2.487
1.3	2.256	2.5	4.406	3.4	3.448	4.3	2.718	5.5	2.512
1.4	2.743	2.6	3.933	3.6	2.974	4.4	2.974	5.10	2.974
1.5	2.487	2.8	4.164	3.8	2.986	4.6	3.205	5.12	2.743



4.3 Tabel rata-rata per individu skoring histopatologi ginjal tikus orang ke-1 dan orang ke-2 hasil konversi

K1	Skor	K2	Skor	K3	Skor	K4	Skor	K5	Skor
1.1	2.732	2.1	4.156	3.1	3.920	4.1	3.207	5.1	3.088
1.2	2.372	2.3	4.033	3.2	3.205	4.2	3.676	5.3	2.726
1.3	2.224	2.5	4.510	3.4	3.678	4.3	2.960	5.5	2.619
1.4	2.467	2.6	4.156	3.6	3.326	4.4	3.207	5.10	3.088
1.5	2.339	2.8	4.506	3.8	3.213	4.6	3.085	5.12	2.854



4.3 Analisis data statistik

Uji normalitas

Tests of Normality

Kelompok	Kolmogorov-Smirnov ^a			Shapiro-Wilk		
	Statistic	df	Sig.	Statistic	df	Sig.
skor 1	.233	5	.200*	.968	5	.860
2	.300	5	.159	.825	5	.127
3	.273	5	.200*	.857	5	.216
4	.329	5	.081	.870	5	.265
5	.243	5	.200*	.890	5	.356

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

a. Lilliefors Significance Correction

Ujia homogenitas

Test of Homogeneity of Variances

skor

Levene Statistic	df1	df2	Sig.
.838	4	20	.517

Uji One Way ANOVA

ANOVA

skor

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	9.315	4	2.329	38.475	.000
Within Groups	1.211	20	.061		
Total	10.526	24			

Uji post hoc *Tukey HSD*

Multiple Comparisons

Dependent Variable: skor

Tukey HSD

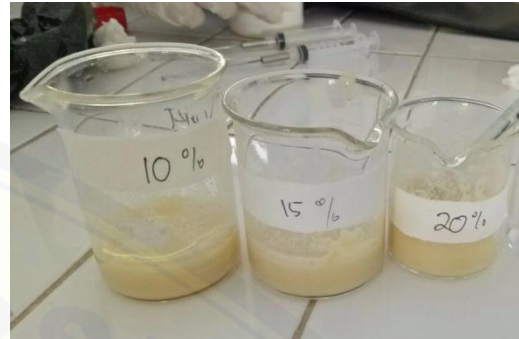
(I) Kelompok	(J) Kelompok	Mean Difference (I-J)	Std. Error	Sig.	95% Confidence Interval	
					Lower Bound	Upper Bound
1	2	-1.845640*	.156083	.000	-2.31270	-1.37858
	3	-1.041520*	.156083	.000	-1.50858	-.57446
	4	-.800080*	.156083	.000	-1.26714	-.33302
	5	-.448140	.156083	.064	-.91520	.01892
2	1	1.845640*	.156083	.000	1.37858	2.31270
	3	.804120*	.156083	.000	.33706	1.27118
	4	1.045560*	.156083	.000	.57850	1.51262
	5	1.397500*	.156083	.000	.93044	1.86456
3	1	1.041520*	.156083	.000	.57446	1.50858
	2	-.804120*	.156083	.000	-1.27118	-.33706
	4	.241440	.156083	.546	-.22562	.70850
	5	.593380*	.156083	.009	.12632	1.06044
4	1	.800080*	.156083	.000	.33302	1.26714
	2	-1.045560*	.156083	.000	-1.51262	-.57850
	3	-.241440	.156083	.546	-.70850	.22562
	5	.351940	.156083	.201	-.11512	.81900
5	1	.448140	.156083	.064	-.01892	.91520
	2	-1.397500*	.156083	.000	-1.86456	-.93044
	3	-.593380*	.156083	.009	-1.06044	-.12632
	4	-.351940	.156083	.201	-.81900	.11512

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

4.5 Dokumentasi penelitian



Bentuk tepung kedelai



Melarutkan tepung kedelai dalam aquades



Penyondean pada hewan coba



Adaptasi hewan coba



Sampel ginjal setelah dikeluarkan dari dalam tubuh tikus



Terminasi hewan coba dan pengambilan ginjal tikus



Preparat histopatologi ginjal tikus

