

**PENGARUH PEMBERIAN EKSTRAK ETANOL KULIT BATANG BAKAU
MINYAK (*Rhizophora apiculata*) TERHADAP HISTOPATOLOGI GINJAL
TIKUS PUTIH JANTAN (*Rattus norvergicus*) GALUR SPRAGUE-
DAWLEY YANG DIPAPARKAN ASAP ROKOK**

(Skripsi)

**Oleh
SARASMITA NIRMALA DEWI**



**PROGRAM STUDI PENDIDIKAN DOKTER
FAKULTAS KEDOKTERAN
UNIVERSITAS LAMPUNG
BANDAR LAMPUNG
2019**

**PENGARUH PEMBERIAN EKSTRAK ETANOL KULIT BATANG BAKAU
MINYAK (*Rhizophora apiculata*) TERHADAP HISTOPATOLOGI GINJAL
TIKUS PUTIH JANTAN (*Rattus norvergicus*) GALUR SPRAGUE-
DAWLEY YANG DIPAPARKAN ASAP ROKOK**

Oleh

SARASMITA NIRMALA DEWI

Skripsi

Sebagai Salah Satu Syarat untuk Memperoleh Gelar

SARJANA KEDOKTERAN

pada

Jurusan Pendidikan Dokter

Fakultas Kedokteran Universitas Lampung



**FAKULTAS KEDOKTERAN
UNIVERSITAS LAMPUNG
BANDAR LAMPUNG
2019**

Judul Skripsi : PENGARUH PEMBERIAN EKSTRAK ETANOL KULIT BATANG BAKAU MINYAK (*Rhizophora apiculata*) TERHADAP HISTOPATOLOGI GINJAL TIKUS PUTIH JANTAN (*Rattus norvegicus*) GALUR SPRAGUE-DAWLEY YANG DIPAPARKAN ASAP ROKOK

Nama Mahasiswa : SARASMITA NIRMALA DEWI

No. Pokok Mahasiswa : 1518011024

Program Studi : Pendidikan Dokter

Fakultas : Kedokteran



1. Komisi Pembimbing

dr. Syazli Mustofa, S.Ked., M.Biomed
NIP. 19830713 200812 1 003

dr. Riyan Wahyudo, S. Ked.
NIK. 231609910111101

2. Dekan Fakultas Kedokteran

Dr. dr. Muhartono, S.Ked., M.Kes., Sp.PA
NIP 19701208 200112 1 001

MENGESAHKAN

1. Tim Penguji

Ketua : dr. Syazili Mustofa, S.Ked., M.Biomed

Sekretaris : dr. Riyan Wahyudo, S. Ked.

Penguji

Bukan Pembimbing: Dr. dr. Suslanti, S.Ked., M.Sc

2. Dekan Fakultas Kedokteran

Dr. dr. Muhartono, S.Ked., M.Kes., Sp.PA
NIP. 197012082001121001

Tanggal Lulus Ujian Skripsi: 18 Januari 2019

LEMBAR PERNYATAAN

Dengan ini saya menyatakan dengan sebenarnya, bahwa:

1. Skripsi dengan judul “PENGARUH PEMBERIAN EKSTRAK ETANOL KULIT BATANG BAKAU MINYAK (*Rhizophora apiculata*) TERHADAP HISTOPATOLOGI GINJAL TIKUS PUTIH JANTAN (*Rattus novergicus*) GALUR SPARGUE-DAWLEY YANG TERPAPAR ASAP ROKOK” adalah hasil karya saya sendiri dan tidak melakukan penjiplakan atau pengutipan atas karya penulis lain dengan cara tidak sesuai tata etika ilmiah yang berlaku dalam masyarakat akademik atau disebut plagiarism.
2. Hak intelektual atas karya ilmiah ini diserahkan sepenuhnya kepada Universitas Lampung.

Atas pernyataan ini, apabila dikemudian hari ternyata ditemukan adanya ketidakbenaran saya bersedia menanggung akibat dari sanksi yang diberikan kepada saya.

Bandar Lampung, 20 Januari 2019

Pembuat Pernyataan



Sarasmita Nirmala Dewi

RIWAYAT HIDUP

Penulis bernama Sarasmita Nirmala Dewi, dilahirkan di Desa Bandar Agung pada tanggal 20 Oktober 1998 sebagai anak pertama dari empat bersaudara dari pasangan Bapak Sungkono, S.Pd dan Ibu Sumarni, S.Pd.

Riwayat pendidikan penulis yaitu pendidikan dasar di SDN 5 Lempuyang Bandar yang diselesaikan pada tahun 2010, menengah pertama di SMPN 3 Terusan Nunyai yang diselesaikan pada tahun 2013, dan menengah atas di SMAN 1 Terbanggi Besar yang diselesaikan pada tahun 2015.

Tahun 2015 penulis diterima sebagai mahasiswa Program Studi Pendidikan Dokter Fakultas Kedokteran Universitas Lampung melalui jalur Seleksi Nasional Masuk Perguruan Tinggi Negeri (SNMPTN).

Selama menjadi mahasiswa, penulis aktif mengikuti organisasi Forum Studi Islam Ibnu Sina Fakultas Kedokteran Universitas Lampung sebagai anggota BKPM 2016-2017.

Alhamdulillah

Dengan penuh rasa syukur kepada Allah SWT, sebuah karya sederhana ini yang dikerjakan dengan penuh kesungguhan dan kesabaran yang diharapkan dapat bermanfaat, Skripsi ini ku persembahkan untuk kedua orangtua dan adikku tercinta yang selalu mendukung serta nasihatnya yang menjadi jembatan perjalanan hidupku.

SANWACANA

Alhamdulillah, segala puji dan syukur penulis panjatkan kehadirat Allah SWT, Tuhan Yang Maha Pengasih dan Maha Penyayang. Atas berkat limpahan rahmat-Nya penulis dapat menyelesaikan skripsi ini. Shalawat dan salam semoga senantiasa tercurah kepada baginda Rasulullah Muhammad SAW, beserta keluarganya, para sahabatnya, dan umatnya.

Skripsi dengan judul “Pengaruh Pemberian Ekstrak Kulit Batang Bakau Minyak (*Rhizophora apiculata*) Etanol terhadap Histopatologi Ginjal Tikus Putih Jantan (*Rattus norvegicus*) Galur Sprague-Dawley yang dipaparkan Asap Rokok” merupakan salah satu syarat untuk memperoleh gelar Sarjana Kedokteran di Fakultas Kedokteran Universitas Lampung.

Ucapan terimakasih penulis ucapkan kepada semua pihak yang baik secara langsung maupun tak langsung berperan dengan memberikan dukungan, bimbingan, kritik, dan saran sehingga skripsi ini dapat terselesaikan, antara lain kepada:

1. Prof. Dr. Ir. Hasriadi Mat Akin, M.P., selaku Rektor Universitas Lampung.
2. Dr. dr. Muhartono, S.Ked., M.Kes., Sp.PA, selaku Dekan Fakultas Kedokteran Universitas Lampung.
3. dr. Syazili Mustofa, S.Ked., M.Biomed., selaku Pembimbing I atas kesediannya meluangkan waktu, memberikan bimbingan, saran, dan dorongan selama penyelesaian skripsi ini.
4. dr. Riyan Wahyudo, S.Ked., selaku Pembimbing II atas saran, dukungan, ketersediaan waktu, serta bimbingannya selama penyelesaian skripsi ini.

5. Dr. dr. Susianti, S.Ked., M.Sc., selaku Penguji Utama pada ujian skripsi ini yang telah memberikan kritik dan saran yang bersifat membangun, sekaligus membimbing selama penyelesaian skripsi ini.
6. dr. Roro Rukmini Windi Perdani, S.Ked., Sp. A., selaku Pembimbing Akademik selama penulis menjalankan studi di Fakultas Kedokteran Universitas Lampung.
7. Seluruh dosen dan staf karyawan Fakultas Kedokteran Universitas Lampung yang telah berjasa selama ini.
8. Bapak dan Ibu yang tak pernah lupa memanjatkan doa kepada Allah SWT demi kesuksesan penulis, sehingga penulis bisa sampai pada tahap ini.
9. Adik tercinta Chandrika, Yusuf dan Praditya yang tawanya tak pernah gagal untuk menumbuhkan motivasi diri agar selalu bangkit dan tidak menyerah.
10. Tim Laboratorium Biokimia, Fisiologi dan Biologi Molekuler Fakultas Universitas Lampung, dr. Syazili Mustofa, M. Biomed, Ibu Soraya Rahmanisa, S. Si., M. Sc., Ibu Nuriah A,Md Ak., dan Mba Yani A,Md., terimakasih atas segala ilmu dan pengalaman yang telah diberikan
11. Tim Laboratorium Patologi Anatomi Fakultas Kedokteran Universitas Lampung, dr. Rizki Hanriko, Sp.PA dan Mas Bayu A. Md Ak., S.T., terimakasih atas segala ilmu dan pengalaman yang telah diberikan.
12. Sahabat saya yang selalu ada dalam keadaan apapun: Fikta, Azizah, Darna. terima kasih atas doa, pengalaman, dan dukungan yang sangat berharga selama ini hingga ke depan.

13. Tim penelitian saya (Nicholas, Fauziah, Veny dan Brandon), terima kasih atas kesabaran, semangat, ketekunan, yang terus berbagi ilmu selama berlangsungnya penelitian dan penyusunan skripsi
14. Teman-teman sejawat angkatan 2015 (ENDOM15IUM), terimakasih atas kebersamaannya selama 3,5 tahun ini.
15. Teman SMA Akselerasi Generasi 11 (GELAS) terima kasih atas doa, pengalaman, dan dukungan yang sangat berharga selama ini hingga ke depan.
16. Semua pihak yang baik secara langsung maupun tidak langsung turut membantu dalam penyelesaian skripsi ini.

Penulis berharap semoga jasa pihak-pihak yang telah memberikan dukungan dan bantuan kepada penulis selama ini akan mendapat balasan kebaikan dari Allah SWT.

Penulis menyadari bahwa masih banyak kekurangan dan kesalahan dalam skripsi ini, akan tetapi penulis berharap semoga skripsi ini dapat bermanfaat bagi kita semua.

Bandarlampung, Januari 2019

Penulis,

Sarasmita Nirmala Dewi

ABSTRACT

THE EFFECT OF ETHANOL EXTRACT OF *Rhizophora apiculata* BARK ON THE KIDNEY HISTOPATHOLOGY OF MALE RATS (*Rattus norvergicus*) SPRAGUE-DAWLEY STRAIN WERE IS EXPOSED TO CIGARETTE SMOKE.

By

SARASMITA NIRMALA DEWI

Background. *Rhizophora apiculata* bark contains high antioxidants including triterpenoids, steroids, saponins and tannins. High antioxidant can prevent oxidative stress, one of which is caused by free radicals from cigarette smoke. The purpose of this study was to determine the potential of *Rhizophora apiculata* in protecting kidney damage from exposed to cigarette smoke of male white rats (*Rattus novergicus*) *Spargue-Dawley* strain.

Methods. This study used 25 rats divided into 10 groups for 30 days, namely group K (-) which was not exposed to cigarette smoke and extracts of mangrove bark, group K (+) which was only given exposure to cigarette smoke, group P1 given extract mangrove bark with a dose of 28.27 mg/kgBB and given exposure to cigarette smoke 24 cigarettes per day, P2 group given the extract of mangrove bark with a dose of 56.55 mg/kgBB and given exposure to cigarette smoke 24 cigarettes per day, and the P3 group given mangrove bark extract with a dose of 113.1 mg/kgBB and given cigarette smoke exposure 24 cigarettes per day. Kidney histopathology was assessed using a microscope with a 400x magnification in 5 fields. Data were analyzed using the Kruskal-Wallis test.

Results. The mean score of kidney damage in group K (-) was 0.4, group K (+) was 3.6, group P1 was 2.4, group P2 was 2.4 and group P3 was 2.2. The *Kruskal-Wallis* test results obtained a p value of 0.001, which means that there were significant differences in at least 2 treatment groups.

Conclusion. There is an effect of the administration of mangrove bark extract (*Rhizophora apiculata*) on the histopathology of kidney male white rats exposed to cigarette smoke, with a statistically effective dose is the dose of 28.27 mg/ml.

Keyword: cigarette, histopathology, kidney, *Rhizophora apiculata*, *Spargue-Dawley*.

ABSTRAK

PENGARUH PEMBERIAN EKSTRAK ETANOL KULIT BATANG BAKAU MINYAK (*Rhizophora apiculata*) TERHADAP HISTOPATOLOGI GINJAL TIKUS PUTIH JANTAN (*Rattus norvergicus*) GALUR SPRAGUE-DAWLEY YANG DIPAPARKAN ASAP ROKOK

Oleh

SARASMITA NIRMALA DEWI

Latar belakang. Kulit batang bakau minyak (*Rhizophora apiculata*) mengandung antioksidan yang tinggi diantaranya triterpenoid, steroid, saponin dan tanin. Kandungan antioksidan yang tinggi dapat mencegah terjadinya stress oksidatif, salah satunya disebabkan oleh radikal bebas dari asap rokok. Tujuan penelitian ini mengetahui potensi kulit batang bakau minyak (*Rhizophora apiculata*) dalam melindungi kerusakan organ ginjal tikus putih jantan (*Rattus norvergicus*) galur *Spargue-Dawley* yang terpapar asap rokok.

Metode penelitian. Penelitian ini menggunakan 25 ekor tikus yang terbagi dalam 10 kelompok selama 30 hari, yaitu kelompok K(-) yang tidak diberikan paparan asap rokok dan ekstrak kulit batang bakau, kelompok K(+) yang hanya diberikan paparan asap rokok, kelompok P1 yang diberikan ekstrak kulit batang bakau minyak dengan dosis 28,27 mg/kgBB serta diberikan paparan asap rokok 24 batang perhari, kelompok P2 yang diberikan ekstrak kulit batang bakau minyak dengan dosis 56,55 mg/kgBB serta diberikan paparan asap rokok 24 batang perhari, dan kelompok P3 yang diberikan ekstrak kulit batang bakau minyak dengan dosis 113,1 mg/kgBB serta diberikan paparan asap rokok 24 batang perhari. Histopatologi ginjal dinilai menggunakan mikroskop dengan perbesaran 400x dalam 5 lapang pandang. Data dianalisis menggunakan uji *Kruskall-Wallis*.

Hasil penelitian. Median skor kerusakan ginjal pada kelompok K(-) ialah 0,4, kelompok K(+) sebesar 3,6, kelompok P1 sebesar 2,4, kelompok P2 sebesar 2,4 dan kelompok P3 sebesar 2,2. Hasil uji *Kruskal-Wallis* di dapatkan nilai p sebesar 0,001, yang berarti bahwa terdapat perbedaan yang bermakna setidaknya pada 2 kelompok perlakuan.

Simpulan. Terdapat pengaruh dari pemberian ekstrak kulit batang bakau (*Rhizophora apiculata*) terhadap histopatologi ginjal tikus putih jantan yang terpapar asap rokok, dengan secara statistik dosis yang efektif ialah dosis 28,27 mg/ml

Kata kunci: Ginjal, Histopatologi, *Rhizophora apiculata*, Rokok, *Spargue-Dawley*.

DAFTAR ISI

DAFTAR ISI.....	xiii
DAFTAR GAMBAR	xv
DAFTAR TABEL.....	xvi
BAB I PENDAHULUAN	1
1.1. Latar Belakang.....	1
1.2. Rumusan Masalah.....	4
1.3. Tujuan Penelitian.....	4
1.4. Manfaat Penelitian.....	5
BAB II TINJAUAN PUSTAKA.....	6
2.1 Rokok.....	6
2.2 Ginjal	10
2.3 Stress Oksidatif dan Radikal Bebas.....	20
2.4 Antioksidan.....	23
2.5 Tanaman Bakau Minyak.....	24
2.6 Tikus Putih.....	28
2.7 Kerangka Teori	30
2.8 Kerangka Konsep	32
2.9 Hipotesis Penelitian	32
BAB III METODELOGI PENELITIAN	33
3.1 Jenis Penelitian	33
3.2 Lokasi Penelitian	33
3.3 Subjek Penelitian	33
3.4 Rancangan Penelitian	35
3.5 Identifikasi Variabel Penelitian	36
3.6 Definisi Operasional Variabel Penelitian	36
3.7 Alat dan Bahan	37
3.8 Cara Kerja.....	39

3.9 Teknik Analisis Data	47
3.10 Alur Penelitian.....	48
3.11 Etika Penelitian.....	49
BAB IV HASIL DAN PEMBAHASAN	51
4.1. HASIL PENELITIAN	51
4.2. PEMBAHASAN.....	62
BAB V PENUTUP.....	67
5.1 KESIMPULAN	67
5.1 SARAN.....	67
DAFTAR PUSTAKA	69

DAFTAR GAMBAR

Gambar 1. Ginjal.....	11
Gambar 2. Pembuluh Darah Utama yang Menyuplai Aliran Darah ke Ginjal dan Skema Mikrosirkulasi pada Setiap Nefron	12
Gambar 3. Proses Pembentukan Urin oleh Ginjal	14
Gambar 4. Nefron Ginjal.....	15
Gambar 5. Korpuskel Ginjal	16
Gambar 6. Perbedaan Tubulus Kontortus Proksimal dan Distal.....	17
Gambar 7. Medula ginjal: daerah papilaris potongan longitudinal.....	18
Gambar 8. Histopatologi ginjal mencit yang terpapar asap rokok.....	19
Gambar 9. Histopatologi ginjal mencit yang terpapar asap rokok.....	20
Gambar 10. <i>Rhizophora Apiculata</i> : akar (a), batang (b), daun (c).....	25
Gambar 11. Tikus Putih (<i>Rattus norvegicus</i>) Galur <i>Sprague Dawley</i>	30
Gambar 12. Kerangka Teori.....	31
Gambar 13. Kerangka Konsep	32
Gambar 14. Pemaparan Asap Rokok	41
Gambar 15. Diagram Alur Penelitian.....	48
Gambar 16. Gambaran Histopatologi Ginjal Kelompok Kontrol (-)	53
Gambar 17. Gambaran Histopatologi Ginjal Kelompok Kontrol (+)	54
Gambar 18. Gambaran Histopatologi Ginjal Kelompok Perlakuan 1.....	56
Gambar 19. Gambaran Histopatologi Ginjal Kelompok Perlakuan 2.....	57
Gambar 20. Gambaran Histopatologi Ginjal Kelompok Perlakuan 3.....	58

DAFTAR TABEL

Tabel 1. Uji fitokimia ekstrak kasar batang, kulit batang, dan akar <i>R. apiculata</i>	26
Tabel 2. Nilai IC ₅₀ antioksidan pada ekstrak kasar bakau <i>R. apiculata</i>	26
Tabel 3. Definisi Operasional	36
Tabel 4. Hasil Skor Kerusakan Ginjal Tiap Kelompok	59
Tabel 5. Hasil Median Jumlah Skor Glomerulus dan Tubulus	60
Tabel 6. Hasil Uji Normalitas Shaphiro-Wilk pada Tiap Kelompok Perlakuan.....	60
Tabel 7. Hasil Uji Post-Hoc Mann-Whitney	61

BAB I

PENDAHULUAN

1.1. Latar Belakang

Hutan *mangrove* di Indonesia adalah hutan *mangrove* yang terluas di dunia. Luas hutan *mangrove* di Indonesia yakni sebesar 27% dari total hutan *mangrove* yang tersebar diseluruh dunia, atau 75% dari total luas hutan *mangrove* di Asia Tenggara. Luas hutan *mangrove* di Indonesia sekitar 4.251.011,03 hektar dan jumlah spesies lebih dari 45 spesies dengan penyebaran: 15,46% di Sumatera, 2,35% di Sulawesi, 2,35% di Maluku, 9,02% di Kalimantan, 1,03% di Jawa, 0,18% di Bali dan Nusa Tenggara, dan 69,43% di Irian Jaya. Luasnya hutan *mangrove* di Indonesia diikuti dengan banyaknya jenis mangrove yang terdapat di Indonesia (Rusdianti dan Sunito, 2012; Pratiwi dan Widyastuti, 2013).

Jenis-jenis pohon *mangrove* yang terdapat di Indonesia seperti *Avicennia sp*, *Sonneratia sp*, *Rhizophora sp*, *Bruguiera sp*, dan *Ceriops sp*. Salah satu tumbuhan dari ekosistem hutan *mangrove* di Indonesia ialah tanaman bakau minyak (*Rhizophora apiculata*). Batang dari tanaman bakau minyak ini mengandung antioksidan yang tinggi diantaranya triterpenoid, steroid, saponin dan tanin. Pada kulit batang bakau minyak, tanin memiliki aktivitas

antioksidan tertinggi. Antioksidan yang tinggi ini dapat mencegah terjadinya stress oksidatif (Abdullah, 2011).

Stres oksidatif adalah ketidakseimbangan antara radikal bebas dan antioksidan di dalam tubuh. Stres oksidatif menyebabkan kerusakan tubuh akibat meningkatnya *Reactive Oxygen Species (ROS)* sebagai respon akibat adanya stressor. Dampak negatif dari *ROS* yang timbul dapat merusak komponen sel di seluruh tubuh, termasuk sel nefron yang terdapat pada ginjal. Kadar radikal bebas didalam tubuh dapat meningkat akibat paparan asap rokok dari luar. (Widayati, 2015; Zalukhu, *et al.*, 2016).

Rokok merupakan salah satu ancaman kesehatan masyarakat terbesar yang ada di dunia. Setiap tahunnya, rokok membunuh 7 juta masyarakat dunia. Lebih dari 6 juta diantaranya disebabkan langsung dari perokok aktif, sedangkan sekitar 890.000 disebabkan oleh asap rokok dari perokok aktif disekitarnya. Sekitar 80% dari 1,1 miliar dari perokok aktif diseluruh dunia hidup di negara berpenghasilan rendah sampai menengah, salah satunya ialah Indonesia (WHO, 2018).

Indonesia merupakan negara ketiga di dunia dengan jumlah perokok terbanyak setelah China dan India. Menurut data Riskesdas, proporsi perokok di Indonesia ialah sebanyak 29,3% pada tahun 2013. Tingginya angka perokok di Indonesia dapat berdampak meningkatnya angka kejadian penyakit akibat rokok yang berakhir dengan kematian. Penyakit-penyakit tersebut terjadi

karena rokok merusak semua organ di dalam tubuh. Merokok meningkatkan resiko untuk terjadinya kerusakan paru-paru, impotensi dan gangguan organ reproduksi, stroke dan penyakit jantung, kerusakan organ pencernaan, serta kerusakan pada organ ginjal (Kementrian Kesehatan RI, 2013; Departemen Kesehatan, 2014; Kementerian Kesehatan RI, 2016).

Salah satu penyakit yang ditimbulkan oleh rokok ialah gagal ginjal kronik. Menurut hasil penelitian Aisyah, *et al.*, (2015), terdapat hubungan yang signifikan antara aktivitas merokok dengan kejadian gagal ginjal kronik pada pasien pralansia dan lansia. Selain itu, pada penelitian Hermawan (2016), paparan asap rokok dapat merusak histopatologi ginjal mencit berupa atrofi glomerulus dan nekrosis tubulus ginjal. Merokok mengaktivasi sistem saraf simpatis akut yang dapat menyebabkan takikardi dan peningkatan tekanan darah sistolik sebanyak 21mmHg. Hal tersebut dikarenakan terjadinya vasokonstriksi di berbagai pembuluh darah, termasuk pembuluh darah di ginjal, sehingga dapat menyebabkan gangguan aliran darah ginjal terganggu, peningkatan retensi renovaskuler dan penurunan laju GFR (*Glomerulus Filtration Rate*). Paparan asap rokok secara akut dapat menyebabkan peningkatan resistensi renovaskuler sebanyak 11%, yang disertai dengan penurunan laju GFR sebanyak 15%. (Taal, 2018). Penelitian sebelumnya oleh Abdullah (2011) mengambil tema mengenai kandungan antioksidan yang terdapat pada bakau minyak. Berdasarkan penelitian tersebut peneliti mengambil pembaharuan dari penelitian sebelumnya untuk meneliti: “Pengaruh Pemberian Ekstrak Etanol Kulit Batang Bakau Minyak (*Rhizophora*

Apiculata) terhadap Histopatologi Renal Tikus Putih Jantan (*Rattus Norvergicus*) Galur *Sprague-Dawley* yang dipaparkan Asap Rokok”.

1.2. Rumusan Masalah

Berdasarkan latar belakang diatas, maka dapat disusun rumusan masalah sebagai berikut:

1. Apakah terdapat pengaruh pemberian ekstrak etanol 95% kulit batang bakau minyak (*Rhizophora apiculata*) terhadap histopatologi ginjal tikus putih jantan (*Rattus novergicus*) galur *Spargue Dawley* yang terpapar asap rokok?
2. Berapakah dosis efektif dari ekstrak etanol 95% kulit batang bakau minyak (*Rhizophora apiculata*) yang memberikan efek protektif terhadap gambaran histopatologi ginjal tikus putih jantan (*Rattus norvegicus*) galur *Sprague-dawley* yang dipaparkan asap rokok?

1.3. Tujuan Penelitian

Berdasarkan rumusan masalah diatas, maka tujuan dari penitian ini dilakukan adalah sebagai berikut:

1. Untuk mengetahui apakah terdapat pengaruh pemberian dosis ekstrak etanol 95% kulit batang bakau minyak (*Rhizophora apiculata*) terhadap histopatologi ginjal tikus putih jantan (*Rattus novergicus*) galur *Spargue Dawley* yang terpapar asap rokok.
2. Untuk mengetahui dosis efektif dari ekstrak etanol 95% kulit batang bakau minyak (*Rhizophora apiculata*) yang dapat memberikan efek proktektif

terhadap gambaran histopatologi ginjal tikus putih jantan (*Rattus norvegicus*) galur *Sprague-dawley* yang dipaparkan asap rokok diantara dosis 28,27 mg/kgBB, 56,55 mg/kgBB atau 113,1 mg/kgBB.

1.4. Manfaat Penelitian

Manfaat dari penelitian ini adalah:

1. Bagi peneliti, sebagai bentuk pengaplikasian disiplin ilmu yang telah dipelajari dan digunakan sebagai sumbangan ilmiah di bidang kedokteran dasar.
2. Bagi masyarakat, menambah wawasan masyarakat mengenai manfaat ekstrak etanol 95% kulit batang bakau minyak (*Rhizophora apiculata*) memiliki efek proktektif terhadap kerusakan ginjal yang terpapar asap rokok
3. Bagi penelitian selanjutnya, memberikan gambaran untuk mengembangkan penelitian lebih jauh mengenai efek proktektif dari kulit batang bakau minyak (*Rhizophora apiculata*).
4. Bagi agromedicine, mengembangkan ekstrak etanol 95% kulit batang bakau minyak (*Rhizophora apiculata*) sebagai antioksidan untuk menangkal efek radikal bebas.

BAB II

TINJAUAN PUSTAKA

2.1 Rokok

2.1.1. Definisi Rokok

Menurut Peraturan Pemerintah RI Nomor 19 Tahun 2003 tentang pengamanan Rokok bagi Kesehatan, rokok merupakan salah satu zat adiktif yang bila digunakan mengakibatkan bahaya bagi kesehatan individu dan masyarakat, oleh karena itu perlu dilakukan berbagai upaya pengamanan. Rokok adalah hasil olahan tembakau terbungkus termasuk cerutu atau bentuk lainnya yang dihasilkan dari tanaman *Nicotiana tabacum*, *Nicotiana rustica* dan spesies lainnya atau sintetisnya yang mengandung nikotin dan tar dengan atau tanpa bahan tambahan (Padmaningrum, 2007).

2.1.2. Profil Perokok di Indonesia

Indonesia berada di peringkat ketiga sebagai negara yang memiliki jumlah perokok aktif terbanyak setelah China dan India. Indonesia memiliki proporsi rerata perokok sebanyak 29,3%, daerah terbanyak berada di Kepulauan Riau dengan proporsi perokok setiap hari 27,2% dan perokok kadang-kadang 3,5%. Pekerjaan yang memiliki jumlah perokok aktif setiap hari terbanyak ialah nelayan, buruh dan petani sebanyak 44,5%, lalu disusul oleh pekerjaan lainnya. Laki-laki memiliki

proporsi perokok lebih banyak dibandingkan perempuan, yaitu 47,5% untuk laki laki dan 1,1% untuk perempuan. Rata-rata jumlah batang rokok yg dikonsumsi penduduk Indonesia perhari dengan usia ≥ 10 tahun ialah 12,3 batang atau sekitar satu bungkus perharinya (Kementrian Kesehatan RI, 2013).

2.1.3. Pengaruh Rokok Terhadap Tubuh

Merokok merupakan kebiasaan yang berefek negatif pada kesehatan, namun susah untuk menghilangkan kebiasaan tersebut di masyarakat. Efek merokok yang ditimbulkan dipengaruhi oleh banyaknya jumlah rokok yang dihisap, lamanya merokok dan jenis rokok. Merokok dapat menyebabkan banyak penyakit, seperti kanker paru, penyakit kardiovaskuler, kanker laring, esofagus, dan lain lain. Selain menimbulkan efek secara sistemik, merokok juga memiliki efek patologis pada rongga mulut seperti penyakit periodontal, karies, kehilangan gigi, resesi gingiva dan kanker mulut. Asap rokok memiliki kandungan *tar*, *nikotin* dan karbon monoksida yang mempunyai efek toksik terhadap tubuh (Kusuma, 2011).

Tar merupakan kandungan rokok paling berbahaya karena memiliki efek karsinogenik. Komponen *tar* mengandung radikal bebas yang dapat menimbulkan stress oksidatif untuk merusak sel tubuh. *Nikotin* merupakan zat yang bersifat toksik dan dapat menimbulkan ketergantungan. *Nikotin* dapat menghambat perlekatan dan

pertumbuhan dari sel fibroblast, menurunkan isi protein fibroblas serta merusak sel membran. Sedangkan karbon monoksida memiliki afinitas yang dua ratus kali lebih kuat dibandingkan dengan oksigen untuk berikatan dengan hemoglobin, sehingga pertukaran antara oksigen dan karbon dioksida di tubuh menjadi terganggu (Kusuma, 2011).

2.1.4. Pengaruh Rokok Pada Ginjal

Menurut hasil penelitian Aisyah, *et al.*, (2015), terdapat hubungan yang signifikan antara aktivitas merokok dengan kejadian gagal ginjal kronik pada pasien pralansia dan lansia. Sedangkan menurut penelitian Restu dan Supadmi (2015) Pasien gagal ginjal kronik dengan hemodialisis yang mempunyai riwayat merokok mempunyai risiko dengan kejadian gagal ginjal kronik lebih besar 2 kali dibandingkan dengan pasien tanpa riwayat merokok. Selain itu, pada penelitian Hermawan (2016), paparan asap rokok dapat merusak histopatologi ginjal mencit berupa atrofi glomerulus dan nekrosis tubulus ginjal.

Merokok dapat meningkatkan kejadian gagal ginjal kronik. Perokok pasif memiliki peluang 3x lebih tinggi untuk mengalami gagal ginjal kronik dibandingkan dengan tidak perokok sama sekali. Sedangkan peluang bagi perokok aktif untuk mengalami gagal ginjal kronik jika dibandingkan dengan tidak perokok yaitu sebanyak 7x lebih tinggi (Hidayati, *et al.*, 2008). Paparan asap rokok secara akut dapat menyebabkan peningkatan resistensi renovaskuler sebanyak 11%, yang

disertai dengan penurunan laju GFR sebanyak 15%. Merokok mengaktivasi sistem saraf simpatis akut yang dapat menyebabkan takikardi dan peningkatan tekanan darah sistolik sebanyak 21 mmHg. Hal tersebut dikarenakan terjadinya vasokonstriksi di berbagai pembuluh darah, termasuk pembuluh darah di ginjal (Taal, 2018).

Merokok dapat menginduksi albuminuria dan gangguan fungsi ginjal melalui produk akhir glikasi lanjut. Telah diketahui bahwa produk akhir dari glikasi bertanggung jawab untuk meningkatkan permeabilitas vaskular dan mempercepat vaskulopati penyakit ginjal stadium akhir. Selain itu, ekstrak air tembakau dan asap rokok mengandung glikotoksin, produk glikasi yang sangat reaktif yang dengan cepat dapat menginduksi in vitro dan in vivo pembentukan produk akhir glikasi akhir pada protein. Dengan begitu, produk akhir glikasi yang dibentuk oleh reaksi glikotoksin dari asap rokok dengan protein serum dan jaringan akan mempengaruhi vaskular sistemik dan ginjal (Aucella, *et al.*, 2018)

Selain itu, efek stress oksidatif akibat rokok juga berdampak pada ginjal. Faktor yang berperan dalam stres oksidatif pada penyakit ginjal kronik yaitu pembentukan radikal bebas di mitokondria. Proses ini terjadi selama metabolisme oksigen ketika sejumlah elektron melewati rantai transport elektron dan secara langsung dapat mengakibatkan reduksi molekul oksigen menjadi anion superoksida. yang selanjutnya akan

menimbulkan reaksi rantai radikal. Ginjal merupakan organ yang sangat energik, karena itu sangat bergantung pada metabolisme aerobik untuk produksi ATP. Reduksi molekul oksigen selama rantai transpor elektron dalam mitokondria sangat penting untuk fungsi selular ginjal. Reaksi rantai radikal yang dihasilkan pada saat metabolisme tersebut berpotensi merusak, namun dapat dihambat oleh antioksidan enzimatis dan nonenzimatis. Namun, pada penyakit ginjal kronik keseimbangan redoks tidak terjadi sehingga menimbulkan disregulasi proses seluler dan berakhir pada kerusakan jaringan (Forbes, *et al.*, 2008; Layal, 2016).

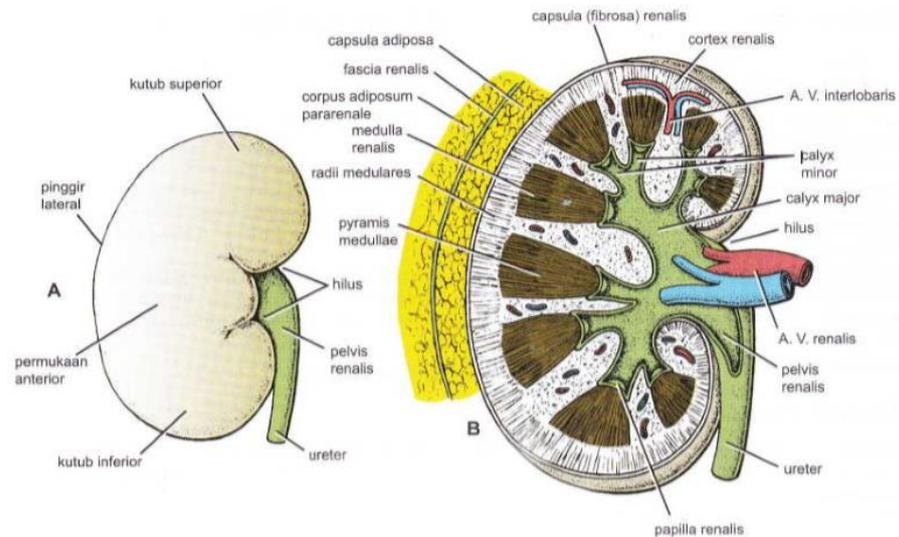
2.2 Ginjal

2.2.1. Anatomi Dan Fisiologi

Ginjal terletak didalam rongga peritoneal, diventral dari M. psoas dan M. quadratus lumborum. Permukaan ginjal ditutupi oleh kapsula fibrosa. Ditutupi dengan kapsula adiposa bersama dengan glandula suprarenal. Kapsula adiposa dikelilingi oleh fascia renalis. Di daerah medial inferior, fascia renalis tetap terbuka sebagai jalur untuk ureter dan pembuluh darah (Paulsen dan Waschke, 2012).

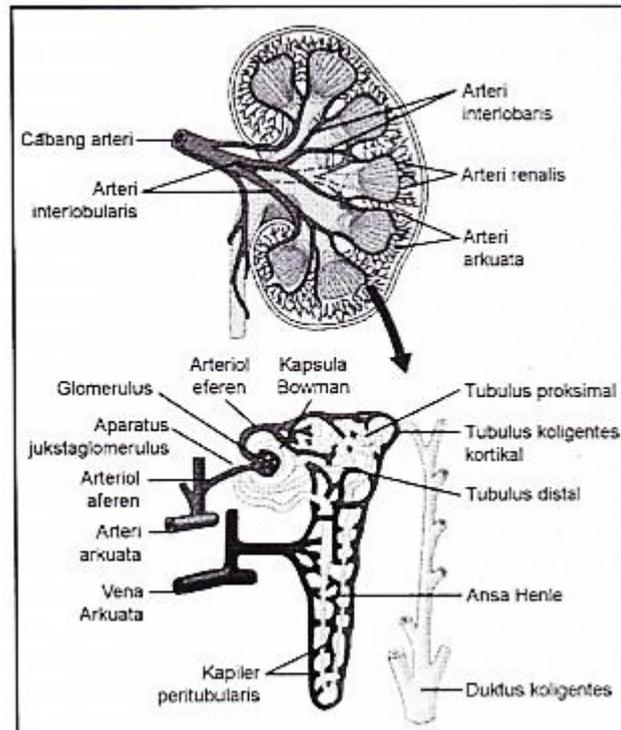
Ginjal dekstra terletak sedikit lebih rendah dibandingkan dengan ginjal sinistra, karena adanya lobus hepatis dektra yang besar. Bila diafragma berkontraksi pada waktu respirasi, kedua ginjal turun dengan arah vertikal sampai sejauh 1 inci (2,5 cm). Pada margo medialis ginjal berbentuk cekung, terdapat celah vertikal yang dibatasi oleh pinggir-pinggir substansi ginjal yang tebal dan disebut hilus renalis. Hilus renalis

meluas ke rongga yang besar disebut sinus renalis. Hilus renalis dilalui dari depan ke belakang oleh vena renalis, dua cabang arteria renalis, ureter, dan cabang ketiga arteria renalis (V.A.U.A.). Pembuluh-pembuluh limfatik dan serabut-serabut simpatik juga melalui hilus ini (Moore dan Dalley, 2013).



Gambar 1. Ginjal (Moore dan Dalley, 2013).

Darah yang mengalir ke kedua ginjal normalnya sekitar 22% dari curah jantung, atau 1100 ml/menit. Arteri renalis memasuki ginjal melalui hilum dan kemudian bercabang cabang secara progresif membentuk arteri interlobaris, arteri arkuata, arteri interlobularis (arteri radialis), dan arteriol aferen, lalu menuju ke kapiler glomerulus (Guyton dan Hall, 2013).



Gambar 2. Pembuluh Darah Utama yang Menyuplai Aliran Darah ke Ginjal dan Skema Mikrosirkulasi pada Setiap Nefron (Guyton dan Hall, 2013).

Ginjal bekerja memfiltrasi plasma yang masuk ke kapiler glomerulus untuk menghasilkan urin, menghemat bahan-bahan yang akan dipertahankan di dalam tubuh dan mengeluarkan bahan-bahan yang tidak diinginkan melalui urin. Setelah terbentuk, urin mengalir ke pelvis ginjal yang terletak di bagian tengah medial masing-masing ginjal. Lalu urin dibawa ke ureter, kandung kemih dan dikeluarkan melalui uretra (Sherwood, 2014).

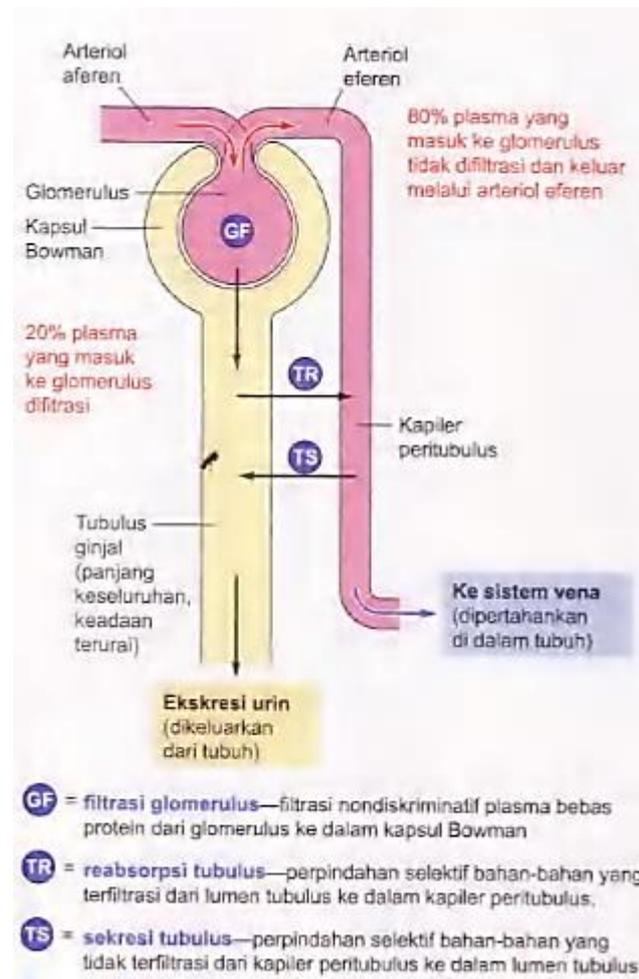
Pembentukan urin dimulai dengan filtrasi sejumlah besar cairan yang hampir bebas protein dari kapiler glomerulus ke kapsula Bowman. Kebanyakan zat dalam plasma, kecuali protein, difiltrasi secara bebas sehingga konsentrasinya pada filtrat glomerulus dalam kapsula Bowman

hampir sama dengan dalam plasma. Ketika cairan yang telah difiltrasi ini meninggalkan kapsula Bowman dan mengalir melewati tubulus, cairan ini mengalami perubahan akibat adanya reabsorpsi air dan zat terlarut spesifik kembali ke dalam darah atau sekresi zat-zat lain dari kapiler peritubulus ke dalam tubulus (Guyton dan Hall, 2013).

Pada proses reabsorpsi tubulus, sebagian besar zat yang harus dibersihkan dari darah, terutama produk akhir metabolisme seperti urea, kreatinin, asam urat, dan garam asam urat, direabsorpsi sedikit, sehingga diekskresi dalam jumlah besar ke dalam urin. Zat asing dan obat-obatan tertentu juga direabsorpsi sedikit. Sebaliknya, elektrolit seperti ion natrium, klorida, dan bikarbonat direabsorpsi dalam jumlah besar, sehingga hanya sejumlah kecil saja yang tampak dalam urin. Zat nutrisi tertentu, seperti asam amino dan glukosa, direabsorpsi secara lengkap dari tubulus dan tidak muncul dalam urin meskipun sejumlah besar zat tersebut difiltrasi oleh kapiler glomerulus (Guyton dan Hall, 2013).

Setelah reabsorpsi tubulus, urine akan melalui proses sekresi tubulus. Terjadi pemindahan zat dari kapiler peritubulus ke dalam lumen tubulus, meningkatkan eliminasi bahan-bahan yang tidak berguna bagi tubuh. Setiap bahan yang masuk ke cairan tubulus, baik melalui filtrasi glomerulus maupun sekresi tubulus, dan tidak direabsorpsi, akan dieliminasi dalam urin. Bahan-bahan terpenting yang disekresikan oleh tubulus adalah ion hidrogen (H⁻), ion kalium (K⁻), serta anion dan kation

organik, yang banyak di antaranya adalah senyawa yang asing bagi tubuh (Sherwood, 2014).

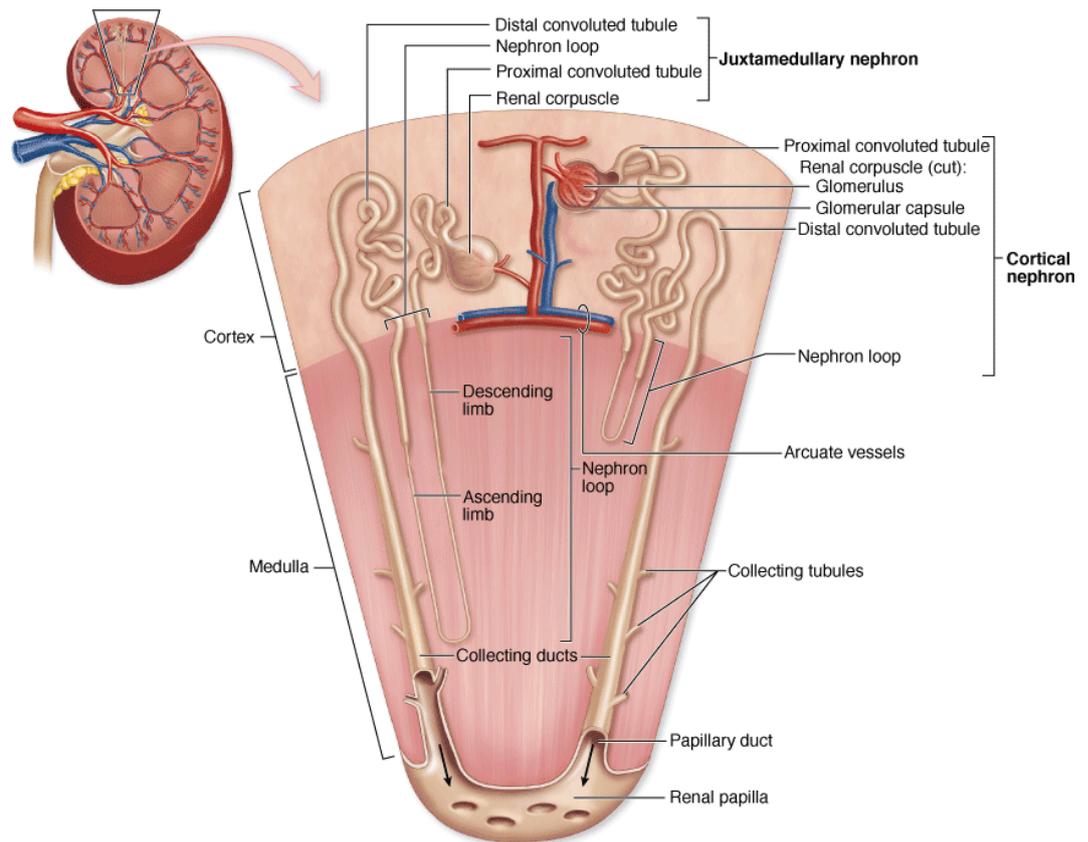


Gambar 3. Proses Pembentukan Urin oleh Ginjal (Sherwood, 2014).

2.2.2. Histopatologi

Ginjal dilapisi oleh kapsul jaringan ikat. Dalam potongan sagital, terlihat korteks yang lebih gelap di bagian luar dan medula yang lebih terang dibagian dalam. Medula memiliki piramida ginjal yang dipisahkan oleh penjururan korteks yang disebut kolumna renalis. Apeks setiap piramid yang bulat meluas ke arah pelvis renalis untuk membentuk papila renalis. Setiap piramida dan jaringan korteks didasarnya dan disepanjang sisinya membentuk suatu lobus ginjal (Eroschenko, 2010; Mescher, 2011).

Setiap ginjal memiliki 1-1,4 juta unit fungsional yang disebut nefron. Cabang utama dari setiap nefron ialah korpuskel ginjal, tubulus kontortus proksimal dan distal, gelung nefron (ansa henle) dan tubulus kolligens. Nefron dibagi menjadi dua, yaitu nefron korteks yang berada hampir sepenuhnya di korteks dan nefron jukstamedular di dekat medula yang ansa henle nya melengkung di sepanjang medula (Mescher, 2011).

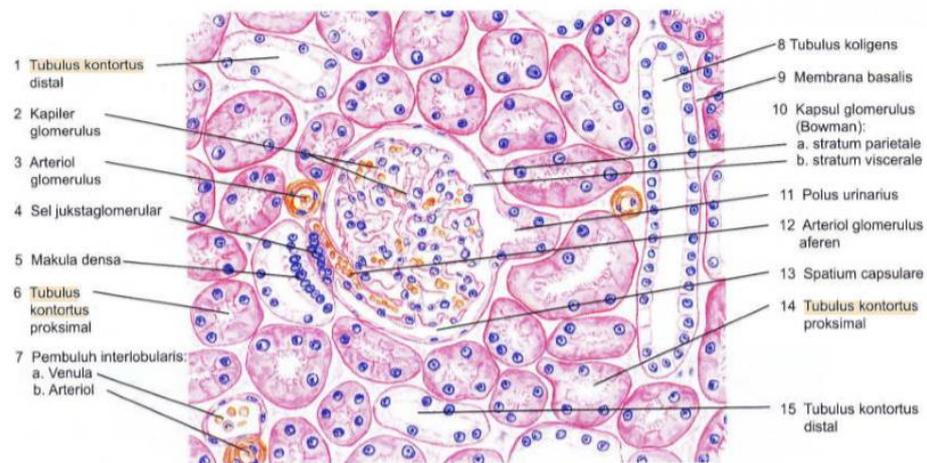


Source: Mescher AL: *Junqueira's Basic Histology: Text and Atlas, 12th Edition*: <http://www.accessmedicine.com>
Copyright © The McGraw-Hill Companies, Inc. All rights reserved.

Gambar 4. Nefron Ginjal (Mescher, 2011).

Pada bagian awal setiap nefron terdapat sebuah korpuskel ginjal berukuran 200 μm dan mengandung seberkas kapiler, glomerulus yang dikelilingi simpai epitel berdinding ganda disebut simpai Bowman.

Lapisan viseral simpai bowman melapisi kapiler, sedangkan lapisan parietalnya membentuk permukaan luar simpai bowman. Diantara dua lapisan simpai bowman ini terdapat ruang kapsular berisi cairan yang akan disaring oleh dinding kapiler dan lapisan viseral. Simpai bowman ini memiliki dua kutub, yaitu kutub vaskular tempat masuknya arteriol aferen dan keluarnya arteriol eferen serta kutub tubular yang menyatu dengan tubulus kontortus proksimal (Mescher, 2011).



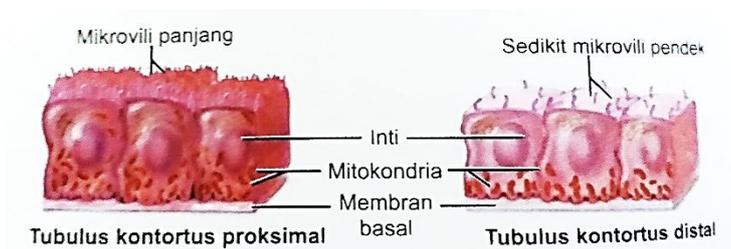
Gambar 5. Korpuskel Ginjal (Eroschenko, 2010).

Di kutub tubular simpai bowman memiliki epitel squamosa pada lapisan parietal berhubungan langsung dengan epitel kuboid dari tubulus kontortus proksimal. Tubulus kontortus proksimal lebih panjang dibanding tubulus kontortus distal sehingga lebih sering tampak pada potongan korteks ginjal. Sel tubulus proksimal merabsorpsi 60-65% air yang disaring oleh korpuskel ginjal, beserta hampir semua nutrien, ion, vitamin dan protein plasma kecil. Sel tubulus proksimal memiliki sitoplasma asidofilik yang disebabkan oleh banyaknya mitokondria.

Apeks sel memiliki banyak mikrovili panjang untuk reabsorpsi yang disebut *brush border* (Mescher, 2011).

Setelah tubulus kontortus proksimal, berlanjut menjadi ansa henle. Ansa henle berbentuk U dengan dua segmen, yaitu segmen *ascenden* dan segmen *descenden*. Kedua segmen ini memiliki epitel kuboid selapis di dekat korteks dan epitel squamosa di sepanjang medula. Dari segmen *descenden* urine akan dibawa menuju tubulus kontortus distal (Mescher, 2011).

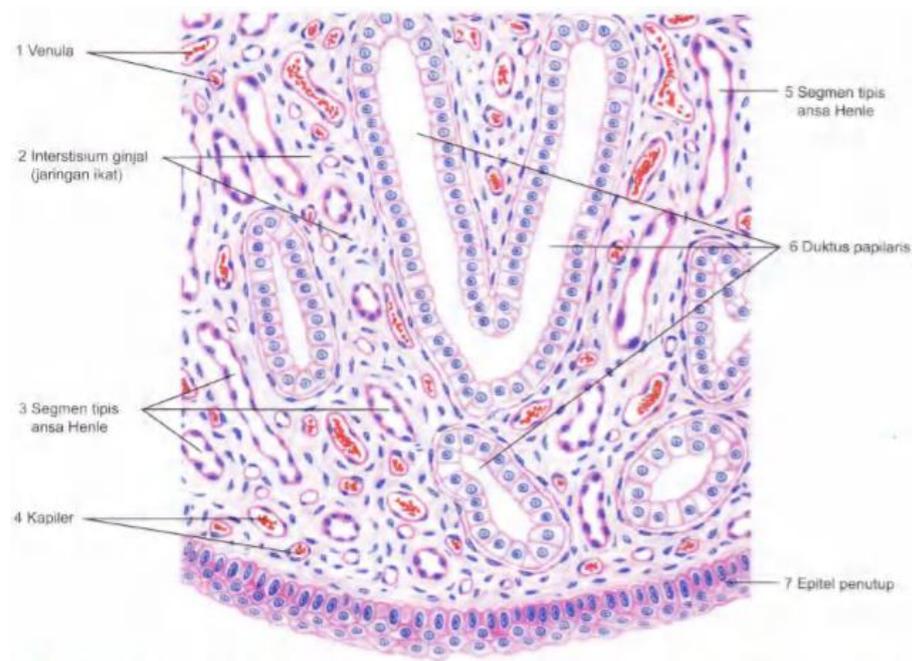
Tubulus kontortus distal lebih pendek dan tidak begitu berkelok dibandingkan tubulus kontortus proksimal, dan tubulus ini naik ke dalam korteks ginjal. Epitel selapis kuboid pada tubulus kontortus distal berbeda dengan tubulus kontortus proksimal. Epitel kuboid pada tubulus kontortus distal lebih kecil dan tidak memiliki *brush border* (Mescher, 2011).



Gambar 6. Perbedaan Tubulus Kontortus Proksimal dan Distal (Mescher, 2011).

Dari tubulus kontortus distal, urine mengalir menuju tubulus koligens. Tubulus koligens bukan bagian dari nefron. Sejumlah tubulus koligens pendek bergabung membentuk duktus koligens yang lebih besar.

Sewaktu duktus koligens semakin besar dan turun ke arah papila medula, duktus ini disebut duktus papilaris (ductus papillaris). Duktus koligens yang lebih kecil dilapisi oleh epitel kuboid terpulas-pucat. Di dekat piramida medula ginjal, epitel di duktus ini berubah menjadi silindris. Di ujung setiap papila, duktus papilaris mengalirkan isinya ke dalam kaliks minor. Daerah di papila yang memperlihatkan lubang di duktus papilaris yaitu area kribrosa (Eroschenko, 2010).

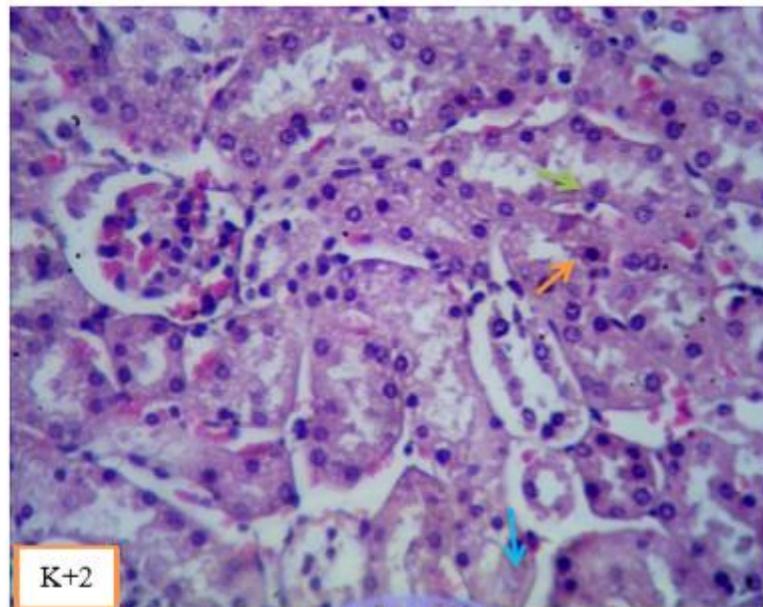


Gambar 7. Medula ginjal: daerah papilaris potongan longitudinal (Eroschenko, 2010).

2.2.3. Histopatologi Ginjal yang Terpapar Asap Rokok

Proses terjadinya nekrosis pada glomerulus dan tubulus ginjal yang dipapar asap rokok yaitu disebabkan karena kandungan nikotin di dalam asap rokok dapat melakukan proses injury. Proses injury di ginjal karena sel-sel mesangial atau sel-sel yang berada di dalam pembuluh darah ginjal dilengkapi dengan Nicotinic Acetylcholine

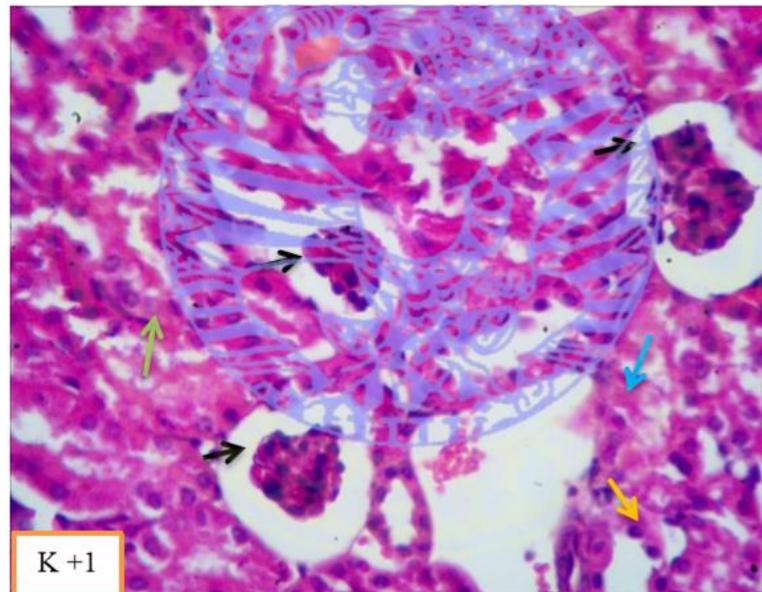
Receptor (nAChRs) $\alpha 4$, $\alpha 5$, $\alpha 7$, $\beta 2$, $\beta 3$, $\beta 4$, dan $\beta 5$ yaitu reseptor yang berinteraksi dengan nikotin. Sel tubulus akan berkontak langsung dengan nikotin yang direabsorpsi, maka hal inilah yang menyebabkan kerusakan atau nekrosis pada inti. Selain itu sel tubulus paling sensitif dan sering mengalami nekrosis (Hermawan, 2016). Gambaran histopatologi ginjal mencit yang terpapar asap rokok dapat dilihat dari gambar dibawah ini:



Keterangan:

- ▶ : Inti Sel Tubulus Kariolisis
- ▶ : Inti Sel Tubulus Kariorekrosis.
- ▶ : Inti Sel Tubulus Piknotis.

Gambar 8. Histopatologi ginjal mencit yang terpapar asap rokok (Hermawan, 2016).



Keterangan:

- : Atrofi Glomerulus
- : Inti Sel Tubulus Kariolisis
- : Inti Sel Tubulus Karioreksis.
- : Inti Sel Tubulus Piknotis.

Gambar 9. Histopatologi ginjal menciit yang terpapar asap rokok (Hermawan, 2016).

2.3 Stress Oksidatif dan Radikal Bebas

2.3.1. Definisi Stress Oksidatif

Stress oksidatif (*oxidative stress*) adalah ketidakseimbangan antara radikal bebas dan antioksidan yang dipicu oleh kurangnya antioksidan dan kelebihan produksi radikal bebas. Keadaan stress oksidatif membawa pada kerusakan oksidatif mulai dari tingkat sel, jaringan hingga ke organ tubuh, menyebabkan terjadinya percepatan proses penuaan dan munculnya penyakit (Murray, *et al.*, 2014)

2.3.2 Penyebab Stress Oksidatif

Stress oksidatif dapat terjadi di tubuh karena adanya oksidan yang berlebihan didalam tubuh. Pemicu meningkatnya jumlah oksidan ialah stress fisik. Aktivitas fisik berat dapat meningkatkan jumlah oksidan endogen yang berasal dari proses biologis alami yang melibatkan *Reactive Oxygen Species* (ROS). ROS merupakan senyawa-senyawa reaktif yang berasal dari oksigen, senyawa yang diperlukan oleh semua organisme aerobik termasuk manusia. Jumlah ROS dapat meningkat pada kondisi stres fisik, yang dapat disebabkan oleh aktivitas fisik berat (Candrawati, 2013).

Selain stress fisik, radikal bebas dan infeksi juga meningkatkan kadar oksidan. Radikal bebas muncul di tubuh melalui proses metabolisme aerobik dan akibat paparan dari luar, seperti asap rokok, polusi, dan sinar UV (Murray, *et al.*, 2014).

2.3.3 Efek dari Stress Oksidatif

Efek dari stress oksidatif dipicu karena adanya radikal bebas. Beberapa radikal bebas dalam tubuh merupakan derivat nitrogen yang disebut reactive nitrogen species (RNS) dan derivat oksigen yang disebut ROS. ROS bisa terdapat dalam bentuk O_2^- , radikal hidroksil (OH), asam hipoklorit (HOCl), radikal alkoksil dan radikal peroksil. ROS dapat merusak sel dengan merusak membran lipid melalui serangkaian reaksi kimia yang disebut peroksidasi lipid. Hal ini terjadi karena membran sel mengandung asam lemak tak jenuh

ganda (*Polyunsaturated Fatty Acid* – PUFA) dalam jumlah tinggi. Peroksidasi membran lipid akan menyebabkan perubahan pada sel, seperti peningkatan permeabilitas membran, penurunan transport kalsium dalam retikulum sarkoplasma, gangguan fungsi mitokondria dan enzim, serta pembentukan metabolit toksik (Schieber dan Chandel, 2014).

Selain itu, radikal memiliki satu atau lebih elektron-elektron yang tidak berpasangan pada orbital terluarnya. Dalam upaya memenuhi keganjilan elektronnya, radikal bebas yang elektronnya tidak berpasangan secara cepat akan menarik elektron makromolekul biologis yang berada di sekitarnya seperti protein, asam nukleat, dan asam deoksiribonukleat (DNA). Jika makromolekul yang teroksidasi dan terdegradasi tersebut merupakan bagian dari sel atau organel, maka dapat mengakibatkan kerusakan pada sel tersebut (Schieber dan Chandel, 2014).

2.3.4 Cara Mencegah Terjadinya Stress Oksidatif

Kerusakan akibat stress oksidatif dapat dicegah dengan antioksidan. Di dalam tubuh, sistem pertahanan antioksidan kompleks bekerja meminimalkan dampak paparan oksidan endogen dan eksogen berlebih. Antioksidan bekerja menangkap radikal bebas dengan cara mereduksi atau scavenging dan atau dismutasi superoksida anion (O_2^-) dan atau peroksida anion (HO_2^-) beserta bentuk protonasinya

dengan menggunakan sistem pertahanan antioksidan (Rahal, *et al.*, 2014).

Namun saat oksidan yang ada dalam tubuh berlebih, antioksidan endogen tidak mampu menangkal oksidan tersebut sehingga diperlukan antioksidan eksogen. Sehingga, untuk mencegah terjadinya stress oksidatif maka diperlukan konsumsi antioksidan eksogen (Rahal, *et al.*, 2014).

2.4 Antioksidan

Antioksidan dibagi menjadi dua, antioksidan endogen dan eksogen. Antioksidan endogen seperti *superoxide dismutase*, *catalase*, dan *glutathion peroxidase* menghambat oksidasi komponen seluler dengan secara langsung menangkap ROS, memetabolisme peroksidase lipid menjadi substansi non-radikal dan dengan reaksi *chelation* ion logam untuk mencegah terbentuknya oksidan (Dharma, 2012).

Pada kondisi stres fisik, infeksi, paparan berlebih radikal bebas, membuat kapasitas antioksidan endogen menjadi tidak memadai untuk menangkal radikal bebas. Kapasitas antioksidan tubuh juga makin menurun sejalan dengan penambahan usia, sehingga tubuh memerlukan antioksidan eksogen (yang berasal dari bahan pangan yang dikonsumsi) dalam jumlah yang lebih banyak untuk mengeliminir dan menetralkan efek radikal bebas. Antioksidan eksogen seperti vitamin C, E, karotenoid, dan polifenol juga bekerja menangkap radikal bebas (Dharma, 2012).

2.5 Tanaman Bakau Minyak

2.5.1. Taksonomi

Bakau minyak (*Rhizophora apiculata* Blume.) adalah salah satu spesies dari famili Rhizophoraceae dimana bakau minyak merupakan salah satu spesies terpenting di dalam ekosistem hutan mangrove. *R. apiculata* memiliki kayu yang sangat keras, cepat tumbuh (*fast-growing mangrove*), mempunyai akar nafas, jenis daun oposit, dan tinggi mencapai 15 meter. *R. apiculata* mempunyai jenis bibit vivipar dimana permukaan bawah daunnya berwarna hijau kekuningan. Salah satu ciri khas dari *R. apiculata* yang berbeda dari jenis bakau lainnya ialah daunnya yang cenderung lebih kecil (Mustika, 2014).

Klasifikasi dari bakau minyak ialah:

Kingdom : Plantae

Phylum : Tracheophyta

Kelas : Magnoliopsida

Orde : Rhizophorales

Family : Rhizophora

Species : *Rhizophora apiculata* (Duke, et al., 2010).

2.5.2. Struktur Dan Karakteristik

Pada habitat yang baik dapat tumbuh hingga mencapai 30 meter, tetapi biasanya diatas 20 meter. *R. apiculata* memiliki struktur akar tunjang (*stilt roots*) yang mampu menangkap sedimen dan kokoh sehingga

banyak ditanam dalam kegiatan restorasi hutan mangrove sebagai pelindung garis pantai dari gelombang air laut. Memiliki daun dengan panjang 8,5-11,5 cm, lebar 3,3-5 cm, tata susun letak daun berhadapan bersilangan, bentuk daun menjorong, ujung meruncing, pangkal menirus, permukaan atas halus, permukaan bawah kasar, tepi bergigi, pertulangan daun menyirip, jumlah cabang tulang daun 43-60, panjang tangkai daun 1-2,5 cm, jarak antar tangkai daun 0,1-5 cm, derajat kemiringan cabang tulang daun 60° - 70° . Bunga pada *R. apiculata* memiliki tipe bunga majemuk, jumlah kelopak bunga 4, warna kelopak bunga hijau kekuningan. Kisaran musim berbunga yaitu pada bulan April-Oktober. Memiliki buah dengan panjang buahnya antara 25-30 cm, diameter 15-17 cm, berwarna coklat dan kulitnya kasar. Permukaan kulit batangnya abu-abu, ketika masih muda halus, ketika dewasa ramping dan berlenti sel, berakar tongkat yang berlenti sel untuk pernapasan (Dahlan dan Barokah, 2009; Irawan, *et al.*, 2013).



Gambar 10. *Rhizophora Apiculata* : akar (a), batang (b), daun (c)
(Duke, *et al.*, 2010).

2.5.3. Tanaman Bakau Minyak Sebagai Antioksidan

Tanaman bakau minyak memiliki banyak antioksidan. Penelitian Abdullah tahun 2011 dengan analisis fitokimia untuk mengecek kandungan alkaloid, saponin, flavonoid, triterpenoid, steroid, dan tanin pada tanaman bakau minyak. Hasil dari analisis fitokimia tersebut ialah:

Tabel 1. Uji fitokimia ekstrak kasar batang, kulit batang, dan akar *R. apiculata* (Abdullah, 2011)

Sampel	Pelarut	Alkaloid	Saponin	Flavonoid	Tri-terpenoid	Steroid	Tanin
Batang	n- heksana	+	-	-	-	-	-
	Etil asetat	-	-	+	-	-	+
	Metanol	+	-	+	-	+	-
Kulit Batang	n- heksana	+	-	-	-	+	-
	Etil asetat	-	-	+	-	+	+
Akar	Metanol	+	-	+	-	-	+
	n- heksana	+	-	-	-	-	-
	Etil asetat	-	-	+	-	-	-
	Metanol	+	-	+	-	-	+

Keterangan: (-): tidak terdeteksi; (+): terdeteksi

Untuk mengetahui penangkapan radikal bebas oleh antioksidan dapat digunakan dua metode yaitu 2,2'-Difenil-1-pikrilhidrasil (DPPH) dan Asam 2,2-Azinobis (3-etilbenzotiazolin)-6sulfonat (ABTS). Hasil uji ekstrak bakau dengan metode DPPH dan ABTS tersebut yaitu (Abdullah, 2011) :

Tabel 2. Nilai IC₅₀ antioksidan pada ekstrak kasar bakau *R. apiculata*

Ekstrak	Antioksidan	
	DPPH $\mu\text{g mL}^{-1}$	ABTS $\mu\text{g mL}^{-1}$
N-heksana batang	-*	-*
Etil asetat batang	26.93	71.92
Metanol batang	30	77.12
N-heksana kulit batang	-*	-*
Etil asetat kulit batang	137.11	30.89
Metanol kulit batang	3.31	18.47
N-heksana akar	-*	-*
Etil asetat akar	82.84	68.61
Metanol akar	53.12	55.54
Asam kojat	-*	-*
Asam askorbat	9.79	10.93

Dari tabel tersebut didapatkan ekstrak metanol kulit batang *Rhizophora apiculata* dapat menangkap radikal bebas dengan metode DPPH 50% pada konsentrasi $3.31 \mu\text{g mL}^{-1}$. Ekstrak metanol batang *Rhizophora apiculata* dapat menangkap radikal bebas dengan metode DPPH 50% pada konsentrasi $30 \mu\text{g mL}^{-1}$. Nilai IC_{50} terendah dengan DPPH terdapat pada ekstrak metanol akar *Rhizophora apiculata* adalah $53,2 \mu\text{g mL}^{-1}$ (Abdullah, 2011).

Pada metode ABTS, ekstrak metanol kulit batang dengan nilai IC_{50} sebesar $18.47 \mu\text{g mL}^{-1}$. Nilai ini berarti ekstrak metanol kulit batang *Rhizophora apiculata* dapat menangkap radikal bebas Asam 2,2Azinobis(3-etilbenzotiazolin)-6-sulfonat (ABTS) 50% pada konsentrasi $18.47 \mu\text{g/ml}$. Nilai IC_{50} pada ekstrak metanol akar adalah $55,54 \mu\text{g mL}^{-1}$. Nilai IC_{50} terendah adalah ekstrak metanol batang dengan nilai IC_{50} sebesar $77.12 \mu\text{g mL}^{-1}$. Pada hasil di atas didapatkan bahwa menggunakan metode penangkapan radikal bebas DPPH dan ABTS ekstrak kulit batang bakau merupakan bagian yang paling potensial sebagai antioksidan (Abdullah, 2011).

Kandungan flavonoid dan steroid dalam ekstrak kasar *R. apiculata*, diduga akan memberikan efek inhibisi yang cukup besar pada radikal bebas. Hal ini dikarenakan kelompok senyawa golongan flavonoid dan steroid adalah kelompok senyawa yang aktif sebagai inhibitor tirosinase (Chang, 2009).

Hasil penelitian Rahim, *et al.*, (2008) menjelaskan bahwa ekstrak kulit batang *R. apiculata* memiliki aktivitas antioksidan yang berkemampuan tinggi dalam menghambat pembentukan radikal bebas DPPH, hal ini disebabkan adanya kandungan tannin, dan senyawa fenolik seperti flavonoid dalam kulit batang tersebut. Pada bagian kulit batang *Rhizopora apiculata* juga mengandung tanin yang bermanfaat sebagai sumber antioksidan alami. Tanin merupakan senyawa aktif metabolit sekunder yang diketahui mempunyai beberapa khasiat yaitu sebagai astringen, anti diare, anti bakteri dan antioksidan. Tanin merupakan senyawa polifenol dengan berat molekul yang tinggi ($M_r > 500$) (Rahim, *et al.*, 2008).

2.6 Tikus Putih

2.6.1. Taksonomi

Tikus merupakan hewan mamalia yang mempunyai peranan penting bagi manusia untuk tujuan ilmiah karena memiliki daya adaptasi baik. Tikus yang banyak digunakan sebagai hewan model laboratorium dan peliharaan adalah tikus putih (*Rattus norvegicus*). Tikus putih memiliki beberapa keunggulan antara lain penanganan dan pemeliharaan yang mudah karena tubuhnya kecil, sehat dan bersih, kemampuan reproduksi tinggi dengan masa kebuntingan singkat, serta memiliki karakteristik produksi dan reproduksi yang mirip dengan mamalia lainnya (Pribadi, 2008).

Klasifikasi dari tikus putih ialah:

Kingdom	: Animalia
Subkingdom	: Bilateria
Phylum	: Chordata
Subphylum	: Vertebrata
Kelas	: Mamalia
Orde	: Rodentia
Family	: Muridae
Genus	: Rattus
Species	: <i>Rattus norvegicus</i> (Brekenhout, 1769).

2.6.2. Struktur Dan Karakteristik

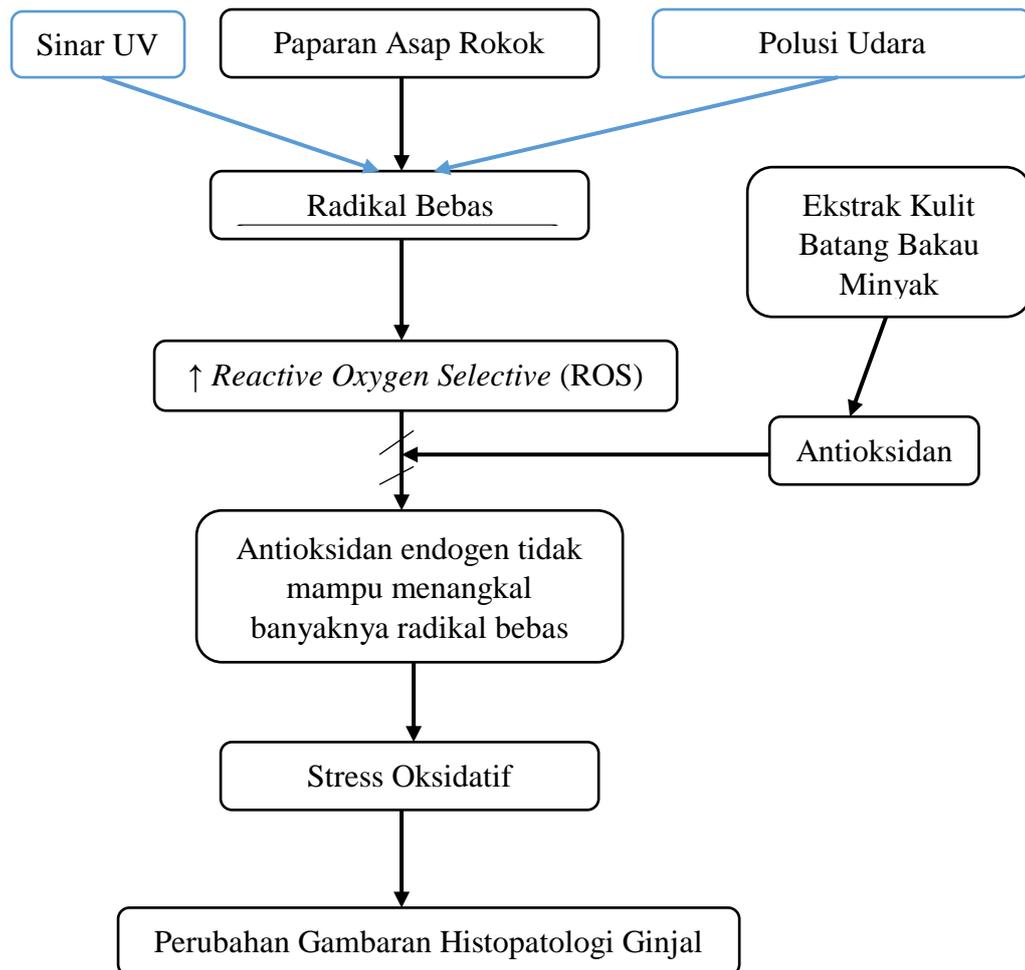
Dalam penelitian ini, tikus yang akan dijadikan hewan coba ialah tikus putih (*Rattus norvegicus*) galur sprague dawley. Tikus ini memiliki ciri bertubuh panjang dengan kepala lebih sempit. Telinga tikus ini tebal dan pendek dengan rambut halus. Mata tikus putih berwarna merah. Ciri yang paling terlihat adalah ekornya yang panjang. Bobot badan tikus jantan pada umur dua belas minggu mencapai 240 gram sedangkan betinanya mencapai 200 gram. Tikus memiliki lama hidup berkisar antara 4-5 tahun dengan berat badan umum tikus jantan berkisar antara 267-500 gram dan betina 225-325 gram (Pribadi, 2008).



Gambar 11. Tikus Putih (*Rattus norvegicus*) Galur *Sprague Dawley* (Pribadi, 2008).

2.7 Kerangka Teori

Dari tinjauan pustaka diatas, dapat dirangkumkan bahwa kandungan antioksidan pada kulit batang bakau minyak (*Rhizophora apiculata*) bisa dijadikan salah satu solusi untuk mencegah terjadinya stress oksidatif akibat paparan radikal bebas yang berlebih. Radikal bebas dapat meningkat akibat paparan asap rokok yang berlebih. Kadar *Reactive Oxygen Selective* (ROS) akan meningkat seiring dengan meningkatnya kadar radikal bebas. Antioksidan endogen tidak mampu menangkal banyaknya ROS yang meningkat. Hal tersebut memicu terjadinya stress oksidatif. Keadaan stress oksidatif membawa pada kerusakan oksidatif mulai dari tingkat sel, jaringan hingga ke organ tubuh, salah satunya kerusakan pada organ ginjal. Keadaan stress oksidatif yang dipicu oleh radikal bebas dari paparan asap rokok merubah histopatologi ginjal berupa infiltrasi sel radang, atrofi glomerulus dan nekrosis tubulus ginjal. Hal ini menyebabkan tubuh memerlukan antioksidan eksogen untuk menangkal peningkatan \uparrow *Reactive Oxygen Selective* (ROS), salah satunya dari kulit batang bakau minyak.



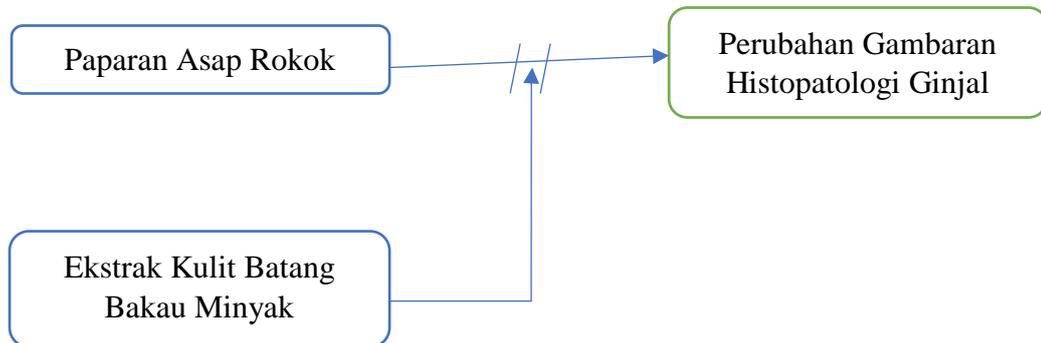
Keterangan:

: yang diteliti

: tidak diteliti

Gambar 12. Kerangka Teori

2.8 Kerangka Konsep



Keterangan:

: Variabel Independen

: Variabel Dependen

Gambar 13. Kerangka Konsep

2.9 Hipotesis Penelitian

Dari teori diatas dapat dirumuskan hipotesis:

- H1 : 1. Terdapat pengaruh pemberian dosis ekstrak etanol 95% kulit batang bakau minyak (*Rhizophora apiculata*) terhadap histopatologi ginjal tikus putih jantan (*Rattus norvegicus*) galur *Sprague Dawley* yang terpapar asap rokok.
2. Dosis efektif dari ekstrak etanol 95% kulit batang bakau minyak (*Rhizophora apiculata*) yang dapat memberikan efek protektif gambaran histopatologi ginjal tikus putih jantan (*Rattus norvegicus*) galur *Sprague-dawley* yang dipaparkan asap rokok sebesar 56,55 mg/kgBB.

BAB III METODELOGI PENELITIAN

3.1 Jenis Penelitian

Jenis penelitian ini ialah penelitian analitik kuantitatif *true eksperimental*. Penelitian *true eksperimental* yaitu penelitian yang dilakukan untuk menyelidiki kemungkinan hubungan sebab akibat dengan melakukan kontrol/kendali (Notoatmodjo, 2010).

3.2 Lokasi Penelitian

Pemeliharaan hewan coba dilakukan di *Animal House* Fakultas Kedokteran Universitas Lampung. Pembuatan ekstrak dilakukan di Laboratorium Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Lampung. Terminasi hewan coba dilakukan di Laboratorium Biokimia-Biologi Molekuler Fakultas Kedokteran Universitas Lampung. Pembuatan dan pengamatan preparat dilakukan di Laboratorium Histologi-Patologi Anatomi Fakultas Kedokteran Universitas Lampung.

3.3 Subjek Penelitian

3.3.1. Populasi

Penelitian ini menggunakan populasi tikus putih (*Rattus norvegicus*) jantan galur *Spargue dawley* usia 2,5-3 bulan atau 10-12 minggu dengan

berat 200 gr – 250 gr yang diperoleh dari Institut Pertanian Bogor dengan kriteria inklusi dan eksklusi sebagai berikut:

1. Kriteria Inklusi

- a. Sehat
- b. Memiliki berat badan 200-250 gram
- c. Jenis kelamin jantan
- d. Usia sekitar 2,5-3 bulan

2. Kriteria eksklusi

- a. Terdapat penurunan berat badan lebih dari 10% setelah 1 minggu masa adaptasi di laboratorium
- b. Sakit (penampakan rambut kusam, rontok atau botak, dan aktivitas kurang atau tidak aktif)
- c. Tikus mati

3.3.2. Sampel

Sampel diperoleh dari populasi dengan teknik *Simple Random Sampling* (acak sederhana) dengan cara pengundian. Besar sampel ditetapkan dengan menggunakan rumus Frederer (Didik, 2013):

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

Keterangan:

t = jumlah kelompok perlakuan

n = jumlah sampel dalam satu kelompok

dari rumus tersebut didapatkan jumlah sampel:

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

$$4n - 4 \geq 15$$

$$4n \geq 15 + 4$$

$$4n \geq 19$$

$$n \geq 4.75$$

$$N \approx 5$$

Dari perhitungan diatas didapatkan sampel minimal sebanyak 5 ekor.

Untuk mencegah terjadinya kekurangan sampel akibat *drop out* dalam penelitian, maka dihitung kembali sampel dengan rumus *drop out* yaitu (UGM, 2011):

$$N = \frac{n}{1 - f}$$

Keterangan:

N = Jumlah sampel koreksi

f = perkiraan proporsi drop out (f=10%)

$$N = \frac{5}{1 - 10\%}$$

$$N = \frac{5}{0,8}$$

$$N = 6,25$$

$$N \approx 6$$

Jadi jumlah keseluruhan sampel penelitian adalah:

$$5 \times 6 \text{ kelompok} = 30 \text{ ekor}$$

3.4 Rancangan Penelitian

Rancangan penelitian ini menggunakan rancangan *post test with sample randomized control group design*. Pengambilan data hanya dilakukan setelah perlakuan. Semua kelompok dianggap sama sebelum perlakuan. Setelah pemberian perlakuan, peneliti membandingkan hasil antara kelompok kontrol dan kelompok perlakuan (Notoatmodjo, 2010).

3.5 Identifikasi Variabel Penelitian

Variabel bebas dalam penelitian ini adalah ekstrak kulit batang bakau minyak (*Rhizophora apiculata*). Variabel terikat dalam penelitian ini adalah gambaran histopatologi dari ginjal tikus putih (*Rattus novergicus*) galur *Spargue dawley* yang terpapar asap rokok.

3.6 Definisi Operasional Variabel Penelitian

Definisi operasional mengenai variabel penelitian dijelaskan dari tabel berikut:

Tabel 3. Definisi Operasional

Variabel	Definisi Operasional	Alat Ukur	Hasil Ukur	Skala
Ekstrak Kulit Batang Bakau Minyak	Kulit batang bakau minyak diekstrak lalu diberikan padan hewan coba 1x perhari	Neraca	Dosis ekstrak kulit batang bakau minyak 28,275gr/kgBB; 56,55gr/kgBB; 113,1gr/kgBB.	Kategorik
Histopatologi ginjal	Gambaran histopatologi ginjal dilihat dengan menggunakan mikroskop untuk melihat ada atau tidaknya kerusakan jaringan ginjal.	Mikroskop cahaya	Kerusakan glomerulus 0= gambaran normal 1= infiltrasi sel radang 2= edema spatium bowman 3= nekrosis Kerusakan tubulus 0= gambaran normal 1= infiltrasi sel radang 2= pembengkakan sel epitel tubulus 3= nekrosis Kriteria Penilaian derajat kerusakan ginjal diambil dari 5 lapang pandang dengan kerusakan glomerulus dan tubulus yang tertinggi dari lapang pandang tersebut lalu ditentukan skornya. Kemudian ambil rata rata dari masing-masing skor kerusakan tubulus ginjal dan skor kerusakan glomerulus lalu dijumlahkan dengan total skor kerusakan yaitu 0-6 (Muhartono, <i>et al.</i> , 2016).	Numerik

3.7 Alat dan Bahan

Alat yang digunakan dalam pembuatan ekstrak adalah:

- Mesin penggiling
- Kertas saring
- Labu elenmeyer
- Neraca analitik
- Pipet ukur
- *Rotary evaporator*
- Gelar ukur

Alat yang digunakan selama perlakuan adalah:

- Kandang tikus
- Tempat makan dan minum tikus
- Neraca elektronik dengan kapasitas/daya baca 3000gr/0,01gr
- Sonde lambung tikus
- Lemari pendingin untuk menyimpan ekstrak
- Sduit oral 1 cc
- Alat bedah minor
- Kotak pemaparan asap rokok
- Kamera digital
- *Handscoon* dan masker
- Gelas ukur dan pengaduk

Alat yang digunakan dalam pembuatan preparat histopatologi dan pengamatan adalah:

- *Objek glass dan cover glass*
- Mikroskop
- *Tissue cassette*
- *Rotary microtome*
- *Waterbath*
- *Platening table*
- *Autotechnicome processor*
- *Staining jar*
- *Kertas saring*
- *Histoplast*
- *Paraffin dispenser*

Bahan yang digunakan dalam pembuatan ekstrak adalah:

- Kulit batang bakau minyak (*Rhizophora apiculata*)
- Etanol 95%

Bahan yang digunakan selama perlakuan adalah:

- Pakan standar (pelet dan gabah)
- Air minum
- Sekam

Bahan yang digunakan dalam pembuatan preparat adalah:

- Larutan *formalin* 10% untuk fiksasi
- Alkohol 70%
- Alkohol absolut
- *Xylol*
- Pewarna *Hematoksin & Eosin* (H&E)
- Entelan

3.8 Cara Kerja

3.8.1. Persiapan Hewan Coba

Tikus diadaptasikan dalam waktu 7 hari di kandang pemeliharaan untuk menyamakan cara hidup dan makanannya sebelum diberi perlakuan. Tikus diletakan didalam kandang yang dialasi sekam setinggi 0,5-1cm yang diganti setiap hari untuk mencegah infeksi dan ditutup menggunakan kawat. Satu kandang terdiri dari 1 kelompok percobaan atau sama dengan 7 ekor tikus. Kandang diletakkan di *Animal house* Fakultas Kedokteran Universitas Lampung. Suhu dan kelembapan dibiarkan dalam kisaran alamiah serta diberikan pencahayaan yang cukup. Selama proses adaptasi, tikus diberi minum dan pakan standar ad libitum. Setelah 7 hari, tikus di lihat kondisi umumnya dan ditimbang berat badannya. Tikus yang digunakan ialah tikus yang sehat, tidak mengalami penurunan berat badan lebih dari 10% (Larasati, 2013).

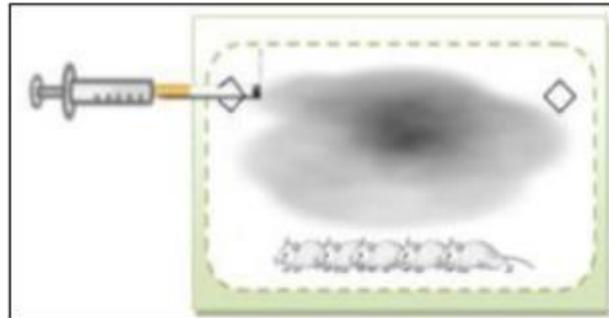
3.8.2. Pembuatan Ekstrak Kulit Batang Bakau Minyak

Tanaman bakau minyak didapatkan di Lampung Timur. Kulit batang dipisahkan dari batangnya, lalu dicuci serta dipotong potong dan dikeringkan. Potongan kulit batang bakau minyak yang telah kering dihaluskan di mesin penggiling hingga menjadi serbuk. Serbuk kulit batang bakau minyak setelah itu diayak dengan ayakan 40 mesh lalu direndam didalam pelarut etanol 95% dengan perbandingan 1:4 (1kg serbuk kulit batang bakau minyak : 4 liter etanol 95%) selama 6 jam pertama di aduk aduk lalu direndam (*maserasi*) selama 18 jam. Hasil campuran dengan pelarut etanol 95% disaring dengan kertas saring untuk mendapatkan filtrat. Filtrat yang diperoleh diuapkan dengan *rotatory evaporator* 50°C. Hasil ekstrak kulit batang bakau yang sudah kering kemudian ditimbang lalu didapatkan volume dan berat jenis nya. Kemudian dilakukan pengenceran dan didapatkan dosis yang akan digunakan pada penelitian (Mustofa, *et al.*, 2014; Diba, *et al.*, 2016; Jampil, *et al.*, 2017).

3.8.3.Induksi Pemaparan Asap Rokok

Pemaparan asap rokok dilakukan dengan menggunakan *smoking chamber* yang dilengkapi dengan beberapa lubang, diantaranya lubang untuk dihubungkan dengan air pump dan sisanya untuk sirkulasi udara. Sampel hewan coba dimasukkan kedalam *smoking chamber*. Asap rokok dimasukan dengan menggunakan spuit 10 cc dan dihubungkan dengan

selang karet sepanjang 3 cm yang dimasukkan ke dalam lubang *smoking chamber* (Mustofa, *et.al.*, 2018).



Gambar 14. Pemaparan Asap Rokok (Mustofa, *et.al.*, 2018).

Pemaparan asap rokok terhadap tikus putih jantan galur *Spargue Dawley* menggunakan 24 batang rokok per hari selama 30 hari. Rokok dibakar selama 15 menit dan dibiarkan selama 1 jam.

3.8.4. Pemberian Ekstrak Kulit Batang Bakau Minyak pada Hewan Coba

Setiap kelompok tikus diberikan perlakuan pemberian ekstrak belimbing wuluh yang berbeda. Pembagian tiga kelompok tersebut, ialah:

- Kelompok Kontrol Negatif (K-)

Kelompok tikus kontrol tanpa pemberian ekstrak kulit batang minyak dan tanpa pemaparan asap rokok.

- Kelompok Kontrol Positif (K+)

Kelompok tikus kontrol tanpa pemberian ekstrak kulit batang minyak dan pemaparan asap rokok 24 batang/hari.

- Kelompok Perlakuan 1 (KP1)

Kelompok tikus kontrol dengan pemberian ekstrak kulit batang minyak dengan dosis 28,275mg/kgBB/hari dan pemaparan asap rokok 24 batang/hari.

- Kelompok Perlakuan 2 (KP2)

Kelompok tikus kontrol dengan pemberian ekstrak kulit batang minyak dengan dosis 56,55mg/kgBB/hari dan pemaparan asap rokok 24 batang/hari

- Kelompok Perlakuan 3 (KP3)

Kelompok tikus kontrol dengan pemberian ekstrak kulit batang minyak dengan dosis 113,1mg/kgBB/hari dan pemaparan asap rokok 24 batang/hari

3.8.5. Terminasi Hewan Coba

Setelah 30 hari perlakuan, masing-masing hewan coba dianestesi dengan *ketamine-xylazine* lalu dilakukan *cervical dislocation*. Setelah tikus mati, dilakukan pembedahan abdomen untuk mengambil organ ginjal sebagai sediaan mikroskopis.

3.8.6. Pembuatan Preparat Histopatologi dan Pewarnaan

Pembuatan preparat histopatologi pada organ ginjal dilakukan dengan prosedur sebagai berikut :

- Fiksasi

Jaringan yang akan dibuat sediaan histopatologinya difiksasi dalam larutan Buffer Neutral Formalin (BNF) 10% minimal 48 jam hingga mengeras (matang) agar memudahkan pembuatan irisan tipis. Fiksasi ini bertujuan untuk mempertahankan susunan jaringan agar mendekati kondisi seperti sewaktu hidup (Jusuf, 2009).

- *Trimming*

Setelah terfiksasi dengan sempurna organ ginjal tikus selanjutnya dilakukan trimming setebal $\pm 0,5$ cm. potongan kemudian dimasukkan dalam tissue cassette untuk dimasukkan dalam automatic tissue processor.

- Dehidrasi

Proses dehidrasi bertujuan untuk mengeluarkan seluruh cairan yang terdapat dalam jaringan yang telah difiksasi sehingga jaringan nantinya dapat diisi dengan parafin atau zat lainnya yang dipakai untuk membuat blok preparat. Hal ini perlu dilakukan karena air tidak dapat bercampur dengan cairan parafin atau zat lainnya yang dipakai untuk membuat blok preparat. Dehidrasi dilakukan dengan cara merendam sampel dalam larutan alkohol dengan konsentrasi bertingkat (75%, 95% dan alkohol absolut). Proses perendaman pada masing masing konsentrasi alkohol dilakukan selama 2 jam. Proses dehidrasi dilakukan dengan menggunakan mesin otomatis yaitu *automatic tissue processor* (Jusuf, 2009).

- *Clearing*

Proses *clearing* atau penjernihan adalah tahap untuk mengeluarkan alkohol dari jaringan dan menggantinya dengan suatu larutan yang dapat berikatan dengan parafin. *Clearing* dilakukan 2 tahap dengan menggunakan xylol I dan xylol II. Xylol berfungsi untuk melarutkan alkohol. Proses mengeluarkan alkohol dari jaringan ini sangat krusial karena bila di dalam jaringan masih tertinggal sedikit alkohol maka parafin tidak bisa masuk ke dalam jaringan sehingga jaringan menjadi “matang diluar, mentah di dalam” dan akan menyebabkan jaringan menjadi sulit untuk dipotong dengan mikrotom (Jusuf, 2009).

- *Embedding atau impregnasi*

Embedding atau impregnasi adalah proses untuk mengeluarkan cairan pembening (*clearing agent*) dari jaringan dan diganti dengan parafin. Pada tahap ini jaringan harus benar-benar bebas dari xylol karena sisa xylol dapat mengkristal dan sewaktu dipotong dengan mikrotom akan menyebabkan jaringan menjadi mudah robek. Parafin yang digunakan adalah parafin histoplast (Jusuf, 2009).

- *Blocking*

Pengecoran (*Blocking*) adalah proses pembuatan blok preparat agar dapat dipotong dengan mikrotom (Jusuf, 2009).

- Pemotongan (*Mounting*)

Pemotongan (*mounting*) adalah proses pemotongan blok preparat menggunakan mikrotom dengan ketebalan 4-5 μ m. Pemotongan dilakukan dengan alat *rotary microtome spencer*. Sediaan kemudian di letakkan pada gelas objek dan disimpan dalam inkubator dengan suhu 37°C selama 24 jam (Jusuf, 2009).

- *Staining* (Pewarnaan)

Staining adalah proses pemberian warna pada jaringan yang telah dipotong sehingga unsur jaringan menjadi kontras dan dapat dikenali / diamati dengan mikroskop. Sediaan diwarnai dengan pewarna Mayer's Hematoxyllin dengan tahapan sebagai berikut (Jusuf, 2009):

- Deparafinisasi dengan xylol (2x2 menit)
- Hidrasi dengan serial Alkohol 100% (2x2 menit) – 95% (2menit) – 90% (2 menit) – 80% (2 menit) - 70% (2 menit) – *Distilled water* (3 menit)
- Inkubasi dalam larutan hematoksilin Mayers selama 15 min
- Cuci dalam air mengalir selama 15-20 menit
- Observasi di bawah mikroskop, bila masih terlalu biru cuci lagi di air mengalir selama beberapa menit. Bila sudah cukup warnanya lanjutkan ke langkah selanjutnya
- *Counterstaining* dalam larutan *Eosin working solution* selama 15 detik hingga 2 menit tergantung pada umur eosin dan kedalaman warna yang diinginkan

- Dehidrasi dalam serial alkohol dengan gradasi meningkat perlahan mulai 70% hingga 100% masing-masing 2 menit.
- Jernihkan dan dealkoholisasi dalam xylol 2x2min
- Tutup dengan balsem kanada.

3.8.7. Pengamatan Preparat

Pemeriksaan preparat histopatologi diperiksa dibawah mikroskop cahaya dengan pembesaran 100x dan 400x. Pengamatan dilakukan oleh peneliti dan pembimbing ahli. Gambaran kerusakan ginjal yang dilihat adalah bagian glomerulus dan tubulus ginjal. Skala kerusakan sel dihitung secara semikuantitatif dalam seluruh lapang pandang:

a. Kerusakan glomerulus, dengan skor sebagai berikut:

0 = gambaran normal

1 = infiltrasi sel radang

2 = edema spatium Bowman

3 = nekrosis

b. Kerusakan tubulus ginjal, dengan skor sebagai berikut:

0 = gambaran normal

1 = infiltrasi sel radang

2 = pembengkakan sel epitel tubulus

3 = nekrosis

c. Kriteria Penilaian Derajat Kerusakan Ginjal

Kriteria Penilaian derajat kerusakan ginjal diambil dari 5 lapang pandang dengan kerusakan glomerulus dan tubulus yang tertinggi

pada lapang pandang tersebut lalu ditentukan skornya. Kemudian ambil rata rata dari masing-masing skor kerusakan tubulus ginjal dan skor kerusakan glomerulus lalu dijumlahkan dengan total skor kerusakan yaitu 0-6 (Muhartono, *et al.*, 2016).

3.9 Teknik Analisis Data

Analisis statistik yang digunakan dalam penelitian ini untuk mengolah data ialah analisis bivariat. Data dari hasil penelitian lalu di uji normalitas datanya dengan uji *Shapiro-Wilk* (jumlah sampel ≤ 50) untuk mengetahui normalitas dari distribusi data penelitian (Notoatmodjo, 2010).

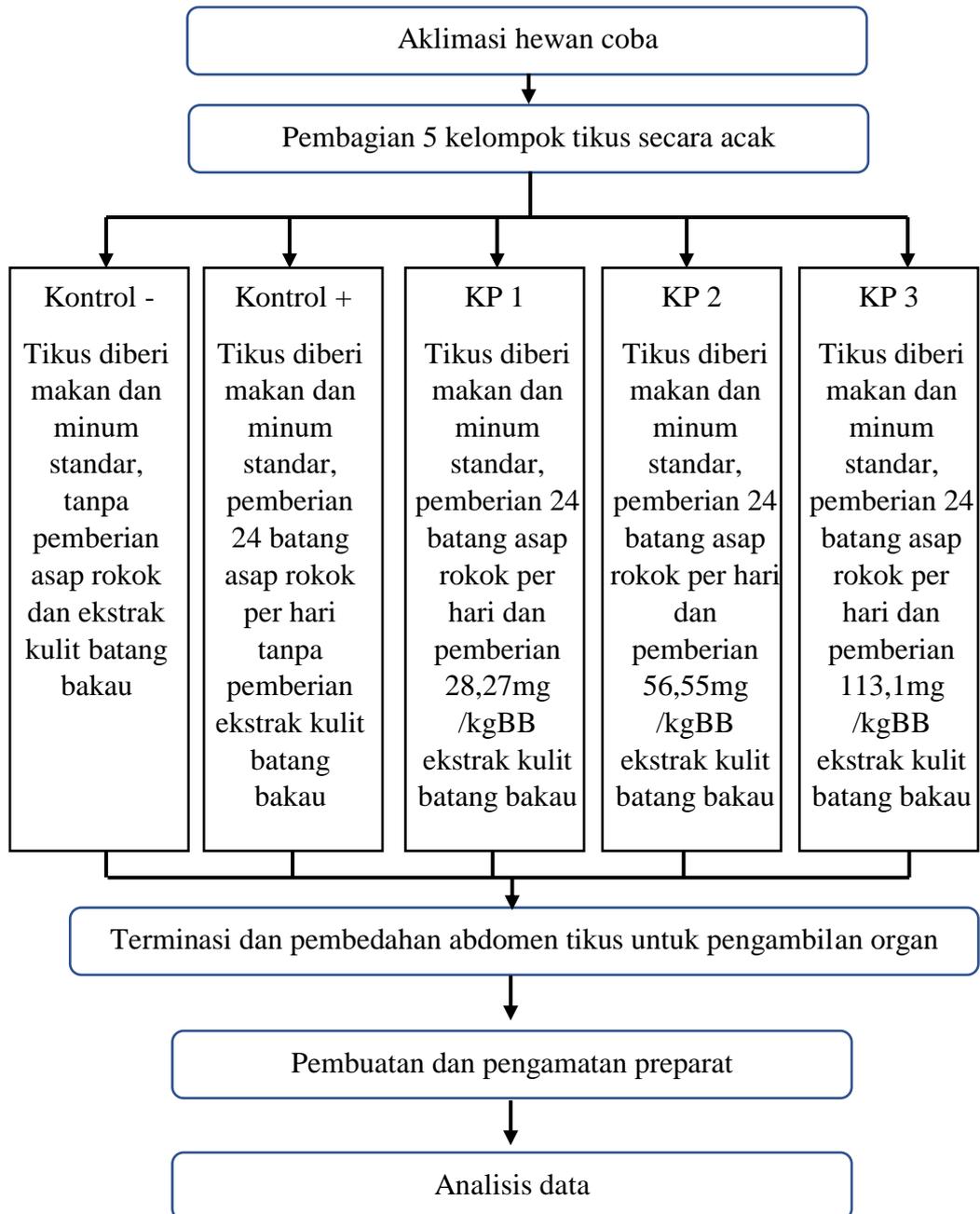
Jika data terdistribusi normal maka dilanjutkan dengan uji parametrik. Sedangkan, jika data tidak terdistribusi normal maka dilanjutkan dengan uji non parametrik. Lalu dilakukan uji homogenitas data dengan uji *Levene* untuk mengetahui varians data (Notoatmodjo, 2010).

Jika data penelitian terdistribusi normal serta varians data homogen maka dilanjutkan dengan uji parametrik *One Way Anova*. Jika hasil uji bermakna menunjukkan data signifikan ($p < 0,05$) dan varian data sama, maka dilanjutkan dengan analisis *Post Hoc Bonferroni*. Namun jika varian data berbeda dilanjutkan dengan analisis *Post Hoc Games-Howell* untuk mengetahui perbedaan hasil antar kelompok perlakuan (Notoatmodjo, 2010).

Jika data penelitian teristribusi tidak normal, maka dilanjutkan uji non-parametrik uji *Kruskal-Wallis*. Jika hasil uji bermakna menunjukkan data signifikan ($p < 0,05$) maka dilanjutkan dengan uji *Post-Hoc Mann-Whitney*

untuk mengetahui perbedaan hasil antar kelompok perlakuan (Notoatmodjo, 2010).

3.10 Alur Penelitian



Gambar 15. Diagram Alur Penelitian

3.11 Etika Penelitian

Ethical Clearance penelitian ini telah disetujui oleh Komisi Etik Fakultas Kedokteran Universitas Lampung dengan nomor surat 072/UN26.18/PP.050.02.00/2019. Prinsip etika dalam menggunakan hewan coba untuk penelitian harus memenuhi prinsip 3R yaitu :

1. *Replacement*, adalah keperluan memanfaatkan hewan percobaan sudah diperhitungkan dari pengalaman terdahulu maupun literature yang ada untuk menjawab pertanyaan penelitian yang tidak dapat digantikan oleh makhluk hidup lain seperti sel atau biakan jaringan.
2. *Reduction*, adalah pemanfaatan hewan dalam penelitian sedikit mungkin, namun tetap mendapatkan hasil yang optimal. Maka dari itu digunakan rumus federer untuk mengetahui sampel minimal.
3. *Refinement*, adalah memperlakukan hewan percobaan secara manusiawi, dengan prinsip dasar membebaskan hewan coba dalam beberapa kondisi:
 - a. Bebas dari rasa lapar dan haus, dengan cara hewan coba diberikan pakan standar dan minum ad libitum.
 - b. Bebas dari ketidaknyamanan, dengan cara hewan coba ditempatkan pada *animal house* dengan suhu ruangan sekitar 25-30°C, jauh dari gangguan bising dan aktivitas manusia, serta terjaga kebersihannya.
 - c. Bebas dari nyeri dan penyakit dengan menjalankan pencegahan, pemantauan, serta pengobatan terhadap hewan percobaan jika diperlukan.
 - d. Bebas dari rasa takut dan stres, dengan cara hewan coba diberikan waktu aklimatisasi selama 7 hari.

- e. Bebas mengekspresikan tingkah-laku alamiah, pada penelitian ini masing-masing hewan coba ditempatkan pada satu kandang dengan jumlah tiga sampai empat ekor agar dapat mengekspresikan kontak sosial (Ridwan, 2013).

BAB IV

HASIL DAN PEMBAHASAN

4.1 Hasil Penelitian

Subjek dari penelitian menggunakan hewan coba tikus yang terdiri dari lima kelompok dan setiap kelompok terdapat 5 ekor tikus ditambah perkiraan *drop out* 1 ekor tikus. Prosedur pemberian ekstrak kulit batang bakau dan paparan rokok dilakukan selama 30 hari. Proses pembuatan ekstrak dilakukan di Laboratorium Kimia Organik Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam. Hasil ekstraksi kulit batang bakau memiliki massa jenis 8mg/ml dilakukan pengenceran dengan cairan aquades sehingga didapatkan 11,31 mg/3ml. Massa 11,31mg/3ml pada ekstrak kulit batang bakau minyak sesuai dengan dosis 56,55 mg/kgBB atau sesuai dengan tikus merupakan dosis yang efektif untuk menimbulkan efek protektif terhadap stress oksidatif akibat paparan radikal bebas (Mustofa, *et al.*, 2018). Berat tikus berkisar 200mg sehingga membutuhkan ekstrak kulit batang bakau minyak sebanyak 11,31mg menurut dosis 56,55/kgBB. Dengan begitu pada kelompok perlakuan 1 diberikan ekstrak yang sudah diencerkan sebanyak 1,5ml, kelompok perlakuan 2 sebanyak 3ml, dan kelompok perlakuan 3 sebanyak 6ml.

Setelah diberi perlakuan selama 30 hari, subjek penelitian diterminasi dengan menggunakan anastesi inhalasi berupa *Ketamine-xylazin* dan euthanasia dengan cara *cervical dislocation* agar dapat diambil organ

ginjalnya. Terminasi dilakukan pada hari Jumat, 15 November 2018 pukul 08.00-15.00 WIB di Laboratorium Biologi Molekuler FK Unila. Organ ginjal yang diambil pada subjek dalam masing-masing kelompok diambil secara laparatomi dan difiksasi dengan formalin 10% lalu dibuat dalam bentuk preparat. Preparat yang telah dbuat, dilakukan analisis histopatologi oleh patolog dengan menggunakan perbesaran 400x dalam lima lapang pandang untuk setiap sampel.

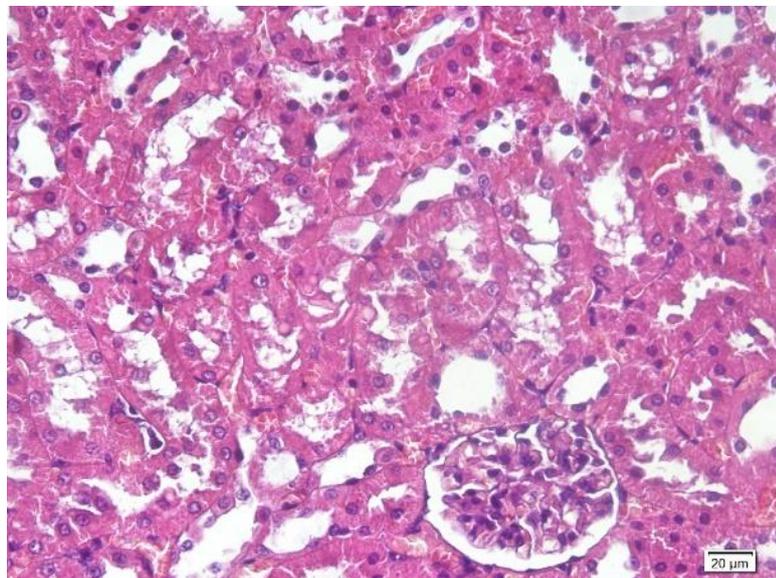
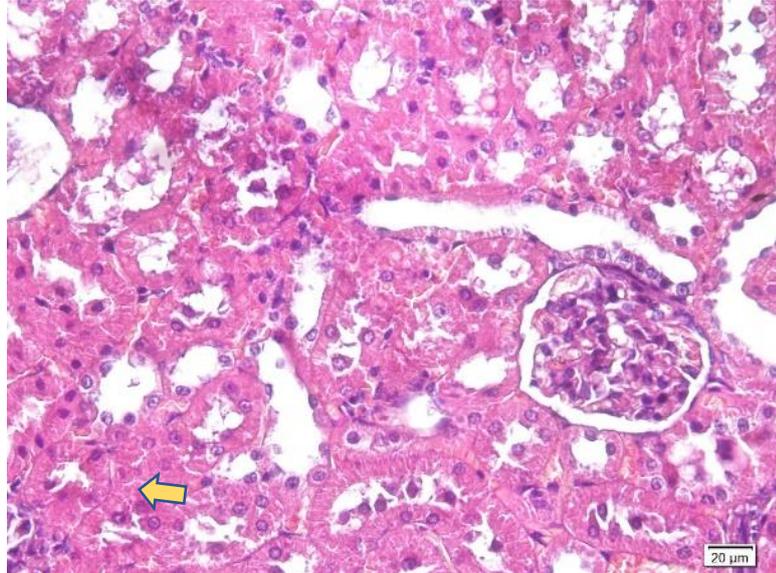
4.4.1 Gambaran Histopatologi Ginjal

Gambaran histopatologi dinilai dari kerusakan glmerulus dan tubulus ginjal. Pada glomerulus ginjal bila gambarannya normal diberi skor 0, terdapat infiltrasi sel radang diberi skor satu, terdapat edema spatium Bowman diberi skor 2, atau bila terdapat nekrosis diberi skor 3. Pada tubulus ginjal bila gambarannya normal diberi skor 0, terdapat infiltrasi sel radang diberi skor satu, terdapat edema sel epitel tubulus diberi skor 2, atau bila terdapat nekrosis diberi skor 3 (Muhartono, *et al.*, 2016). Di bawah ini adalah gambaran histopatologi ginjal tikus pada setiap kelompok perlakuan:

- **Kelompok Kontrol Negatif**

Pada kelompok ini, tikus hanya diberi makan dan minum standar, tanpa pemberian asap rokok dan ekstrak kulit batang bakau. Gambaran secara mikroskopis ginjal masih tampak normal, tidak ditemukan adanya infiltrasi sel radang, ditemukan adanya sedikit edema pada tubulus dan spatium bowman, serta tidak

ditemukannya kongesti dan nekrosis. Gambar histopatologi ginjal kelompok kontrol negatif dapat dilihat pada gambar 16.

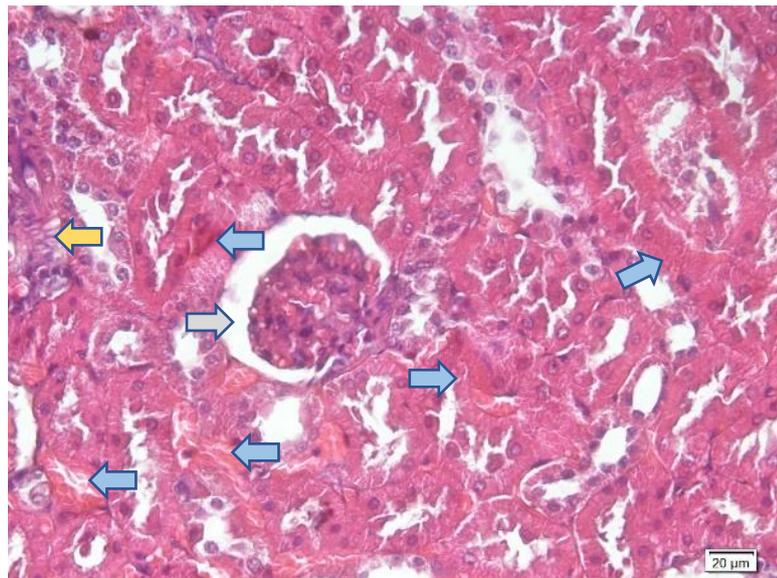
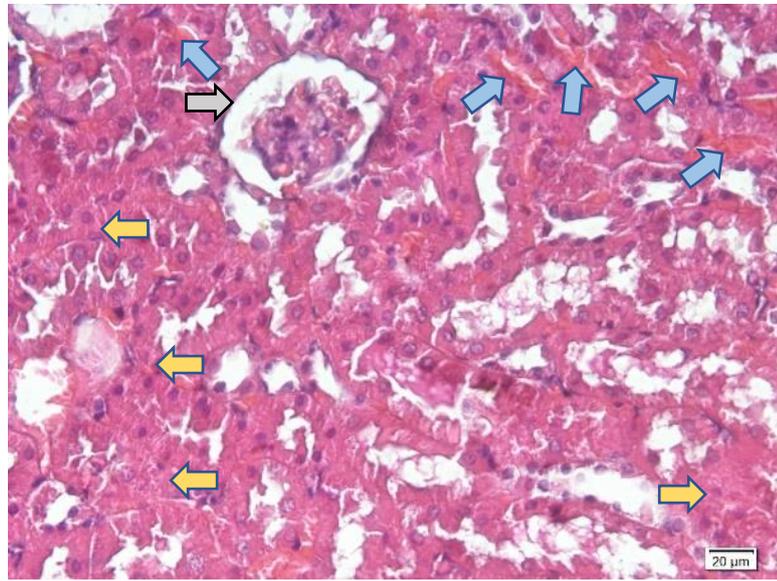


Keterangan: → : Edema epitel tubulus

Gambar 16. Gambaran Histopatologi Ginjal Kelompok Kontrol (-)

- Kelompok Kontrol Positif

Pada kelompok ini, tikus diberi makan dan minum standar, pemberian 24 batang asap rokok per hari tanpa pemberian ekstrak kulit batang bakau.



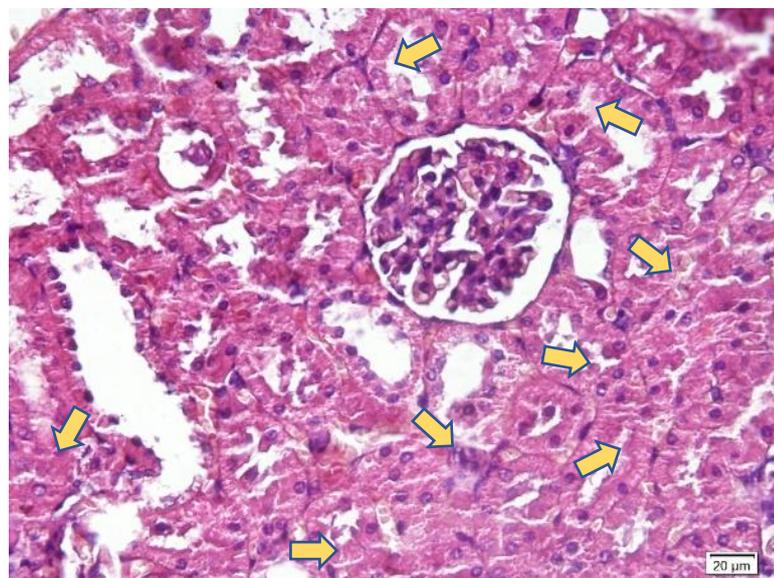
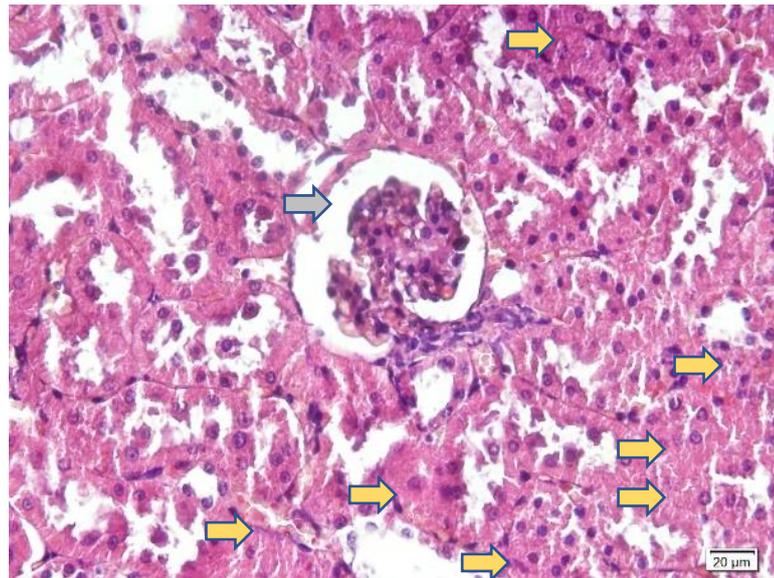
Keterangan:  : Edema spatium bowman
 : Edema epitel tubulus
 : Kongesti

Gambar 17. Gambaran Histopatologi Ginjal Kelompok Kontrol (+)

Dari gambar 17, dapat dilihat bahwa gambaran mikroskopis ginjal dari kelompok kontrol (+) tampak adanya pembengkakan pada tubulus yang ditandai dengan pembengkakan pada sitoplasma dan memudarnya warna inti sel, pada glomerulus tampak adanya edema spatium bowman, ditemukan sedikit serbukan sel radang, tampak juga terjadi kongesti.

- Kelompok Perlakuan 1

Pada kelompok ini, tikus diberi makan dan minum standar, pemberian 24 batang asap rokok per hari dan pemberian 28,27mg/kgBB ekstrak kulit batang bakau. Dari gambar 18 dapat dilihat bahwa, gambaran mikroskopis ginjal dari kelompok perlakuan 1 terdapat adanya pembengkakan tubulus ginjal, glomerulus ginjal masih menunjukkan adanya pelebaran pada spatium bowman, meskipun pelebaran yang terjadi tidak separah pada kelompok kontrol (+). Masih tampak adanya kongesti namun tidak semasif kelompok kontrol (+).



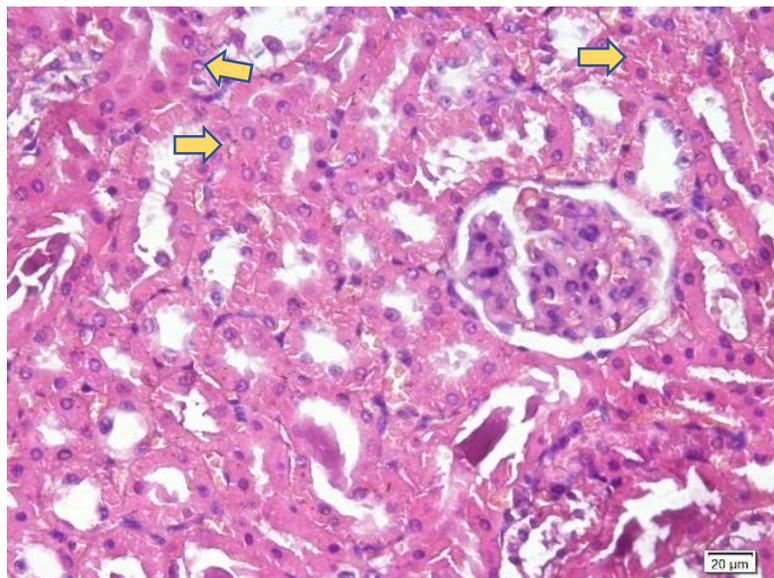
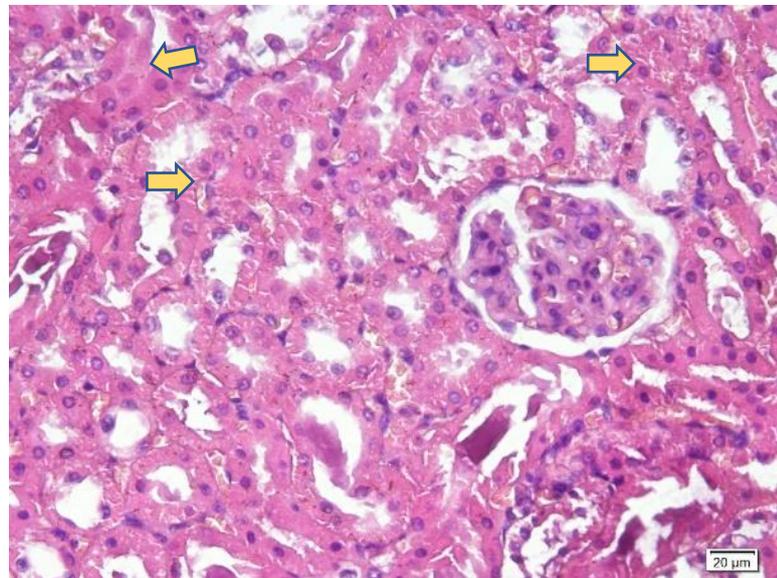
Keterangan:  : Edema spatium bowman
 : Edema epitel tubulus

Gambar 18. Gambaran Histopatologi Ginjal Kelompok Perlakuan 1

- Kelompok Perlakuan 2

Pada kelompok ini, tikus diberi makan dan minum standar, pemberian 24 batang asap rokok per hari dan pemberian 56,55mg/kgBB ekstrak kulit batang bakau. Gambaran mikroskopis ginjal dari kelompok perlakuan 2 masih terdapat

pembengkakan tubulus dan edema spatium bowman glomerulus, namun tidak semasif pada kelompok perlakuan 1. Gambar histopatologi ginjal kelompok perlakuan 2 dapat dilihat pada gambar 19.

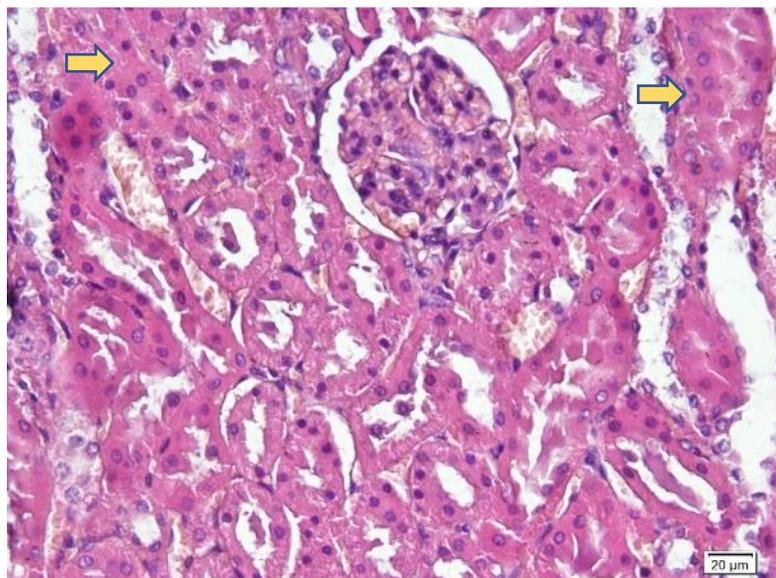
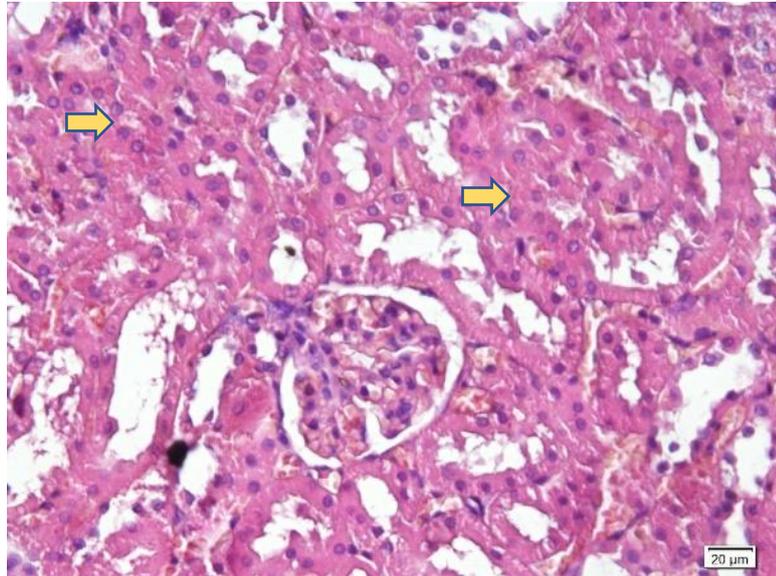


Keterangan: → : Edema epitel tubulus

Gambar 19. Gambaran Histopatologi Ginjal Kelompok Perlakuan 2

- Kelompok Perlakuan 3

Pada kelompok ini, tikus diberi makan dan minum standar, pemberian 24 batang asap rokok per hari dan pemberian 113,1mg/kgBB ekstrak kulit batang bakau.



Keterangan: → : Edema epitel tubulus

Gambar 20. Gambaran Histopatologi Ginjal Kelompok Perlakuan 3

Dari gambar 20 dapat dilihat bahwa gambaran mikroskopis ginjal dari kelompok perlakuan 3 masih terdapat adanya pembengkakan pada sebagian kecil tubulus dan glomerulus, namun secara umum lebih baik dibandingkan dengan kelompok perlakuan 2. Tidak nampak adanya kongesti maupun nekrosis.

Dari data gambaran histopatologi ginjal diatas, didapatkan hasil skor tiap masing masing hewan coba yang dapat dilihat pada tabel 5.

Tabel 4. Hasil Skor Kerusakan Ginjal Tiap Kelompok

No.	Kelompok Perlakuan	Subjek	Skor Glomerulus	Skor Tubulus	Jumlah Skor	Rata-rata
1	K(-)	A	0	0	0	0.32
2		B	0.4	0	0.4	
3		C	0	0	0	
4		D	0.4	0.4	0.8	
5		E	0.4	0	0.4	
6	K(+)	A	2	2	4	3.56
7		B	1.6	1.4	3	
8		C	2	1.6	3.6	
9		D	1.8	1.8	3.6	
10		E	2	1.6	3.6	
11	P1	A	1.4	1	2.4	2.72
12		B	1.2	1.2	2.4	
13		C	1.8	1.4	3.2	
14		D	1.6	1.6	3.2	
15		E	1.2	1.2	2.4	
16	P2	A	1.2	1.2	2.4	2.44
17		B	1.6	1.2	2.8	
18		C	1.4	0.8	2.2	
19		D	1.2	1.2	2.4	
20		E	1.2	1.2	2.4	
21	P3	A	1.4	1.2	2.6	2.2
22		B	1.6	1.2	2.8	
23		C	1	1.2	2.2	
24		D	0.8	0.8	1.6	
25		E	1	0.8	1.8	

4.4.2 Analisis Histopatologi Ginjal

Data analisis histopatologi ginjal pada hewan coba dimuat pada tabel berikut:

Tabel 5. Hasil Median Jumlah Skor Glomerulus dan Tubulus

Kelompok Perlakuan	Hewan Coba					Median (Min-Max)
	1	2	3	4	5	
K-	0	0.4	0	0.8	0.4	0.4 (0-0.8)
K+	4	3	3.6	3.6	3.6	3.6 (3-3.6)
P1	2.4	2.4	3.2	3.2	2.4	2.4 (2.4-3.2)
P2	2.4	2.8	2.2	2.4	2.4	2.4 (2.2-2.8)
P3	2.6	2.8	2.2	1.6	1.8	2.2 (1.6-2.8)

Dari tabel diatas dijelaskan bahwa analisis secara statistik didapatkan data median dari skor kerusakan glomerulus dan tubulus dengan perbesaran 400x dalam lima lapang pandang. Kelompok kontrol negatif memiliki median 0,4, kelompok kontrol positif memiliki median 3,6, kelompok perlakuan 1 memiliki median 2,4, kelompok perlakuan 2 memiliki median 2,4, dan kelompok perlakuan 3 memiliki median 2,2.

Kemudian dilanjutkan dengan uji normalitas data menggunakan *Shapiro-Wilk* yang disajikan ditabel berikut:

Tabel 6. Hasil Uji Normalitas *Shapiro-Wilk* pada Tiap Kelompok Perlakuan.

Kelompok Perlakuan	<i>Shapiro-Wilk</i>	
	Statistik	<i>p-value</i>
K(-)	0,881	0,314
K(+)	0,863	0,238
P1	0,684	0,006
P2	0,006	0,135
P3	0,944	0,692

Keterangan : Jika *p-value* >0,05, data terdistribusi normal

Dari tabel diatas menjelaskan bahwa kelompok perlakuan 2 tidak terdistribusi normal. Lalu dilakukan transformasi data menggunakan *square*/akar namun data tetap tidak terdistribusi normal. Karena data tidak terdistribusi normal, maka dilakukan uji non-parametrik *Kruskal-Wallis*. Dari hasil uji *Kruskal-Wallis* didapatkan nilai $p=0,001$, yang artinya terdapat perbedaan bermakna paling tidak pada dua kelompok perlakuan ($p<0,05$).

Dengan dilakukan uji statistik diketahui bahwa terdapat pengaruh pemberian ekstrak etanol kulit batang bakau minyak terhadap histopatologi ginjal pada tikus putih jantan galur *Sprague-dawley* yang dipapar asap rokok kretek secara signifikan ($p<0,05$). Analisis data dilanjutkan dengan uji *Post-hoc Man-Whitney* untuk mengetahui perbedaan masing-masing kelompok yang terdapat pada tabel berikut:

Tabel 7. Hasil Uji *Post-Hoc Mann-Whitney*

Kelompok Perlakuan	K(-)	K(+)	P1	P2	P3
K(-)	-	0,008*	0,008*	0,008*	0,008*
K(+)	0,008*	-	0,024*	0,007*	0,008*
P1	0,008*	0,024*	-	0,238	0,168
P2	0,008*	0,007*	0,238	-	0,456
P3	0,008*	0,008*	0,168	0,456	-

Keterangan : *memiliki perbedaan yang bermakna ($<0,05$)

Dari tabel diatas didapatkan bahwa nilai K(-) memiliki perbedaan bermakna dengan kelompok K(+), P1, P2, dan P3. Nilai K(+)
memiliki perbedaan bermakna dengan kelompok K(-), P1, P2, dan P3. Nilai dari P1 tidak memiliki perbedaan yang bermakna dengan

kelompok P2 dan P3. Nilai P2 dan P3 juga tidak memiliki perbedaan yang bermakna.

4.2 Pembahasan

Berdasarkan hasil pengamatan secara mikroskopis pada glomerulus dan tubulus ginjal, kelompok kontrol (-) memiliki skor kerusakan glomerulus dan tubulus yang terendah dibandingkan dengan kelompok lain, dengan gambaran secara mikroskopis ginjal masih tampak normal, tidak ditemukan adanya infiltrasi sel radang, ditemukan adanya sedikit edema pada tubulus dan spatium bowman, serta tidak ditemukannya kongesti dan nekrosis. Hal ini dikarenakan kelompok kontrol (-) merupakan kelompok tikus yang diberi pakan standar dan tidak diberi perlakuan apapun, sehingga gambaran mikroskopis ginjal masih dalam batas normal.

Kelompok kontrol (+) memiliki skor kerusakan ginjal terbesar dibandingkan dengan kelompok lainnya. Gambaran mikroskopis ginjal dari kelompok kontrol (+) tampak adanya pembengkakan pada tubulus yang ditandai dengan pembengkakan pada sitoplasma dan memudarnya warna inti sel, pada glomerulus tampak adanya edema spatium bowman, ditemukan sedikit serbuk sel radang, tampak juga terjadi kongesti. Hal ini dikarenakan kelompok kontrol (+) diberi asap rokok selama 30 hari tanpa pemberian ekstrak kulit batang bakau minyak. Paparan asap rokok sebagai sumber radikal bebas eksogen meningkatkan radikal bebas dalam tubuh.

Peningkatan radikal bebas memicu terjadinya stress oksidatif. Sel-sel mesangial yang berada didalam pembuluh darah ginjal memiliki reseptor nicotin (nAChRs) $\alpha 4$, $\alpha 5$, $\alpha 7$, $\beta 2$, $\beta 3$, $\beta 4$, dan $\beta 5$ yaitu sel yang berinteraksi dengan nikotin dalam tembakau. Sel tubulus akan berkontak langsung dengan nikotin yang direasbsorbsi, maka hal inilah yang menyebabkan kerusakan pada inti. Faktor yang berperan dalam stres oksidatif pada kerusakan ginjal yaitu pembentukan radikal bebas di mitokondria. Proses ini terjadi selama metabolisme oksigen ketika sejumlah elektron melewati rantai transport elektron dan secara langsung dapat mengakibatkan reduksi molekul oksigen menjadi anion superoksida. yang selanjutnya akan menimbulkan reaksi rantai radikal. Ginjal merupakan organ yang sangat energik, karena itu sangat bergantung pada metabolisme aerobik untuk produksi ATP. Reduksi molekul oksigen selama rantai transpor elektron dalam mitokondria sangat penting untuk fungsi selular ginjal (Forbes, *et al.*, 2008; Layal, 2016).

Menurut Taal (2018) paparan asap rokok secara akut dapat menyebabkan peningkatan resistensi renovaskuler sebanyak 11%, yang disertai dengan penurunan laju GFR sebanyak 15%. Merokok mengaktivasi sistem saraf simpatis akut yang dapat menyebabkan takikardi dan peningkatan tekanan darah sistolik sebanyak 21mmHg. Hal tersebut dikarenakan terjadinya vasokonstriksi di berbagai pembuluh darah, termasuk pembuluh darah di

ginjal. Dengan begitu, keadaan tersebut dapat berefek pada kerusakan fungsi ginjal.

Selain itu, asap rokok dapat menginduksi albuminuria dan gangguan fungsi ginjal melalui produk akhir glikasi. Telah diketahui bahwa produk akhir dari glikasi bertanggung jawab untuk meningkatkan permeabilitas vaskular dan mempercepat vaskulopati penyakit ginjal stadium akhir. Selain itu, ekstrak air tembakau dan asap rokok mengandung glikotoksin, produk glikasi yang sangat reaktif yang dengan cepat dapat menginduksi in vitro dan in vivo pembentukan produk akhir glikasi akhir pada protein. Dengan begitu, produk akhir glikasi yang dibentuk oleh reaksi glikotoksin dari asap rokok dengan protein serum dan jaringan akan mempengaruhi vaskular sistemik dan ginjal, yang akhirnya akan berefek merusak fungsi ginjal (Aucella, *et al.*, 2018)

Skor kerusakan ginjal pada kelompok perlakuan 1,2 dan 3 memiliki perbedaan bermakna dengan kelompok kontrol (+). Kelompok perlakuan 1,2, dan 3 merupakan kelompok perlakuan yang dipaparkan asap rokok dan ekstrak etanol kulit batang bakau minyak dengan dosis bervariasi selama 30 hari. Secara klinis, skor kerusakan ginjal pada kelompok perlakuan 3 memiliki skor yang lebih rendah dibandingkan dengan kelompok perlakuan 1 dan 2. Maka dari itu, secara klinis kelompok perlakuan 3 dengan pemberian ekstrak etanol 96% kulit batang bakau minyak dengan dosis 113,10 mg/KgBB paling efektif mengurangi efek stress oksidatif dari

paparan asap rokok dibandingkan kelompok perlakuan 1 dan 2, tetapi skor kerusakan ginjal kelompok perlakuan 3 masih memiliki perbedaan yang bermakna dengan kelompok kontrol (-). Namun secara statistik, kelompok perlakuan 1, perlakuan 2 dan perlakuan 3 masing masing tidak memiliki perbedaan yang bermakna. Maka dari itu secara statistik untuk menggunakan dosis pada kelompok perlakuan 1 sebagai dosis yang paling efektif.

Hasil penelitian Rahim, *et al.*, (2008) menjelaskan bahwa ekstrak kulit batang *R. apiculata* memiliki aktivitas antioksidan yang berkemampuan tinggi dalam menghambat pembentukan radikal bebas DPPH, hal ini disebabkan adanya kandungan tanin, dan senyawa fenolik seperti flavonoid dalam kulit batang tersebut. Pada bagian kulit batang *Rhizophora apiculata* juga mengandung tanin yang bermanfaat sebagai sumber antioksidan alami. Tanin merupakan senyawa aktif metabolit sekunder yang diketahui mempunyai beberapa khasiat yaitu sebagai astringen, anti diare, anti bakteri dan antioksidan. Tanin merupakan senyawa polifenol dengan berat molekul yang tinggi ($M_r > 500$) (Rahim, *et al.*, 2008; Abdullah, 2011).

Penurunan skor kerusakan ginjal pada kelompok perlakuan dibandingkan kelompok kontrol positif disebabkan oleh kandungan antoksidan yang terdapat pada kulit batang bakau. Radikal bebas pada asap rokok memiliki satu atau lebih elektron-elektron yang tidak berpasangan pada orbital terluarnya. Dalam upaya memenuhi keganjilan elektronnya, radikal bebas yang elektronnya tidak berpasangan secara cepat akan menarik elektron

makromolekul biologis yang berada di sekitarnya seperti protein, asam nukleat, dan asam deoksiribonukleat (DNA). Jika makromolekul yang teroksidasi dan terdegradasi tersebut merupakan bagian dari sel atau organel, maka dapat mengakibatkan kerusakan pada sel ginjal (Schieber dan Chandel, 2014). Antoksidan diketahui mampu menghambat reaksi oksidasi dengan cara mengikat radikal bebas dan molekul yang sangat reaktif sehingga kerusakan sel yang diakibatkan oleh stres oksidatif oleh paparan asap rokok dapat dicegah. Antioksidan bekerja menangkap radikal bebas dengan cara mereduksi atau scavenging dan atau dismutasi superoksida anion (O_2^-) dan atau peroksida anion (HO_2^-) beserta bentuk protonasinya dengan menggunakan sistem pertahanan antioksidan, sehingga elektron bebas pada radikal bebas akan berkurang. Maka dari itu antioksidan pada kulit batang bakau minyak mampu mencegah efek stress oksidatif pada ginjal yang disebabkan oleh asap rokok (Rahal, *et al.*, 2014)

BAB V PENUTUP

5.1 Kesimpulan

Dari hasil dan pembahasan diatas, dapat disimpulkan bahwa:

1. Terdapat pengaruh pemberian dosis ekstrak etanol 95% kulit batang bakau minyak (*Rhizophora apiculata*) terhadap histopatologi ginjal tikus putih jantan (*Rattus novergicus*) galur *Spargue Dawley* yang terpapar asap rokok.
2. Secara stastistik, dosis efektif dari ekstrak etanol kulit batang bakau minyak (*Rhizophora apiculata*) yang dapat memberikan efek protektif gambaran histopatologi ginjal tikus putih jantan (*Rattus norvegicus*) galur *Sprague-dawley* yang dipaparkan asap rokok sebesar 26,27 mg/kgBB, dibandingkan dengan dosis 56,55 mg/kgBB atau 113,1 mg/kgBB.

5.1 Saran

Adapun saran yang dapat disampaikan dari penelitian ini adalah :

1. Penelitian selanjutnya disarankan untuk meneliti pengaruh ekstrak kulit batang bakau minyak (*Rhizophora apiculata*) terhadap organ lain.

2. Penelitian selanjutnya disarankan untuk meneliti pengaruh fraksi antioksidan dari kulit batang bakau minyak (*Rhizophora apiculata*) dalam mencegah terjadinya stress oksidatif.
3. Peneliti lain disarankan dapat meneliti untuk menguji lebih lanjut dosis toksisitas dari ekstrak kulit batang bakau minyak (*Rhizophora apiculata*).
4. Penelitian selanjutnya disarankan untuk menggunakan rentang dosis ekstrak kulit batang bakau minyak (*Rhizophora apiculata*) yang lebih bervariasi.

DAFTAR PUSTAKA

- Abdullah. 2011. Potensi Bakau *Rhizophora apiculata* sebagai Inhibitor Tirosinade dan Antioksidan [Thesis]. Bogor: Institut Pertanian Bogor.
- Aisyah, Hernawan AD, Ridha A. 2015. Perilaku Merokok sebagai Faktor yang Berpengaruh terhadap Kejadian Gagal Ginjal Kronik (Studi Kasus pada pasien Pralansia dan Lansia di RSUD dr. Soedarso Pontianak). Jurnal Mahasiswa dan Peneliti Kesehatan - JuMantik, hlm. 70–83.
- Astuti, S. 2008. Isoflavon Kedelai dan Potensinya sebagai Penangkap Radikal Bebas. Teknologi Industri dan Hasil Pertanian Universitas Lampung. 13(2): 126–136.
- Aucella F, Prencipe M, Gatta G, Aucella F, Gesualdo L. 2018. Environment , Smoking , Obesity , and the Kidney. Critical Care Nephrology. hlm. 1320-1324.
- Brekenhout. 1769. *Rattus norvegicus*. Integrated Taxonomic Information System [Online Journal] [diakses 25 September 2018]. Tersedia dari: <http://www.itis.gov>
- Chang T. 2009. An updated review of tyrosinase inhibitor. International Journal of Molecular Science. 10: 2440-76.
- Dahlan Z. dan Barokah A. 2009. Model Arsitektur Akar Lateral dan Akar Tunjang Bakau (*Rhizophora apiculata* Blume). Jurnal Penelitian Sains. 12(2): 1–6.
- Departemen Kesehatan. 2014. Perilaku Merokok Masyarakat Indonesia. Departemen Kesehatan [Online Artikel] [diakses 12 September 2018]. tersedia dari: <http://www.depkes.go.id>
- Dharma HS. 2012. Peranan Antioksidan Endogen dan Eksogen terhadap Kesehatan. Medical Department Kalbe Farma. 39(10): 793–794.
- Dharma S. 2008. Pendekatan, Jenis, dan Metode Penelitian Pendidikan. Jakarta: Departemen Pendidikan Nasional, hlm. 54.
- Duke N, Kathiresan K, Salmo III SG, Fernando ES, Peras JR, Sukardjo S, *et al.* 2010. *Rhizophora apiculata*. The IUCN Red List of Threatened Species

[Online Artikel] [diakses pada 23 September 2018]. Tersedia dari: <http://www.iucnredlist.org>

Eroschenko VP. 2010. Atlas Histologi diFiore dengan Korelasi Fungsional. Edisi 11. Jakarta: EGC. hlm. 367-385.

Fitria, Triandhini R, Mangimbulude JC, Karwur FF. 2013. Merokok dan Oksidasi DNA. Sains Medika. 5(2): 113–120.

Forbes JM, Coughlan MT, Cooper ME. 2008. Oxidative Stress as a Major Culprit in Kidney Disease. Diabetes. 4(2): 1446-1454

Guyton AC dan Hall JE. 2013. Buku Ajar Fisiologi Kedokteran. Jakarta: EGC.

Hermawan IP. 2016. Pengaruh Pemberian Ekstrak Kulit Manggis (*Garcinia Mangostana Linn*) terhadap Nekrosis Glomerulus dan Tubulus Ginjal Mencit Jantan (*Mus Musculus*) yang Di Papar Asap Rokok [Skripsi]. Surabaya: Universitas Airlangga.

Hidayati T, Kushadiwijaya H, Suhardi. 2008. Hubungan antara Hipertensi, Merokok dan Minuman Suplemen Energi dan Kejadian Penyakit Ginjal Kronik. Berita Kedokteran Masyarakat, 24(2):90-102.

Irawan B, Muadz S dan Rosadi A. 2013. Karakterisasi dan Kekerabatan Tumbuhan Mangrove Rhizophoraceae Berdasarkan Morfologi, Anatomi dan Struktur Luar Serbuk Sari. Prosiding Seminar Nasional Sains dan Teknologi Nuklir. hlm. 289–297.

Jusuf AA. 2009. Histoteknik Dasar. Jakarta: Universitas Indonesia. hlm.1-33.

Kementerian Kesehatan RI. 2016. Inilah 4 bahaya merokok bagi kesehatan tubuh [Online Artikel] [diakses pada 15 September]. Tersedia dari: <http://www.depkes.go.id>

Kementrian Kesehatan RI. 2013. Laporan Hasil Riset Kesehatan Dasar. Kemenkes. hlm. 131-140.

Kusuma ARP. 2011. Pengaruh Merokok Terhadap Kesehatan Gigi Dan Rongga Mulut., Majalah Ilmiah Sultan Agung, 49(2): 1–8.

Loyal K. 2016. Peran Nrf2 Dalam Patogenesis Stres Oksidatif dan Inflamasi pada Penyakit Ginjal Kronik. Syifa'MEDIKA. 7(1):16-24.

Mescher AL. 2011. Histoogi Dasar Junqueira. Edisi ke-12. Jakarta: EGC. hlm. 325-337.

Moore KL. dan Dalley AF. 2013. Anatomi Berorientasi Klinis. Jakarta: Erlangga. hlm. 748-765.

- Muhartono, Windarti I, Diah S dan Susianti. 2016. Risiko Herbisida Paraquat Diklorida terhadap Ginjal Tikus Putih Spraque Dawley. *Jurnal Kedokteran Brawijaya*. 29(1): 43–46.
- Murray RK, Bender DA, Botham KM, Kennelly PJ, Rodwell VW dan Weil PA. 2014. *Biokimia Harper*. Edisi ke-29. Jakarta: EGC. hlm 345-354.
- Mustofa S, Anindito, Ahmad A, Pratiwi A, Aisyah A dan Maulana, M. 2014. The influence of *Piper retrofractum Vahl* (Java's chili) extract towards lipid profile and histology of rats coronary artery with high-fat diet. *JUKE Unila*. 4(01): 52–59.
- Mustofa S, Bahagia W, Kurniawaty E, Rahmanisa S, dan Audah KA. 2018. The Effect of Mangrove (*Rhizophora apiculata*) Bark Extract Ethanol on Histopathology Pancreas of Male White Rats Sprague Dawley Strain Exposed to Cigarette Smoke. *ActaBioIna*. 1(1): 7-13
- Notoatmodjo S. 2010. *Metodelogi Penelitian Kesehatan*. Jakarta: Rineka Cipta.
- Padmaningrum RT. 2007. *Rokok Mengandung Zat Adiktif yang Berbahaya bagi Kesehatan*. *Jurdik Kimia FMIPA UNY*. hlm. 1–7.
- Paulsen F. dan Waschke J. 2012 *Sobotta Atlas Analomi Manusia*. Edisi 23 Volume 2. Jakarta: EGC. hlm.453-478.
- Pranandari R dan Supadmi W. 2015. Faktor Risiko Gagal Ginjal Kronik di Unit Hemodialisis RSUD Wates Kulon Progo. *Majalah Farmaseutik*, 11(2):316-320
- Pratiwi R dan Widyastuti E. 2013. Pola Sebaran dan Zonasi Krustasea di Hutan Bakau Perairan Teluk Lampung. *Zoo Indonesia*, 22(1): 11–21.
- Pribadi GA. 2008. *Penggunaan Mencit dan Tikus sebagai Hewan Model Penelitian Nikotin [Skripsi]*. Bogor: Institut Pertanian Bogor.
- Rahal A, Kumar A, Singh V, Yadav B, Tiwari R, Chakraborty S, *et al.* 2014. *Oxidative Stress , Prooxidants , and Antioxidants : The Interplay*. Hindawi Publishing Corporation. hlm.1-16.
- Rahim A, Rocca E, Steinmetz J, Jain K, Sani I, dan Osman H. 2008. Antioxidant activities of mangrove *Rhizophora apiculata* bark extracts. *Food Chemistry*, 107(1): 200–7.
- Rusdianti K dan Sunito S. 2012. Konversi Lahan Hutan Mangrove Serta Upaya Penduduk Lokal Dalam Merehabilitasi Ekosistem Mangrove. *Mangrove Forest Conservation and The Role of Local Community in Mangrove Ecosystems Rehabilitations*, 06(01): 1–17.

- Schieber M dan Chandel N S. 2014. ROS Function in Redox Signaling and Oxidative Stress. Elsevier. 24(10): R453–R462.
- Sherwood L. 2014. Fisiologi Manusia: dari Sel ke Sistem. Edisi ke-8. Jakarta: EGC. hlm.607-623.
- Taal MW 2018. Adaptation to Nephron Loss and Mechanisms of Progression in Chronic Kidney Disease. Elsevier. hlm.1736-1779.
- Tirtosastro S dan Murdiyati S. 2010. Kandungan Kimia Tembakau dan Rokok. Buletin Tanaman Tembakau, Serat & Minyak Industri. 2(1):33–43.
- WHO. 2018. Tobacco [Online Artikel] [diakses pada 16 September 2018]. Tersedia dari: www.who.int.
- Widayati E. 2015. Oksidasi Biologi, Radikal Bebas, dan Antioxidant. Bagian Kimia dan Biokimia FK Unissula. hlm.1–7.
- Zalukhu ML, Phyma AR dan Pinzon RT. 2016. Proses Menua, Stres Oksidatif, dan Peran Antioksidan. CDK-245. 43(10): 733–736.

LAMPIRAN