

**PENGARUH PEMBERIAN EKSTRAK KACANG KEDELAI (*Glycine max*  
(L.) Merr.) TERHADAP GAMBARAN HISTOPATOLOGI GINJAL  
MENCIT YANG DIPAPAR NATRIUM NITRIT**

**(Skripsi)**

**OLEH  
Raisha Rahmani Rizal**



**FAKULTAS KEDOKTERAN  
UNIVERSITAS LAMPUNG  
BANDAR LAMPUNG  
2021**

## ABSTRACT

### THE EFFECT OF SOYBEANS (*Glycine max* (L.) Merr.) EXTRACT ON MICE HISTOPATHOLOGICAL INDUCED NATRIUM NITRITE

By

RAISHA RAHMANI RIZAL

**Background:** Food preservatives can improve color quality, inhibit oxidation and prevent toxigenesis, one of which is sodium nitrite (NaNO<sub>2</sub>). Excessive use of NaNO<sub>2</sub> can have adverse effects on the body, especially on the kidneys. Soy protein contains high concentrations of isoflavones which have high antioxidants to ward off free radicals. This study aims to determine the effect of giving soybeans (*Glycine max* (L.) Merr.) On the histopathological of mice's kidneys induced sodium nitrite.

**Method:** This study is an experimental study using the Post Test Only Control Group. Data analysis was performed using the One Way Anova test.

**Result:** The study was conducted on 25 mice in five groups and the mean score of kidney damage in the negative group was 0.22 followed by the positive group 1.8, treatment 1 (P1) was 1.42. Then, treatment group 2 (P2) was 1.16 and treatment 3 (P3) of 0.68. The One Way Anova test found that the p value was 0.001 with the effect of soybean (*Glycine max* (L.) Merr.) extract on the histopathological of mice's kidney induced sodium nitrite.

**Conclusion:** The effect of soybeans extract (*Glycine max* (L.) Merr.) give an impact on the histopathological of mice's kidney induced sodium nitrite.

**Keywords :** Kidney, Natrium Nitrite, Soybean

## ABSTRAK

### PENGARUH PEMBERIAN EKSTRAK KACANG KEDELAI (*Glycine max* (L.) Merr.) TERHADAP GAMBARAN HISTOPATOLOGI GINJAL MENCIT YANG DIPAPAR NATRIUM NITRIT

Oleh

RAISHA RAHMANI RIZAL

**Latar Belakang:** Pengawet makanan dapat meningkatkan kualitas warna, menghambat oksidasi dan mencegah toksigenesis salah satunya adalah natrium nitrit ( $\text{NaNO}_2$ ). Penggunaan natrium nitrit yang berlebihan dapat menimbulkan efek buruk terhadap tubuh terutama terhadap organ ginjal. Protein kedelai mengandung konsentrasi isoflavon yang tinggi yang memiliki antioksidan tinggi untuk menangkal radikal bebas. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui pengaruh pemberian ekstrak kacang kedelai (*Glycine max* (L.) Merr.) terhadap gambaran histopatologi ginjal mencit yang dipapar natrium nitrit.

**Metode Penelitian:** Penelitian ini adalah penelitian eksperimental dengan menggunakan *Post Test Only Control Group*. Analisis data dilakukan dengan uji *One Way Anova*.

**Hasil:** Penelitian dilakukan pada 25 mencit dalam lima kelompok dan didapatkan nilai rerata skor kerusakan ginjal kelompok negatif sebesar 0,22 diikuti kelompok positif 1,8 perlakuan 1 (P1) sebesar 1,42 dan kelompok perlakuan 2 (P2) sebesar 1,16 dan perlakuan 3 (P3) sebesar 0,68. Uji *One Way Anova* didapatkan bahwa nilai *p* adalah 0,001 dengan adanya pengaruh tiap kelompok pemberian ekstrak kacang kedelai (*Glycine max* (L.) Merr.) terhadap gambaran histopatologi ginjal mencit yang dipapar natrium nitrit.

**Kesimpulan :** Pemberian ekstrak kacang kedelai (*Glycine max* (L.) Merr.) memiliki pengaruh terhadap gambaran histopatologi ginjal mencit yang dipapar natrium nitrit.

**Kata Kunci:** Ginjal, Kacang Kedelai, Natrium Nitrit

**PENGARUH PEMBERIAN EKSTRAK KACANG KEDELAI (*Glycine max*  
(L.) Merr.) TERHADAP GAMBARAN HISTOPATOLOGI GINJAL  
MENCIT YANG DIPAPAR NATRIUM NITRIT**

**Oleh :  
Raisha Rahmani Rizal**

**Skripsi**

**Sebagai Salah Satu Syarat Untuk Memperoleh Gelar  
SARJANA KEDOKTERAN**

**Pada**

**Fakultas Kedokteran Universitas Lampung**



**PROGRAM STUDI PENDIDIKAN DOKTER  
FAKULTAS KEDOKTERAN  
UNIVERSITAS LAMPUNG  
BANDAR LAMPUNG  
2021**

Judul Skripsi : **PENGARUH PEMBERIAN EKSTRAK KACANG KEDELAI (*Glycine max* (L.) Merr.) TERHADAP GAMBARAN HISTOPATOLOGI GINJAL MENCIT YANG DIPAPAR NATRIUM NITRIT**

Nama Mahasiswa : **Raisha Rahmani Rizal**

No. Pokok Mahasiswa : **1718011097**

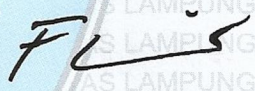
Program Studi : **Pendidikan Dokter**

Fakultas : **Kedokteran**




1. **Komisi Pembimbing**

  
**Dr. dr. Susianti, S. Ked., M. Sc.**  
NIP. 19780805 200501 2 003

  
**dr. Oktafany, S. Ked., M. Pd. Ked.**  
NIP. 19761016 200501 1 003

2. **Dekan Fakultas Kedokteran**


  
**Prof. Dr. Dyah Wulan S.R.W., SKM., M.Kes**  
NIP. 197206281997022001

**MENGESAHKAN**

**1. Tim Penguji**

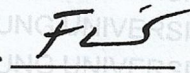
Ketua

: **Dr. dr. Susianti, S. Ked., M. Sc.**



Sekretaris

: **dr. Oktafany, S. Ked., M. Pd. Ked.**



Penguji

Bukan Pembimbing

: **dr. Waluyo Rudiyanto, M.Kes,  
Sp.KKLP.**



**2. Dekan Fakultas Kedokteran**



**Prof. Dr. Dyah Wulan S.R.W.,SKM., M.Kes**

**NIP 197206281997022001**

Tanggal Lulus Ujian Skripsi : **08 Juli 2021**

## LEMBAR PERNYATAAN

Dengan ini saya menyatakan dengan sebenarnya, bahwa :  
Skripsi dengan judul : **“PENGARUH PEMBERIAN EKSTRAK KACANG  
KEDELAI (*Glycine max* (L.) Merr.) TERHADAP GAMBARAN  
HISTOPATOLOGI GINJAL MENCIT YANG DIPAPAR NATRIUM  
NITRIT”**

adalah hasil karya sendiri dan tidak melakukan penjiplakan atau pengutipan atas karya penulis lain dengan cara tidak sesuai etika ilmiah yang berlaku dalam masyarakat akademik atau disebut plagiarisme. Hal intelektual atas karya ilmiah ini diserahkan sepenuhnya kepada Universitas Lampung.

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

Bandar Lampung, 10 Mei 2021



embuat Pernyataan

Raisha Rahmani Rizal

## **RIWAYAT HIDUP**

Raisha Rahmani Rizal lahir di Kota Metro pada tanggal 08 Juni 1999, penulis merupakan anak pertama dari Bapak Drs. Samsu Rizal, S.H., M.H dan Ibu Ely Irma Ria Permata S.P., M.M. Penulis memiliki satu orang adik laki-laki bernama Rivaldo Ragana Rizal.

Penulis menyelesaikan Pendidikan Sekolah Dasar (SD) di SD Pertiwi Teladan, Metro pada Tahun 2011, Sekolah Menengah Pertama (SMP) diselesaikan di SMPN 1 Metro pada tahun 2014, dan Sekolah Menengah Atas (SMA) diselesaikan di SMAN 2 Bandar Lampung pada tahun 2017.

Tahun 2017, penulis terdaftar sebagai mahasiswa Fakultas Kedokteran Universitas Lampung melalui jalur Seleksi Bersama Masuk Perguruan Tinggi Negeri (SBMPTN). Selama menjadi mahasiswa, penulis aktif sebagai anggota Badan Eksekutif Mahasiswa (BEM) 2017/2018, dan anggota Ikatan Senat Mahasiswa Kedokteran Indonesia (ISMKI) Wilayah 1 2017/2018.



**“Be Bold Enough To  
Dream  
& Brave Enough To Try”**

## SANWACANA

Puji dan syukur penulis panjatkan kepada Allah SWT yang maha pengasih lagi maha penyayang, atas rahmat dan karunia-Nya yang telah memberikan segala kenikmatan, kekuatan dan kesabaran sehingga skripsi ini dapat terselesaikan oleh penulis.

Dengan berbekal keyakinan, ketabahan dan kemauan yang keras serta bantuan dari berbagai pihak jualah, maka penulis dapat menyelesaikan penelitian ini. Penulis menyadari masih terdapat kekurangan dalam penulisan skripsi ini karena keterbatasan dan pengetahuan yang peneliti miliki. Melalui kesempatan ini, penulis hendak mengucapkan terimakasih yang tak terhingga kepada semua pihak yang telah memberikan dukungan moril, maupun spiritual.

Dengan teriring salam dan doa serta ucapan terimakasih yang tak terhingga penulis sampaikan kepada :

1. Prof. Dr, Karomani, M. Si., selaku Rektor Universitas Lampung.
2. Prof. Dr. Dyah Wulan Sumekar RW, S.K.M., M.Kes, selaku Dekan Fakultas Kedokteran Universitas Lampung.
3. Dr. dr. Susianti, S.Ked., M.Sc. selaku pembimbing I dan pembimbing akademik yang telah bersedia meluangkan waktu, tenaga, dan pikiran serta dengan sabar selalu memberi dukungan dalam proses perkuliahan dan

penyusunan skripsi ini. Terimakasih atas bimbingan dan arahan yang sudah diberikan kepada penulis.

4. dr. Oktafany, S. Ked., M. Pd. Ked. selaku pembimbing II yang telah bersedia meluangkan waktunya dan selalu memberikan saran kepada penulis, terima kasih banyak atas waktu dan motivasi yang sudah diberikan kepada penulis.
6. dr. Waluyo Rudiyanto, S. Ked., M. Kes selaku Penguji utama yang telah bersedia meluangkan waktu, pikiran, dan tenaga serta dengan sabar memberikan masukan kepada penulis dalam memperbaiki skripsi ini.
7. Seluruh dosen pengajar yang telah berbagi ilmu dan pengalaman selama perkuliahan.
5. Kedua orangtuaku, Ayah dan Ibu tercinta Drs. Samsu Rizal, M.H dan Ely Irma Ria Permata S.P, M.M. yang merupakan inspirasi terbesar penulis. Terimakasih sudah membesarkanku menjadi anak yang kuat dan tidak mudah menyerah. Maaf belum bisa menjadi kebanggaan ayah dan ibu, tapi percayalah tidak pernah surut tekad ini untuk membahagiakan kalian.
6. Adikku, Rivaldo Ragana Rizal yang segera akan dewasa dan menjadi laki-laki hebat, terimakasih sudah menjadi adik yang penurut, aku selalu berharap bisa menjadi inspirasi dan contoh yang baik buat adik.
8. Keluarga besar, Andung dan Papa tercinta Drs. Herry Gunawan Soedarsa, MSi, Ak, CA. yang selalu memberikan motivasi dan dukungan untuk penulis.
9. Sahabatku, Renatd Apriana yang selalu sabar mendengarkan keluh kesahku selama proses perkuliahan 3,5 tahun ini, terimakasih sudah berbagi canda

dan tawa dari masa PKKMB hingga sekarang dan nanti. Semoga semua mimpi kita bisa tercapai dan menikmati keberhasilan kita dimasa depan.

10. Teman-temanku di kampus, Desti, Ines, Nadya, Alma, Sindy, Amal, Nabila, Elma, Isvi, Cassa, Wanda. Terimakasih sudah sering membantu selama proses perkuliahan.
11. Teman-teman angkatan 2017 (VI7REOUS) yang tidak dapat disebutkan satu persatu, terima kasih atas bantuan dan dukungannya selama proses perkuliahan 3,5 tahun ini.
12. Semua Pihak yang telah berjasa dan membantu yang tidak dapat disebutkan satu persatu, terimakasih atas segala kontribusinya terhadap penulis.

Semoga Allah SWT senantiasa selalu memberikan rahmat dan karunia-Nya, serta membalas semua kebaikan yang telah diberikan kepada penulis selama masa perkuliahan dan penyelesaian tugas akhir skripsi penulis.

Bandar Lampung, 10 Mei 2021

Penulis,

Raisha Rahmani Rizal

## DAFTAR ISI

	Halaman
<b>DAFTAR ISI</b> .....	i
<b>DAFTAR TABEL</b> .....	iii
<b>DAFTAR GAMBAR</b> .....	iv
<b>BAB I PENDAHULUAN</b>	
1.1 Latar Belakang .....	1
1.2 Rumusan Masalah .....	3
1.3 Tujuan Penelitian .....	3
1.4 Manfaat Penelitian .....	4
1.4.1 Manfaat Bagi Penulis .....	4
1.4.2 Manfaat Bagi Peneliti Lain.....	4
1.4.3 Manfaat Bagi Instansi Terkait .....	4
1.4.4 Manfaat Bagi Masyarakat.....	4
<b>BAB II TINJAUAN PUSTAKA</b>	
2.1 Natrium Nitrit.....	5
2.1.1 Definisi .....	5
2.1.2 Manfaat Natrium Nitrit .....	5
2.1.3 Bahaya Natrium Nitrit .....	6
2.1.4 Efek Natrium Nitrit.....	7
2.2 Radikal Bebas .....	8
2.3 Ginjal.....	11
2.3.1 Anatomi .....	11
2.3.2 Histologi .....	12
2.3.3 Fisiologi.....	13
2.3.4 Ginjal Mencit.....	14
2.4 Kacang Kedelai .....	15
2.4.1 Definisi .....	15
2.4.2 Taksonomi .....	15
2.4.3 Kandungan dan Manfaat Kacang Kedelai .....	16

2.5 Kerangka Teori .....	18
2.6 Kerangka Konsep.....	19
2.7 Hipotesis .....	19

### **BAB III METODE PENELITIAN**

3.1 Desain Penelitian .....	20
3.2 Tempat dan Waktu Penelitian.....	20
3.3 Subjek penelitian.....	20
3.3.1 Populasi penelitian.....	20
3.3.1.1 Kriteria Inklusi.....	21
3.3.1.2 Kriteria Eksklusi .....	21
3.3.2 Sampel Penelitian .....	21
3.3.2.1 Teknik Sampling.....	21
3.3.2.2 Besar Sampel .....	21
3.4 Variabel Penelitian.....	23
3.5 Definisi Operasional .....	23
3.6 Alat dan Bahan Penelitian.....	24
3.6.1 Alat Penelitian .....	24
3.6.2 Bahan Penelitian .....	24
3.7 Prosedur Penelitian .....	25
3.7.1 Pemilihan Subjek Persiapan .....	25
3.7.2 Adaptasi Mencit.....	25
3.7.3 Perhitungan Dosis.....	25
3.7.4 Prosedur Pemberian Intervensi .....	26
3.7.5 Prosedur Pengelolaan Hewan Coba Pasca Penelitian.....	27
3.7.6 Prosedur Operasional Pembuatan <i>Slide</i> .....	27
3.8 Pengolahan dan Analisis Data .....	33
3.10 Etika Penelitian.....	33

### **BAB IV HASIL DAN PEMBAHASAN**

4.1 Hasil Penelitian .....	34
4.2 Pembahasan.....	41

### **BAB V SIMPULAN DAN SARAN**

5.1 Kesimpulan .....	47
5.2 Saran .....	47

<b>DAFTAR PUSTAKA .....</b>	<b>48</b>
-----------------------------	-----------

## DAFTAR TABEL

Tabel	Halaman
1. Analisis kimia kandungan natrium nitrit pada daging burger .....	7
2. Definisi Operasional Variabel Penelitian .....	23
3. Skoring Kerusakan Ginjal .....	39
4. Hasil Uji <i>Pos Hoc</i> .....	41

## DAFTAR GAMBAR

Gambar	Halaman
1. Anatomi Ginjal.....	13
2. Kerangka Teori.....	18
3. Kerangka Konsep.....	19
4. Alur Penelitian .....	31
5. Gambaran ginjal pada kelompok K- .....	36
6. Gambaran ginjal pada kelompok K+ .....	36
7. Gambaran ginjal pada kelompok P1 .....	37
8. Gambaran ginjal pada kelompok P2 .....	37
9. Gambaran ginjal pada kelompok P3 .....	38



# **BAB I**

## **PENDAHULUAN**

### **1.1 Latar Belakang**

Makanan merupakan kebutuhan dasar seorang makhluk hidup. Pewarna, pengawet, penguat rasa, pengembang, dan penstabil makanan merupakan tambahan makanan yang hampir selalu ada didalam makanan (Widyastuti *et al.*, 2018). Pengawet merupakan salah satu bahan makanan yang sering ditambahkan pada produk makanan, salah satunya adalah pengawet sintetis berupa natrium nitrit. Pengawet sintetis ini ditambahkan dengan tujuan untuk mengawetkan bahan, meningkatkan kualitas bahan, dan mencegah kontaminasi oleh mikroorganisme (Sindelar & Milkowski, 2011; Anand & Sati, 2013).

Pengawet makanan dapat meningkatkan kualitas warna, menghambat oksidasi dan mencegah toksigenesis salah satunya adalah natrium nitrit ( $\text{NaNO}_2$ ). Penggunaan natrium nitrit secara berlebih mengakibatkan akumulasi dalam tubuh yang dapat bereaksi dengan amin serta berpotensi membentuk nitrosamin yang bersifat karsinogenik bagi organ dalam tubuh, seperti hepar, esofagus, lambung, pankreas dan terutama ginjal (Galaly & Mahmoud, 2012). Natrium nitrit dapat digunakan sebagai pengawet makanan yang sewajarnya sehingga tidak menimbulkan dampak negatif bagi tubuh. Menurut Badan

Pengawas Obat dan Makanan (BPOM) kadar batas natrium nitrit yang aman dan tidak akan membuat efek toksik yaitu 0 - 0.06 mg/kgBB (Widyastuti, 2013).

Penggunaan natrium nitrit yang berlebihan dapat menimbulkan efek buruk terhadap tubuh terutama terhadap organ ginjal. Natrium nitrit yang bereaksi dengan oksigen di dalam tubuh dapat membentuk nitrit oksida yang dapat mengganggu fungsi ginjal (Mandei *et al.*, 2013). Gangguan fungsi ginjal tersebut dapat ditandai dengan adanya pembengkakan organ, ketidaknormalan struktur mikroanatomis, adanya peningkatan kadar kreatinin dalam darah karena tubulus ginjal mengalami peradangan dan tidak dapat melakukan penyaringan kreatinin yang seharusnya diekskresikan. Akumulasi konsentrasi natrium nitrit yang tinggi dalam tubuh dapat menimbulkan kerusakan pada sel-sel tubulus ginjal. Gangguan pada sel-sel tubulus tersebut berimbas pada terjadinya penghambatan ekskresi senyawa kimia dari ginjal. Apabila sel-sel ginjal mengalami kerusakan berat, maka serangkaian perubahan struktur mikroanatomis ginjal dapat terjadi. Perubahan struktur mikroanatomis tersebut bisa berupa nekrosis sel-sel ginjal, berupa piknotik, karioreksis, maupun kariolisis (Nursidika *et al.*, 2017).

Kacang kedelai (*Glycine max* (L.) Merr.) adalah sumber pangan fungsional mengandung komponen penting yang berguna untuk kesehatan, seperti vitamin (vitamin A, E, K dan beberapa jenis vitamin B) dan mineral (K, Fe, Zn dan P). Lemak kedelai mengandung 15% asam lemak jenuh dan sekitar 60% lemak

tidak jenuh yang berisi asam linoleat dan linolenat. Selain itu, terdapat senyawa fungsional (isoflavon dan tokoferol) pada kedelai 4.778,1 µg/g (Ramasamy *et al*, 2018). Sementara itu, tokoferol utama yang ditemukan adalah *α-tocopherol*, *γ-tocopherol*, dan *δ-tocopherol*. Protein kedelai mengandung konsentrasi isoflavon yang tinggi, hingga 1 g/kg yang memiliki efek sebagai antioksidan yang jika dikonsumsi dapat menangkal radikal bebas. Penelitian yang dilakukan oleh Ramasamy *et al* (2018) mengenai pemberian minyak kedelai terhadap ginjal tikus yang diinduksi obat memberikan hasil yang signifikan ( $p < 0,005$ ) dengan menurunkan serum nitrogen urea darah, kreatinin, urea, asam urat dan volume urin, berat ginjal, natrium urin, kalium urin, dan protein total. Berdasarkan penjelasan di atas, penelitian lebih lanjut untuk mempelajari potensi ekstrak kacang kedelai (*Glycine max* (L.) Merr.) terhadap gambaran histopatologi ginjal mencit yang dipapar natrium nitrit.

## 1.2 Rumusan Masalah

Apakah terdapat pengaruh pemberian ekstrak kacang kedelai (*Glycine max* (L.) Merr.) terhadap gambaran histopatologi ginjal mencit yang dipapar natrium nitrit?

## 1.3 Tujuan Penelitian

Tujuan penelitian ini secara umum, yaitu untuk mengetahui pengaruh pemberian ekstrak kacang kedelai (*Glycine max* (L.) Merr.) terhadap gambaran histopatologi ginjal mencit yang dipapar natrium nitrit.

## **1.4 Manfaat Penelitian**

### **1.4.1 Manfaat Bagi Penulis**

Penelitian ini diharapkan dapat memberikan wawasan dan menambah pengalaman dalam menerapkan ilmu yang telah didapat.

### **1.4.2 Manfaat Bagi Peneliti Lain**

Penelitian ini diharapkan menjadi dasar penelitian lebih lanjut pada bidang ilmu terkait.

### **1.4.3 Manfaat Bagi Instansi Terkait**

Penelitian ini diharapkan dapat dijadikan kepustakaan Fakultas Kedokteran Universitas Lampung dan memberikan tambahan pengetahuan bagi pengunjung perpustakaan yang membacanya.

### **1.4.4 Manfaat Bagi Masyarakat**

Penelitian ini diharapkan dapat memberi informasi dan menambah pengetahuan masyarakat luas mengenai manfaat kacang kedelai dan dampak dari penggunaan natrium nitrit.

## **BAB II**

### **TINJAUAN PUSTAKA**

#### **2.1 Natrium Nitrit**

##### **2.1.1 Definisi**

Natrium nitrit ( $\text{NaNO}_2$ ) adalah senyawa dengan berat molekul 69 g/mol, tidak berbau, sangat larut di dalam air dan amonia yang mana berasal dari ikatan antara natrium ( $\text{Na}^+$ ) dan nitrit ( $\text{NO}_2^-$ ). Nitrit adalah bentuk nitrogen yang sebagian teroksidasi dan ditemukan dalam limbah yang sudah lama dengan tidak dapat bertahan lama. Nitrit merupakan keadaan sementara proses oksidasi antara amoniak dan nitrat yang bersumber dari bahan bersifat korosif dengan banyak dipergunakan di pabrik-pabrik. Nitrit dapat berubah menjadi amoniak atau dioksidasi menjadi nitrat yang dapat berpengaruh pada kesehatan manusia dengan menyebabkan methamoglobinemia (Prabowo, 2016).

##### **2.1.2 Manfaat Natrium Nitrit ( $\text{NaNO}_2$ )**

Natrium nitrit ( $\text{NaNO}_2$ ) adalah senyawa dengan dua efek yaitu baik dan buruk bagi kesehatan manusia. Efek baik dari  $\text{NaNO}_2$  dapat dijadikan pengawet makanan olahan seperti sosis, kornet, dan burger serta dapat menghambat pembusukan bakteri *Clostridium botulinum* (Lim et al, 2016). Menurut Peraturan Menteri Kesehatan (PERMENKES) No. 33

Tahun 2012 dan Peraturan Kepala BPOM RI No. 36 tahun 2013 tentang bahan tambahan pangan, batasan penggunaan maksimum pengawet natrium nitrit didalam produk daging olahan sebesar 30 mg/kg makanan (Kemenkes, 2012).

### **2.1.3 Bahaya Natrium Nitrit**

Natrium nitrit merupakan senyawa yang berbahaya jika dikonsumsi dengan berlebihan yang akan dapat menyebabkan beberapa efek buruk terhadap tubuh terutama akibat hipoksia jaringan. Hipoksia terjadi akibat reaksi nitrit dengan hemoglobin pada darah manusia yang membentuk methemoglobin, yang afinitasnya terhadap oksigen tidak sebesar hemoglobin. Pada keadaan normal, kadar Methemoglobin adalah  $< 1\%$  dari total hemoglobin. Kadar methemoglobin 3-15% dapat menyebabkan sianosis. Gejala seperti pusing, fatigue, dyspneu, serta nausea dapat terjadi apabila kadarnya  $>20\%$ , dan dapat meningkatkan angka mortalitas jika mencapai  $>70\%$  (Gehle, 2013).

Pengikatan antara nitrit dan hemoglobin juga akan menginduksi pembentukan ROS (*Reactive Oxygen Spesies*) yang akan menyebabkan stres oksidatif. Penelitian yang dilakukan oleh Agustina *et al* (2018), mengenai analisis kimia kandungan natrium nitrit pada daging burger di kecamatan Duren Sawit Jakarta Timur, ditemukan beberapa sampel daging burger yang mengandung natrium nitrit dengan berbagai merk yang disajikan dalam Tabel 1.

**Tabel 1.** Analisis kimia kandungan natrium nitrit pada daging burger

Sampel	Kadar Sampel (mg/kg)	Kriteria
FN	11,7508	MS
ED	5,5090	MS
VG	5,4228	MS
HM	2,5981	MS

Keterangan:

MS = Memenuhi syarat (<30 mg/kg)

TMS = Tidak memenuhi syarat (>30 mg/kg)

Penelitian menyatakan bahwa semua bahan kimia yang digunakan sebagai pengawet adalah racun, tetapi toksisitas yang ditimbulkan ditentukan oleh jumlah yang diberikan untuk dapat menghasilkan efek dan masalah terhadap kesehatan (Agustina *et al*, 2018).

#### 2.1.4 Efek natrium nitrit terhadap ginjal

Natrium nitrit memiliki peran dalam stres oksidatif terhadap ginjal. Penggunaan antioksidan dapat mengurangi toksisitas natrium nitrit. Penelitian Ansari *et al* (2016) terhadap tikus wistar jantan yang dibagi menjadi empat kelompok dan diberi natrium nitrit dosis oral tunggal pada dosis 20, 40, 60 dan 75 mg/kgBB menunjukkan adanya stres oksidatif dibandingkan dengan kelompok kontrol dengan ditandai peningkatan peroksidasi lipid, oksidasi protein, hidrogen peroksida dan penurunan kandungan antioksidan. Pemberian natrium nitrit juga meningkatkan kerusakan DNA yang terbukti dari pelepasan nukleotida bebas dan menyebabkan ikatan silang DNA yang lebih besar dengan protein. Analisis histologis menunjukkan perubahan morfologi yang nyata pada ginjal (Ansari *et al*, 2016)

## 2.2 Radikal Bebas

Radikal bebas merupakan spesies kimiawi dengan satu elektron tak berpasangan di orbital terluar (Kumar, Cotran, & Robbins, 2013). Pada dasarnya elektron yang tidak berpasangan akan berusaha kuat untuk dapat berpasangan dengan elektron lain, baik dengan proses reduksi, maupun oksidasi. Reduksi adalah proses menerima elektron dari sumber lain. Sebaliknya, oksidasi adalah menghibahkan elektron yang tak berpasangan tersebut ke sumber lain. Oleh karena itu, Radikal bebas sangat tidak stabil dan bereaksi cepat dengan senyawa lain, dan mencoba untuk menangkap elektron yang dibutuhkan untuk memperoleh stabilitas (Sitorus dan Hidayat, 2017).

Oksidan adalah senyawa penerima elektron (*electron acceptor*), yaitu senyawa yang dapat menarik elektron. Radikal bebas adalah oksidan tetapi tidak setiap oksidan adalah radikal bebas. Radikal bebas lebih berbahaya dibanding dengan oksidan yang bukan radikal, karena sifat reaktifnya dan kecenderungannya membentuk radikal baru sehingga terjadilah rantai reaksi (*chain reaction*) yang memiliki daya rusak lebih besar (Sharma, 2014).

Radikal bebas terpenting dalam tubuh adalah radikal derivat dari oksigen yang disebut kelompok oksigen reaktif (ROS). Termasuk didalamnya adalah triplet ( $3O_2$ ), tunggal (singlet/ $1O_2$ ), anion superoksida ( $O_2^-$ ), radikal hidroksil ( $-OH$ ), nitrit oksida ( $NO^-$ ), peroksinitrit ( $ONOO^-$ ), asam hipoklorus ( $HOCl$ ), hidrogen peroksida ( $H_2O_2$ ), radikal alkoxy ( $LO^-$ ), dan radikal peroksil ( $LO_2$ ) (Arief, 2012). ROS dapat berasal dari dalam maupun luar tubuh. ROS yang berasal



dari dalam tubuh, misalnya akibat proses respirasi sel, proses metabolisme aerob (autooksidasi), oksidasi enzim, dan proses inflamasi, sedangkan yang berasal dari luar tubuh dapat disebabkan karena polutan, seperti asap rokok, asap kendaraan bermotor, radiasi sinar matahari, makanan berlemak, kopi, alkohol, obat, natrium nitrit, bahan racun pestisida, dan lain sebagainya. Juga dapat dipicu oleh stres atau olahraga yang berlebihan (Sharma, 2014).

ROS secara konstan diproduksi dan dieliminasi di dalam tubuh, selama sel masih memiliki pertahanan endogen melawan zat tersebut. Kadar ROS yang rendah diduga berperan dalam homeostatis tetapi apabila kadar ROS berlebihan akan menyebabkan stres oksidatif sehingga muncul berbagai kelainan patologis (Albike *et al.*, 2016). Ketidakseimbangan antara radikal bebas dengan antioksidan dalam tubuh menyebabkan terjadinya stres oksidatif, yaitu peristiwa dimana radikal bebas yang berupa molekul reaktif, yang muncul melalui suatu reaksi biokimiawi dari sel normal merusak membran sel dan menyebabkan berbagai gangguan fungsi tubuh. Radikal bebas dalam tubuh akan menyebabkan kerusakan DNA, karbohidrat, protein dan lipid (Zdaroglu Dan Jaruga, 2012).

Menurut Kumar dan Robbins (2013), terdapat tiga reaksi yang paling relevan dengan jejas sel yang diperantarai radikal bebas, yaitu:

- a. Peroksidasi lipid membran. Ikatan ganda pada lemak tak jenuh membran mudah terkena serangan radikal bebas berasal dari oksigen. Interaksi radikal

lemak menghasilkan peroksida, yang tidak stabil dan reaktif, dan terjadi reaksi autokatalitik.

- b. Fragmentasi DNA. Reaksi radikal bebas dengan timin pada DNA mitokondria dan nuklear menimbulkan rusaknya untai tunggal.
- c. Ikatan silang protein. Radikal bebas mencetuskan ikatan silang protein yang diperantarai sulfhidril, menyebabkan peningkatan kecepatan degradasi atau hilangnya aktivitas enzimatik. Reaksi bebas juga bisa secara langsung menyebabkan fragmentasi polipeptida.

Radikal yang masuk kedalam tubuh akan mengalami tiga tahap yaitu tahap inisiasi merupakan tahapan yang menyebabkan terbentuknya radikal bebas, tahap propagasi merupakan tahap di mana radikal bebas cenderung bertambah banyak dengan membuat reaksi rantai dengan molekul lain dan tahap terminasi apabila terjadi reaksi antara radikal bebas dengan suatu senyawa pembasmi radikal (*scavenger*). Radikal bebas masuk ke dalam tubuh dan dapat menyebabkan kerusakan pada berbagai organ, salah satunya ginjal (Ansari *et al*, 2017).

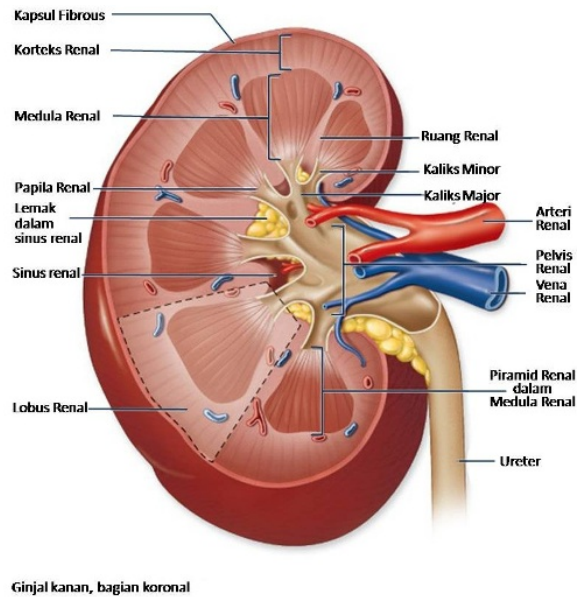
## 2.3 Ginjal

### 2.3.1 Anatomi

Ginjal terletak retroperitoneal pada dinding abdomen posterior, satu pada setiap sisi columnae vertebrales setinggi vertebra T12-13. Ren dextra (ginjal kanan) biasanya terletak di inferior ren sinistra (ginjal kiri). Selama hidup, ginjal berwarna coklat kemerahan dan memiliki ukuran

panjang sekitar 10 cm, lebar 5 cm, dan tebal 2,5 cm. Di superior, ginjal berhubungan dengan diaphragma, yang memisahkannya dari cavitas pleuralis dan pasangan ke-12 costa. Lebih inferior, permukaan posterior ginjal berhubungan dengan musculus quadratum lumborum. Pada batas medial konkaf setiap ginjal adalah celah vertikal yang disebut hilum renale, di mana arteri renalis masuk dan vena renalis serta pelvis renalis meninggalkan sinus renalis (Moore & Dalley, 2013)

Ginjal diperdarahi oleh arteri dan vena renalis. Arteri renalis berasal dari area setinggi discus IV diantara vertebra L1 dan L2. Arteri renalis yang berpasangan berasal dari Aorta abdominalis dan berjalan di sepanjang dorsal vena menuju hilum renale. Arteri renalis kanan menyilang IVC di posterior. Pada hilum renale, arteri tersebut terbagi menjadi beberapa cabang. Vena renalis bermuara kedalam IVC pada kedua sisi. Saraf simpatis postganglionik yang menuju ginjal berasal dari Ganglion corticorenalis dan membentuk Plexus renalis di sekitar arteri renalis. KGB regional ginjal adalah Nodi lymphoidei lumbales di sekitar Aorta dan IVC (Mescher, 2017).



**Gambar 1.** Anatomi ginjal (Tank & Gest, 2011)

Menurut Mescher (2011), aliran darah ke ginjal meliputi: Arteri renalis > arteri segmentalis > arteri interlobaris > arteri arcuata > arteri interlobularis > arteriol aferen > glomerulus > arteriol eferen > kapiler tubular (berhubungan dengan TKP) dan vasa recta (berhubungan dengan ansa henle) > vena interlobularis > vena arcuata > vena interlobaris > vena renalis (Sherwood, 2014).

### 2.3.2 Histologi

Ginjal memiliki bagian medial yang cekung disebut hilus dan permukaan lateral yang cembung, keduanya dilapisi oleh suatu simpai fibrosa tipis. Pelvis renalis yang berada di ujung atas ureter, terbagi menjadi dua atau tiga calix mayor. Setiap calix mayor bercabang menjadi calix minor. Area yang mengelilingi calix mengandung sejumlah jaringan adiposa

disebut sinus renalis. Ginjal bagian luar disebut korteks dan ginjal bagian dalam disebut medula. Medula ginjal pada manusia terdiri atas 8-15 struktur berbentuk kerucut yang disebut piramida ginjal dan dipisahkan oleh columna renalis. Piramida ginjal disertai jaringan korteks didasarnya dan disepanjang sisinya membentuk suatu lobus ginjal (Mescher, 2017).

Setiap ginjal terdiri atas 1-1,4 juta nefron yang merupakan unit fungsional ginjal. Dari corpusculum renale terjulur tubulus kontortus proksimal dan ansa henle kedalam medula dan kembali ke korteks, lalu tubulus kontortus distal dan tubulus colligens yang bergabung menjadi ductus colligens untuk pengangkutan urine ke calix (Mescher, 2017). Korpuskulus renal memiliki diameter 200 $\mu$ m merupakan tempat dimana plasma darah disaring (filtrasi), dan tubulus renal adalah tempat cairan tersaring (filtrat). Korpuskel renal terbagi menjadi dua komponen yaitu kapsula Bowman dan glomerulus (Tortora & Derrickson, 2014).

### **2.3.3 Fisiologi Ginjal**

Ginjal berfungsi vital sebagai pengatur komposisi kimia dan volume darah serta lingkungan dalam tubuh dengan mengekresikan zat terlarut dan air secara selektif. Fungsi vital ginjal dicapai dengan filtrasi plasma darah melalui glomerulus dengan reabsorpsi sejumlah zat terlarut dan air dalam jumlah yang sesuai di sepanjang tubulus ginjal. Kelebihan zat

terlarut dan air di eksresikan keluar tubuh dalam urin melalui sistem pengumpulan urin. Menurut Sherwood (2014), fungsi ginjal antara lain:

- a. Mempertahankan keseimbangan  $H_2O$  di tubuh
- b. Mempertahankan osmolaritas cairan tubuh yang sesuai, terutama melalui regulasi keseimbangan  $H_2O$
- c. Mengatur jumlah dan konsentrasi sebagian besar ion CES
- d. Mempertahankan volume plasma yang tepat, yang penting dalam pengaturan jangka panjang tekanan darah arteri
- e. Membantu mempertahankan keseimbangan asam-basa tubuh yang tepat dengan menyesuaikan pengeluaran  $H^+$  dan  $HCO_3^-$  di urin
- f. Mengekskresikan produk-produk sisa metabolisme
- g. Menghasilkan hormon eritropoietin untuk merangsang produksi sel darah merah
- h. Menghasilkan hormon renin untuk memicu suatu reaksi berantai yang penting dalam penghematan garam oleh ginjal
- i. Mengubah vitamin D menjadi bentuk aktifnya.

#### **2.3.4 Ginjal Mencit**

Anatomi ginjal mencit mirip dengan ginjal manusia, terdiri dari sepasang organ yang berbentuk seperti kacang yang terletak retroperitoneal. Namun, keduanya dilapisi oleh lemak sehingga tidak melekat langsung pada dinding tubuh. Ginjal ini berada dalam posisi mendatar dorsoventral dan memiliki luas cembung ke arah lateral. Terdapat dua lapisan ginjal yaitu korteks dan medulla (Mescher, 2017). Kerusakan pada ginjal tikus

akibat pemberian natrium nitrit disebabkan oleh kandungan ROS dalam senyawa tersebut yang dapat merusak membran sel dan merusak komponen intrasel termasuk asam nukleat, protein, dan lipid (Ansari *et al*, 2017; Nugroho, 2018).

## **2.4 Kacang Kedelai**

### **2.4.1 Definisi**

Kedelai adalah salah satu sumber pangan yang memiliki gizi protein nabati dan cukup banyak dikonsumsi oleh masyarakat dari berbagai kalangan. Kedelai termasuk polong-polongan atau Leguminosae/Fabaceae.

### **2.4.2 Taksonomi**

Taksonomi kacang kedelai menurut Cahyono (2014) adalah sebagai berikut:

Kingdom : Plantae

Divisi : Spermatophyta

Subdivisi : Angiospermae

Class : Dicotyledonae

Ordo : Rosales

Famili : Leguminosae

Genus : Glycine

Spesies : *Glycine max L.*

### 2.4.3 Kandungan dan Manfaat Kacang Kedelai

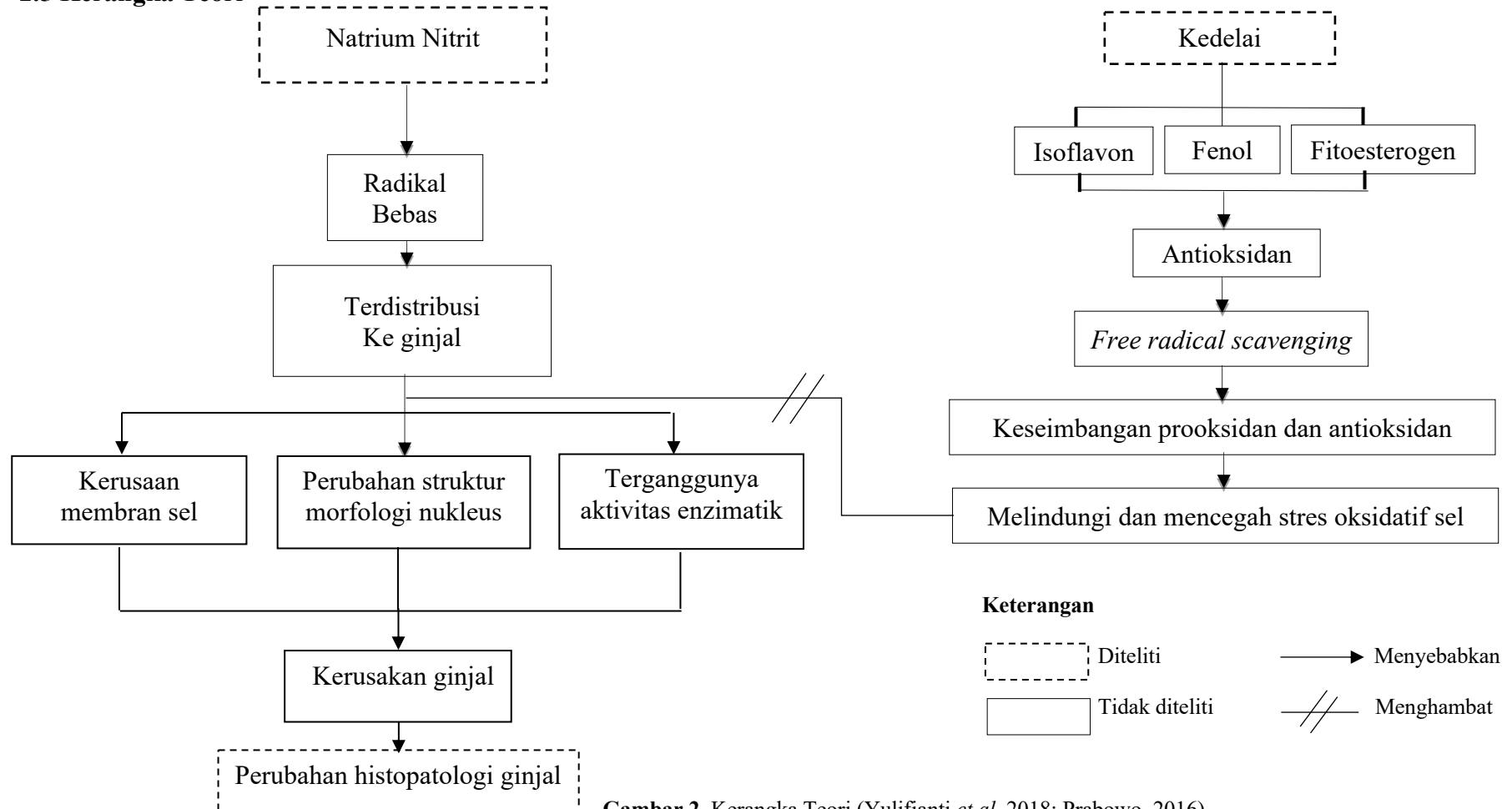
Kandungan utamanya berupa isoflavon yang dikenal sebagai senyawa fitoestrogen atau estrogen dari tanaman. Selain isoflavon, juga terkandung fenol, flavonoid, saponin, dan fitosterol (Alghamdi *et al.*, 2018). Isoflavon adalah metabolit sekunder yang banyak ditemukan di kacang-kacangan seperti genistein dan daidzein. Senyawa ini memiliki aktivitas antioksidan yang mampu melawan radikal bebas dan juga berperan sebagai antiinflamasi, anti virus, dan anti mikroba (Yulifianti *et al.*, 2018).

Isoflavon adalah flavonoid utama dalam biji kedelai yang memiliki potensi sebagai antioksidan dan di antara senyawa isoflavon, aktivitas antioksidatif tertinggi dimiliki isoflavon aglikon, terutama genistein (Suarsana *et al.* 2012; Fawwaz *et al.* 2017). Kebutuhan terhadap asupan isoflavon berbeda-beda tergantung berat badan, yakni 0,44 mg/kg berat badan per hari dan penelitian menunjukkan konsumsi kedelai sebanyak 102 mg/hari dapat menurunkan *Low Density Lipoprotein* (LDL) 4,98% dan meningkatkan *High Density Lipoprotein* (HDL) 3,00% serta mengurangi tekanan darah sistolik dan diastolik masing-masing 9,9% dan 6,8% pada wanita hipertensi. Selain itu, konsumsi kedelai, dapat meningkatkan sensitivitas insulin, mencegah hiperinsulinemia dan mengurangi pembentukan lemak hati dan mencegah kerusakan ginjal (Yulifianti *et al.*, 2018).



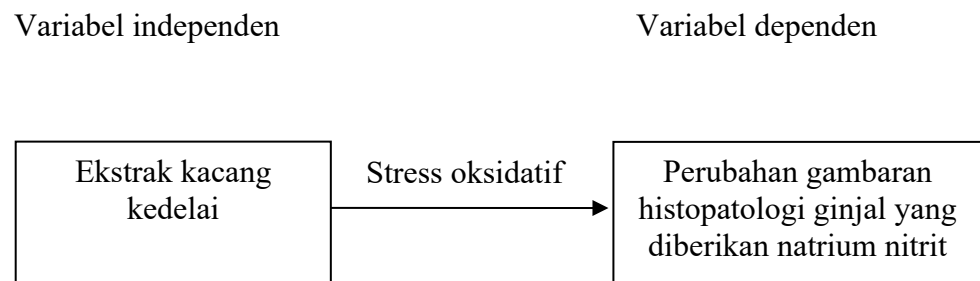
Berdasarkan penelitian sebelumnya yang dilakukan oleh Utomo (2012), pemberian nutrisi kedelai yang dapat meningkatkan kadar hemoglobin pada tikus dengan berat 200 gr adalah 0,6 gr; 1,2 gr; 1,8 gr /200gr BB/ hari yang diberi pakan nasi aking.

## 2.5 Kerangka Teori



**Gambar 2.** Kerangka Teori (Yulifianti *et al*, 2018; Prabowo, 2016).

## 2.6 Kerangka Konsep



**Gambar 3.** Kerangka Konsep

## 2.7 Hipotesis

H0: Tidak ada pengaruh pemberian ekstrak kacang kedelai (*Glycine max* (L.) Merr.) terhadap histopatologi ginjal mencit yang diinduksi natrium nitrit.

H1: Terdapat ada pengaruh pemberian ekstrak kacang kedelai (*Glycine max* (L.) Merr.) terhadap histopatologi ginjal mencit yang diinduksi natrium nitrit.

## **BAB III METODE PENELITIAN**

### **3.1. Desain Penelitian**

Penelitian ini merupakan penelitian eksperimental metode *Post Test Only Control Group* untuk mengetahui pengaruh pemberian ekstrak kacang kedelai (*Glycine max* (L.) Merr.) terhadap gambaran histopatologis ginjal yang diinduksi oleh natrium nitrit. Penelitian ini dipilih secara acak dan dibagi menjadi 5 kelompok, yaitu kelompok kontrol negatif (K-), kelompok kontrol positif (K+), kelompok perlakuan I (P1), kelompok perlakuan II (P2) dan kelompok perlakuan III (P3) (Notoatmodjo, 2012).

### **3.2. Tempat dan Waktu Penelitian**

Pembuatan ekstrak kacang kedelai di lab. kimia organik FMIPA Universitas Lampung. Penelitian dilakukan di *Animal House* Fakultas Kedokteran Universitas Lampung dan pembuatan preparat histopatologi di laboratorium Histologi dan Patologi Anatomi Fakultas Kedokteran Universitas Lampung.

### **3.3. Subjek penelitian**

#### **3.3.1 Populasi penelitian**

Populasi dalam penelitian ini adalah mencit. Sampel yang digunakan adalah mencit yang memenuhi kriteria inklusi dan eksklusi sebagai

berikut:

#### **3.3.1.1 Kriteria Inklusi**

Mencit berjenis kelamin jantan yang memiliki berat badan normal (18-20 gram), berusia 2-3 bulan. Sebelum dilakukan adaptasi, pada pengamatan visual tampak sehat dan bergerak aktif, penampakan keadaan rambut tidak kusam, rontok, atau botak, serta tidak terdapat kelainan anatomis.

#### **3.3.1.2 Kriteria Eksklusi**

Mencit berjenis kelamin jantan yang mengalami penurunan berat badan drastis, lebih dari 10% dan mati selama masa perlakuan.

### **3.3.2 Sampel Penelitian**

Pada penelitian ini, sampel dibagi ke dalam tiga kelompok perlakuan, dimana satu kelompok adalah grup kontrol dan dua kelompok lainnya adalah grup perlakuan.

#### **3.3.2.1 Teknik Sampling**

Sedangkan untuk teknik sampling yang digunakan pada penelitian ini adalah *probability sampling* yang dilakukan secara random atau acak (*simple random sampling*). Hal ini disebabkan karena populasi mencit yang disediakan memiliki karakteristik yang homogen (Notoatmodjo, 2012).

#### **3.3.2.2 Besar sampel**

Besar sampel penelitian ini dihitung dengan menggunakan rumus Federer untuk data homogen, yaitu (Sastroasmoro dan

Ismael, 2014):

Rumus penentuan sampel :

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

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

$$(n-1)4 \geq 15$$

$$(n-1) \geq 15/4$$

$$(n-1) \geq 3,75$$

$$n \geq 3,75 + 1$$

$$n = 4,75 \text{ (dibulatkan menjadi 5)}$$

Keterangan:

t = banyaknya kelompok perlakuan

n = jumlah sampel tiap kelompok.

Penelitian ini menggunakan 5 kelompok perlakuan. Pembagian sampel ke dalam lima kelompok perlakuan dilakukan dengan pemilihan secara acak. Berdasarkan perhitungan diatas maka jumlah sampel yang digunakan pada setiap kelompok percobaan sebanyak 5 ekor ( $n \geq 5$ ) dan jumlah kelompok yang digunakan adalah 5 kelompok sehingga penelitian ini menggunakan 25 ekor mencit dari populasi yang ada. Jumlah minimal sampel ditambahkan 10% menjadi 30 ekor mencit untuk mengantisipasi *drop out*. Pembagian sampel ke dalam lima kelompok perlakuan dilakukan dengan pemilihan secara acak.

### 3.4 Variabel Penelitian

Adapun variabel yang digunakan pada penelitian ini adalah sebagai berikut:

- a. Variabel bebas adalah pemberian kacang kedelai (*Glycine max* (L.) Merr.) terhadap gambaran histopatologis ginjal mencit yang diinduksi oleh natrium nitrit.
- b. Variabel terikat penelitian ini adalah histopatologis ginjal mencit yang diinduksi natrium nitrit.

### 3.5 Definisi Operasional Variabel Penelitian

**Tabel 2.** Definisi Operasional

Variabel	Definisi Operasional	Alat Ukur	Hasil Ukur	Skala Ukur
Ekstrak kacang kedelai ( <i>Glycine max</i> (L.) Merr.)	Pemberian Ekstrak kacang kedelai ( <i>Glycine max</i> (L.) Merr.) setelah dilakukan pemberian natrium nitrit selama 14 hari.	Sprit 100cc, sonde, dan gelas ukur.	Ekstrak kacang kedelai diberikan dengan dosis bertingkat sebanyak 60mg/kgBB/hari, 120mg/kgBB/hari, 180mg/kgBB/hari.	Kategorik (Ordinal)
Gambaran Histopatologi Ginjal	Gambaran histopatologi ginjal mencit dilihat dengan cara mengamati sediaan histopatologi menggunakan mikroskop pada 5 lapang pandang dengan perbesaran 100 kali dan 400 kali dimana setiap lapang pandang dinilai kerusakan pada glomerulus dan tubulus ginjalnya.	Mikroskop Cahaya	<p><b>Kerusakan Glomerulus</b>            0=Gambaran normal            1=Infiltrasi sel radang            2=Pelebaran spatium Bowman            3=Nekrosis</p> <p><b>Kerusakan Tubulus</b>            0=Gambaran normal            1=Infiltrasi sel radang            2=Pembengkakan sel epitel tubulus            3=Nekrosis.</p> <p>Penilaian derajat kerusakan ginjal dapat diambil dari kerusakan tertinggi. Jumlah skor kerusakan diperoleh dari penjumlahan skor glomerulus dan skor kerusakan tubulus ginjal yang berkisar di angka 0 – 6 (Muhartono et al, 2016)</p>	Numerik (Rasio)

### 3.6 Alat dan Bahan Penelitian

#### 3.6.1 Alat Penelitian

1. Neraca analitik *Metler Toledo* dengan tingkat ketelitian 0,01 g, untuk menimbang berat mencit
2. Spuit 3 cc
3. Sonde
4. Minor set, untuk membedah perut mencit (*laparotomy*)
5. Kapas alkohol
6. Kandang dan botol minum mencit
7. Mikroskop cahaya

#### 3.6.2 Bahan Penelitian

1. Mencit
2. Aquades
3. Natrium Nitrit
4. Pakan dan minum mencit
5. Ketamine-xylazine
6. Masker tali
7. Sarung tangan *Vinyl non Powder*.
8. Ekstrak Kacang Kedelai
9. Formalin 10% untuk fiksasi, alkohol 70%, alkohol 96%, alkohol absolut, etanol, xylol, pewarna Hematoksisilin dan Eosin (H & E) dan entelan.



### **3.7 Prosedur Penelitian**

Penelitian ini dilakukan untuk mengetahui pengaruh kacang kedelai terhadap histopatologi ginjal pada hewan coba yang diinduksi natrium nitrit.

#### **3.7.1 Pemilihan hewan coba**

Hewan coba sebagai model dipilih mencit. Mencit ini dipilih sebagai model hewan coba karena merupakan mamalia yang mempunyai tipe metabolisme sama dengan manusia sehingga hasilnya dapat digeneralisasi pada manusia serta pengaruh diet dapat benar-benar dikendalikan dan terkontrol.

#### **3.7.2 Adaptasi Mencit**

Mencit sebanyak 30 ekor dibagi ke dalam 5 kandang dan diadaptasi selama 1 minggu sebelum perlakuan dimulai. Selama masa adaptasi mencit diberi makan berupa pelet dan air. Pengukuran berat badan mencit sebelum perlakuan.

#### **3.7.3 Perhitungan dosis**

##### **a. Perhitungan dosis natrium nitrit**

Pemberian natrium nitrit kepada hewan percobaan dilakukan berdasarkan penelitian sebelumnya. Dosis yang dipakai untuk menginduksi tikus dengan natrium nitrit adalah 25mg/200grBB. Pada penelitian ini, berat badan mencit adalah 20 gr sehingga kadar natrium nitrit untuk setiap ekor adalah 2,5 mg yang dilarutkan dalam 1 ml aquades (Kusumaningtyas *et al*, 2019).

### **b. Perhitungan dosis ekstrak kacang kedelai**

Berdasarkan penelitian sebelumnya yang dilakukan oleh Utomo (2012), pemberian nutrisi kedelai yang dapat meningkatkan 48 hemoglobin pada tikus dengan berat 200 gr adalah 0,6 gr; 1,2 gr; dan 1,8 gr/200gr BB/ hari. Pada penelitian ini, berat badan mencit adalah 20 gr sehingga pemberian kacang kedelai untuk setiap ekor adalah 60 mg; 120 mg; dan 180 mg/20gr BB/hari (Utomo, 2012).

#### **3.7.4 Prosedur Pemberian Intervensi**

Untuk pemberian intervensi dilakukan berdasarkan kelompok perlakuan. Kelompok 1 (K-) sebagai kontrol negatif, dimana hanya akan diberi aquadest. Kelompok 2 (K+) sebagai kontrol positif yang hanya diberikan natrium nitrit. Kelompok 3 (P1) sebagai perlakuan pertama yang diberikan natrium nitrit dan pemberian kacang kedelai 60mg/kgBB. Kelompok 4 (P2) sebagai perlakuan kedua yang diberikan natrium nitrit dan pemberian kacang kedelai 120mg/kgBB. Kemudian, kelompok 5 (P3) sebagai perlakuan ketiga yang diberikan natrium nitrit dan pemberian kacang kedelai 180mg/kgBB (Utomo, 2012).

#### **3.7.5 Prosedur Pengelolaan Hewan Coba Pasca Penelitian**

Sebelum dilakukan pembedahan untuk mengambil organ ginjal pada mencit, di akhir perlakuan terlebih dahulu mencit akan dianestesi dengan menggunakan *ketamine-xylazine* dengan dosis 75–100 mg/kg ditambah 5–10 mg/kg secara intraperitoneal dengan

selama 10–30 menit. Setelah dianestesi, mencit diterminasi dengan cara melakukan dislokasi servikal. Selanjutnya dilakukan laparotomi untuk mengambil organ ginjal. Bangkai mencit dimusnahkan dengan cara pembakaran ditempat khusus (AVMA, 2013).

### 3.7.6 Prosedur Operasional Pembuatan *Slide*

Metode teknik pembuatan preparat histopatologi menurut bagian Patologi Anatomi Fakultas Kedokteran Universitas Lampung antara lain sebagai berikut (FK UNILA, 2017):

#### a). *Fixation*

1. Spesimen berupa potongan organ telah dipotong secara representatif kemudian segera difiksasi dengan formalin 10% selama 3 jam.
2. Dicuci dengan air mengalir sebanyak 3–5 kali.

#### b). *Trimming*

1. Organ dikecilkan hingga ukuran  $\pm 3$  mm.
2. Potongan organ tersebut dimasukkan kedalam *tissue cassette*.

#### c). *Dehidrasi*

1. Mengeringkan air dengan meletakkan *tissue cassette* pada kertas tisu.
2. Dehidrasi dengan:
  - Alkohol 70% selama 0,5 jam.
  - Alkohol 96% selama 0,5 jam.

- Alkohol 96% selama 0,5 jam
- Alkohol 96% selama 0,5 jam
- Alkohol absolut selama 1 jam.
- Alkohol absolut selama 1 jam.
- Alkohol absolut selama 1 jam.
- Alkohol *xylol* 1:1 selama 0,5 jam

d). *Clearing*

Untuk membersihkan sisa alkohol, dilakukan *clearing* dengan *xylol* I dan II, masing-masing selama 1 jam.

e). *Impregnasi*

Impregnasi dilakukan dengan menggunakan paraffin selama 1 jam dalam oven suhu 65<sup>0</sup> C.

f). *Embedding*

1. Sisa paraffin yang ada pada pan dibersihkan dengan memanaskan beberapa saat di atas api dan diusap dengan kapas.
2. Paraffin cair disiapkan dengan memasukkan paraffin ke dalam cangkir logam dan dimasukkan dalam oven dengan suhu diatas 58<sup>0</sup> C.
3. Paraffin cair dituangkan ke dalam pan.
4. Dipindahkan satu persatu dari *tissue cassette* ke dasar pan dengan mengatur jarak yang satu dengan yang lainnya.
5. Pan dimasukkan ke dalam air.

6. Paraffin yang berisi potongan mata dilepaskan dari pan dengan dimasukkan ke dalam suhu  $4-6^{\circ}\text{C}$  beberapa saat.
7. Paraffin dipotong sesuai dengan letak jaringan yang ada dengan menggunakan skalpel/pisau hangat.
8. Siap dipotong dengan mikrotom

g). *Cutting*

1. Pemotongan dilakukan pada ruangan dingin.
2. Sebelum memotong, blok didinginkan terlebih dahulu di lemari es.
3. Dilakukan pemotongan kasar, lalu dilanjutkan dengan pemotongan halus dengan ketebalan  $4-5$  mikron.  
Pemotongan dilakukan menggunakan *rotary microtome* dengan *disposable knife*.
4. Dipilih lembaran potongan yang paling baik, diapungkan pada air, dan dihilangkan kerutannya dengan cara menekan salah satu sisi lembaran jaringan tersebut dengan ujung jarum dan sisi yang lain ditarik menggunakan kuas runcing.
5. Lembaran jaringan dipindahkan ke dalam *water bath* suhu  $60^{\circ}\text{C}$  selama beberapa detik sampai mengembang sempurna.
6. Dengan gerakan menyendok, lembaran jaringan tersebut diambil dengan *slide* bersih dan ditempatkan di tengah atau pada sepertiga atas atau bawah.

7. *Slide* yang berisi jaringan ditempatkan pada inkubator (suhu 37<sup>0</sup>C) selama 24 jam sampai jaringan melekat sempurna.

g). *Staining* (pewarnaan) dengan Harris Hematoksilin–Eosin.

Setelah jaringan melekat sempurna pada *slide*, dipilih *slide* yang terbaik, selanjutnya secara berurutan memasukkan ke dalam zat kimia dibawah ini dengan waktu sebagai berikut.

- 1) Dilakukan *deparaffinisasi* dalam:
  - a) Larutan *xylol* I selama 5 menit
  - b) Larutan *xylol* II selama 5 menit
  - c) Ethanol absolut selama 1 jam
- 2) *Hydrasi* dalam:
  - a) Alkohol 96% selama 2 menit
  - b) Alkohol 70% selama 2 menit
  - c) Air selama 10 menit
- 3) *Pulasan inti* dibuat dengan menggunakan:
  - a) Harris hematoksilin selama 15 menit
  - b) Air mengalir
  - c) Eosin selama maksimal 1 menit
- 4) Lanjutkan *dehidrasi* dengan menggunakan:
  - a) Alkohol 70% selama 2 menit
  - b) Alkohol 96% selama 2 menit
  - c) Alkohol absolut 2 menit

## 5) Penjernihan:

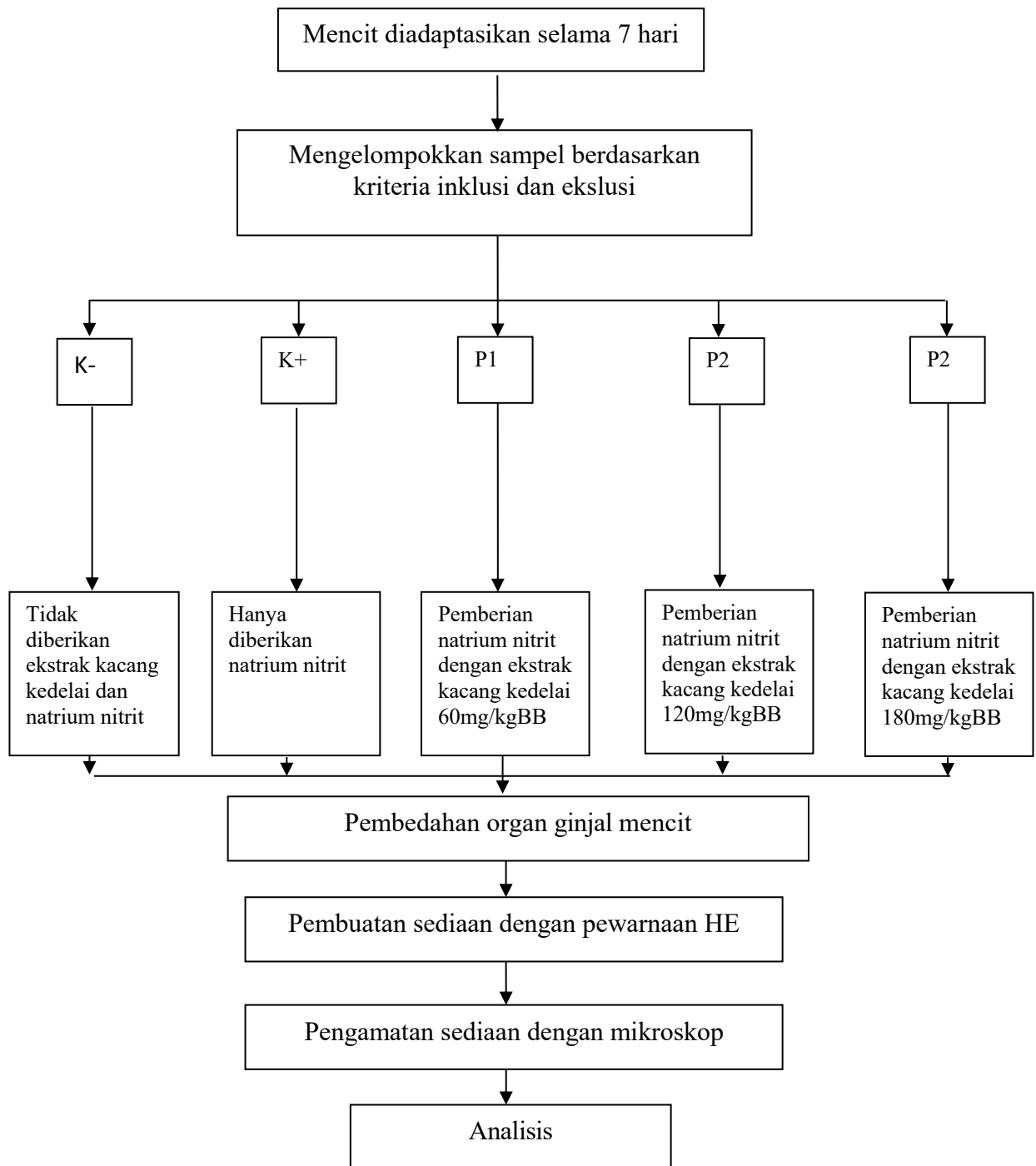
- a) *Xylo*l I selama 2 menit
- b) *Xylo*l II selama 2 menit

h). *Mounting* dengan entelan lalu tutup dengan *deck glass*

Setelah pewarnaan selesai, slide ditempatkan di atas kertas tisu pada tempat datar, ditetesi dengan bahan mounting yaitu entelan dan ditutup dengan *deck glass*, cegah jangan sampai terbentuk gelembung udara.

i). *Slide* dibaca dengan mikroskop

*Slide* dikirim ke Laboratorium Patologi Anatomi, diperiksa dibawah mikroskop cahaya dan dibaca oleh ahli histologi dan patologi anatomi.



**Gambar 4.** Diagram Alur Penelitian



### 3.8 Analisis Data

Data yang diperoleh dari hasil pengamatan histopatologi di bawah mikroskop diuji analisis statistik. Setelah dilakukan hasil pengamatan, maka dilakukan uji normalitas menggunakan *Shapiro-wilk* karena jumlah sampel  $\leq 50$ . Data penelitian didapatkan homogen dan dilakukan uji parametrik, yaitu uji *One Way ANOVA*. Uji statistic didapatkan nilai  $p < 0,05$  dan dianggap bermakna. Kemudian dilakukan uji *post hoc* untuk menilai hubungan antar setiap kelompok menggunakan analisis *Post Hoc LSD* (Trihendradi, 2013).

### 3.9 Etika Penelitian

Penelitian ini menerapkan prinsip 3R (*replacement, reduction, dan refinement*) sesuai protokol dan sudah mendapatkan izin dari Komisi Etik Penelitian Kesehatan Fakultas Kedokteran Universitas Lampung dengan nomor etika penelitian No. 643/UN26.18/PP.05.02.00/2021.

## **BAB V**

### **SIMPULAN DAN SARAN**

#### **5.1 Simpulan**

Berdasarkan penelitian yang sudah dilakukan, dapat disimpulkan bahwa terdapat pengaruh pemberian ekstrak kacang kedelai (*Glycine max* (L.) Merr.) terhadap gambaran histopatologi ginjal mencit yang dipapar natrium nitrit.

#### **5.2 Saran**

1. Bagi peneliti lain, perlu dilakukan penelitian lebih lanjut dalam meneliti pengaruh kacang kedelai terhadap fungsi ginjal yang diinduksi NaNO<sub>2</sub>.
2. Bagi peneliti lain, perlu dilakukan penelitian lebih lanjut dalam meneliti pengaruh kacang kedelai terhadap fungsi dan struktur organ-organ lain yang diinduksi NaNO<sub>2</sub>.
3. Lebih memperhatikan mengenai faktor – faktor yang dapat mengganggu proses penelitian.

## DAFTAR PUSTAKA

- Agustina I, Astuti I, Sopina Y. 2018. Analisa kimia kandungan nitrit pada daging burger yang beredar di pasar kecamatan duren sawit jakarta timur. Jakarta: Akademi Farmasi IKIFA.
- Albike K, Estiasih M, Maligan E. 2016. Fraksi Tidak Tersabunkan (Ftt) Dari Distilat Asam Lemak Minyak Sawit (Dalms) Sebagai Sumber Antioksidan : Kajian Pustaka Unsaponifiable Fraction From Palm Fatty Acid Distillate as Antioxidant Source : Jurnal Pangan Dan Agroindustri. 4(2): 494–8.
- Alghamdi D, Migdadi G, Khan K, El-Harty K, Ammar H, Farooq A, *et al.* 2018. Phytochemical Profiling of Soybean (*Glycine max (L.) Merr.*) Genotypes Using GC-MS Analysis. In *Phytochemicals - Source of Antioxidants and Role in Disease Prevention*. InTech. 2(1):1-10.
- Anand K, Sati I. 2013. Artificial Preservatives and Their Harmful Effects: Looking Toward Nature for Safer Alternatives. *International Journal of Pharmaceutical Sciences and Research*. 4(7):2496-2501.
- Ansari K, Ali I, Khan K, Mahmood J. 2017. Acute oral dose of sodium nitrite causes redox imbalance and DNA damage in rat kidney. *Journal of Cellular Biochemistry*. 1(1):1-15.
- AVMA. 2013. AVMA guidelines for the euthanasia of animals. Schaumburg: American Veterinary Medical Association.
- Cahyono B. 2014. Kedelai, teknik budidaya dan analisis usaha tani. Semarang: CV. Aneka Ilmu.
- Carolyn A, Farishal A, Berawi K. 2019.. Potensi Pemberian Isoflavon Kedelai Terhadap Kadar Kolesterol Total dan LDL pada Penderita Obesitas. *J Medula*. 9(1): 102-6.

- Fawwaz M, Natalisnawati A, Baits M. 2017. Kadar isoflavon aglikon pada ekstrak susu kedelai dan tempe. *Jurnal Teknologi dan Manajemen Agroindustri* 6(3): 152-8.
- FK Unila. 2017. Metode teknik pembuatan preparat histopatologi menurut bagian Patologi Anatomi Fakultas Kedokteran Universitas Lampung. Bandar Lampung : FK Unila.
- Galaly G, Mahmoud K. 2012. The Protective Effect of Vitamin A Against Sodium Nitrate Induced Toxicity in Liver and Kidney of Albino Rats: Histological and Ultrastructural Study. *Journal of American Science*. 8(12):293-308.
- Gehle K. 2013. ATSDR Case Studies in Environmental Medicine Nitrate / Nitrite Toxicity Nitrate / Nitrite Toxicity, McLean: Department of Health and Human Services Agency.
- Gartner H, Hiatt I. 2011. Atlas Berwarna Histologi. Jakarta: Karisma.
- Hania S. 2020. Efek Pemberian Pengawet Natrium Nitrit Terhadap Kadar Kreatinin Darah dan Struktur Gambaran Histopatologi Organ Ginjal Pada Hewan Coba Tikus Putih (*Rattus Norvegicus*). [Skripsi]. Surabaya: UIN Surabaya
- Kementrian Kesehatan. 2012. Bahan tambahan pangan. Jakarta: Kemenkes RI.
- Kumar K, Cotran J, Robbins S. 2013. *Buku Ajar Patologi*. Edisi ke-7. Jakarta: EGC.
- Kusumaningtyas F, Tari DK, Olivia Z. 2019. Pemberian tepung tempe kecambah kedelai terhadap jumlah eritrosit dan kadar hb pada tikus putih anemia. *Prosiding Seminar Nasional INAHCO 2019*. 25-33.
- Lim K, Foster A, Riley I. 2016. Susceptibility of *Clostridium difficile* to the Food Preservatives Sodium Nitrite, Sodium Nitrate and sodium Metabisulphite. *Journal Anaerobe*. 37(1): 67-71.
- Mandei JM, Chandra G, Wilar R, Runtunuwu A, Manoppo J, dan Umboh A. 2013. Hubungan Kadar Serum Metabolit Nitrit Oksida dan Gangguan Fungsi Ginjal pada Sepsis. *Sari Pediatri*. 15(4):259-263.

- Markum H. 2016. Gagal ginjal akut. In: Setiati, Alwi, Sudoyo, Sirmadibata, Setiyohadi dan Syam penyunting. Buku Ajar Ilmu Penyakit Dalam. Jakarta: Pusat Penerbitan Departemen Ilmu Penyakit Dalam FKUI.
- Mescher A. 2017. Histologi Dasar JUNQUEIRA. Edisi ke-12. Jakarta: EGC.
- Moore K, Dalley S. 2013. Anatomi Berorientasi Klinis. Edisi ke-5. Jakarta: Erlangga.
- Muhartono S, Indri W, Diah S, Susianti. 2016. Risiko herbisida diklorida terhadap ginjal tikus putih Sprague dawley. Jurnal Kedokteran Brawijaya. 29 (1) : 43 – 6.
- Notoatmodjo S. 2012. Metodologi Penelitian Kesehatan. Jakarta: Rineka Cipta.
- Nugroho R. 2018. Mengenal Mencit Sebagai Hewan Laboratorium. Mulawarman University Press. Samarinda
- Nursidika I, Furqon J, Hanifah A, Anggarini P. 2017. Gambaran Abnormalitas Organ Hati dan Ginjal Pasien Tuberkulosis yang Mendapatkan Pengobatan, Jurnal Kesehatan Kartika, 12(1):1-11.
- Prabowo R, Dewi K. 2016. Kandungan Nitrit Pada Air Sumur Gali Di Kelurahan Meteseh, Kecamatan. Tembalang Kota Semarang. Semarang: Universitas Negeri Semarang.
- Ramasamy A, Jothivel N, Das S, Swapna A, Albert PA, Barnwal P, *et al.* 2018. Evaluation of the Protective Role of Glycine Max Seed Extract (Soybean Oil) In Drug-Induced Nephrotoxicity In Experimental Rats. Journal Of Dietary Supplements. 15(5):583-595.
- Rani M, D'Souza D. 2020. Detrimental Effects Of Sodium Nitrite On The Kidney Of Swiss Albino Mice. JRAR- International Journal of Research and Analytical Reviews. 1(2):158-163.

- Sastroasmoro, S, Ismael, S. 2014. Dasar-Dasar Metodologi Penelitian Klinis Edisi ketiga. In: Pemilihan Subyek Penelitian dan Desain Penelitian. Jakarta: Sagung Seto.
- Sharma G. 2014. Free Radicals, Antioxidants and Disease. *Biol Med.* 6(3):1-10.
- Sherwood L. 2014. Fisiologi Manusia Dari Sel Ke sistem. Edisi ke-6. Jakarta: EGC.
- Sitorus MS, Hidayat K. 2017. Decreasing Free Radicals Level on High Risk Person After Vitamin C and E Supplement Treatment. *ICSSHPE.* 1(1):1-10.
- Sindelar JJ, Milkowski A. 2011. Sodium Nitrite in Prosesed Meat and Poultry Meats: A Review of Curing and Examining the Risk/Benefit of its Use, American Meat Science Association: White Paper Series. 3 (1):1- 14.
- Suhita NL. 2013. Histopatologi Ginjal Tikus Putih Akibat Pemberian Ekstrak Pegagan (*Centella asiatica*) Peroral. Denpasar: Buletin Veteriner Universitas Udayana 1(1):1-10.
- Suarsana IN, Widyastuti S, Priosoeryanto BP. 2012. Ketersediaan hayati isoflavan dalam plasma dan pengaruhnya terhadap nilai biokimia darah pada tikus hiperglikemia. *Jurnal Veteriner* 13(1):86-91.
- Tank H, Gest B. 2011. Atlas Anatomi Lippincott Williams & Wilkins. Jakarta: PT Gelora Aksarab Pratama.
- Tortora, Derrickson. 2014. Principle of Anatomy and Physiology. USA: Wiley-Blackwell.
- Trihendradi C. 2013. Langkah Praktis Menguasai Statistik untuk Ilmu Sosial dan Kesehatan; Konsep & Penerapannya Menggunakan SPSS. Ed 1. Yogyakarta: ANDI.
- Utomo GF. 2012. Pengaruh pemberian nutrisi kedelai terhadap peningkatan kadar hemoglobin tikus strain wistar anemia induksi pakan nasi aking. Malang: Fakultas Kedokteran Universitas Muhammadiyah Malang.

Widyastuti DA. 2013. Profil darah tikus putih wistar pada kondisi subkronis pemberian natrium nitrit. *Jurnal Sains Veteriner*. 31(2):1-10.

Widyastuti A, Ristianti I, Sari K. 2018. Efek Subkronis Natrium Nitrit Terhadap Struktur Mikroanatomis Ginjal Tikus Putih (*Rattus Norvegicus*) Galur Wistar. *Gizi KH*. 1(1):21-31.

Yulifianti AF, Muzaiyanah K, Utomo K. 2018. Kedelai Sebagai Bahan Pangan Kaya Isoflavon. *Buletin Palawija*. 16(2):1-10.

Zdaroglu J, Jaruga H. 2012. Mechanisms of free radical-induced damage to DNA. *Free Radical Research*. 4(1):382-19.