

**PENGARUH SUPLEMENTASI SENG TERHADAP
KERUSAKAN TUBULUS GINJAL DAN SISTEM
HEMATOPOIESIS TIKUS (*Rattus norvegicus*)
YANG DIBERI TAWAS**

**The Influence of Zinc Supplementation to Kidney Tubulus Damage
and Interference Hematopoiesis System of Rat ((*Rattus
Norvegicus*) which Feeding Tawas**



**Tesis
untuk memenuhi sebagian persyaratan
mencapai derajat Sarjana S-2**

Magister Ilmu Biomedik

**Budi Santosa
G4A007001**

**PROGRAM PASCA SARJANA
UNIVERSITAS DIPONEGORO
SEMARANG
2009**

Lembar Pengesahan Usulan Penelitian

**PENGARUH SUPLEMENTASI SENG TERHADAP GAMBARAN
HISTOPATOLOGIK GINJAL DAN SISTEM HEMATOPOIESIS TIKUS
(*Rattus nuvegicus*) YANG DIBERI PAKAN
STANDART DAN TAWAS**

Oleh
BUDI SANTOSA

Menyetujui
Komisi pembimbing

Pembimbing I

Pembimbing II

Dr. Purwanto AP, Sp.PK
NIP. 131 252 963

Dr. H. Udadi Sadhana, M.Kes, Sp.PA
NIP. 131 967 650

Ketua Program Studi
Magister Ilmu Biomedik
Program Pasca Sarjana
UNDIP

DR.dr.Winarto, SpMK, SpM
NIP. 130 675 157

TESIS

**PENGARUH SUPLEMENTASI SENG TERHADAP KERUSAKAN
TUBULUS GINJAL DAN SISTEM HEMATOPOIESIS TIKUS
(*Rattus nuvegicus*) YANG DIBERI TAWAS**

disusun oleh

**BUDI SANTOSA
G4A007001**

akan dipertahankan di depan Tim Penguji
pada tanggal 22 Juni 2009
dan dinyatakan telah memenuhi syarat untuk diterima

Menyetujui,
Komisi Pembimbing

Pembimbing I

Pembimbing II

Dr. Purwanto AP, Sp.PK(K)
NIP. 131 252 963

Dr. H. Udadi Sadhana, M.Kes, Sp.PA
NIP. 131 967 650

Ketua Program Studi
Magister Ilmu Biomedik
Program Pasca Sarjana
UNDIP

DR.dr.Winarto, SpMK, SpM (K)
NIP. 130 675 157

TESIS

**PENGARUH SUPLEMENTASI SENG TERHADAP KERUSAKAN
TUBULUS GINJAL DAN SISTEM HEMATOPOIESIS TIKUS
(*Rattus nuvegicus*) YANG DIBERI TAWAS**

disusun oleh

**BUDI SANTOSA
G4A007001**

telah dipertahankan di depan Tim Penguji
pada tanggal 22 Juni 2009
dan dinyatakan telah memenuhi syarat untuk diterima

Menyetujui,
Pembimbing

Pembimbing I

Pembimbing II

Dr. Purwanto AP, Sp.PK(K)
NIP. 131 252 963

Dr. H. Udadi Sadhana, M.Kes, Sp.PA
NIP. 131 967 650

Ketua Program Studi
Magister Ilmu Biomedik
Program Pasca Sarjana
UNDIP

DR.dr.Winarto, SpMK, SpM (K)
NIP. 130 675 157

PERNYATAAN

Dengan ini saya menyatakan bahwa tesis ini adalah hasil pekerjaan saya sendiri dan di dalamnya tidak terdapat karya yang pernah diajukan untuk memperoleh gelar kesarjanaan di suatu Perguruan Tinggi dan Lembaga Pendidikan lainnya. Pengetahuan yang diperoleh dari hasil penerbitan maupun yang belum/tidak diterbitkan, sumbernya dijelaskan di dalam tulisan dan daftar pustaka.

Semarang, Juni 2009

Budi Santosa

RIWAYAT HIDUP

A. Identitas

1. Nama Lengkap : Budi Santosa, S.KM
2. Jenis kelamin/Agama : Laki/Islam
3. Tempat/Tanggal lahir : Lamongan, 05 Juli 1968
4. Alamat : Jl. Bukit Kenanga II D 347 Bukit
Sendangmulyo Semarang Telp. (024) 70769517

B. Riwayat Pendidikan

1. SDN Sogo II Cepu Lulus tahun 1981
2. SMP Negeri 3 Cepu Lulus tahun 1984
3. SMP St. Louis Cepu Lulus tahun 1987
4. AAK Surakarta Lulus tahun 1990
5. FKM Undip Lulus tahun 2000

C. Riwayat pekerjaan

1. Staf pengajar pada AAK Muhammadiyah Semarang (1991-1998)
2. Staf pengajar pada Fakultas Ilmu Keperawatan dan Kesehatan Universitas Muhammadiyah Semarang (1998 – sekarang)

D. Riwayat Keluarga

1. Nama Istri : Desi Wijayanti
2. Tempat/ Tanggal lahir : Tegal 14 Desember 1974
3. Nama Anak/Tanggal lahir : M. Destyatosa Irfani, 26 April 1998
: Haninda Ulya Ramadhani 11- 11-2004

KATA PENGANTAR

Puji syukur kepada Allah SWT penguasa dan sumber segala ilmu, berkat rahmat dan hidayahNya penulis dapat menyelesaikan penelitian dan penulisan tesis dengan judul **Pengaruh suplementasi seng terhadap kerusakan tubulus ginjal dan sistem hematopoiesis tikus (*Rattus norvegicus*) yang diberi tawas.**

Pada kesempatan ini kami ingin menyampaikan rasa terima kasih yang tak terhingga kepada:

1. Direktorat Jendral Pendidikan Tinggi Departemen Pendidikan Nasional Republik Indonesia melalui program BPPS yang telah memberikan biaya studi bagi kami pada program studi Ilmu Biomedik.
2. Rektor Universitas Muhammadiyah Semarang yang telah memberi ijin dan kesempatan untuk melanjutkan studi pada program studi Ilmu Biomedik.
3. Dekan Fakultas Ilmu Keperawatan dan Kesehatan Universitas Muhammadiyah Semarang yang telah memberi ijin dan kesempatan untuk melanjutkan studi pada program studi Ilmu Biomedik.
4. Direktur Program Pascasarjana dan Pengelola Program Magister Ilmu Biomedik Universitas Diponegoro yang telah memberi kesempatan untuk menimba ilmu pada program studi Ilmu Biomedik Program Pascasarjana Universitas Diponegoro Semarang.
5. dr. Purwanto AP, Sp.PK (K) selaku pembimbing pertama yang senantiasa memberi masukan yang berhubungan dengan tesis, demi kelancaran penulisan tesis ini.

6. dr. H. Udadi Sadhana, M.Kes, SpPA selaku pembimbing kedua yang meluangkan waktu membimbing, memberikan saran, masukan dan dorongan semangat dalam penyelesaian tesis ini.
7. Prof. Dr. dr. H. Tjahjono, Sp.PA (K), FIAC, Prof. dr. Lisyani Suromo, Sp.PK(K), Dr.dr.Winarto, Sp.MK, Sp.M(K) dan Dra. Sri Darmawati, Msi selaku narasumber yang telah banyak memberikan saran untuk penyelesaian tesis ini.
8. Seluruh Staf Pengajar Program Studi Ilmu Biomedik Program Pascasarjana Universitas Diponegoro yang telah banyak memberikan ilmu yang bermanfaat bagi penulis disaat menempuh pendidikan pada program studi tersebut.
9. Mbak Nata Sulastri dan Mas Abdul yang telah banyak membantu keperluan administrasi bagi penulis.
10. dr. Hesti Murwani, Dra. Ratih Haribi, Msi, Ir. Agustin Syamsianah dan segenap teman-teman dosen program studi Analis Kesehatan Universitas Muhammadiyah Semarang yang banyak membantu dan memberikan dorongan untuk penyelesaian penelitian.
11. Pak Dukut, Pak Misran dan teman-teman Laboratorium Patologi Anatomi RS. Dr. Karyadi/ FK UNDIP semarang dan segenap teknisi Laboratorium Unit Pengembangan Hewan Percobaan Universitas Gadjah Mada serta Pak Yuli dari PAU Pangan dan Gizi Universitas Gadjah Mada yang telah banyak membantu kelancaran pelaksanaan penelitian.

12. Istriku Desi Wijayanti dan anak-anakku Irfan dan Hanin yang dapat mengerti dan memahami sehingga penulis dapat menyelesaikan pendidikan pada Program Studi Ilmu Biomedik Program Pascasarjana Universitas Diponegoro.
13. Berbagai pihak yang tidak dapat kami sebutkan satu persatu yang membantu penyelesaian tesis ini.

Semoga kebaikan dan bantuan dari pihak-pihak tersebut di atas mendapatkan imbalan yang berlipat dari Tuhan Yang Maha Esa. Amin. Kami menyadari adanya kekurangan dalam melaksanakan penelitian ini, untuk itu masukan dan saran yang membangun sangat kami harapkan dan kami terima dengan tangan terbuka demi penyempurnaan dimasa yang akan datang.

Kami berharap agar hasil penelitian ini benar-benar dapat memberikan manfaat.

Budi Santosa

DAFTAR ISI

	Halaman
KATA PENGANTAR	v
DAFTAR ISI	viii
DAFTAR TABEL	xi
DAFTAR GAMBAR	xii
DAFTAR LAMPIRAN	xiii
ABSTRACT	xiv
BAB 1 PENDAHULUAN	1
1.1. Latar belakang	1
1.2. Rumusan masalah	4
1.3. Tujuan penelitian	4
1.3.1. Tujuan Umum	4
1.3.2. Tujuan Khusus	5
1.4. Manfaat penelitian	6
1.5. Keaslian Penelitian	6
BAB 2 TINJAUAN PUSTAKA	8
2.1. Seng	8
2.1.1. Fungsi	8
2.1.2. Absorpsi dan metabolisme	10
2.1.3. Suplementasi seng	11
2.1.4. Penentuan dosis suplementasi	13
2.1.5. Angka kecukupan seng	13
2.1.6. Penentuan status seng	14
2.1.7. Toksisitas seng	15
2.2. Tawas	16
2.2.1. Tawas dan fungsinya dalam industri makanan	16
2.2.2. Alumunium sebagai komponen utama tawas	17

2.3. Sistem detoksikasi tubuh terhadap logam berat	18
2.4. Efek biologis logam berat pada organ	19
2.5. Degenerasi dan nekrosis sel epitel tubulus ginjal	22
2.6. Beberapa prinsip laboratorium untuk pemeriksaan kadar Hb, Ht, Jumlah eritrosit dan retikulosit	27
2.7. Kerangka Teori	30
2.8. Kerangka Konsep	31
2.9. Hipotesis	31
BAB 3 METODE PENELITIAN	33
3.1. Jenis dan Rancangan Penelitian	33
3.2. Lokasi dan Waktu Penelitian	35
3.3. Populasi dan Sampel	35
3.3.1. Populasi	35
3.3.2. Sampel	36
3.4. Variabel Penelitian	37
3.4.1. Variabel bebas	37
3.4.2. Variabel tergantung	37
3.4.3. Definisi operasional variabel	37
3.5. Bahan yang digunakan	38
3.5.1. Bahan utama	38
3.5.2. Bahan untuk pemeriksaan jaringan	39
3.5.3. Bahan untuk pemeriksaan Hb,Ht, Jumlah eritrosit dan reikulosit	39
3.6. Peralatan Penelitian	39
3.6.1. Alat untuk mengambil darah	39
3.6.2. Alat untuk pemeriksaan jaringan	39
3.6.3. Alat untuk pemeriksaan Hb,Ht, Jumlah eritrosit dan reikulosit	40
3.7. Prosedur Perlakuan	40
3.8. Prosedur Pengmpulan Data	42
3.8.1. Aklimatisasi	42
3.8.2. Kadar Hb,Ht, Jumlah eritrosit dan reikulosit	43

3.8.3. Jaringan	43
3.8.4. Alur Penelitian	44
3.9. Analisa Data	45
3.10. Etika Penelitian	46
3.11. Keterbatasan Penelitian	46
BAB 4. HASIL DAN PEMBAHASAN	47
4.1. Hasil Penelitian	47
4.1.1. Kerusakan tubulus ginjal	47
4.1.2. Hematopoiesis	53
4.2. Pembahasan	60
BAB 5. SIMPULAN DAN SARAN	64
5.1. Simpulan	64
5.2. Saran	65
DAFTAR PUSTAKA	66
LAMPIRAN	71

DAFTAR TABEL

Tabel 1. Contoh penelitian yang pernah dilakukan berkaitan dengan suplementasi seng dan tawas	6
Tabel 2. Konversi dosis seng pada manusia dan antar jenis hewan	13
Tabel 3. Angka kecukupan seng rata-rata yang dianjurkan per orang per hari	14
Tabel 4. Daftar bahan makanan sumber seng	14
Tabel 5. Nilai normal darah lengkap orang dewasa	29
Tabel 6. Rerata jumlah sel degenerasi dan nekrosis epitel tubulus ginjal tikus <i>Rattus norvegicus</i> pada kelompok kontrol, perlakuan 1, 2 dan 3	48
Tabel 7. Rekapitulasi uji anova sel epitel tubulus ginjal yang mengalami degenerasi dan nekrosis	52
Tabel 8. Rekap uji <i>Bonferoni</i> kelompok kontrol P1, P2, dan P3 sel epitel tubulus ginjal yang mengalami nekrosis	53
Tabel 9. Rerata kadar Hb, Ht, Jumlah eitrosit dan retikulosit kelompok kontrol, P1, P2, dan P3	53
Tabel 10. Rekapitulasi uji anova kadar Hb, Ht, Jumlah eitrosit dan retikulosit kelompok kontrol, P1, P2, dan P3	59
Tabel 11. Rekapitulasi uji Bonferroni kadar Hb, Ht, Jumlah eitrosit dan retikulosit kelompok kontrol, P1, P2, dan P3	59

DAFTAR GAMBAR

Gambar 1.	Absorpsi dan metabolisme seng	10
Gambar 2.	Jejas sel akibat radikal bebas	24
Gambar 3.	Jejas reversibel dan irreversibel	26
Gambar 4.	Sel Nekrosis	27
Gambar 5.	Bokspot rerata jumlah sel degenerasi (perhitungan dalam 100 sel) epitel tubulus ginjal tikus <i>Rattus nurvegicus</i> pada kelompok kontrol, perlakuan 1, 2 dan 3	49
Gambar 6.	Bokspot rerata jumlah sel nekrosis (dalam 100 sel) epitel tubulus ginjal tikus <i>Rattus nurvegicus</i> pada kelompok kontrol, perlakuan 1, 2 dan 3	50
Gambar 7.	Morfologi sel epitel tubulus ginjal: no 1 normal, 2 degenerasi, 3 nekrosis	50
Gambar 8.	Gambaran mikroskopis ginjal tikus <i>Rattus nurvegicus</i> dengan pemberian tawas 4% dan suplemenasi seng 0,2 mg, 0,4 mg dan 0,8 mg selama paparan 30 hari	51
Gambar 9.	Boxplot sebaran kadar hemoglobin darah tikus <i>Rattus nurvegicus</i> pada kelompok kontrol, perlakuan 1, 2 dan 3	54
Gambar 10	Boxplot sebaran kadar hematokrit darah tikus <i>Rattus nurvegicus</i> pada kelompok kontrol, perlakuan 1, 2 dan 3	55
Gambar 11.	Boxplot sebaran jumlah eritrosit darah tikus <i>Rattus nurvegicus</i> pada kelompok kontrol, perlakuan 1, 2 dan 3	56
Gambar 12.	Boxplot sebaran jumlah retikulosit darah tikus <i>Rattus nurvegicus</i> pada kelompok kontrol, perlakuan 1, 2 dan 3	57
Gambar 13.	Morfologi sel-sel retikulosit ditunjukkan anak panah. Menggunakan pengecatan BCB dalam methanol	58

DAFTAR LAMPIRAN

Lampiran 1. Dokumentasi penelitian	71
Lampiran 2. Hasil pemeriksaan sel epitel tubulus ginjal	73
Lampiran 3. Hasil pemeriksaan darah	74
Lampiran 4. Komposisi AIN-93 G	75
Lampiran 5. Prosedur prosesing jaringan	76
Lampiran 6. Hasil analisis uji statistik	77

ABSTRACT

Background: Aluminum in Tawas cause cell damage kidney epithel tubulus and interference process hematopoiesis. Heavy metals, including aluminum bound protein metalotionin obtained through supplementation zinc. Objective of this study influence of supplementation zinc 0.2 mg, 0.4 mg, 0.8 mg of the major damage to kidney cells epithel tubulus and due process of hematopoiesis in tawas white rat *Rattus nurvegicus*.

Method: Design research is experimental Randimized Post-test Control Group Only. Twenty-four rats *Rattus nurvegicus* age of 15 days normal body weight, from the Animal Experiment Unit Development, Gadjah Mada University, Yogyakarta divided the 4 groups: group I, II, III and IV. All groups were given Tawas 4%, group II, III and IV plus zinc supplements respectively 0.2 mg / day / head, 0.4 mg / day / head and 0.8 mg / day / head for 30 days. End of the treatment of blood serum was taken for the interference process hematopoiesis and kidney organ to find out the number of kidney cells epithel tubulus the degeneration and necrosis. The statistical analysis using Anova test to find the differences between the four groups and followed by the Bonferroni test for knowing the significance level in each group is different when compared with the control group.

Results: There is no difference result on supplementation zinc 0.2 mg, 0.4 mg and 0.8 mg of cell epithel tubulus kidney degeneration and there is a meaningful difference to the cell necrosis. There are meaningful differences in supplementation zinc 0.2 mg, 0.4 mg and 0.8 mg of Hb, Ht, the number of erythrocyte and reticulocyte.

Conclusion: Supplementation zinc 0.2 mg, 0.4 mg and 0.8 mg necrosis affect the number of cells epithel tubulus kidney and the process of hematopoiesis.

Keywords: Tawas, Zinc, Hematopoiesis, kidney tubulus

ABSTRAK

Latar Belakang: Alumunium dalam tawas menimbulkan kerusakan sel epitel tubulus ginjal dan gangguan proses hematopoiesis. Alumunium termasuk logam berat diikat protein metalotionin diperoleh melalui suplementasi seng. Penelitian bertujuan membuktikan pengaruh suplementasi seng 0,2 mg, 0,4 mg, 0,8 mg terhadap hambatan kerusakan sel epitel tubulus ginjal dan proses hematopoiesis akibat pemberian tawas dalam pakan tikus putih *Rattus nurvegicus*.

Metode: Desain penelitian eksperimental laboratorium menggunakan *Randomized Post test Control-Group Only*. Duapuluh empat tikus *Rattus nurvegicus* umur 15 minggu berat badan normal, dari Unit Pengembangan Hewan Percobaan, Universitas Gadjah Mada, Yogyakarta dibagi 4 kelompok yaitu: kelompok I,II,III dan IV. Semua kelompok diberi tawas 4%, kelompok II,III dan IV ditambah suplemen seng berturut-turut 0,2 mg/hari/ekor, 0,4 mg/hari/ekor dan 0,8 mg/hari/ekor selama 30 hari. Akhir perlakuan diambil serum darah untuk mengetahui gangguan proses hematopoiesis dan organ ginjal untuk mengetahui jumlah sel epitel tubulus ginjal yang mengalami degenerasi dan nekrosis. Analisis uji statistik menggunakan uji Anova untuk mengetahui perbedaan keempat kelompok dan dilanjutkan uji *Bonferroni* untuk mengetahui tingkat kemaknaan pada masing-masing kelompok yang berbeda bila dibandingkan dengan kelompok kontrol.

Hasil penelitian: Tidak terdapat perbedaan suplemen seng 0,2 mg, 0,4 mg dan 0,8 mg terhadap degenerasi sel epitel tubulus ginjal dan terdapat perbedaan bermakna terhadap sel nekrosis. Terdapat perbedaan bermakna suplemen seng 0,2 mg, 0,4 mg dan 0,8 mg terhadap Hb, Ht, jumlah eritrosit dan retikulosit.

Simpulan: pemberian suplementasi seng 0,2 mg, 0,4 mg dan 0,8 mg berpengaruh terhadap jumlah nekrosis sel epitel tubulus ginjal dan proses hematopoiesis.

Kata kunci : Tawas, Seng, Hematopoiesis, tubulus ginjal

BABI

PENDAHULUAN

1.1. Latar Belakang

Tawas merupakan bahan koagulan yang paling banyak digunakan karena bahan ini paling ekonomis, mudah diperoleh di pasaran serta mudah penyimpanannya. Biasanya tawas dipakai untuk menjernihkan air, mengawetkan makanan termasuk menjadikan tekstur makanan menjadi lebih baik yaitu putih dan kenyal.^{1,2} Tawas mempunyai rumus molekul alumunium sulfat ($\text{Al}_2(\text{SO}_4)_3 \cdot 14 \text{H}_2\text{O}$). Salah satu unsur dari senyawa tersebut adalah Alumunium (Al).

Jumlah pemakaian tawas tergantung dari kebutuhan, misalnya untuk menjernihkan air tergantung kekeruhan air yang dijernihkan. Semakin keruh air jumlah tawas yang dibutuhkan semakin besar. Untuk mengawetkan makanan misalnya ikan, hasil penelitian yang dilakukan oleh Nurrahman dan Isworo, membuktikan bahwa ikan tongkol yang direndam dalam larutan tawas sebelum diasap, teksturnya menjadi lebih kompak, kesat dan keras. Ikan yang direndam terlebih dahulu pada larutan tawas 10% selama 1 jam sebelum diasap, warnanya lebih putih, konsentrasi senyawa nitrogen volatilnya menurun sehingga mengurangi bau amis dan rasa pahit, dan tidak berkurang kadar proteinnya. Adanya interaksi dengan tawas, maka nilai total volatil nitrogen yang berkaitan dengan bau amis ikan akan menurun.¹

Daging ikan yang direndam terlebih dahulu dengan tawas konsentrasi mulai 4% sampai 12% dan waktu perendaman yang bervariasi mulai dari 30 menit

sampai 150 menit sebelum diasap, konsentrasi aluminium yang terkandung dalam tawas per 10 gram daging ikan pada yang belum diasap dan sesudah diasap tidak berbeda yaitu sekitar 0,266 sampai dengan 0,413 ppm. Proses pengasapan yang memakan waktu hampir 4 jam, ternyata tidak mengurangi konsentrasi aluminium di dalam daging ikan. Konsentrasi aluminium dalam daging ikan tidak bertambah walaupun konsentrasi tawas dan waktu kontak dinaikkan. Hal ini terjadi karena kejenuhan dalam pengikatan ion aluminium oleh daging ikan.²

Aluminium (Al) merupakan unsur yang terdapat dalam senyawa tawas dan termasuk salah satu macam logam berat. Logam berat dalam bentuk ion sangat toksik dapat menyebabkan kerusakan organ detoksifikasi yaitu hati dan ginjal. Logam berat menyebabkan nekrosis sel-sel epitel tubulus ginjal. Hal ini dapat dinilai berdasarkan jumlah sel epitel tubulus ginjal yang mengalami degenerasi dan nekrosis akibat paparan logam berat.

Menurut Haribi dkk, suplementasi tawas dalam pakan dengan konsentrasi 2%, 4%, 6%, 8% selama paparan 2, 4, 6 dan 8 minggu pada tikus *Rattus norvegicus* mengakibatkan kerusakan jaringan pada organ hati dan ginjal. Kerusakan jaringan dan perdarahan khususnya pada ginjal akan menyebabkan produksi eritropoietin terganggu yang berakibat pada proses hematopoiesis. Hematopoiesis merupakan proses pembentukan sel-sel darah, termasuk di dalamnya adalah eritropoiesis, granulopoiesis, leukopoiesis dan trombopoiesis. Eritropoiesis adalah proses pembentukan eritrosit yang dimulai dari eritroblas, proeritroblas, basofilik eritroblas, polikromatik eritroblas, ortokromatik eritroblas, retikulosit hingga sampai eritrosit yang beredar pada darah perifer⁹. Proses ini

dirangsang oleh hormon eritropoetin yang secara normal merangsang sumsum tulang untuk meningkatkan produksi dan pelepasan eritrosit. Ginjal mempunyai peranan yang dominan dalam produksi eritropoetin.⁸ Untuk mengurangi jumlah sel nekrosis epitel tubulus ginjal dan gangguan hematopoiesis akibat paparan logam berat diperlukan bahan yang dapat mengikat logam berat tersebut.

Logam berat dalam jaringan berikatan dengan protein pengikat logam yaitu “metalotionin” pada gugus sulfidril dari protein tersebut.³ “Metalotionin” dapat disintesis di hati maupun dinding saluran cerna melalui absorpsi seng dalam jumlah yang tinggi.⁴

Absorpsi seng dari makanan yang dikonsumsi atau suplementasi berkisar antara 15-60%. Dosis seng antara 5-20 mg per hari banyak diberikan pada penelitian tentang efek seng terhadap pertumbuhan. Pada percobaan meta analisis suplementasi yang diberikan berkisar antara 1,5-50 mg per hari. Dengan pertimbangan bahwa “efficacy” absorpsi seng adalah 60% untuk 5 mg, 50% untuk 10 mg dan 40% untuk 15 mg¹⁶. Suplementasi seng secara bertingkat untuk melihat tingkat efektifitas dosis perlu dipertimbangkan misalnya 10 mg per hari, 20 mg per hari dan 40 mg per hari. Dosis ini dapat dikonversi pada hewan coba apabila penelitian dilakukan pada hewan percobaan. Kelebihan seng akibat absorpsi dapat disimpan di hati dalam bentuk “metalotionin”, sebagian ke pankreas dan jaringan tubuh yang lain seperti rambut dan kulit. Absorpsi seng diatur oleh metalotionin” yang disintesis di dalam sel dinding saluran cerna. Konsumsi seng tinggi, dalam sel dinding saluran cerna sebagian diubah menjadi “metalotionin” sebagai simpanan, sehingga absorpsi berkurang.⁴

Adanya protein “metalotionin” akibat suplementasi seng diharapkan dapat menetralkan tawas yang mengandung aluminium sebagai logam berat, sehingga kerusakan hati dan ginjal dapat dihindari.

Sampai saat ini belum diketahui bagaimanakah suplementasi seng yang dapat menghasilkan “metalotionin” dalam menetralkan tawas yang mengandung logam berat aluminium terhadap kerusakan sel epitel tubulus ginjal serta proses hematopoiesis yang ditandai dengan kadar hemoglobin, hematokrit, jumlah eritrosit dan retikulosit.

1.2. Rumusan masalah

Berdasarkan latar belakang di atas, dapat dirumuskan masalah penelitian sebagai berikut: Adakah pengaruh suplementasi seng terhadap hambatan kerusakan sel epitel tubulus ginjal dan gangguan hematopoiesis akibat pemberian tawas pada tikus putih *Rattus norvegicus*.

1.3. Tujuan Penelitian

1.3.1. Tujuan umum

Membuktikan pengaruh suplementasi seng terhadap hambatan kerusakan sel epitel tubulus ginjal dan gangguan hematopoiesis akibat pemberian tawas dalam pakan pada tikus putih *Rattus norvegicus*.

1.3.2. Tujuan khusus

1. Menghitung sel epitel tubulus ginjal yang mengalami degenerasi akibat suplementasi seng dosis 0,2 mg, 0,4 mg dan 0,8 mg pada tikus putih *Rattus norvegicus* yang diberi pakan tawas
2. Menghitung sel epitel tubulus ginjal yang mengalami nekrosis akibat suplementasi seng dosis 0,2 mg, 0,4 mg dan 0,8 mg pada tikus putih *Rattus norvegicus* yang diberi pakan tawas.
3. Membuktikan perbedaan suplementasi seng dosis 0,2 mg, 0,4 mg dan 0,8 mg terhadap hambatan degenerasi sel epitel tubulus ginjal pada tikus putih *Rattus norvegicus* yang diberi pakan tawas
4. Membuktikan perbedaan suplementasi seng dosis 0,2 mg, 0,4 mg dan 0,8 mg terhadap hambatan nekrosis sel epitel tubulus ginjal pada tikus putih *Rattus norvegicus* yang diberi pakan tawas
5. Mengukur kadar Hemoglobin, hematokrit, jumlah eritrosit dan retikulosit pada tikus putih *Rattus norvegicus* yang diberi pakan tawas akibat pemberian suplementasi seng dosis 0,2 mg, 0,4 mg dan 0,8 mg.
6. Membuktikan perbedaan pemberian suplementasi seng dosis 0,2 mg, 0,4 mg dan 0,8 mg terhadap kenaikan proses hematopoiesis yang ditandai dengan kadar hemoglobin, hematokrit, jumlah eritrosit dan retikulosit pada tikus putih *Rattus norvegicus* yang diberi pakan tawas.

1.4. Manfaat penelitian

1. Dapat dijadikan sumbangan pemikiran dalam pelayanan kesehatan penderita yang terpapar tawas dan sebagai titik tolak penelitian selanjutnya.
2. Masyarakat yang dicurigai terpapar tawas dapat menggunakan suplemen seng sesuai dengan kebutuhan

1.5. Keaslian Penelitian

Penelitian tentang suplementasi seng dalam menetralkan tawas untuk mencegah kerusakan tubulus ginjal dan hematopoiesis baru akan diteliti. Beberapa penelitian pendahulu yang pernah dilakukan yang berkaitan dengan suplementasi seng dan tawas dapat dilihat pada tabel 1.

Tabel 1. Contoh penelitian yang pernah dilakukan berkaitan dengan suplementasi seng dan tawas:

Tahun dan lokasi penelitian	Sampel	Hasil Penelitian
Thu, et al., Vietnam 1999	Suplementasi seng dosis 11 mg, Fe 20 mg dan multivitamin usia 6-24 bulan	Suplementasi seng meningkatkan nilai z-score panjang badan menurut umur anak yang menderita defisiensi mikronutrien
Syamsianah Semarang (2001)	A. Suplementasi seng dosis 20 mg pada anak kurang energi protein usia 6-24 bulan.	Suplementasi seng meningkatkan kadar albumin darah dan terjadi perbedaan yang bermakna pada pengukuran antropometri.
Torbjorn lind, et al. Am J Clin Nutr. Indonesia.2003	Suplementasi seng 10 mg, besi 10 mg, kombinasi seng 10 mg dan besi 10 mg pada anak usia 6-12 bulan. N=680	Suplementasi seng dan besi yang diberikan dalam bentuk kombinasi efektifitasnya lebih rendah bila dibandingkan dengan suplementasi bentuk tunggal dalam

		meningkatkan status besi dan seng.
Haribi R. Semarang (2005)	Suplementasi tawas dengan dosis yang bertingkat (2%, 4%, 6%, 8%) pada 32 <i>Rattus norvegicus</i> usia 15 minggu berat 200 gram	Terjadi kerusakan histopatologik hati dan ginjal.

BAB II

TINJAUAN PUSTAKA

2.1. Seng

Seng telah diketahui sejak tahun 1934 sebagai elemen penting bagi kehidupan hewan (tikus) dan defisiensi seng pada manusia baru diketahui sekitar tahun 1961. Defisiensi tersebut dapat menyebabkan gangguan pertumbuhan, kematangan seksual, hambatan penyembuhan luka, gangguan fungsi pengecap dan gangguan fungsi makan⁴.

Di Indonesia penelitian tentang seng belum banyak dilakukan, bukan berarti defisiensi seng tidak ada. Justru terjadinya defisiensi seng cukup tinggi mengingat kebiasaan konsumsi menu masyarakat Indonesia umumnya rendah protein hewani dan relatif tinggi fitat dan serat yang dapat menghambat absorpsi seng.⁴

Seng merupakan "trace elemen" penting yang terlibat dalam fungsi lebih dari 300 enzim dan protein dalam tubuh manusia. Protein tersebut berperan dalam fungsi metabolik yang luas yaitu transkripsi DNA, sintesis protein, enzim katalitik, reseptor hormon, dan stabilisasi membran sel. Peran biologik seng selalu dalam bentuk kation bivalen dan tidak mengalami reduksi serta oksigenasi dalam kondisi fisiologis, sehingga seng merupakan komponen stabil dari kompleks protein.¹⁰

2.1.1. Fungsi

Seng adalah mikromineral yang ada di mana-mana dalam jaringan hewan atau manusia dan terlibat dalam fungsi berbagai enzim dalam proses metabolisme.

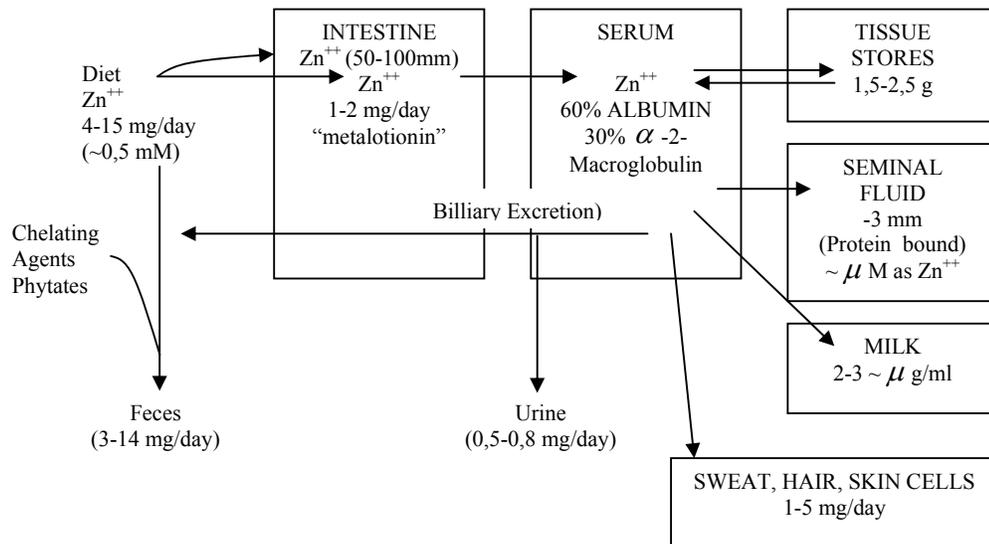
Salah satu fungsi seng adalah sebagai kofaktor yang penting untuk lebih dari 70 enzim-enzim. Dalam peranan ini, seng mengikat residu histidin dan sistein serta dalam waktu yang sama menstabilkan serta membuka tempat/sisi aktif dari enzim-enzim sedemikian rupa sehingga katalis dari reaksi dapat berjalan.¹¹

Tubuh manusia dewasa mengandung 2-2,5 gram seng. Tiga perempat dari jumlah tersebut berada dalam tulang dan metabolisamenya sangat lambat. Dalam konsentrasi tinggi seng ditemukan juga pada iris, retina, hepar, pankreas, ginjal, kulit, otot, testis dan rambut, sehingga kekurangan seng berpengaruh pada jaringan-jaringan tersebut. Pengaruh yang paling nyata adalah dalam metabolisme, fungsi dan pemeliharaan kulit, pankreas dan organ-organ reproduksi pria, terutama pada perubahan testoteron menjadi dehidrotestosteron yang aktif. Di dalam pankreas, seng ada hubungannya dengan banyaknya sekresi protease yang dibutuhkan untuk pencernaan juga ada hubungannya dengan insulin walaupun tidak memegang peranan secara langsung terhadap aktifitas insulin. Di dalam darah seng terutama terdapat dalam sel darah merah, sedikit ditemukan dalam sel darah putih, trombosit dan serum. Kira-kira 1/3 seng serum berikatan dengan albumin atau asam amino histidin dan sistein.⁴

Peranan terpenting seng bagi makhluk hidup yaitu untuk pertumbuhan dan pembelahan sel, sebab seng berperan pada sintesis dan degradasi karbohidrat, lemak, protein, asam nukleat, dan pembentukan embrio.¹² Dalam hal ini seng dibutuhkan untuk proses percepatan pertumbuhan, menstabilkan struktur membran sel dan mengaktifkan hormon pertumbuhan. Seng juga berperan dalam

sistem kekebalan tubuh dan merupakan mediator potensial pertahanan tubuh terhadap infeksi.¹³

2.1.2 Absorpsi dan Metabolisme



Gambar 1. Absorpsi dan metabolisme seng
Dikutip dari Berdanier CD.¹¹

Proses absorpsi seng menyerupai absorpsi besi dalam tubuh, dari sekitar 4 sampai 14 mg/hari yang dikonsumsi, hanya sekitar 10-40% yang diabsorpsi. Absorpsi dikurangi oleh adanya agen pengikat atau pengkelat dari mineral yang tak dapat diisap seperti fiber, fospat dan fitat, pada fase ini seng akan dikeluarkan melalui feses. Seseorang yang diet tinggi fitat sangat beresiko terjadinya defisiensi seng.^{11,32,33}

Absorpsi membutuhkan alat angkut, proses ini terjadi dalam usus halus (duodenum).⁴ Seng diangkut ke plasma sekitar 77% terlepas bebas ke albumin, 20% diikat pada α-2-makroglobulin, dan 2 sampai 8% diultrafisasi. Ultrafisasi ini

dikeluarkan melalui urin sebanyak 0,5 sampai 0,8 mg/hari atau pada feses melalui ekskresi *biliary*.^{11,32} Sebagian besar seng yang terdapat pada albumin dan transferin masuk ke aliran darah dan dibawa ke hati. Kelebihan seng disimpan dalam hati dalam bentuk “metalotionin”, lainnya dibawa ke pankreas dan jaringan tubuh yang lain. Di dalam pankreas seng digunakan untuk membuat enzim pencernaan, yang pada waktu makan dikeluarkan ke dalam saluran cerna. Dengan demikian saluran cerna menerima seng dari dua sumber yaitu dari makanan dan dari cairan pencernaan yang berasal dari pankreas.⁴ Vitamin D meningkatkan absorpsi seng dan memungkinkan memberikan efek terhadap sintesis metalotionin.¹¹

Absorpsi seng diatur oleh “metalotionin” yang disintesis di dalam dinding saluran cerna. Bila konsumsi seng tinggi, dalam sel dinding saluran cerna sebagian seng diubah menjadi “metalotionin” sebagai simpanan, sehingga absorpsi berkurang.⁴

Keadaan malabsorpsi dan diare dapat mengganggu absorpsi seng. Inhibisi kompetitif antara besi, seng dan tembaga juga mempengaruhi absorpsi seng. Seng dari produk hewani mudah diserap, sedangkan seng dari produk nabati absorpsinya tergantung pada kandungan seng tanah.^{10,31}

2.1.3. Suplementasi seng

Pertimbangan yang mempengaruhi keputusan tentang metode pengadaan suplementasi seng adalah daya larut, bioavailabilitas, rasa, efek samping, dan

frekuensi dosis yang diberikan.¹⁴ Suatu survei informal mengadakan percobaan suplementasi seng menyatakan bahwa dasar untuk memilih bentuk suplementasi seng salah satunya adalah rasa. Rasa seng sitrat yang diberikan dengan dosis 3 mg tidak dapat diterima walaupun diberi dalam jus jeruk. Seng sulfat dan seng glutamat dengan dosis 10-20 mg mempunyai rasa yang dapat diterima. Nausea dan kejang akan terjadi bila 50 mg seng diberikan untuk orang dewasa sebagai dosis tunggal dari seng sulfat.¹⁵

Daya larut relatif garam seng dalam larutan encer sangat bervariasi, seng sulfat dan klorida sangat larut, seng asetat larut secara bebas, seng karbonat dan oksida tidak dapat larut. Kelarutan dalam larutan encer sangat erat hubungannya dengan kemampuan diabsorpsi.¹⁶

Bioavailibilitas dari suplementasi seng bila dikonsumsi bersamaan-sama dengan makanan yang banyak mengandung fitat maka akan menghambat absorpsi seng. Cukup sulit mengukur bioavailibilitas seng, suplementasi dosis tertentu pada manusia akan menimbulkan peningkatan seng plasma. Penurunan terjadi pada kadar seng plasma posprandial karena absorpsi seng terhambat oleh makanan yang dikonsumsi mengandung zat yang dapat menghambat absorpsi.

Dosis seng antara 5-20 mg per hari banyak diberikan pada penelitian tentang efek seng terhadap pertumbuhan. Pada penelitian meta analisis suplementasi yang diberikan berkisar antara 1,5-50 mg per hari. Dengan pertimbangan bahwa efficacy absorpsi seng adalah 60% untuk 5mg, 50% untuk 10mg, dan 40% untuk 15 mg.¹⁴

2.1.4. Penentuan dosis suplementasi

Penentuan dosis suplementasi seng berpedoman pada dosis yang biasa dikonsumsi manusia yang dihubungkan dengan berat badan rata-rata manusia dan konversi dosis antar jenis hewan. Dalam hal ini untuk dosis manusia dengan berat badan 70kg ke mencit dengan berat badan 200 gram (Donatus).²⁸

Tabel 2. Konversi dosis manusia dan antar jenis hewan

	Mencit	Tikus	Marmut	Kelinci	Kera	Anjing	Manusia
Mencit 200 gr	1,0	7,0	12,25	27,8	64,1	124,2	387,9
Tikus 200 gr	0,14	1,0	1,74	3,9	9,2	17,8	56,0
Marmut 400 gr	0,08	0,57	1,0	2,25	5,2	10,2	31,15
Kelinci 1,5 kg	0,04	0,25	0,44	1,0	2,4	4,5	14,2
Kera 4 kg	0,016	0,11	0,19	0,42	1,0	1,9	6,1
Anjing 12 kg	0,008	0,06	0,10	0,22	0,521	1,0	3,1
Manusia 70 kg	0,0026	0,018	0,031	0,07	0,161	0,32	1,0

Sumber: Laurence dan Bacharach yang dikutip oleh Imono Argo Donatus²⁸

2.1.5. Angka kecukupan seng

Banyaknya seng yang dibutuhkan setiap orang berbeda-beda, tergantung pada beberapa faktor yaitu usia, status fisiologik (banyaknya seng yang harus diabsorpsi untuk menggantikan pengeluaran endogen, pembentukan jaringan, pertumbuhan, dan sekresi air susu), serta karakteristik diet.¹⁷ Besarnya masukan seng yang dianjurkan untuk memenuhi kebutuhan orang sehat (angka kecukupan seng) dapat dilihat pada tabel 3.

Tabel 3. Angka kecukupan seng rata-rata yang dianjurkan per orang per hari.¹⁷

Golongan Umur	Seng (mg)
0-6 bulan	3
7-12 bulan	5
1-9 tahun	10
10-59 tahun	15
> 60 tahun	15
Hamil	+5
Menyusui 0-6 bulan	+10
Menyusui 7-12 bulan	+10

Sumber: Sutanto BL, 2004¹⁷

Dalam memenuhi kecukupan seng diperlukan diet yang adekuat, juga diperhitungkan bioavailabilitas bahan makananan yang mengandung seng berupa efek dari setiap proses fisik, kimia, maupun fisiologik yang berpengaruh pada jumlah seng yang diserap dari bahan makanan hingga bentuk biologik yang aktif untuk dapat dimanfaatkan bagi kebutuhan fungsional.¹⁸ Berbagai jenis bahan makanan yang merupakan sumber seng dapat dilihat pada tabel 4.

Tabel 4. Daftar bahan makanan sumber seng

Jenis Makanan	Kadar Seng (mg/kg basah)
Daging sapi	10.43
Daging ayam	7.16
Ikan laut	4
Susu	3.5
Keju	40
Beras	13
Kelapa	5
Kentang	3

Sumber: Ensminger²⁹

2.1.6. Penentuan status seng

Penentuan status seng tubuh dapat dilakukan melalui pengukuran konsentrasi serum seng, konsentrasi pada eritrosit, lekosit dan rambut. Sedangkan penentuan status seng marginal dengan cara mengukur metalotionin sel darah

merah. Konsentrasi metalotionin sel darah merah memiliki respon yang baik terhadap perubahan asupan seng. Indikator yang paling sering dipakai untuk menentukan status seng adalah dengan mengukur konsentrasi seng plasma, tetapi tidak selalu menggambarkan konsentrasi yang tepat kadar seng dalam tubuh karena seng berikatan terutama dalam albumin sehingga akan berubah jika kadar albumin berubah.²⁰ Konsentrasi seng plasma juga akan menurun pada keadaan infeksi, sebagai respon fase akut.¹⁰ Beberapa keadaan yang mempengaruhi konsentrasi seng plasma adalah hipoalbuminemia, gagal organ, trauma jaringan akibat pembedahan, latihan fisik berat dan penyakit saluran pencernaan yang mempengaruhi absorpsi seng.²¹

2.1.7. Toksisitas seng

Keracunan seng tidak pernah terjadi, yang mungkin terjadi karena makanan terkontaminasi dari wadah dengan bahan galvanis. Kelebihan seng terjadi pada penyerapan 100-300 mg/hari, karena tidak adanya intake tembaga (Cu) dengan gejala kadar Cu darah rendah, anemia, leukopenia dan neutropenia. Untuk mengatasi dengan pemberian suplemen Cu. Kadang-kadang suplemen seng dengan jumlah sedikit (15-100 mg/hari) juga menimbulkan gejala seperti anemia dan kerusakan profil serum lipoprotein. Penurunan densitas lipoprotein yang tinggi pernah dilaporkan pada beberapa individu dan penurunan ini berbalik ketika tidak diberikan suplemen. Mekanisme interaksi Zn dan Cu melibatkan metalotionin di dalam sel mukosa. Ikatan protein logam tersebut mempunyai

afinitas Cu lebih tinggi dari pada seng, sehingga dapat mengurangi ikatan dengan Zn dan menyebabkan ketidakseimbangan mineral¹¹

2.2. Tawas

2.2.1. Tawas dan fungsinya dalam industri makanan

Tawas dikenal sebagai suatu bahan kimia yang sering digunakan orang untuk proses penjernihan air. Fungsi tawas dalam proses tersebut adalah sebagai bahan penggumpal padatan-padatan yang terlarut di dalam air. Tawas mempunyai rumus molekul aluminium sulfat ($\text{Al}_2(\text{SO}_4)_3 \cdot 14 \text{H}_2\text{O}$). Fungsi larutan tawas pada proses perendaman makanan tersebut adalah sebagai berikut :



Tawas (aluminium sulfat) sebagai penggumpal pada penjernihan air, pada pH 5,0 – 7,5 kelarutan $\text{Al}(\text{OH})_3$ sangat rendah dan membentuk gel sehingga dapat mengendapkan koloid-koloid.

Beberapa fungsi tawas diantaranya untuk memperbaiki mutu pangan misalnya pengolahan manisan lidah buaya, campuran pembuatan bihun agar tidak rapuh dan berwarna lebih putih, juga untuk menghitamkan kacang hijau bahan isi dari bakpao.² Tawas juga berfungsi untuk perendaman ikan seperti penelitian yang pernah dilakukan oleh Nurrahman dan Isworo J pada produsen ikan asap di kelurahan Bandarharjo kecamatan Semarang Utara. Para produsen meyakini bahwa dengan merendam ikan dalam larutan tawas sebelum dilakukan pengasapan, dapat menghasilkan ikan asap yang memiliki konsistensi yang kompak dan kesat. Prinsip penggunaan tawas pada proses perendaman ikan

sebelum di asap, adalah mirip dengan penggunaan garam dapur, yang fungsinya selain untuk menghambat pertumbuhan mikrobia, juga untuk membuat ikan menjadi lebih putih dan kenyal. Ikan tongkol yang direndam dalam larutan tawas 10% selama 1 jam sebelum diasap, teksturnya menjadi lebih kompak, kesat dan keras, warnanya lebih putih, konsentrasi senyawa nitrogen volatilnya menurun sehingga mengurangi bau amis dan rasa pahit, serta tidak berkurang kadar proteinnya. Adanya interaksi dengan tawas, maka nilai total volatil nitrogen yang berkaitan dengan bau amis ikan akan menurun.¹

Daging ikan yang direndam terlebih dahulu dengan tawas dengan konsentrasi mulai 4% sampai dengan 12% dan waktu perendaman yang bervariasi mulai dari 30 menit sampai dengan 150 menit sebelum diasap, konsentrasi aluminium per 10 gram daging ikan pada yang belum diasap dan sesudah diasap tidak berbeda yaitu sekitar 0,266 sampai dengan 0,413 ppm. Proses pengasapan yang memakan waktu hampir 4 jam, ternyata tidak mengurangi konsentrasi aluminium di dalam daging ikan. Konsentrasi aluminium dalam daging ikan tidak bertambah walaupun konsentrasi tawas dan waktu kontak dinaikkan. Dalam hal ini terjadi kejenuhan dalam pengikatan ion aluminium oleh daging ikan.²

2.2.2. Aluminium sebagai komponen utama tawas

Tawas mengandung aluminium yang merupakan ion logam toksik, dan masuk ke dalam tubuh manusia kebanyakan bersama dengan makanan/ minuman. Aluminium yang terserap oleh darah dari gastrointestinal, akan terdistribusi ke

seluruh tubuh yang akhirnya akan diekskresi lewat sistem penyaringan glomerulus pada ginjal.³

Logam berat pada perairan yang melebihi batas ambang, menyebabkan kematian ikan yang didahului dengan pengeluaran lendir yang berlebihan pada insangnya.²² Selain itu, logam berat juga dapat menyebabkan efek hipersensitivitas kontak pada manusia. Adanya kontak langsung antara jaringan hewan percobaan dengan logam-logam berat menunjukkan manifestasi hipersensitivitas kontak yang dapat dilihat dari perubahan daun telinga dan kaki, yakni terjadi pembengkakan.²³

Pada tahun 1993, Tandjung, S.D, menemukan bahwa sel sensoris dan sel penyokong dari ikan Salmonida (*Salvelinus fontinalis*) di dalam air dengan 5 ppm Aluminium mengalami nekrosis, dan pada konsentrasi 7,5 ppm Aluminium kedua jenis sel tersebut mengkerut dan mati, sehingga terlepas dari jaringan pengikat.

2.3. Sistem detoksifikasi tubuh terhadap logam berat

Logam berat dan metaloid dibutuhkan untuk aktifitas biologik dalam konsentrasi yang sangat rendah oleh sel, dan merupakan unsur yang esensial. Dengan demikian dapat diketahui ada ion logam yang dalam konsentrasi tertentu memang dibutuhkan oleh sel (misalnya Na dan K yang biasanya ditransport sebagai kation mobil dalam larutan air; Fe, Co, Cu dan sebagainya, sebagai unsur esensial dalam proses transport elektron), akan tetapi ada pula ion logam yang bersifat toksik terhadap sel seperti Al, Hg, Pb, Cd, As dan sebagainya.²⁴

Beberapa ion logam berat adalah merupakan kelompok prostetik enzim oksigenase yang berperan dalam proses oksidasi reduksi. Tetapi dalam konsentrasi yang tinggi bersifat toksik bagi sel, karena ion-ion logam berat tersebut bertindak sebagai oksidan dan berikatan dengan molekul organik seperti DNA dan protein. Di dalam sel ion-ion logam tersebut berikatan dengan protein seluler dan merubah struktur protein menjadi inaktif.²⁴

Sistem detoksifikasi dilakukan dengan cara akumulasi ion-ion logam ke dalam sel yang diawali dengan pengikatan ion logam pada permukaan sel. Pengikatan ini terjadi karena ion logam positif terikat pada sisi reaktif muatan negatif polimer ekstraseluler seperti $R-COO^-$ dan PO_4^- , kemudian dilanjutkan dengan transport ion logam ke dalam sitoplasma. Dalam sitoplasma terjadi akumulasi logam oleh protein pengikat logam yang disebut "metalotionin". Protein pengikat logam tersebut merupakan suatu protein dengan berat molekul rendah (6,8 KD) yang terdiri dari suatu rantai polipeptida tunggal dari beberapa asam amino. Asam amino ini kaya akan sistein yang merupakan protein kelas B-tiol (-SH) yang terikat logam secara kovalen. Metalotionin ini berperan sebagai sarana detoksifikasi karena menimbun logam²⁴.

2.4. Efek biologik logam berat pada organ

Efek biologik merupakan resultante akhir dari sejumlah proses yang sangat kompleks, yakni interaksi antara fungsi homeostasis dengan zat-zat asing bagi tubuh termasuk logam berat. Logam berat yang memasuki tubuh akan terdistribusi

sesuai dengan afinitasnya. Logam berat menyerang secara spesifik organ hati dan ginjal yang berperan sebagai organ detoksifikasi.²⁵

Efek logam berat terhadap hati sangat variatif. Telah diketahui bahwa hati merupakan organ terbesar di dalam tubuh yang menerima semua hasil absorpsi usus lewat pembuluh vena porta. Vena porta tersebut berisi banyak nutrisi dan bahan asing yang berasal dari usus. Selain menerima darah dari usus, hati juga menerima darah balik dari ginjal. Darah yang memasuki hati 70% berasal dari vena porta, sedangkan yang 30% datang dari aorta sebagai arteri terbesar di dalam tubuh. Akibat dari faal hati inilah maka hepatotoksik akan lebih toksik bagi hati jika masuk per-oral dibandingkan dengan masuk lewat inhalasi atau dermal.²⁵

Detoksifikasi bahan asing termasuk logam berat, dilakukan oleh hati, oleh sebab itu jika terjadi metabolit yang lebih toksik maka hati yang pertama-tama menderita efek toksiknya. Semua nutrisi dan zat asing yang masuk ke dalam tubuh, dimetabolisme, disimpan, dikonjugasi dan selanjutnya disalurkan ke organ sekresi. Akan tetapi jika zat asing yang masuk ke dalam tubuh melebihi kemampuan konjugasi, akan bereaksi dengan sel hati dan menyebabkan kerusakan hati.²⁵

Kerusakan hati dapat dipantau dengan analisis aktivitas berbagai enzim dalam serum. Adanya abnormalitas dari enzim-enzim ini dapat merupakan informasi diagnostik yang menunjukkan tingkat keadaan penyakit hati.²⁶ Kerusakan hati biasanya dinyatakan dengan kenaikan konsentrasi Serum Glutamat Oksaloasetat Transaminase (SGOT) dan Serum Glutamat Piruvat Transaminase (SGPT). Kenaikan konsentrasi kedua enzim ini di dalam serum,

akibat kerusakan atau regenerasi sel hati. Kerusakan sel-sel hati ini menyebabkan kebocoran enzim-enzim tersebut yang seharusnya berada di hati akan berada pada serum.⁵

Kerusakan hati juga ditandai dengan adanya hiperbillirunemia, yaitu konsentrasi billirubin yang lebih dari 1 miligram per desiliter darah. Hal ini karena billirubin yang seharusnya diekskresi hati ke empedu tidak dapat dilaksanakan. Sebagai akibat billirubin akan menumpuk di dalam darah. Hiperbillirunemia ini disebabkan oleh rusaknya sel parenkhim hati atau terjadi obstruksi saluran empedu di dalam hati. Di dalam plasma darah, billirubin ini terikat dengan tidak erat pada protein albumin. Karena ikatan yang tidak kuat ini mengakibatkan billirubin mudah dilepas, dikeluarkan ke jaringan dan menyebabkan ikterus yaitu warna kuning pada mata dan kulit.⁶

Ginjal merupakan organ ekskresi utama bagi cairan yang tidak digunakan lagi oleh tubuh, dan disalurkan lewat pembuluh darah, seperti urea, kreatinin, asam urat dan lain-lain. Ginjal sangat peka terhadap logam berat, karena pada ginjal logam tersebut membentuk kompleks dengan ligan organik. Sebagai organ ekskresi, ginjal mudah terpapar zat-zat kimia asing seperti logam berat, yang mungkin saja merusak jaringannya.²⁶

Logam berat mempunyai efek kerja toksik yang spesifik pada sel epitel tubulus ginjal dan menyebabkan nekrosis sel-sel epitel. Sel-sel epitel tubulus ginjal yang mengalami nekrosis akan hancur dan terlepas dari membran basalnya, dan menempel serta menutupi tubulus. Pada beberapa keadaan, membran basal tersebut juga hancur. Kerusakan membran basal ini akan

meningkatkan permeabilitas membran glomerulus, sehingga memungkinkan protein (albumin) dan zat-zat yang terlarut dalam plasma yang terikat pada protein dengan mudah melewatinya. Nekrosis tubuler ini ditandai dengan hilangnya sejumlah besar protein plasma, dan sebaliknya protein urine justru meningkat. Ureum dan creatinin yang seharusnya diekskresi lewat urine, menjadi meningkat konsentrasinya di dalam darah.⁶

Ginjal memproduksi hormon eritropoitin yang mengatur eritropoiesis yaitu pembentukan eritrosit di dalam sumsum tulang. Hormon tersebut dihasilkan oleh sel interstisial peritubular ginjal dan distimulir oleh adanya tekanan oksigen pada jaringan ginjal. Hormon ini meningkatkan jumlah sel progenitor yang terikat, untuk eritropoiesis. Sel progenitor yang terdiri dari Burst Forming Unit Erythrocyte dan Colony Forming Unit Erythrocyte dengan adanya hormon eritropoitin terangsang untuk berproliferasi, berdeferensiasi menghasilkan hemoglobin, dan proporsi sel eritrosit dalam sumsum tulang meningkat.⁸

2.5. Degenerasi dan nekrosis sel epitel tubulus

Sel adalah unit terkecil yang menunjukkan semua sifat dari kehidupan. Aktifitasnya memerlukan energi dari luar untuk proses pertumbuhan, repair dan reproduksi. Reaksi kimia atau fisika di dalam sel disebut metabolisme yang dikatalisis oleh enzim. Struktur tiap enzim atau protein apapun dikode oleh DNA yang disebut gen³⁹.

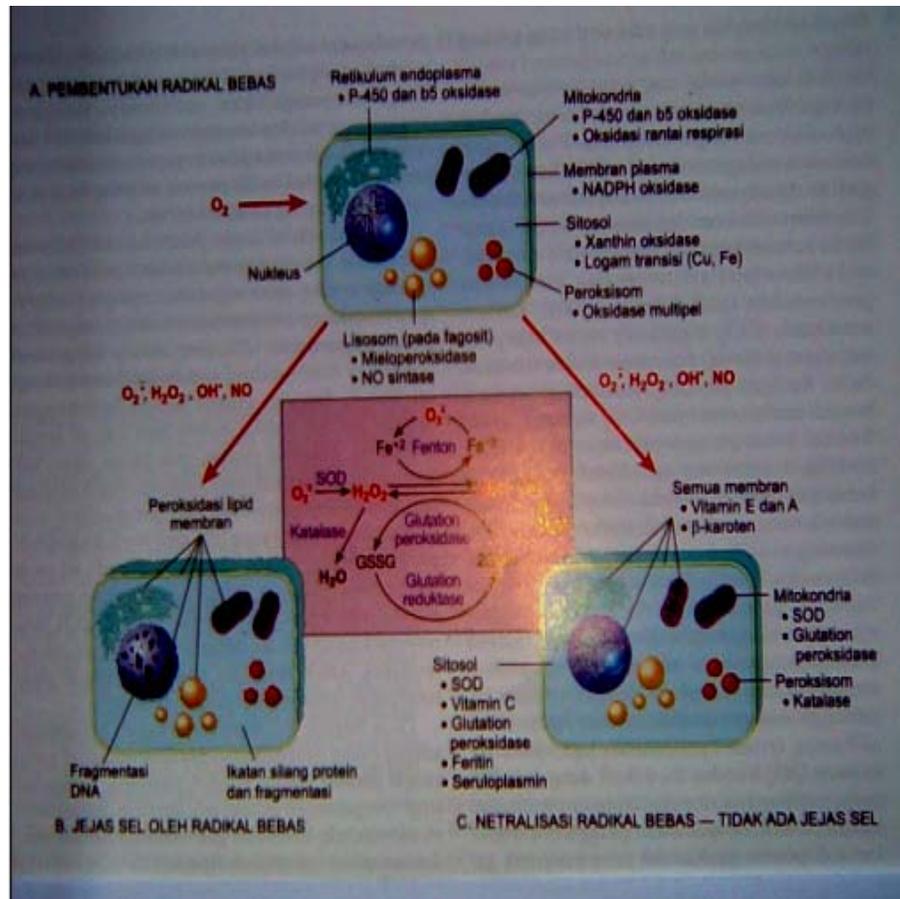
Ketika mengalami stres fisiologis atau rangsang patologis, sel bisa beradaptasi mencapai kondisi baru dan mempertahankan kelangsungan hidupnya.

Apabila kemampuan adaptif berlebihan sel mengalami jejas. Dalam batas tertentu bersifat *reversibel* dan sel kembali ke kondisi stabil semula. Stres yang berat atau menetap menyebabkan cedera *ireversibel* dan sel yang terkena mati.³⁴

Salah satu penyebab cedera sel adalah bahan kimia. Semua bahan kimia dapat menyebabkan jejas sel. Bahan tersebut dapat menyebabkan kerusakan pada tingkat seluler dengan mengubah permeabilitas membran, homeostasis osmotik, keutuhan enzim atau kofaktor dan dapat berakhir dengan kematian seluruh organ. Zat kimia menginduksi cedera sel melalui cara langsung yaitu bergabung dengan komponen molekuler kritis atau organel seluler. Pada kondisi ini kerusakan terbesar tertahan oleh sel yang menggunakan, mengabsorpsi, mengekskresi, atau mengonsentrasikan senyawa. Banyak zat kimia lain yang tidak aktif secara intrinsik biologis, tetapi pertama kali harus dikonversi menjadi metabolit toksik reaktif yang kemudian bekerja pada sel target.³⁴

Bahan kimia misalnya logam menerima atau mendonor elektron bebas selama reaksi intrasel sehingga mengkatalisis pembentukan radikal bebas. Terdapat 3 reaksi jejas sel yang diperantarai radikal bebas yaitu peroksidase lipid membran, fragmentasi DNA, Ikatan silang protein. Ikatan ganda pada lemak tidak jenuh membran mudah terkena serangan radikal bebas berasal dari oksigen. Interaksi radikal lemak menghasilkan peroksida yang tidak stabil dan reaktif dan terjadi reaksi autokatalitik. Reaksi radikal bebas dengan timin pada DNA mitokondria dan nuklear menimbulkan rusaknya untai tunggal. Kerusakan DNA tersebut telah memberikan implikasi pada pembunuhan sel dan perubahan sel menjadi ganas. Radikal bebas mencetuskan ikatan silang protein yang diperantarai

sulfhidril, menyebabkan peningkatan kecepatan degradasi atau hilangnya aktifitas enzimatis. Reaksi radikal bebas juga bisa secara langsung menyebabkan fragmentasi polipeptida. Mekanisme ini diperjelas pada gambar 2 berikut:



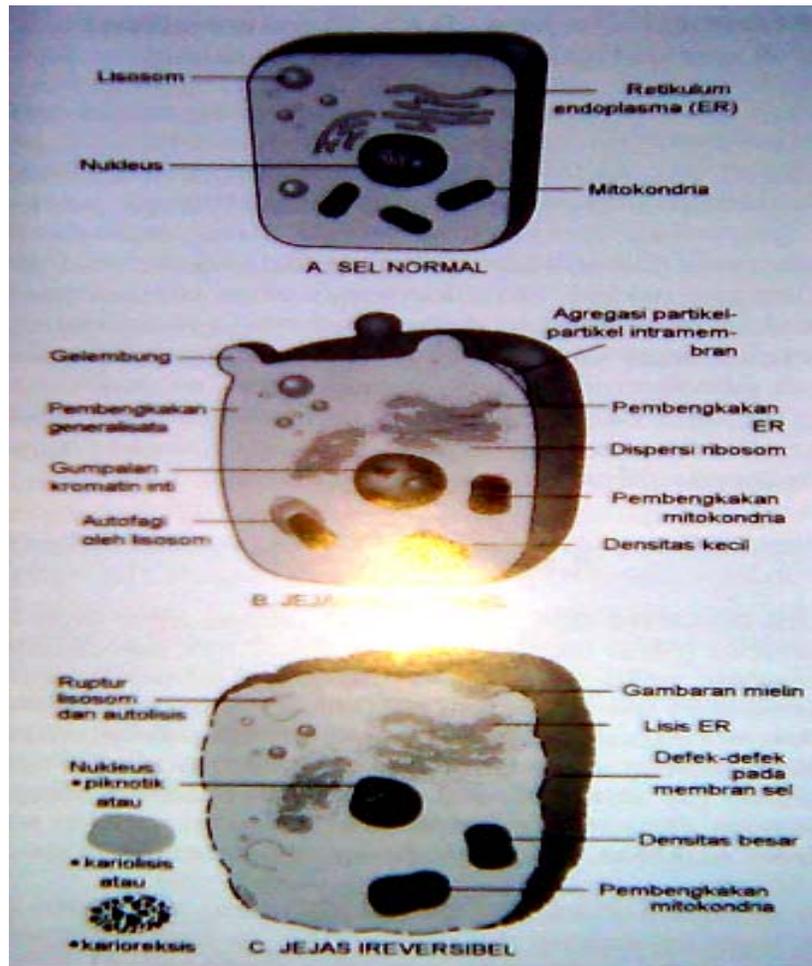
Gambar 2.Jejas sel akibat radikal bebas. Richard N³⁴

Empat sistem sel yang paling mudah terkena jejas atau cedera adalah integritas membran sel, pembentukan ATP, sintesis protein dan integritas aparatus genetik. Dalam keterbatasan sel dapat mengompensasi gangguan tersebut, Namun bila cedera persisten atau berlebihan menyebabkan sel melewati ambang batas dan

masuk kepada kondisi *ireversibel* . Keadaan tersebut disertai kerusakan luas pada semua membran, pembengkakan lisosom, vakuolisasi mitokondria, sehingga terjadi penurunan kapasitas untuk membentuk ATP. Kalsium ekstrasel masuk ke dalam sel dan cadangan kalsium intrasel dikeluarkan mengakibatkan aktivasi enzim yang dapat mengatabolisasi membran, protein , ATP dan asam nukleat.³⁴

Degenerasi sel merupakan peristiwa perubahan morfologi sel akibat cedera dan bisa bersifat *reversibel dan ireversibel*. Cidera sel *reversibel* meliputi perubahan membran plasma, perubahan mitokondrial, dilatasi retikulum endoplasma dan perubahan nuklear. Perubahan morfologik tersebut dapat dikenali dengan mikroskop cahaya yaitu adanya pembengkakan sel dan degenerasi lemak.³⁴

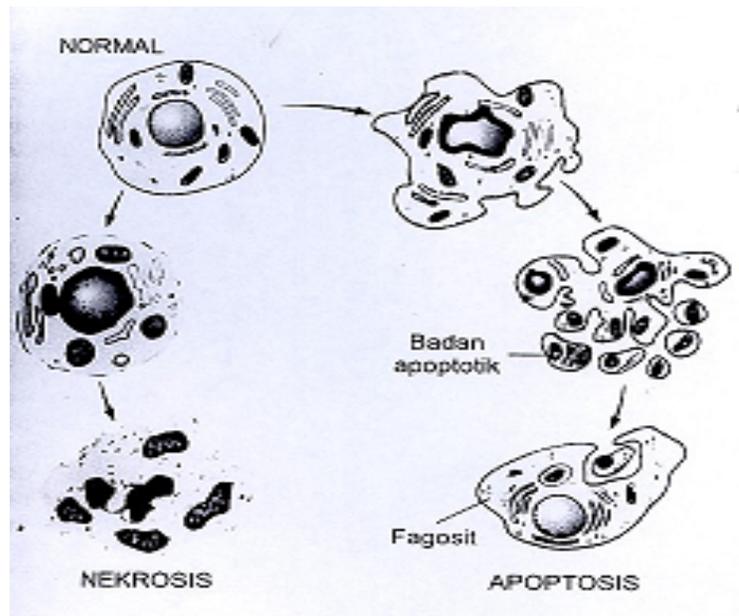
Morfologi cedera sel ireversibel-nekrosis menunjukkan sekuens perubahan morfologik yang mengikuti kematian sel pada jaringan hidup.³⁴ Morfologi dapat terlihat pada gambar 3 berikut:



Gambar 3. Jejas *reversibel* dan *ireversibel*. Richard N³⁴

Nekrosis merupakan korelasi makroskopik dan histologik pada kematian sel yang terjadi di lingkungan cedera eksogen ireversibel. Manifestasi yang paling sering terjadi adalah nekrosis *koagulatif* yang ditandai dengan pembengkakan sel, denaturasi protein sitoplasma dan pemecahan organel sel. Selain itu nekrosis juga memiliki ciri adanya penonjolan membran disertai kehilangan integritas membran,

sel membengkak kemudian lisis, kebocoran lisosom, inti menggerombol dan terjadi agregasi,³⁹ seperti yang terlihat pada gambar 4 berikut:



Gambar 4. Gambaran sel nekrosis. Richard N³⁴

2.6. Beberapa prinsip laboratorium untuk pemeriksaan kadar Hb, Ht, jumlah eritrosit dan retikulosit.

Berdasarkan metode deteksinya, pemeriksaan kadar Hb, Ht, jumlah eritrosit dan retikulosit dapat dilakukan berdasarkan pada impedansi elektrik, "spectrophotometry", "flow cytometry" dan pendaran sinar laser.

Metode impedansi elektrik untuk menghitung dan mengukur sel darah dimana sebelum pemeriksaan, sampel diencerkan dengan menggunakan larutan yang mempunyai konduktivitas tertentu dan merupakan konduktor listrik yang kurang baik kemudian sel darah dialirkan melalui lubang kecil yang disebut

orifice yang mempunyai ukuran tertentu. Pada saat yang sama, suatu arus listrik dialirkan melalui elektroda yang dipasang pada sisi luar dan sisi dalam orifice, karena sel darah adalah penghantar listrik yang buruk, sehingga jika sel darah masuk melalui orifice tadi arus listrik yang mengalir akan terganggu, gangguan ini menimbulkan suatu pulsa. Besar pulsa akan sesuai dengan besarnya sel darah yang lewat. Jika sel darah besar, maka pulsa yang ditimbulkan besar, sebaliknya jika sel darah kecil maka pulsupun kecil. Dengan demikian dapat mengenali jenis-jenis sel menurut ukurannya dan menghitung jumlahnya.³⁵

Metode "spectrophotometry" untuk mengukur konsentrasi suatu kadar hemoglobin yang dilewatkan pada cahaya monokromatis melalui suatu larutan. Apabila semakin tinggi konsentrasi zat semakin banyak cahaya yang diserap. Hubungan antara jumlah cahaya yang diserap dan konsentrasi larutan ditunjukkan dengan hukum Beer, yang menyatakan bahwa besarnya penyerapan berkaitan langsung dengan konsentrasi zat.³⁵

Metode flow cytometry dan pendaran sinar laser untuk menghasilkan perhitungan sel darah putih dan perhitungan jenis sel yang mengalir melalui aliran, dimana sinar laser difokuskan dan ditembakkan ke arah sel-sel pada aliran tersebut. Sudut sinar laser yang dipendarkan oleh sel-sel tersebut menggambarkan karakteristik sel termasuk ukuran sel. Struktur bagian dalam, bentuk granula dan morfologi permukaan.³⁵

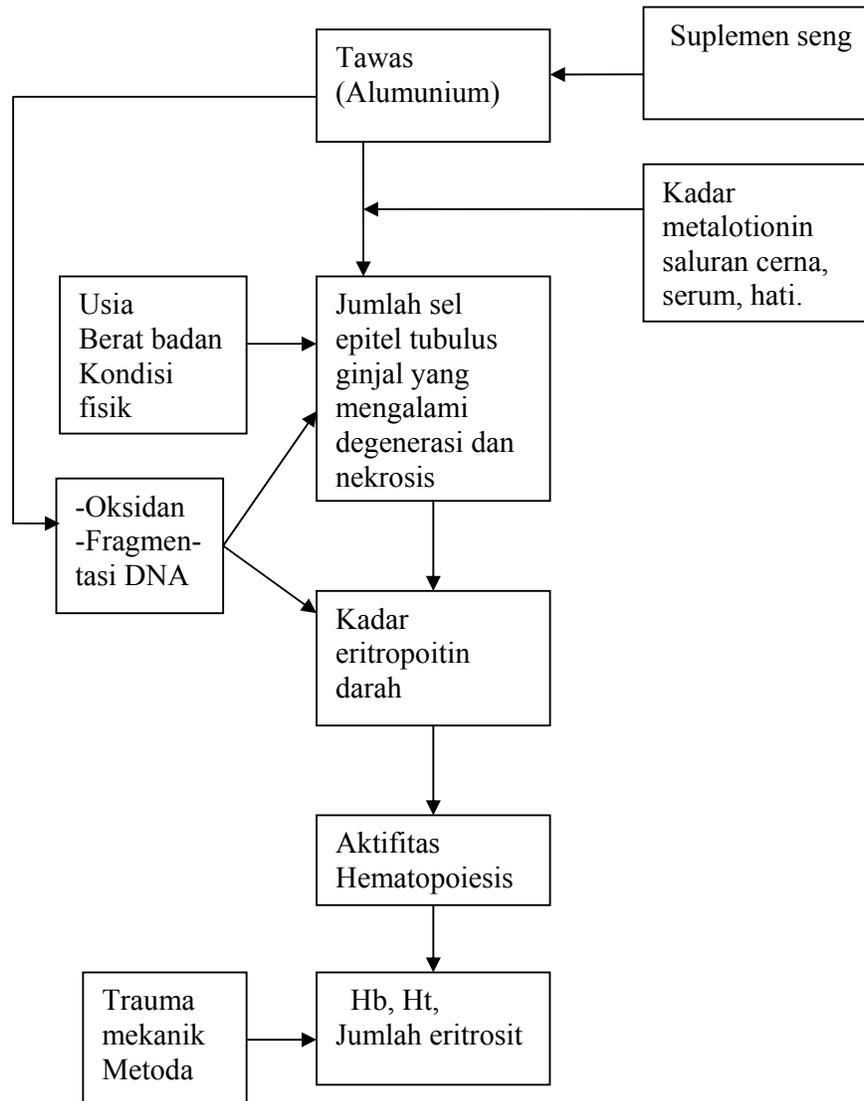
Interpretasi hasil kadar hemoglobin, hematokrit, jumlah eritrosit dan retikulosit dapat dilihat pada tabel 5⁹.

Tabel 5. Nilai normal untuk hitung darah lengkap pada orang dewasa

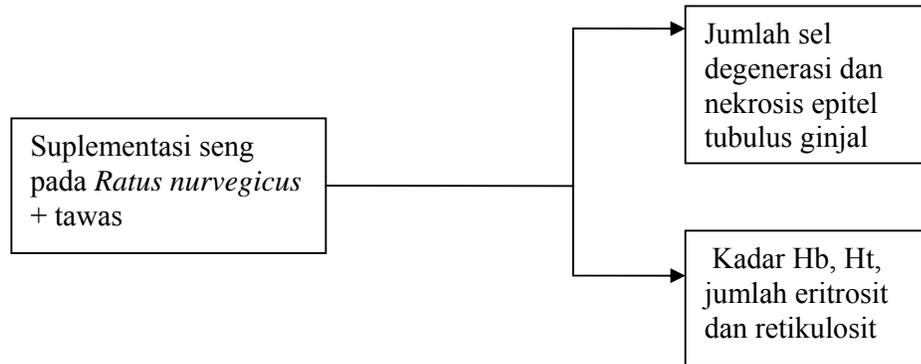
Jenis pemeriksaan	Laki-Laki	Perempuan
Hemoglobin	13,5 – 18 g/dl	12 – 16 g/dl
Hematokrit	40 – 54 %	38 – 47 %
Jumlah eritrosit/ μ l	4,6 – 6,2 x 10 ⁶	4,2 – 5,4 x 10 ⁶
Retikulosit	0,5 – 2,5 %	0,5 – 2,5 %
Jumlah leukosit/ μ l	4,3 – 11 x 10 ³	4,5 – 11 x 10 ³
Trombosit/ μ l	150 - 450 x 10 ³	150 - 450 x 10 ³
MCV	80 – 98 fl	81 – 99 fl
MCH	26 – 32 pq	26 – 32 pq
MCHC	32 – 36 %	32 – 36 %

Dikutip dari Ronald A. Sacher⁹

2.7.Kerangka Teori



2.8. Kerangka Konsep



2.9. Hipotesis

Berdasarkan uraian pada latar belakang dan tinjauan pustaka, maka hipotesis yang diajukan dalam penelitian ini adalah

2.9.1. Hipotesis mayor:

Terdapat pengaruh suplementasi seng terhadap kerusakan sel tubulus ginjal serta kenaikan proses hematopoiesis pada tikus putih *Rattus nurvegicus* yang dalam pakannya ditambah tawas.

2.9.1. Hipotesis minor:

1. Terdapat perbedaan suplementasi seng dosis 0,2 mg, 0,4 mg dan 0,8 mg terhadap hambatan degenerasi sel epitel tubulus ginjal pada tikus putih *Rattus nurvegicus* yang diberi pakan tawas
2. Terdapat perbedaan suplementasi seng dosis 0,2 mg, 0,4 mg dan 0,8 mg terhadap hambatan nekrosis sel epitel tubulus ginjal pada tikus putih *Rattus nurvegicus* yang diberi pakan tawas

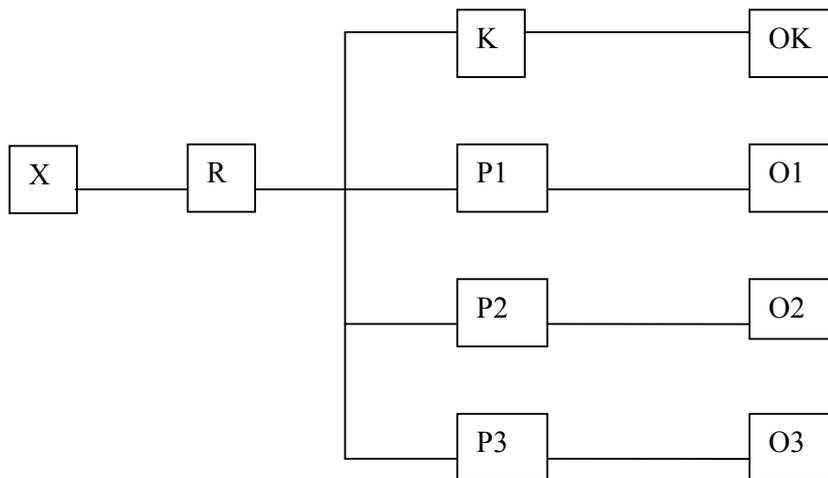
3. Terdapat perbedaan pemberian suplementasi seng dosis 0,2 mg, 0,4 mg dan 0,8 mg terhadap kenaikan proses hematopoiesis yang ditandai dengan kadar hemoglobin, hematokrit, jumlah eritrosit dan retikulosit pada tikus putih *Rattus norvegicus* yang diberi pakan tawas.

BAB III

METODE PENELITIAN

3.1. Jenis dan rancangan penelitian

Jenis penelitian ini adalah eksperimental laboratorik menggunakan rancangan *post test* dengan kelompok kontrol (*Randomized post test control-group only design*), dengan rancangan penelitian:



Keterangan:

X → R = Masa adaptasi selama *Rattus norvegicus* 1 minggu.

R = Randomisasi

K = Tikus putih *Rattus norvegicus* yang diberi makan pellet dicampur tawas 4% sebagai kontrol.

P1 = Tikus putih *Rattus norvegicus* yang diberi makan pellet dicampur tawas 4% dan ditambah susplemen seng dengan konsentrasi 0,2 mg sebagai kelompok perlakuan 1.

- P2 = Tikus putih *Rattus norvegicus* yang diberi makan pellet dicampur tawas 4% dan ditambah suplemen seng dengan konsentrasi 0,4 mg sebagai kelompok perlakuan 2.
- P3 = Tikus putih *Rattus norvegicus* yang diberi makan pellet dicampur tawas 4% dan ditambah suplemen seng dengan konsentrasi 0,8 mg sebagai kelompok perlakuan 3.
- OK = Hari ke 30 kelompok kontrol diambil darahnya melalui *plexus retro orbital* untuk diperiksa kadar Hb, Ht, jumlah eritrosit, retikulosit serta dibunuh untuk diperiksa jaringan tubulus ginjalnya.
- O1 = Hari ke 30 kelompok perlakuan 1 diambil darahnya melalui *plexus retro orbital* untuk diperiksa kadar Hb, Ht, jumlah eritrosit, retikulosit serta dibunuh untuk diperiksa jaringan ginjalnya.
- O2 = Hari ke 30 kelompok perlakuan 2 diambil darahnya melalui *plexus retro orbital* untuk diperiksa kadar Hb, Ht, jumlah eritrosit, retikulosit serta dibunuh untuk diperiksa jaringan ginjalnya.
- O3 = Hari ke 30 kelompok perlakuan 3 diambil darahnya melalui *plexus retro orbital* untuk diperiksa kadar Hb, Ht, jumlah eritrosit, retikulosit serta dibunuh untuk diperiksa jaringan ginjalnya.

Intervensi dilakukan dengan cara menambahkan suplementasi seng dengan dosis tertentu pada tawes dalam pakan *rattus nuvegicus*. Dosis suplementasi seng yang dipakai secara bertingkat mulai 0,2mg, 0,4mg dan 0,8mg. Sedangkan konsentrasi tawas yang dipakai adalah 4%. Pemeriksaan laboratorium histopatologi jumlah degenerasi dan nekrosis sel epitel tubulus ginjal serta hematopoitik dilakukan setelah 30 hari dan dibandingkan dengan kontrol.

3.2. Lokasi dan waktu penelitian

Pemeliharaan dan intervensi hewan coba dilaksanakan di Unit Pengembangan Hewan Percobaan, Universitas Gadjah Mada, Yogyakarta. Pemeliharaan semenjak masa seleksi sampai masa perlakuan berlangsung dalam waktu 30 hari.

Pemeriksaan histopatologi dilakukan di Laboratorium Patologi Anatomi Universitas Diponegoro Semarang sedangkan pemeriksaan kadar hemoglobin, hematokrit, jumlah eritrosit dan retikulosit dilakukan di laboratorium Patologi Klinik Universitas Muhammadiyah Semarang.

3.3. Populasi dan sampel

3.3.1. Populasi

- Populasi target adalah tikus putih *Rattus nurvegicus*.

- Populasi terjangkau adalah tikus putih *Rattus norvegicus* pada usia 15 minggu, berat badan 180-220 gram di Unit Pengembangan Hewan Percobaan, Universitas Gadjah Mada, Yogyakarta.

3.3.2. Sampel

Sampel yang digunakan diambil secara acak dari populasi terjangkau yaitu tikus putih strain *rattus norvegicus* yang berusia 15 minggu (sesuai usia eksperimental) yang berada di Unit Pengembangan Hewan Percobaan, Universitas Gadjah Mada, Yogyakarta, dengan syarat sesuai kriteria inklusi dan eksklusi.

Kriteria inklusi :

1. Berusia 15 minggu
2. Berat badan 180 – 220 gram
3. Sehat dan lincah.

Kriteria eksklusi:

1. Tikus mati pada saat perlakuan
2. Perilaku berubah (tidak doyan makan, lemas, tidak lincah) selama penelitian.

Jumlah sampel:

Penentuan jumlah sampel dilakukan dengan menggunakan rumus Federer²⁷ sebagai berikut:

$$BS = (t - 1) (r - 1) \geq 15$$

”t” adalah Jumlah perlakuan

”r” adalah Jumlah hewan coba tiap kelompok perlakuan.

Penelitian dengan 3 kelompok perlakuan dan 1 kelompok kontrol, sehingga $t=4$, $(4-1)(r-1) \geq 15$ ---- $r \geq 4,75$ dibulatkan menjadi 5. berarti $r \geq 5$. Jumlah tikus yang digunakan sebanyak 5 untuk masing-masing kelompok (3 kelompok perlakuan dan 1 kelompok kontrol) sehingga jumlah sampel

keseluruhan yang digunakan dalam penelitian ini adalah 20 ekor. Untuk mengantisipasi kemungkinan tikus ada yang mati maka tiap-tiap kelompok diberi cadangan masing-masing 1 sehingga jumlah keseluruhan ada 24.

3.4. Variabel penelitian

3.4.1. Variabel bebas

Pemberian suplemen seng pada *Ratus norvegicus* yang diberi tawas 4% dalam pakan.

3.4.2. Variabel tergantung

Sebagai variabel tergantung dalam penelitian ini adalah:

1. Degenerasi dan nekrosis sel tubulus ginjal
2. Kadar Hb, Ht, dan jumlah eritrosit serta retikulosit yang dihitung dengan menggunakan hematologi *analyzer*

3.4.3. Definisi operasional variabel

1. Tawas yang diberikan adalah $Al_2(SO_4)_3$ dibeli dari toko bahan kimia yang ada di Semarang, diberikan bersama dengan pakan standart tikus dengan konsentrasi 4%. Kebutuhan pakan tikus adalah 10% dari berat badan tikus, sehingga jika berat badan tikus rata-rata 200 gr maka jumlah kebutuhan pakan per gr berat badan adalah 20 gr. Tawas yang diberikan dalam bentuk kristal adalah 4% dari 20 gr yaitu 0,8 gr yang dicampur dalam pakan tersebut.
2. Suplementasi seng adalah pemberian mikronutrien seng dalam bentuk murni secara peroral dengan dosis pada tiap-tiap perlakuan secara bertingkat yaitu 0,2mg, 0,4mg, 0,8 mg. (skala rasio)

3. Kerusakan tubulus ginjal adalah gambaran jaringan tubulus ginjal yang dinilai berdasarkan jumlah degenerasi dan nekrosis sel epitel tubulus proksimal ginjal menggunakan metoda histopatologi pada tikus *Rattus norvegicus* setelah dilakukan suplementasi seng dalam pakan yang mengandung tawas. Jumlah sel epitel tubulus yang mengalami degenerasi dan nekrosis dihitung dalam 100 sel tiap sediaan. (skala rasio)
4. Kadar Hb adalah kandungan hemoglobin dalam eritrosit yang diukur menggunakan metoda cyanmethemoglobin dan dinyatakan dengan gr/dl (skala rasio)
5. Hematokrit adalah volume eritrosit dalam 100 ml darah dan dinyatakan dalam % Vol (skala rasio)
6. Jumlah eritrosit adalah banyaknya sel eritrosit dalam mm³darah yang diukur menggunakan prinsip impedansi elektrik. (skala rasio)
7. Jumlah retikulosit adalah banyaknya sel retikulosit yang diukur berdasarkan prinsip impedansi elektrik yang dinyatakan dalam % darah. (skala rasio)

3.5. Bahan yang digunakan

3.5.1. Bahan Utama

1. Bahan uji yang digunakan dalam penelitian ini adalah tikus putih jenis *Rattus norvegicus* yang berumur 15 minggu dengan berat 180-220 gram yang diperoleh dari Unit Pengembangan Hewan Percobaan Universitas Gadjah Mada, Yogyakarta.

2. Pakan Pellet (Parr G Pellet) yang dicampur dengan tawas dengan konsentrasi 40%.
3. Suplemen seng 0,2 mg/hari/ekor, 0,4 mg/hari/ekor dan 0,8 mg/hari/ekor.

3.5.2. Bahan untuk pemeriksaan Jaringan

1. Parafin
2. Formalin 10%
3. Alkohol 100%, 96%, 85%, 70%, 50%
4. Xylol
5. Hematoxylin Eosin

3.5.3. Bahan untuk penetapan kadar Hb, Ht, jumlah sel darah merah, retikulosit.

1. *Lyse*
2. *Diluent*
3. *Probe*
4. *EDTA* 10%

3.6. Peralatan Penelitian

3.6.1. Alat untuk mengambil darah

1. *Terumo capillary tubes VC Ho 75 H for Microhematocrit Determination*
(TerumoCorporation, Tokyo, Japan).
2. Botol vial

3.6.2. Alat untuk pemeriksaan jaringan

1. Preparat obyek dan deck glass
2. *Staining jar*

3. Oven
4. Mikrotom
5. Mikroskop

3.6.3. Alat untuk pemeriksaan kadar Hb, Ht, Jumlah eritrosit, retikulosit.

1. *Hematology Analyzer Mindray*
2. *Printer*
3. Kertas printer.

3.7. Prosedur Perlakuan

1. Pemeliharaan tikus percobaan.

Tikus dipelihara dalam ruangan yang berventilasi cukup, dikandangkan secara individual. Suhu ruangan berkisar 28 – 32 derajat Celcius, dengan kelembaban $56 \pm 5\%$. Makanan dan minuman diberikan dalam bentuk pelet tikus, setiap 2 hari dilakukan pembersihan kandang. Selama penelitian dilakukan tikus tidak ada yang mati. Untuk mengantisipasi bila ada yang mati maka tiap-tiap kelompok perlakuan jumlah sampel ditambah kurang lebih 10%.

2. Prosedur pemberian pakan

Selama tujuh hari, duapuluh ekor tikus diaklimatisasi terlebih dahulu. Pakan yang diberikan dalam bentuk standart rodentia AIN-93. Sebagian pakan dicampur dengan tawas dengan konsentrasi 4%, dan sebagian selain dicampur dengan tawas 4% juga ditambah seng dengan konsentrasi masing-masing 0,2mg, 0,4mg dan 0,8mg. Duapuluh empat ekor tikus dibagi dalam 4 kelompok sehingga masing-masing kelompok terdapat 6 ekor tikus.

Kelompok 1 sebagai kelompok kontrol diberi pakan standar yang telah dicampur dengan tawas konsentrasi 4%/ekor/hari selama 30 hari.

Kelompok II sebagai kelompok perlakuan I diberi pakan standart yang telah dicampur dengan tawas konsentrasi 4% dan suplementasi seng dengan konsentrasi 0,2 mg/ekor/hari selama 30 hari.

Kelompok III sebagai kelompok perlakuan II diberi pakan standart yang telah dicampur dengan tawas konsentrasi 4% dan suplementasi seng dengan konsentrasi 0,4 mg/ekor/hari selama 30 hari.

Kelompok IV sebagai kelompok perlakuan III diberi pakan standart yang telah dicampur dengan tawas konsentrasi 4% dan suplementasi seng dengan konsentrasi 0,8 mg/ekor/hari selama 30 hari.

Konversi dosis manusia dan tikus adalah 0,018. Perhitungan konversi dosis suplementasi seng dari manusia ke tikus adalah sebagai berikut:

- I. Kelompok perlakuan I: $10 \text{ mg} \times 0,018 = 0,18 \approx 0,2$, dengan demikian kelompok perlakuan I, dosis pemberian suplementasi seng adalah 0,2 mg/ekor/hari.
- II. Kelompok perlakuan II: $20 \text{ mg} \times 0,018 = 0,36 \approx 0,4$, dengan demikian kelompok perlakuan II, dosis pemberian suplementasi seng adalah 0,4 mg/ekor/hari.
- III. Kelompok perlakuan III: $40 \text{ mg} \times 0,018 = 0,72 \approx 0,8$, dengan demikian kelompok perlakuan III, dosis pemberian suplementasi seng adalah 0,8 mg/ekor/hari..

3. Prosedur pembedahan hewan uji

Prosedur pembedahan ini dilakukan melalui tahap persiapan, pembedahan dan sanitasi. Pada tahan persiapan, disiapkan pot organ yang sudah diberi label

sesuai dengan nomor tikus yang akan dibedah. Pot organ diisi dengan formalin 4-10% untuk menyimpan organ. Disiapkan endorff tube yang sudah diberi label sesuai dengan nomor tikus dan diberi 3 tetes EDTA 10% sebagai antikoagulan untuk menampung darah. Disiapkan peralatan bedah seperti gunting bedah (lurus panjang, lurus pendek dan bengkok), pinset, gelas arloji, cawan petri, papan bedah, pins, beker glas dan kertas saring.

Tahap pembedahan tikus dengan cara dibunuh melalui *cervical dislocation* dengan *guillotine* ataupun dengan eter. Tikus diposisikan pada papan bedah menggunakan *pins*. Dibedah mulai dari bagian perut ataupun uterus menggunakan gunting bengkok. Masing-masing organ diambil dan dipisahkan menggunakan gunting lurus. Organ dibersihkan dari lemak yang masih menempel. Organ dicuci menggunakan aquades berulang-ulang hingga bersih dari darah. Dicuci menggunakan NaCl 0,9% berulang-ulang. Diamati secara makroskopis adanya nodul yang tampak dan dicatat perubahan yang ditemukan. Ditiriskan diatas kertas saring. Organ dimasukkan dalam pot berisi formalin 4-10%.

Tahap sanitasi dilakukan dengan cara memasukkan sisa organ tikus yang tidak terpakai ke dalam kantong plastik. Kantong plastik yang berisi sisa organ dimusnahkan dengan cara insinerasi. Sampah lain berupa plastik, kertas dan lain-lain yang tidak berhubungan dengan organ dibuang dalam kantong plastik tersendiri. Area kerja sisa pembedahan dibersihkan dengan sabun dan jika perlu disemprot dengan alkohol.

3.8. Prosedur pengumpulan data

3.8.1. Aklimatisasi

Sebanyak duapuluh ekor tikus putih *rattus norvegicus* umur 15 minggu dengan berat 180 – 220 gram diaklimatisasi di laboratorium selama 7 hari. Hal ini

diharapkan terjadi penyesuaian hewan coba terhadap kondisi lingkungan yang ada sehingga tidak terjadi kematian.

3.8.2. Kadar Hb, Ht, jumlah eritrosit, retikulosit

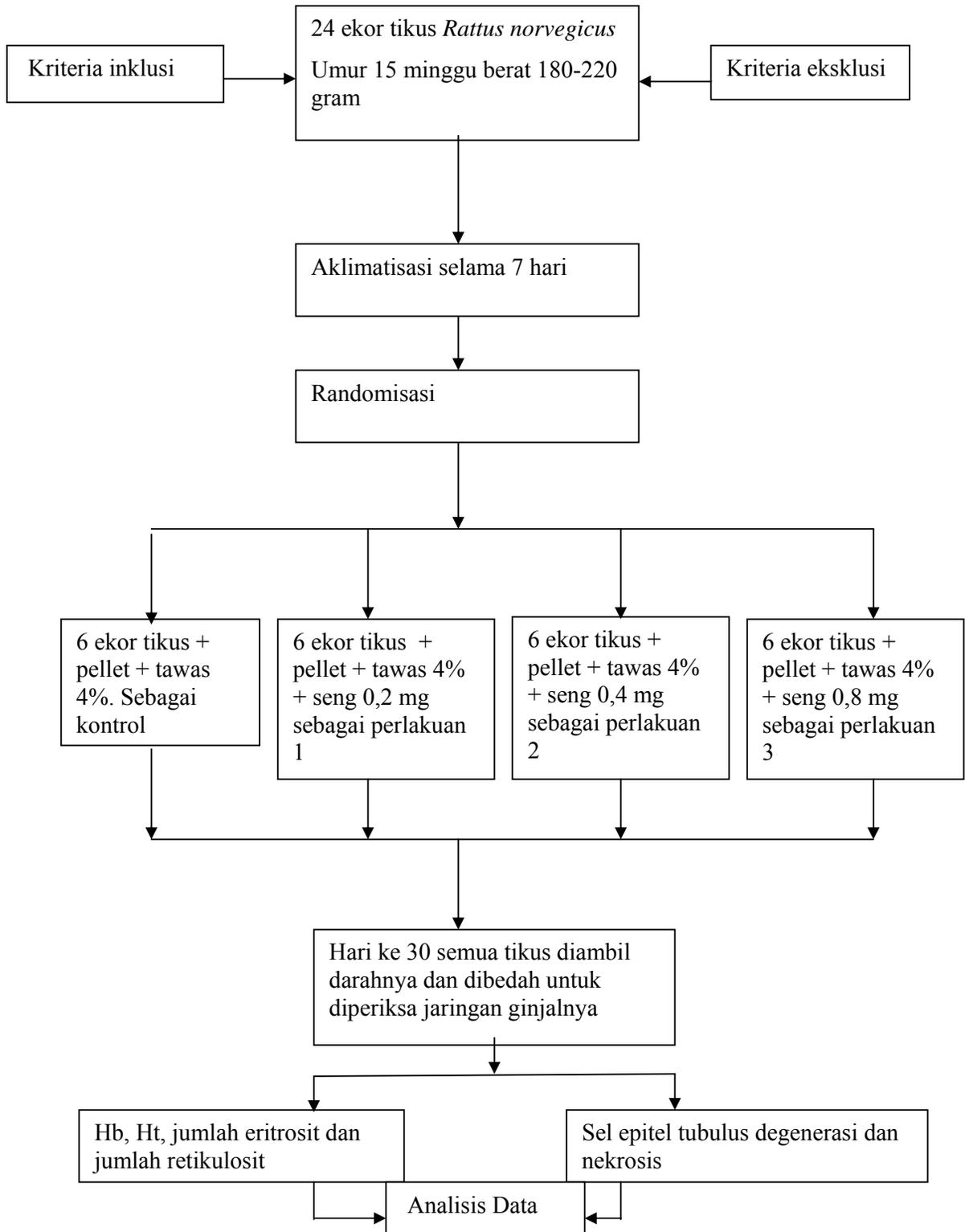
Tikus putih *Rattus norvegicus* pada kelompok kontrol dan perlakuan masing-masing diambil darahnya melalui pembuluh *plexus retro orbital* sebanyak 2 ml. Kemudian dilakukan pemeriksaan kadar Hb, Ht, jumlah eritrosit, retikulosit dengan menggunakan alat hematologi analyzer.

Berdasarkan metode deteksinya, alat hitung sel darah secara otomatis berdasarkan pada impedansi elektrik, "spectrophotometry", "flow cytometry" dan pendaran sinar laser.

3.8.3. Jaringan ginjal

Pembacaan jaringan ginjal dilakukan melalui pembedahan tikus putih *Rattus norvegicus* pada semua hewan coba baik pada kelompok kontrol maupun perlakuan. Organ ginjal yang didapat selanjutnya dilakukan fiksasi menggunakan formalin 10%, dehidrasi dengan menggunakan alkohol bertingkat 50%, 70%, 85%, 96% dan 100%. Setelah dehidrasi maka dilakukan "clearing", "impregnating", "imbedding" dan "mounting". Akhir dari prosesing jaringan selanjutnya dilakukan pengamatan atau pembacaan pada kelompok kontrol maupun perlakuan. Pengamatan atau pembacaan preparat dilakukan dengan cara melihat degenerasi dan nekrosis sel epitel tubulus proksimal ginjal. Jumlah sel yang mengalami degenerasi dan nekrosis dihitung dalam 100 sel.

3.8.4. Alur Penelitian



3.9. Analisis Data

Data yang terkumpul dikelompokkan berdasarkan perlakuan, diberi kode dan dimasukkan dalam file komputer. Data dianalisis secara statistik dengan proses sebagai berikut:

1. Analisis deskriptif dengan menampilkan diagram dan tabel silang menurut kelompok intervensi. Dikelompokkan dan ditampilkan jumlah degenerasi dan nekrosis sel tubulus ginjal, kadar Hb, Ht, jumlah eritrosit dan retikulosit pada kelompok kontrol, perlakuan 1, 2 dan 3.
2. Analisis statistik dengan melakukan uji beda yang didahului uji normalitas data, distribusi datanya normal maka dilakukan uji Anova untuk mengetahui perbedaan jumlah degenerasi dan nekrosis sel tubulus ginjal, kadar Hb, Ht, jumlah eritrosit dan retikulosit pada kelompok kontrol, perlakuan 1, 2 dan 3. Perbedaan pada masing-masing kelompok perlakuan dianalisis lebih lanjut dengan uji bonferroni .
3. Batas derajat kemaknaan yang akan dicapai adalah $p < 0,05$ dengan *power* penelitian 80% dan intervensi kepercayaan sebesar 95%.
4. Semua uji statistik tersebut akan dilakukan menggunakan program komputer SPSS 10.05 for window

3.10. Etika Penelitian

Penelitian ini dimintakan kajian etik pemeliharaan binatang (*animal ethic*) dari komisi etik pemeliharaan kesehatan FK UNDIP/RS DR. Kariadi Semarang.

3.11. Keterbatasan Penelitian

1. Penelitian ini tidak didahului dengan penghitungan jumlah sel epitel tubulus ginjal yang mengalami degenerasi dan nekrosis serta proses hematopoiesis pada kelompok tanpa tawas dan tanpa seng, tanpa tawas dengan seng.
2. Penelitian ini tidak dilakukan pengukuran hormon eritropoetin dan kandungan aluminium dalam tawas.
3. Lama waktu pemberian suplementasi seng dibatasi hanya 30 hari. Pertimbangan batasan waktu tersebut hanya didasari oleh efek pemberian suplemenasi tawas dengan dosis 2%, 4%, 6% dan 8% selama 2 minggu hingga 1,5 bulan telah dibuktikan adanya kerusakan tubulus ginjal.³⁶

DAFTAR PUSTAKA

1. Nurrahman dan Isworo J. Pengaruh Lama Perendaman dan Konsentrasi Tawas terhadap Sifat Fisik, Kimia dan Organoleptik Ikan Tongkol Asap. Dalam Proseding Seminar Teknologi Pangan PATPI. Malang,2002
2. Haribi R, Yusrin. Konsentrasi Aluminium pada Ikan Asap yang Direndam dalam Larutan Tawas. Penelitian Dasar. Dirjen DikTi. Departemen Pendidikan Nasional. Jakarta, 2005.
3. Cheung RCK, Chan MHM, Ho CS, Lam CWK and Lau ELK. Heavy metal poisoning clinical significance and laboratory investigation.Asia pasific Analyte Notes. BD Indispensable to Human Health. Hong Kong.2001 7(1):22-34
4. Pamungkasiwi E. Mikromineral seng dalam kehidupan manusia. Dinas Kesehatan Provinsi Yogyakarta, 2006. Available from: <http://www.dinkes-diy.org>. Diunduh 11/12/2008.
5. Guyton AC, Hall JE, Textbook of Medical Physiology. WB. Saunders Company Philadelphia, Pennsylvania. 1996.
6. Lehninger AL. Principles of Biochemistry. Worth Publisher, Inc Sparks, Maryland, 1995.

7. Andra. Kurangi Kebutuhan akan Tetes-tetes Darah. Medikamentosa, Vol 6.No 7. 2007. Available from: <http://www.majalah-farmacia.com>. Diunduh 2/11/2008.
8. Hoffbrand AV, Pettit JE and Moss PAH. Essensial Haematology. 4.Ed, Blackwell Science, Ltd. Oxford, 2005.
9. Sacher A, McPherson R, Alih bahasa Pendit BU, Wulandari D. Tinjauan Klinis Hasil Pemeriksaan Laboratorium. Penerbit Buku Kedokteran, EGC.ed.11, Jakarta, 2004;22-54.
10. Dijkhuizen MA, Wieringa FT. Vitamin A, iron and zinc deficiency in Indonesia. Micronutrient interactions and effects of supplementation. Wageningen University, Thesis, 2001.
11. Berdanier CD. Advanced nutricion micronutrients. New York: CRC Press; 1998:183-203.
12. Almatsier S. Prinsip Dasar Ilmu Gizi. PT Gramedia Pustaka Utama, Jakarta. 2001;247-50
13. Hidayat A. Seng: Esensial Bagi Kesehatan. Bagian Ilmu Kesehatan Masyarakat, Fakultas Kedokteran Universitas Trisakti. Maj. Ilm. Kedokteran, USAKTI.1999:18.
14. Brown KH, Peerson Jm, Rivera J, Allen LH. Effect of Supplementation zinc on the growth and serum zinc concentration of pre pubertal children: a meta analysis of randomized controlled trials. Am J Clin Nutr. 2002;75:1062-71.

15. Elsa CH, Jorge LR, Patricia L, Harol CF, Lindsay H A. Iron and zinc supplementation improves indicators of vitamin A status of Mexican preschoolers. *Am J Clin Nutr.*2000;71:789-94.
16. Allen LH. Zinc and Micronutrient Supplement for Children. *Am J Clin Nutr.* 1998;68:495S-8S
17. Sutanto BL. Tabel Angka Kecukupan Gizi . Widya karya pangan dan gizi VI: LIPI. Jakarta. 2004
18. WHO. Trace Element In Human Nutrition and Healt. Geneva: Macmillan/Ceuterick;1996:72-101.
19. Reviana CH. Peranan Mineral Seng Bagi Kesehatan Tubuh. Pusat penelitian dan Pengembangan Gizi, Departemen Kesehatan RI, Bogor, Indonesia. *Cermin Dunia Kedokteran*:2004:143:53
20. Hambidge M. Human zinc deficiency. *American Society for Nutrition Sciences.*2000:1344S-49S
21. Brown K. Effect of infections plasma concentration and implications for zinc status assessment in low-income countries. *Am J Clin Nutr.* 1998;68:425S-29S.
22. Yoga GP. Toksisitas beberapa logam berat terhadap ikan Gapi (*Poicilia reticulatus*). *Limnotek Perairan Darat Tropis di Indonesia.* Pusat Penelitian dan Pengembangan Limnologi LIPI, Vol. V. Cibinong,1998
23. Sumiwi YA, Sosrosuseno W, Soesatyo M. Uji hipersensitivitas kontak dan spesifikasi terhadap merkuri (Hg) pada tikus Wistar. *Berkala Ilmu Kedokteran.* Fak. Kedokteran UGM Yogyakarta. Vol 30, 1998.

24. Darmono. Logam dalam Sistem Biologi Makhluk Hidup. Penerbit Universitas Indonesia. Jakarta, 1995;75-96.
25. Sumirat J. Toksikologi Lingkungan. Gadjah Mada University Press. Yogyakarta, 2003;107-36.
26. WHO Alih bahasa Suyono J. Deteksi Dini Penyakit Akibat Kerja. Penerbit Buku Kedokteran. EGC. Jakarta, 1995;256-59
27. Hanafiah KA. Rancangan Percobaan: Teori dan Aplikasi. Rajawali Pres. Jakarta.2001:4
28. Donatus, I. A. Petunjuk Praktikum Toksikologi. Edisi I. Yogyakarta: Lab. Farmakologi dan Toksikologi. Fakultas Farmasi Universitas Gadjah Mada. 1994:21-22.
29. Ensminger AH, Konlande SE, Robson JRK. The Concise Encyclopedia of Food & Nutrition. CRC Press. Boca Roton London Tokyo.1995
30. Torbjorn Lind, Lonerdal. A Community-base Randomized Controlled Trial of Iron and Zinc Supplementation in Indonesian Infants:Interactions between Iron and Zinc.Am J Clin Nutr.2003;77:4: 883-90
31. Alarcon C, Patrick WK, Ana MP. Effects of separate delifery of zinc or zinc and vitamin A on hemoglobin response, growth and diarrhea in young Peruvian children receiving iron therapy for anemia. Am J Clin Nutr. 2004;80:5:1276-82
32. Krebs NF. Overview of Zinc Absorption and Excretion in the Human Gastrointestinal Tracct. The American Society for Nutritional Sciences.2000:130:1374S-7S

33. Chung CS, Stookey J. Current dietary zinc intake has a greater effect on fractional zinc absorption in healthy adult men. *Am J Clin Nutr*: 2008;87:5:1224-9

34. Richard N, Michel MD, Ramzi S, Cotran. Jejas, Adaptasi dan Kematian Sel. In: *Robins Pathologic Basic of Disease*. 7th ed. Alih Bahasa: Prasetyo A, Pendi UB, Priliono T. Vol1. Jakarta:EGC:2003:3-28

35. Abbott Diagnostics. Cell-Dyn 3700 Training Manual. Abbott Park. USA, 2003

Bahan dan alat

Binatang percobaan untuk penelitian ini adalah tikus putih jenis (*Rattus norvegicus*, L.) umur 2 bulan dengan berat badan rata-rata 200 gram, dan telah diaklimatisasi selama 1 minggu.

Pemeriksaan laboratorium histopatologik hati dan ginjal diperoleh melalui pembedahan binatang coba sedangkan bahan untuk pemeriksaan kelainan hematopitik diperoleh melalui darah hewan coba. Peralatan yang dipakai adalah hematology Analyzer dan peralatan prosesing jaringan.

D. PELAKSANAAN PENELITIAN

Sebelum dilaksanakan penelitian, tikus percobaan diaklimatisasi selama 1 minggu, yang tujuannya adalah untuk memberi waktu pada hewan uji agar beradaptasi dengan lingkungannya yang baru (di Laboratorium). Disamping itu, juga untuk memeriksa apakah ada hewan uji yang sakit. Apabila selama aklimatisasi terjadi kematian hewan uji, maka waktu aklimatisasi diulang lagi sampai tidak terjadi kematian hewan uji. Selama aklimatisasi hewan uji diberi pakan pelet (Parr G Pellet) tanpa tawas. Setelah aklimatisasi dianggap selesai dan

	Jml Lekosit												
	Jml Trombosit												
	MCV												
	MCH												
	MCHC												
II	Hb												
	Jml Eritrosit												
	Jml Lekosit												
	Jml Trombosit												
	MCV												
	MCH												
	MCHC												

4. PEMERIKSAAN LABORATORIUM HEMATOLOGI (Hb, Jumlah eritrosit, lekosit, trombosit, MCV, MVH dan MCHC) MENGGUNAKAN ALAT HEMATOLOGI ANALYZER

Hematologi Analyzer merupakan alat yang dapat dipakai untuk menghitung dan menganalisis sel-sel darah. Alat tersebut terdiri dari beberapa jenis tergantung dari kapasitas pemeriksaan. Pada alat Cell Dyn 3700 merupakan suatu penganalisis hematologi multi parameter otomatis yang meliputi WBC (White Blood Cell), neutrofil, limfosit, monosit, eosinofil, basofil, RBC (Red Blood Cell) HGB (Hemoglobin), hematokrit, MCV (Mean Corpuscular Volume),

MCH, MCHC, cacah PLT, RDW (pembesaran eritrosit), MPV (Mean Platelet Volume), PDW (pembesaran trombosit) (Abbott Diagnostics, 2003).

Berdasarkan metode deteksinya, alat hitung sel darah secara otomatis dapat dibagi menjadi 3 jenis yaitu menghitung berdasarkan impedansi elektrik, spectrophotometry, flow cytometry dan pendaran sinar laser (Abbott Diagnostics, 2003).

Analiser hematologi Cell-Dyn menggunakan metode impedansi elektrik untuk menghitung dan mengukur sel darah dimana sebelum pemeriksaan, sampel diencerkan dengan menggunakan larutan yang mempunyai konduktivitas tertentu dan merupakan konduktor listrik yang kurang baik kemudian sel darah dialirkan melalui lubang kecil yang disebut orifice yang mempunyai ukuran tertentu. Pada saat yang sama, suatu arus listrik dialirkan melalui elektroda yang dipasang pada sisi luar dan sisi dalam orifice, karena sel darah adalah penghantar listrik yang buruk, sehingga jika sel darah masuk melalui orifice tadi arus listrik yang mengalir akan terganggu, gangguan ini menimbulkan suatu pulsa. Besar pulsa akan sesuai dengan besarnya sel darah yang lewat. Jika sel darah besar, maka pulsa yang ditimbulkan besar, sebaliknya jika sel darah kecil maka pulsapun kecil. Dengan demikian Cell Dyn dapat mengenali jenis-jenis sel menurut ukurannya dan menghitung jumlahnya (Abbott Diagnostics, 2003).

Analiser hematologi Cell Dyn menggunakan metode spectrophotometry untuk mengukur konsentrasi suatu kadar hemoglobin yang dilewatkan pada cahaya monokromatis melalui suatu larutan. Apabila semakin tinggi konsentrasi zat semakin banyak cahaya yang diserap. Hubungan antara

jumlah cahaya yang diserah dan konsentrasi larutan ditunjukkan dengan hukum Beer, yang menyatakan bahwa besarnya penyerapan berkaitan langsung dengan konsentrasi zat. (Abbott Diagnostics, 2003).

Analiser hematologi Cell Dyn menggunakan flow cytometry dan pendaran sinar laser untuk menghasilkan perhitungan sel darah putih dan perhitungan sel diferensial yang mengalir melalui aliran, dimana sinar laser difokuskan dan ditembakkan ke arah sel-sel pada aliran tersebut. Sudut sinar laser yang dipendarkan oleh sel-sel tersebut menggambarkan karakteristik sel termasuk ukuran sel. Struktur bagian dalam, bentuk granula dan morfologi permukaan (Abbort Diagnostics, 2003).

Reagen yang diperlukan dalam pemeriksaan jumlah leukosit cara otomatis dengan menggunakan Cell Dyn 3700 antara lain diluent sebagai larutan pengencer dan sebagai medium penghantar, reagen lysate yang dapat melisiskan eritrosit, reagen sheath untuk menjaga agar WBC tetap dalam keadaan aslinya, dan deterjen sebagai bahan pembilas setelah dilaksanakan pemeriksaan (Abbott Diagnostics, 2003)

Cell-Dyn 3700 adalah unit tunggal yang meliputi suatu penganalisis spesimen dan modul data. Penganalisis specimen merupakan bagian yang berisi perangkat keras untuk aspirasi dilusi dan menganalisis setiap spesimen darah secara keseluruhan. Bagian modul data meliputi komputer, monitor keyboard, disk drives dan printer (Abbott Diagnostics, 2003).

Cell-Dyn 3700 menggunakan mode sampler terbuka untuk menghisap sampel darah dari tabung EDTA yang telah dibuka kemudian dilarutkan, dan

dicampurkan sebelum pengukuran masing-masing parameter dilakukan (Abbott Diagnostics, 2003).

Petunjuk operasi Cell-Dyn 3700 :

- a. Stabiliser di ON-kan, ditunggu 3 menit
- b. Alat di ON-kan, tunggu hingga pada alat tampak
“INITIALI ZED”
- c. RUN ditekan

Ditunggu sampai pada alat tampak “READY”. Alat akan otomatis melakukan background dan cek hasilnya yang tampak pada alat.

Hasil harus masuk dalam kriteria sebagai berikut :

1. $WBC \leq 0,30$
2. $RBC \leq 0,03$
3. $HGB \leq 0,20$
4. $PLT \leq 10,0$

Hasil yang baik yaitu seluruh nilai background 0

Jika hasil tidak masuk kriteria, lakukan kembali background :

- a. Spesimen type ditekan
- b. Normal background ditekan
- c. Tombol sampel ditekan
- d. Hasil ditunggu dan dicek kembali

Jika hasil sesuai, dilakukan prime pump dengan memakai cairan enzymatic cleaner.

2. Lakukan quality control harian :
 - a. Identitas operator pada layar MAIN MENU dimasukkan, tekan RUN
 - b. Open mode dipilih, <OPEN SAMPLER> tampil pada bagian kanan atas layar, RUN
 - c. Dipilih tipe specimen dengan cara tekan {SPECIMEN TYPE}, dipindah kursor ke file QC yang sesuai, lalu tekan [QC SPECIMEN]
 - d. Specimen dihomogenkan
 - e. Dipastikan status ready pada analyzer telah menyala
 - f. Specimen diproses / me-RUN specimen dengan cara :
 - Tutup tabung dibuka
 - Probe dicelupkan ke dalam spesimen sampai dasar tabung agar pengisapan tidak kurang
 - Touch plate ditekan
 - g. Apabila terdengar suara “bip”, dan dalam kotak status tampil “Remove Specimen” dan pada display tampil “Busy”, tabung diambil, jika tidak segera diambil probe akan menghisap specimen tambahan dan menyebabkan hasil tidak akurat.
 - h. Hasil yang ditampilkan / dicetak diperiksa. Apakah ada nilai kontrol yang berada di luar rentang target ?
 - i. Untuk kontrol lainnya, diulangi langkah dari “d” sampai “i”
 - j. Kontrol dikembalikan ke kondisi penyimpanan yang direkomendasi.
3. Setelah control masuk, dilakukan pemeriksaan specimen pasien :
 - a. Identitas operator dimasukkan pada layar MAIN MENU, tekan RUN

- b. <OPEN SAMPER> dipastikan tampil pada layar Run
 - c. Tipe specimen dipilih dengan cara : ditekan [SPECIMEN TYPE],
[PATIENT]
 - d. Dimasukkan identitas specimen
Catatan : apabila (patient) ditekan, secara otomatis kursor berada pada
<NEXT ID>
[Specimen ID] diketik (sampai 12 karakter)
Tekan enter pada keyboard
 - e. Specimen dihomogenkan dan dipastikan status Ready pada analyzer telah menyala.
 - f. RUN specimen ditekan
 - g. Diperiksa hasil yang ditampilkan/dicetak. Apakah ada hasil yang keluar dari nilai normal pasien?
 - h. Untuk specimen pasien lainnya, diulangi langkah dari “e” sampai “g”.
4. Cara mematikan alat Cell Dyn 3700
- a. “AUTO CLEAN” dilakukan dengan cara sebagai berikut :
“MAIN” ditekan, “SPECIAL PROTOCOL”, “AUTO CLEAN”.
Cairan enzymatic cleaner disiapkan 35 tetes ke dalam tutup botolnya
tutup botol diletakkan di bawah probe dan ditekan “START”, diangkat
botol setelah bunyi “BIP” terdengar, ditutup kembali botol enzymatic
cleaner tersebut, proses berlangsung kira-kira 10 menit.
 - b. Jarum sampel dibersihkan dengan memakai tissue yang telah dibasahi
oleh cairan enzymatic, lap bagian luar jarum

- c. "DAILY SHUTDOWN" dilakukan dengan cara ditekan "MAIN", "SPECIAL PROTOCOL", "MORE", "DAILY SHUTDOWN".
ditunggu hingga selesai (jarum akan masuk pada tempatnya).
 - d. Clamp saluran diluent ditutup, detergent, lyse dan sheath.
 - e. Alat dimatikan
 - f. Printer dimatikan
 - g. Stabilizer dimatikan
5. Harga normal
- a. Dewasa 4.000 – 11.000 mm^3
 - b. Bayi (hari pertama) 10.000 – 26.000 / mm^3
 - c. Bayi 1 tahun 6.000 – 16.000 / mm^3
 - d. Anak-anak 4-7 tahun 5.000 – 15.000 / mm^3
 - e. Anak-anak 8-12 tahun 4.500 – 13.5000 / mm^3
- (Hoffbrand, 1987 : 102)

BAB IV

HASIL DAN PEMBAHASAN

4.1. HASIL PENELITIAN

4.1.1. Kerusakan tubulus ginjal

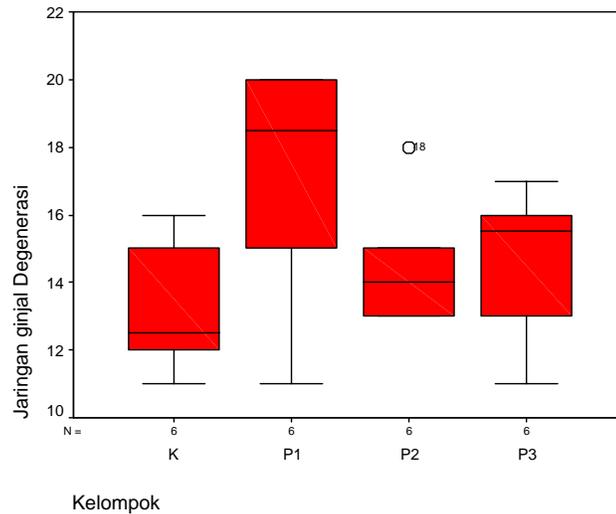
Telah dilakukan penelitian terhadap duapuluh empat tikus putih galur Wistar *Rattus norvegicus* umur 15 minggu dengan berat badan 180-220 gram yang diberi pakan standar (AIN-93) dicampur dengan tawas 4% sebagai kontrol dan perlakuan berupa suplementasi seng bertingkat 0,2 mg/hari, 0,4 mg/hari, 0,8 mg/hari selama 30 hari. Tikus diambil darahnya melalui *plexus retro orbitalis* untuk pemeriksaan kadar hemoglobin, hematokrit, jumlah eritrosit, retikulosit dan dilakukan pembedahan jaringan ginjal untuk pemeriksaan jumlah sel nekrosis dan degenerasi epitel tubulus ginjal sebagai parameter kerusakan tubulus ginjal. Hasil lengkap pemeriksaan kadar hemoglobin, hematokrit, jumlah eritrosit, retikulosit, jumlah sel nekrosis dan degenerasi dapat dilihat pada lampiran 2 dan 3.

Pemberian suplemen seng pada tikus putih *Rattus norvegicus* yang diberi pakan tawas 4% berdasarkan hasil pemeriksaan laboratorium memberikan gambaran sel-sel epitel tubulus ginjal yang mengalami degenerasi dan nekrosis seperti terlihat pada tabel 6.

Tabel 6. Rerata jumlah sel degenerasi dan nekrosis (dalam 100 sel) epitel tubulus ginjal tikus *Rattus norvegicus* pada kelompok kontrol, perlakuan 1, 2 dan 3

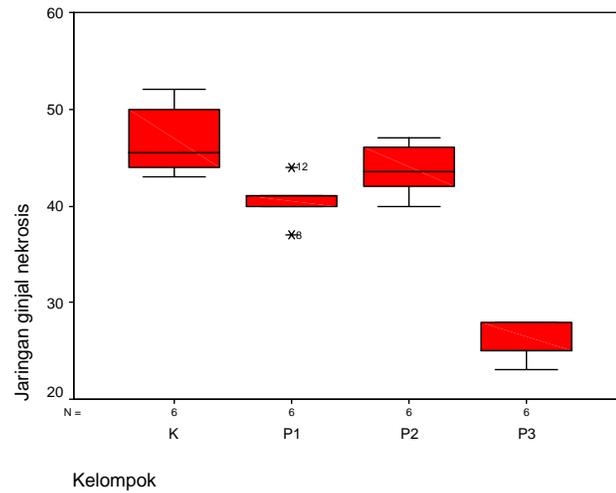
Kelompok	Degenerasi		Nekrosis	
	Rerata	SD	Rerata	SD
K	13	1,94	47	3,55
P1	17	3,54	41	2,25
P2	15	1,87	43	2,58
P3	15	2,25	26	1,96

Berdasarkan tabel 6, jumlah rata-rata sel epitel tubulus ginjal yang mengalami degenerasi pada kelompok kontrol (K) $13 \pm 1,94$ sel, kelompok perlakuan 1 (P1), kelompok perlakuan 2 (P2), kelompok perlakuan 3 (P3), berturut-turut adalah $17 \pm 3,54$, $15 \pm 1,87$ sel, $15 \pm 2,25$ sel. Jumlah rata-rata sel epitel tubulus ginjal yang mengalami degenerasi pada kelompok kontrol (K) lebih rendah jika dibandingkan dengan jumlah rata-rata sel epitel tubulus ginjal yang mengalami degenerasi kelompok perlakuan 1, kelompok perlakuan 2 dan kelompok perlakuan 3. Sebaran sel epitel tubulus ginjal yang mengalami degenerasi pada keempat kelompok tikus percobaan dapat dilihat pada gambar 5 berikut.



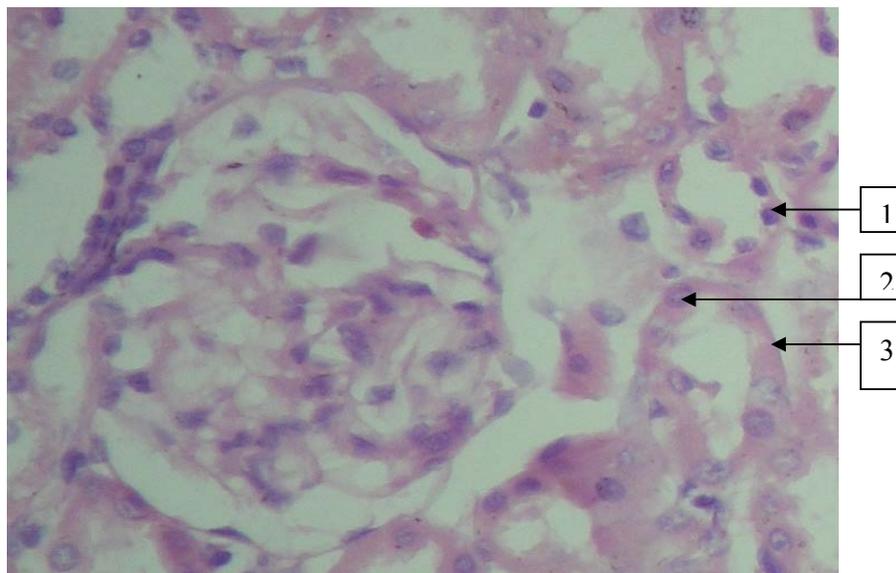
Gambar 5. Boxplot sebaran jumlah sel degenerasi (dalam 100 sel) epitel tubulus ginjal tikus *Rattus nurvegicus* pada kelompok kontrol, perlakuan 1, 2 dan 3

Jumlah rata-rata sel epitel tubulus ginjal yang mengalami nekrosis pada kelompok kontrol (K) $47 \pm 3,55$ sel, kelompok perlakuan 1 (P1), kelompok perlakuan 2 (P2), kelompok perlakuan 3 (P3), berturut-turut adalah $41 \pm 2,25$, $43 \pm 2,58$ sel, $26 \pm 1,96$ sel. Jumlah rata-rata sel epitel tubulus ginjal yang mengalami nekrosis pada kelompok kontrol (K) lebih tinggi jika dibandingkan dengan jumlah rata-rata sel epitel tubulus ginjal yang mengalami nekrosis kelompok perlakuan 1, kelompok perlakuan 2 dan kelompok perlakuan 3. Jumlah rata-rata sel epitel tubulus ginjal yang mengalami nekrosis tertinggi pada kelompok kontrol dan terendah pada kelompok perlakuan 3 yang diberi suplemen seng 0,8 mg/tikus per hari. Sebaran sel epitel tubulus ginjal yang mengalami nekrosis pada keempat kelompok tikus percobaan dapat dilihat pada gambar 6 berikut.



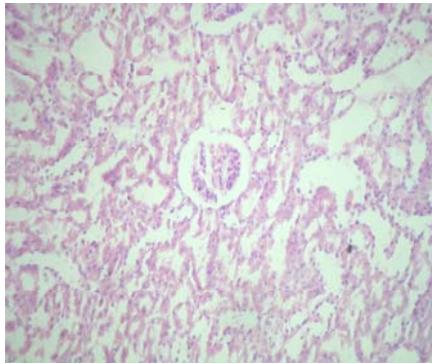
Gambar 6. Boxplot sebaran jumlah sel nekrosis (dalam 100 sel) epitel tubulus ginjal tikus *Rattus norvegicus* pada kelompok kontrol, perlakuan 1,2 dan 3

Gambaran sel-sel epitel tubulus ginjal tikus *Rattus norvegicus* yang normal, degenerasi dan nekrosis dapat dilihat pada gambar 7 berikut:

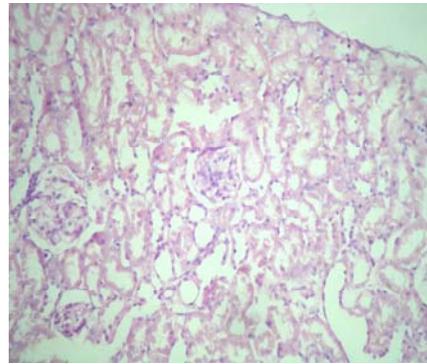


Gambar 7, Morfologi sel epitel tubulus ginjal: no 1 normal, 2 degenerasi, 3 nekrosis

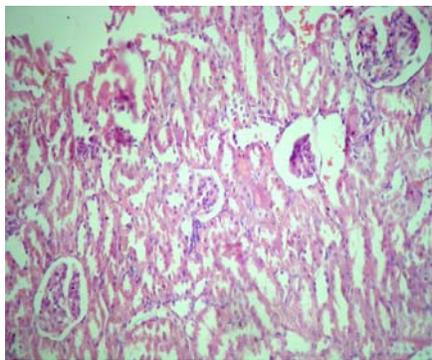
Gambaran sel-sel epitel tubulus ginjal tikus *Rattus nurvegicus* yang mengalami degenerasi dan nekrosis pada kelompok kontrol, perlakuan 1, 2 dan 3 dapat dilihat pada gambar 8 berikut:



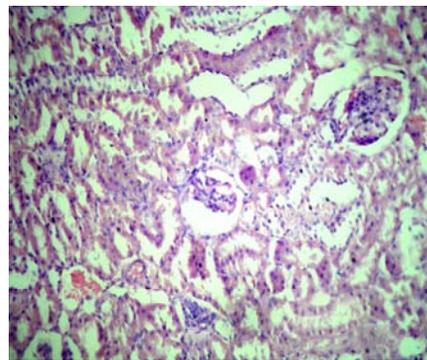
(Perb.400x Budi S, 2009)
K: Pemberian tawas 4% pada pakan tanpa suplementasi seng memperlihatkan pada tubulus ginjal banyak jaringan yang nekrosis



(Perb.400x Budi S, 2009)
P1 : Pemberian tawas 4% pada pakan dan suplementasi seng 0,2 mg, menunjukkan gambaran nekrosis sel epitel tubulus yang masih tinggi.



(Perb.400x Budi S, 2009)
P2 : Pemberian tawas 4% pada pakan dan suplementasi seng 0,4 mg, memperlihatkan gambaran nekrosis sel epitel tubulus yang relatif lebih rendah dibandingkan dengan K dan P 1.



(Perb.400x Budi S, 2009)
P2 : Pemberian tawas 4% pada pakan dan suplementasi seng 0,8 mg, menunjukkan gambaran nekrosis sel epitel tubulus yang semakin berkurang dan banyak dijumpai sel-sel epitel tubulus normal.

Gambar 8 : Gambaran mikroskopis ginjal tikus *Rattus nurvegicus* dengan pemberian tawas 4% dan suplemenasi seng 0,2 mg, 0,4 mg dan 0,8 mg selama paparan 30 hari.

Untuk mengetahui tingkat kemaknaan hasil pemeriksaan laboratorium terhadap degenerasi dan nekrosis sel epitel tubulus ginjal dilakukan analisis uji statistik. Berdasarkan uji normalitas data didapatkan semua data berdistribusi normal yang dapat dilihat pada lampiran 4. Untuk mengetahui perbedaan keempat kelompok perlakuan yaitu kelompok kontrol (K), perlakuan 1 (P1), perlakuan 2 (P2) dan perlakuan 3 (P3) pada sel epitel tubulus ginjal yang mengalami degenerasi maupun nekrosis dilakukan uji ANOVA. Apabila terdapat perbedaan pada keempat kelompok maka dilanjutkan menggunakan uji *Bonferroni* untuk mengetahui tingkat kemaknaan pada kelompok kontrol (K) terhadap perlakuan I (P1), perlakuan 2 (P2) dan perlakuan 3 (P3). Data hasil uji statistik disajikan pada lampiran 4 dan rekapitulasi analisis uji statistik dapat dilihat pada tabel berikut:

Tabel 7. Rekapitulasi uji ANOVA sel epitel tubulus ginjal yang mengalami degenerasi dan nekrosis..

Parameter	F hitung ANOVA	Signifikan
Sel epitel degenerasi	2,684	0,074
Sel epitel nekrosis	73,868	0,000

Berdasarkan analisis statistik uji ANOVA sel epitel tubulus ginjal yang mengalami degenerasi tidak terdapat perbedaan pada keempat kelompok perlakuan yaitu kelompok kontrol (K), perlakuan 1 (P1), perlakuan 2 (P2) dan perlakuan 3 (P3) dengan nilai $F=2,684$ ($p=0,074$). Terdapat perbedaan pada sel epitel tubulus ginjal yang mengalami nekrosis pada keempat kelompok perlakuan ($F=73,868$, $p=0,000$). Untuk mengetahui tingkat kemaknaan pada kelompok kontrol (K) terhadap perlakuan 1 (P1), perlakuan 2 (P2) dan perlakuan 3 (P3) pada sel epitel tubulus ginjal yang mengalami nekrosis dapat dilihat pada uji *Bonferroni* berikut:

Tabel 8. Rekapitulasi uji *Bonferroni* pada kelompok kontrol (K) terhadap perlakuan I (P1), perlakuan 2 (P2) dan perlakuan 3 (P3) pada sel epitel tubulus ginjal yang mengalami nekrosis

Perlakuan	Rata-rata perbedaan	P value
Nekrosis K dengan P1	6,0	0,005
Nekrosis K dengan P2	3,0	0,388
Nekrosis K dengan P3	21,0	0,000

Analisis statistik pada tabel 8 menunjukkan perbedaan bermakna sel epitel tubulus ginjal yang mengalami nekrosis antara kelompok kontrol (K) dengan kelompok perlakuan 1 ($p=0,005$), dan kelompok kontrol (K) dengan kelompok perlakuan 3 (P) ($p=0,000$). Tidak terdapat perbedaan bermakna antara kelompok Kontrol (K) dengan perlakuan 2 (P2)

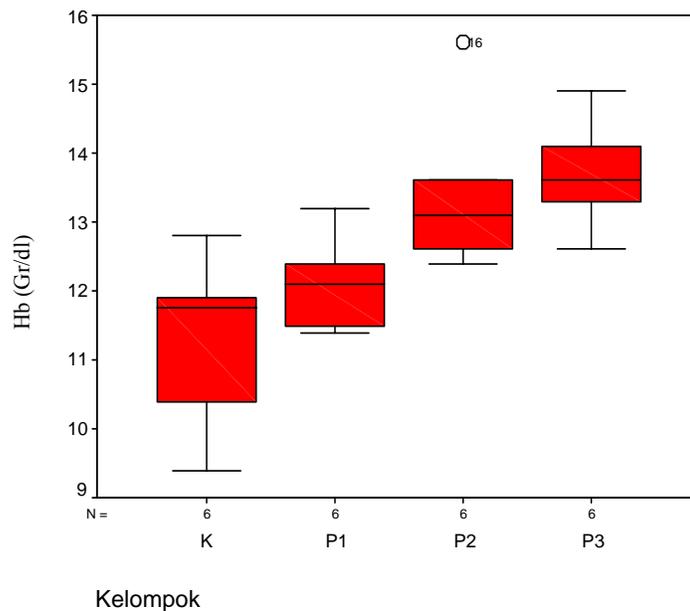
4.1.2. Hematopoiesis

Pemberian suplemen seng pada tikus putih *Rattus norvegicus* yang diberi pakan standar (AIN-93) dicampur dengan tawas 4% terhadap pemeriksaan laboratorium yang berupa kadar hemoglobin, hematokrit, jumlah eritrosit dan jumlah retikulosit, hasilnya dapat dilihat pada masing-masing rerata kelompok kontrol, perlakuan 1,2 dan 3 yang pada tabel berikut:

Tabel 9. Rerata kadar Hb (g/dl), Ht(%), jumlah eritrosit dan retikulosit darah tikus *Rattus norvegicus* pada kelompok kontrol, perlakuan 1, 2 dan 3

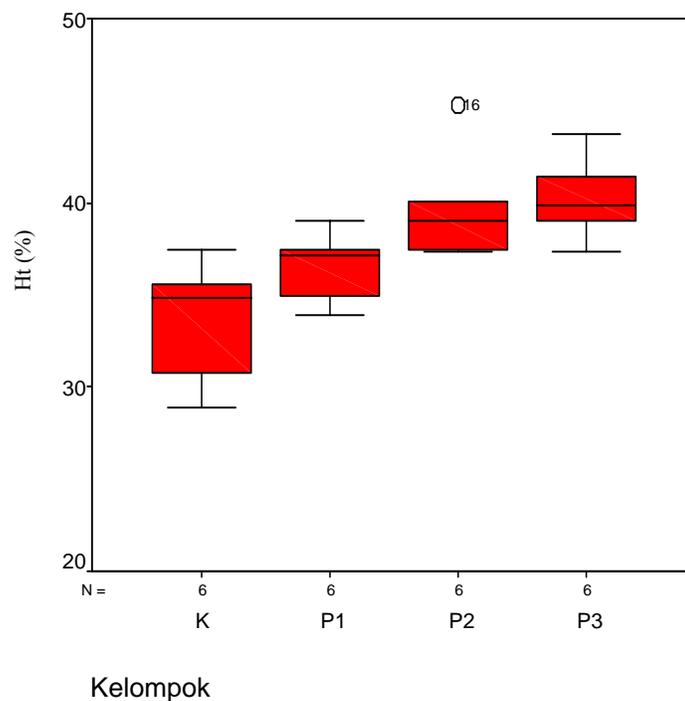
Kelompok	Hb (gr/dl)		Ht (%)		Jumlah eritrosit (juta/mm ³)		Jumlah retikulosi (%)	
	Rerata	SD	Rerata	SD	Rerata	SD	Rerata	SD
K	11,33	1,2	33,73	3,22	6,02	0,50	1,45	0,23
P1	12,12	0,65	36,58	1,85	6,47	0,32	1,23	0,30
P2	13,40	1,15	39,73	2,91	6,97	0,59	0,95	0,25
P3	13,68	0,79	40,22	2,16	7,16	0,47	0,70	0,21

Berdasarkan tabel 9, jumlah rata-rata kadar hemoglobin pada kelompok kontrol (K) $11,33 \pm 1,2$ gr/dl, kelompok perlakuan 1 (P1), kelompok perlakuan 2 (P2), kelompok perlakuan 3 (P3), berturut-turut adalah $12,12 \pm 0,65$ gr/dl, $13,40 \pm 1,15$ gr/dl, $13,68 \pm 0,79$ gr/dl. Jumlah rata-rata kadar hemoglobin pada kelompok kontrol (K) lebih rendah jika dibandingkan dengan jumlah rata-rata kadar hemoglobin kelompok perlakuan 1, kelompok perlakuan 2 dan kelompok perlakuan 3. Sebaran kadar hemoglobin pada keempat kelompok tikus percobaan dapat dilihat pada gambar 9 berikut.



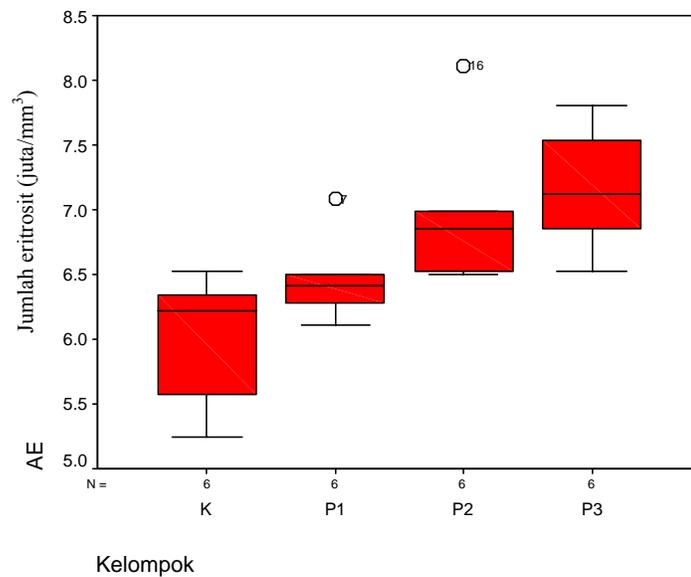
Gambar 9. Boxplot sebaran kadar hemoglobin (g/dl) darah tikus *Rattus norvegicus* pada kelompok kontrol, perlakuan 1, 2 dan 3

Jumlah rata-rata hematokrit pada kelompok kontrol (K) $33,73 \pm 3,22$ %, kelompok perlakuan 1 (P1), kelompok perlakuan 2 (P2), kelompok perlakuan 3 (P3), berturut-turut adalah $36,58 \pm 1,85$ %, $39,73 \pm 2,91$ %, $40,22 \pm 2,16$ %. Jumlah rata-rata hematokrit pada kelompok kontrol (K) lebih rendah jika dibandingkan dengan jumlah rata-rata hematokrit kelompok perlakuan 1, kelompok perlakuan 2 dan kelompok perlakuan 3. Sebaran hematokrit pada keempat kelompok tikus percobaan dapat dilihat pada gambar 10 berikut.



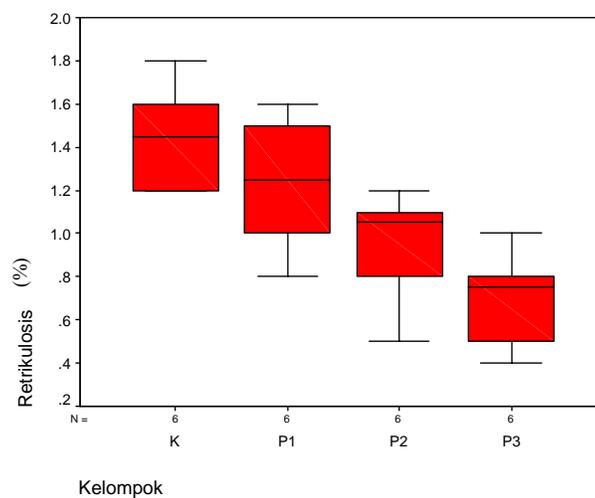
Gambar 10. Boxplot sebaran kadar hematokrit (%) darah tikus *Rattus norvegicus* pada kelompok kontrol, perlakuan 1, 2 dan 3

Jumlah rata-rata eritrosit pada kelompok kontrol (K) $6,02 \pm 0,50$ juta/mm³, kelompok perlakuan 1 (P1), kelompok perlakuan 2 (P2), kelompok perlakuan 3 (P3), berturut-turut adalah $6,47 \pm 0,32$ juta/mm³, $6,97 \pm 0,59$ juta/mm³, $7,16 \pm 0,47$ juta/mm³. Jumlah rata-rata eritrosit pada kelompok kontrol (K) lebih rendah jika dibandingkan dengan jumlah rata-rata eritrosit kelompok perlakuan 1, kelompok perlakuan 2 dan kelompok perlakuan 3. Sebaran jumlah eritrosit pada keempat kelompok tikus percobaan dapat dilihat pada gambar 11 berikut.



Gambar 11. Boxplot sebaran jumlah eritrosit (juta/mm³) darah tikus *Rattus norvegicus* pada kelompok kontrol, perlakuan 1, 2 dan 3

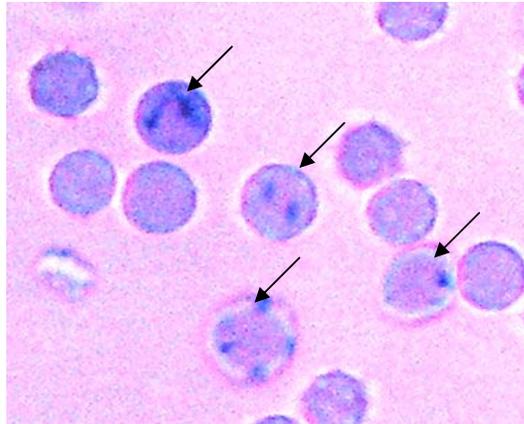
Jumlah rata-rata retikulosit pada kelompok kontrol (K) $1,45 \pm 0,23 \%$, kelompok perlakuan 1 (P1), kelompok perlakuan 2 (P2), kelompok perlakuan 3 (P3), berturut-turut adalah $1,23 \pm 0,30 \%$, $0,95 \pm 0,25 \%$, $0,70 \pm 0,21 \%$. Jumlah rata-rata retikulosit pada kelompok kontrol (K) lebih tinggi jika dibandingkan dengan jumlah rata-rata retikulosit kelompok perlakuan 1, kelompok perlakuan 2 dan kelompok perlakuan 3. Sebaran jumlah retikulosit pada keempat kelompok tikus percobaan dapat dilihat pada gambar 12 berikut.



Gambar 12. Boxplot sebaran jumlah retikulosit (%) darah tikus *Rattus norvegicus* pada kelompok kontrol, perlakuan 1, 2 dan 3

Berdasarkan gambar 12 tersebut, sebaran jumlah retikulosit terendah dijumpai pada kelompok perlakuan ketiga dan sebaran jumlah retikulosit tertinggi dijumpai pada kelompok kontrol.

Morfologi sel-sel retikulosit tikus *Rattus nuvegicus* diperiksa dengan menggunakan pengecatan supravital (BCB dalam methanol) dapat dilihat pada gambar 13 berikut:



Gambar 13. Morfologi sel-sel retikulosit ditunjukkan anak panah. Menggunakan pengecatan BCB dalam methanol

Untuk mengetahui perbedaan keempat kelompok perlakuan yaitu kelompok kontrol (K), perlakuan 1 (P1), perlakuan 2 (P2) dan perlakuan 3 (P3) pada kadar Hb, Ht, jumlah eritrosit dan retikulosit dilakukan uji ANOVA. Apabila terdapat perbedaan pada keempat kelompok maka dilanjutkan menggunakan uji *Bonferroni* untuk mengetahui tingkat kemaknaan pada kelompok kontrol (K) terhadap perlakuan I (P1), perlakuan 2 (P2) dan perlakuan 3 (P3). Data hasil uji statistik disajikan pada lampiran 4 dan rekapitulasi analisis uji statistik dapat dilihat pada tabel berikut:

Tabel 10. Rekapitulasi uji ANOVA kadar Hb, Ht, jumlah eritrosit dan retikulosit pada kelompok kontrol (K) perlakuan I (P1), 2 (P2) dan 3 (P3).

Parameter	F hitung ANOVA	Signifikan
Hb	7,485	0,002
Ht	8,105	0,001
Jumlah eritrosit	6,775	0,002
Jumlah retikulosit	9,872	0,000

Berdasarkan analisis statistik uji ANOVA kadar Hb, Ht, jumlah eritrosit dan retikulosit terdapat perbedaan pada keempat kelompok perlakuan yaitu kelompok kontrol (K), perlakuan 1 (P1), perlakuan 2 (P2) dan perlakuan 3 (P3) dengan nilai dengan nilai F berturut-turut adalah $F=7,485$ ($p=0,002$), $F=8,105$ ($0,001$), $F=6,775$ ($0,002$), $F=9,875$ ($0,000$). Untuk mengetahui tingkat kemaknaan pada kelompok kontrol (K) terhadap perlakuan 1 (P1), perlakuan 2 (P2) dan perlakuan 3 (P3) pada kadar Hb, Ht, jumlah eritrosit dan retikulosit dapat dilihat pada uji. *Bonferroni* berikut:

Tabel 11. Rekapitulasi uji *Bonferroni* kadar Hb, Ht, jumlah eritrosit dan retikulosit pada kelompok kontrol (K) perlakuan I (P1), 2 (P2) dan 3 (P3).

Parameter	Rata-rata perbedaan	P value
Hb K dengan P1	-0,79	1,000
Hb K dengan P2	-2,07	0,010
Hb K dengan P3	-2,35	0,003
Ht K dengan P1	-2,85	0,432
Ht K dengan P2	-6,00	0,004
Ht K dengan P3	-6,48	0,002
Jumlah eritrosit K - P1	-0,44	0,748
Jumlah eritrosit K - P2	-0,95	0,017
Jumlah eritrosit K - P3	-1,14	0,003
Retikulosit K dengan P1	0,21	0,943
Retikulosit K dengan P2	0,50	0,017
Retikulosit K dengan P3	0,75	0,000

Analisis statistik pada tabel 11 menunjukkan perbedaan bermakna kadar Hb antara kelompok kontrol (K) dengan kelompok perlakuan 2 ($p=0,010$), dan kelompok kontrol (K) dengan kelompok perlakuan 3 (P) ($p=0,003$). Terdapat perbedaan bermakna hematokrit antara kelompok kontrol (K) dengan kelompok perlakuan 2 ($p=0,004$), dan kelompok kontrol (K) dengan kelompok perlakuan 3 (P) ($p=0,002$). Terdapat perbedaan bermakna jumlah eritrosit antara kelompok kontrol (K) dengan kelompok perlakuan 2 ($p=0,017$), dan kelompok kontrol (K) dengan kelompok perlakuan 3 (P) ($p=0,003$). Terdapat perbedaan bermakna jumlah retikulosit antara kelompok kontrol (K) dengan kelompok perlakuan 2 ($p=0,017$), dan kelompok kontrol (K) dengan kelompok perlakuan 3 (P) ($p=0,000$).

4.2. PEMBAHASAN

Hasil pemeriksaan laboratorium dan analisis uji statistik, pemberian tawas 4% pada kelompok kontrol dan perlakuan serta suplementasi seng 0,2 mg, 0,4 mg dan 0,8 mg berturut turut pada perlakuan 1,2 dan 3 secara laboratorik menunjukkan perbedaan. Berdasarkan analisis uji statistik perbedaan tersebut tidak semuanya signifikan atau bermakna.

Suplementasi seng 0,2 mg, 0,4 mg, 0,8 mg pada tikus putih *Rattus norvegicus* yang ditambah tawas 4% terhadap jumlah degenerasi sel epitel tubulus ginjal secara statistik tidak menunjukkan perbedaan bermakna. Morfologi degenerasi sel tersebut dapat terlihat adanya pembengkakan sitoplasma yang bisa disebabkan oleh jejas sel. Bahan kimia termasuk aluminium yang

terdapat didalam tawas termasuk bahan yang dapat menimbulkan jejas sel sehingga dapat menyebabkan degenerasi sel epitel tubulus ginjal. Degenerasi sel merupakan peristiwa perubahan morfologi sel akibat cedera dan bisa bersifat *reversibel dan ireversibel*. Cedera sel *reversibel* meliputi perubahan membran plasma, perubahan mitokondrial, dilatasi retikulum endoplasma dan perubahan nuklear. Perubahan morfologik tersebut dapat dikenali dengan mikroskop cahaya yaitu adanya pembengkakan sel dan degenerasi lemak.³⁴

Suplementasi seng dosis 0,2 mg, 0,4 mg dan 0,8 mg terhadap kontrol yang hanya terdiri dari tawas 4% tidak memberikan perbedaan bermakna mungkin disebabkan karena peristiwa degenerasi sel bersifat dapat kembali kepada sel normal atau berlanjut menjadi nekrosis. Salah satu penyebab cedera sel adalah bahan kimia. Semua bahan kimia dapat menyebabkan jejas sel. Bahan tersebut dapat menyebabkan kerusakan pada tingkat seluler dengan mengubah permeabilitas membran, homeostasis osmotik, keutuhan enzim atau kofaktor dan dapat berakhir dengan kematian seluruh organ. Zat kimia menginduksi cedera sel melalui cara langsung yaitu bergabung dengan komponen molekuler kritis atau organel seluler. Pada kondisi ini kerusakan terbesar tertahan oleh sel yang menggunakan, mengabsorpsi, mengekskresi, atau mengonsentrasikan senyawa. Banyak zat kimia lain yang tidak aktif secara intrinsik biologis, tetapi pertama kali harus dikonversi menjadi metabolit toksik reaktif yang kemudian bekerja pada sel target.³⁴

Sel cenderung mempertahankan lingkungan segera dan intraselnya dalam rentang parameter fisiologik yang relatif sempit, sel mempertahankan homeostasis

normalnya. Ketika mengalami stress fisiologik atau rangsang patologik, sel bisa beradaptasi mencapai kondisi baru dan mempertahankan kelangsungan hidupnya. Jika kemampuan adaptatif berlebihan, sel mengalami jejas. Dalam batas waktu tertentu cedera bersifat *reversibel* dan sel kembali ke kondisi stabil semula. Apabila stress berat atau menetap, terjadi cedera *ireversibel* dan sel akan mati (nekrosis).³⁴ Tidak adanya perbedaan bermakna terhadap kontrol bisa disebabkan oleh jejas sel yang berlebihan dan menetap sehingga peristiwa degenerasi tidak dapat diamati karena sel langsung mengalami nekrosis.

Jumlah nekrosis sel epitel tubulus ginjal mengalami penurunan secara berturut-turut pada suplementasi seng 0,2 mg, 0,4 mg, 0,8 mg pada tikus putih *Rattus norvegicus* yang ditambah tawas 4% bila dibandingkan dengan kontrol. Analisis statistik pada suplementasi seng dosis 0,2 mg dan 0,8 mg dibandingkan dengan kelompok kontrol terdapat perbedaan bermakna. Hal ini bisa disebabkan karena suplementasi seng dapat menghasilkan metalotionin dan mampu mengikat aluminium dalam tawas. Aluminium dalam lingkungan yang asam bersifat ion, sedangkan dalam kondisi pH netral (6 – 7) bersifat sebagai logam, bahkan cenderung berikatan dengan bahan organik membentuk koloid³. Dalam tubuh jasad hidup terjadi keseimbangan asam dan basa, sehingga pH tubuh adalah netral. Dalam penelitian ini pada kelompok kontrol yang hanya diberi tawas 4% jumlah nekrosis sel epitel tubulus lebih banyak dibanding kelompok perlakuan. Sesuai penelitian yang dilakukan oleh Haribi, 2006 bahwa suplementasi tawas 2%, 4%, 6% dan 8% dalam waktu paparan 3 hingga 8 minggu berpengaruh terhadap kerusakan tubulus ginjal³⁸.

Suplementasi seng 0,2 mg, 0,4 mg, 0,8 mg pada tikus putih *Rattus norvegicus* yang ditambah tawas 4% terhadap pemeriksaan kadar Hb, Ht, jumlah eritrosit dan retikulosit secara statistik menunjukkan perbedaan bermakna pada kelompok kontrol, perlakuan 2 dan 3. Adanya perbedaan tidak bermakna pada perlakuan kelompok 1 diperkirakan disebabkan karena dosis suplementasi seng pada perlakuan 1 (0,2 mg) belum mampu secara maksimal menghasilkan metalotionin yang dapat mengikat alumunium dalam tawas. Terjadinya ikatan ini menghindari kerusakan sel epitel tubulus ginjal yang berperan dalam produksi hormon eritropoietin. Hormon eritropoietin mengatur proses eritropoiesis di dalam sumsum tulang. Hormon ini meningkatkan jumlah sel progenitor yang terikat untuk eritropoiesis sehingga proses hematopoiesis tidak mengalami gangguan⁷. Adanya perbedaan bermakna pada kelompok perlakuan 2 dan 3 dimungkinkan oleh karena suplementasi seng dosis 0,4 mg, dan 0,8 mg mampu menghasilkan metalotionin yang dapat mengikat alumunium sehingga gangguan hematopoiesis dapat dihindari. Selain itu menurut penelitian yang dilakukan Sus Derti W (2003) suplementasi seng mampu meningkatkan kadar hemoglobin dan hematokrit setelah kelahiran³⁶. Sesuai juga dengan penelitian yang dilakukan oleh Fathul J, 2006) bahwa suplementasi seng dapat meningkatkan kadar hemoglobin anak sekolah dasar³⁷.

BAB V

SIMPULAN DAN SARAN

5.1. SIMPULAN

Pengaruh pemberian suplementasi seng 0,2 mg/hari/ekor, 0,4 mg/hari/ekor, 0,8 mg/hari/ekor pada tikus putih *Rattus norvegicus* yang diberi pakan tawar selama 30 hari sebagai berikut:

1. Tidak terdapat perbedaan bermakna pemberian suplementasi seng pada dosis 0,2 mg 0,4 mg dan 0,8 mg terhadap jumlah sel epitel tubulus ginjal yang mengalami degenerasi.
2. Terdapat perbedaan bermakna pemberian suplementasi seng pada dosis 0,2 mg dan 0,8 mg terhadap jumlah sel epitel tubulus ginjal yang mengalami nekrosis.
3. Adanya hubungan positif sangat kuat pemberian suplementasi seng pada dosis 0,2 mg 0,4 mg dan 0,8 mg terhadap jumlah sel epitel tubulus ginjal yang mengalami degenerasi.
4. Adanya hubungan negatif sangat kuat pemberian suplementasi seng pada dosis 0,2 mg 0,4 mg dan 0,8 mg terhadap jumlah sel epitel tubulus ginjal yang mengalami nekrosis.
5. Terdapat perbedaan bermakna pemberian suplementasi seng pada dosis 0,4 mg dan 0,8 mg terhadap kadar Hb,Ht,jumlah eritrosit dan retikulosit.

6. Adanya hubungan positif sangat kuat pemberian suplementasi seng pada dosis 0,2 mg 0,4 mg dan 0,8 mg terhadap kadar Hb,Ht,jumlah eritrosit dan retikulosit.
7. Adanya hubungan negatif sangat kuat pemberian suplementasi seng pada dosis 0,2 mg 0,4 mg dan 0,8 mg terhadap jumlah retikulosit.

5.2. SARAN

Beberapa saran yang dapat dikemukakan mengacu pada pengalaman selama penelitian dan berdasar hasil penelitian ini antara lain:

1. Perlu dilakukan penelitian lebih lanjut terhadap dosis suplementasi seng diatas 0,8 mg untuk melihat toksisitas dari suplemen seng.
2. Perlu dilakukan penelitian lebih lanjut terhadap penggunaan suplementasi seng pada manusia dengan dosis 10 mg, 20 mg dan 40 mg (setara dengan 0,2 mg, 0,4 mg dan 0,8 mg/ekor/hari) untuk melihat apakah memberikan efek yang sama seperti pada tikus percobaan.

BAB V

SIMPULAN DAN SARAN

5.1. SIMPULAN

Pengaruh pemberian suplementasi seng 0,2 mg/hari/ekor, 0,4 mg/hari/ekor, 0,8 mg/hari/ekor pada tikus putih *Rattus norvegicus* yang diberi pakan tawar selama 30 hari sebagai berikut:

8. Rata-rata sel epitel tubulus ginjal yang mengalami degenerasi pada kelompok kontrol (K) $13 \pm 1,94$ sel, kelompok perlakuan 1 (P1), kelompok perlakuan 2 (P2), kelompok perlakuan 3 (P3), berturut-turut adalah $17 \pm 3,54$, $15 \pm 1,87$ sel, $15 \pm 2,25$
9. Rata-rata sel epitel tubulus ginjal yang mengalami nekrosis pada kelompok kontrol (K) $47 \pm 3,55$ sel, kelompok perlakuan 1 (P1), kelompok perlakuan 2 (P2), kelompok perlakuan 3 (P3), berturut-turut adalah $41 \pm 2,25$, $43 \pm 2,58$ sel, $26 \pm 1,96$ sel
10. Tidak terdapat perbedaan bermakna pemberian suplementasi seng pada dosis 0,2 mg 0,4 mg dan 0,8 mg terhadap jumlah sel epitel tubulus ginjal yang mengalami degenerasi.
11. Terdapat perbedaan bermakna pemberian suplementasi seng pada dosis 0,2 mg dan 0,8 mg terhadap jumlah sel epitel tubulus ginjal yang mengalami nekrosis.

12. Tidak terdapat perbedaan bermakna pemberian suplementasi seng pada dosis 0,2 mg terhadap kenaikan proses hematopoiesis
13. Terdapat perbedaan bermakna pemberian suplementasi seng pada dosis 0,4 mg dan 0,8 mg terhadap kenaikan proses hematopoiesis.

5.2. SARAN

Saran yang dapat dikemukakan mengacu pada hasil penelitian ini adalah:

3. Perlu dilakukan penelitian lebih lanjut terhadap dosis suplementasi seng diatas 0,8 mg untuk melihat toksisitas dari suplemen seng.
4. Perlu dilakukan penelitian lebih lanjut terhadap penggunaan suplementasi seng pada manusia dengan dosis 10 mg, 20 mg dan 40 mg (setara dengan 0,2 mg, 0,4 mg dan 0,8 mg/ekor/hari) untuk melihat apakah memberikan efek yang sama seperti pada tikus percobaan.

DAFTAR PUSTAKA

36. Nurrahman dan Isworo J. Pengaruh Lama Perendaman dan Konsentrasi Tawas terhadap Sifat Fisik, Kimia dan Organoleptik Ikan Tongkol Asap. Dalam Proseding Seminar Teknologi Pangan PATPI. Malang,2002
37. Haribi R, Yusrin. Konsentrasi Aluminium pada Ikan Asap yang Direndam dalam Larutan Tawas. Penelitian Dasar. Dirjen DikTi. Departemen Pendidikan Nasional. Jakarta, 2005.
38. Cheung RCK, Chan MHM, Ho CS, Lam CWK and Lau ELK. Heavy metal poisoning clinical significance and laboratory investigation. Asia pasific Analyte Notes. BD Indispensable to Human Health. Hong Kong.2001 7(1):22-34
39. Pamungkasiwi E. Mikromineral seng dalam kehidupan manusia. Dinas Kesehatan Provinsi Yogyakarta, 2006. Available from: <http://www.dinkes-diy.org>. Diunduh 11/12/2008.
40. Guyton AC, Hall JE, Textbook of Medical Physiology. WB. Saunders Company Philadelphia, Pennsylvania. 1996.
41. Lehninger AL. Principles of Biochemistry. Worth Publisher, Inc Sparks, Maryland, 1995.
42. Andra. Kurangi Kebutuhan akan Tetes-tetes Darah. Medikamentosa, Vol 6.No 7. 2007. Available from: <http://www.majalah-farmacia.com>. Diunduh 2/11/2008.

43. Hoffbrand AV, Pettit JE and Moss PAH. *Essensial Haematology*. 4.Ed, Blackwell Science, Ltd. Oxford, 2005.
44. Sacher A, McPherson R, Alih bahasa Pendit BU, Wulandari D. *Tinjauan Klinis Hasil Pemeriksaan Laboratorium*. Penerbit Buku Kedokteran, EGC.ed.11, Jakarta, 2004;22-54.
45. Dijkhuizen MA, Wieringa FT. *Vitamin A, iron and zinc deficiency in Indonesia. Micronutrient interactions and effects of supplementation*. Wageningen University, Thesis, 2001.
46. Berdanier CD. *Advanced nutricion micronutrients*. New York: CRC Press; 1998:183-203.
47. Almatsier S. *Prinsip Dasar Ilmu Gizi*. PT Gramedia Pustaka Utama, Jakarta. 2001;247-50
48. Hidayat A. *Seng: Esensial Bagi Kesehatan*. Bagian Ilmu Kesehatan Masyarakat, Fakultas Kedokteran Universitas Trisakti. *Maj. Ilm. Kedokteran, USAKTI*.1999:18.
49. Brown KH, Peerson Jm, Rivera J, Allen LH. *Effect of Supplementation zinc on the growth and serum zinc concentration of pre pubertal children: a meta analysis of randomized controlled trials*. *Am J Clin Nutr*. 2002;75:1062-71.
50. Elsa CH, Jorge LR, Patricia L, Harol CF, Linsay H A. *Iron and zinc supplementation improves indicators of vitamin A status of Mexican preschoolers*. *Am J Clin Nutr*.2000:71:789-94.
51. Allen LH. *Zinc and Micronutrient Supplement for Children*. *Am J Clin Nutr*. 1998:68:495S-8S

52. Sutanto BL. Tabel Angka Kecukupan Gizi . Widya karya pangan dan gizi VI: LIPI. Jakarta. 2004
53. WHO. Trace Element In Human Nutrition and Healt. Geneva: Macmillan/Ceuterick;1996:72-101.
54. Reviana CH. Peranan Mineral Seng Bagi Kesehatan Tubuh. Pusat penelitian dan Pengembangan Gizi, Departemen Kesehatan RI, Bogor, Indonesia. Cermin Dunia Kedokteran:2004:143:53
55. Hambidge M. Human zinc deficiency. American Society for Nutrition Sciences.2000:1344S-49S
56. Brown K. Effect of infections plasma concentration and implications for zinc status assessment in low-income countries. Am J Clin Nutr. 1998;68:425S-29S.
57. Yoga GP. Toksisitas beberapa logam berat terhadap ikan Gapi (*Poicilia reticulatus*). Limnotek Perairan Darat Tropis di Indonesia. Pusat Penelitian dan Pengembangan Limnologi LIPI, Vol. V. Cibinong,1998
58. Sumiwi YA, Sosrosuseno W, Soesatyo M. Uji hipersensitivitas kontak dan spesifikasi terhadap merkuri (Hg) pada tikus Wistar. Berkala Ilmu Kedokteran. Fak. Kedokteran UGM Yogyakarta. Vol 30, 1998.
59. Darmono. Logam dalam Sistem Biologi Makhluk Hidup. Penerbit Universitas Indonesia. Jakarta, 1995;75-96.
60. Sumirat J. Toksikologi Lingkungan. Gadjah Mada University Press. Yogyakarta, 2003;107-36.

61. WHO Alih bahasa Suyono J. Deteksi Dini Penyakit Akibat Kerja. Penerbit Buku Kedokteran. EGC. Jakarta, 1995;256-59
62. Hanafiah KA. Rancangan Percobaan: Teori dan Aplikasi. Rajawali Pres. Jakarta.2001:4
63. Donatus, I. A. Petunjuk Praktikum Toksikologi. Edisi I. Yogyakarta: Lab. Farmakologi dan Toksikologi. Fakultas Farmasi Universitas Gadjah Mada. 1994:21-22.
64. Ensminger AH, Konlande SE, Robson JRK. The Concise Encyclopedia of Food & Nutrition. CRC Press. Boca Roton London Tokyo.1995
65. Torbjorn Lind, Lonerdal. A Community-base Randomized Controlled Trial of Iron and Zinc Supplementation in Indonesian Infants:Interactions between Iron and Zinc.Am J Clin Nutr.2003;77:4: 883-90
66. Alarcon C, Patrick WK, Ana MP. Effects of separate delifery of zinc or zinc and vitamin A on hemoglobin response, growth and diarrhea in young Peruvian children receiving iron therapy for anemia. Am J Clin Nutr. 2004;80:5:1276-82
67. Krebs NF. Overview of Zinc Absorption and Excretion in the Human Gastrointestinal Tracct. The American Society for Nutritional Sciences.2000:130:1374S-7S
68. Chung CS, Stookey J. Current dietary zinc intake has a greater effect on fractional zinc absorption in healthy adult men.Am J Clin Nutr: 2008;87:5:1224-9

69. Richard N, Michel MD, Ramzi S, Cotran. Jejas, Adaptasi dan Kematian Sel. In: Robins Pathologic Basic of Disease. 7th ed. Alih Bahasa: Prasetyo A, Pendi UB, Priliono T. Vol1. Jakarta: EGC: 2003: 3-28
70. Abbott Diagnostics. Cell-Dyn 3700 Training Manual. Abbott Park. USA, 2003
71. Sus Derthi W. Peranan Suplementasi Seng Dalam Pakan Terhadap Aktifitas Enzim Dalam Upaya Peningkatan Produktifitas. Penelitian Dasar. Dirjen Dikti. Departemen Pendidikan Nasional. Jakarta, 2005.
72. Fathul J, Endang P, Apoina K, Efek Suplementasi Besi-Seng dan Vitamin C Terhadap Kadar Hemoglobin Anak Sekolah Dasar Yang Anemia Di Kecamatan Sayung Demak. Jurnal MMI, 2006: 41:2.
73. Haribi R, Kelainan Fungsi dan Histopatologi Hati dan Ginjal Tikus Putih (*Rattus norvegicus*) Akibat Suplementasi Tawas Dalam Pakan. Penelitian Hibah Bersaing Dirjen Dikti. Departemen Pendidikan Nasional. Jakarta, 2007.
74. Alberts B, Johnson A, Lewis J, Raff M, Roberts K, Walter P, Molecular Biology of The Cell. New York and London, 2008: 12:08.

