

**PENGARUH NEFROPROTEKTOR JUS PAPRIKA MERAH (*Capsicum  
annuum var. grossum*) TERHADAP KERUSAKAN HISTOLOGIS  
SEL GINJAL MENCIT YANG DIINDUKSI  
PARASETAMOL**

**SKRIPSI**

**Untuk Memenuhi Persyaratan  
Memperoleh Gelar Sarjana Kedokteran**



**MARGARETA GRACE HARTATI**

**G0008124**

**FAKULTAS KEDOKTERAN  
UNIVERSITAS SEBELAS MARET**

*commit to user*  
**Surakarta**

**2012**

## BAB I

### PENDAHULUAN

#### A. Latar Belakang Masalah.

Paprika merupakan cabai manis dan komoditas sayuran yang penting, yang tidak dapat dipisahkan dari kebutuhan hidup masyarakat sehari-hari (Cahyono, 2007; Harpenas, 2011). Dibandingkan dengan cabai lain seperti cabai besar merah, cabe hijau, maupun cabai kecil atau cabai rawit, paprika termasuk istimewa karena mengandung gizi yang sangat tinggi, terutama vitamin C. Warnanya pun beragam, ada yang berwarna merah, hijau, dan kuning (Astawan, 2009; Tosin, 2010).

Dibandingkan dengan paprika hijau, kandungan vitamin C pada paprika merah 20 % lebih tinggi, vitamin A sembilan kali lebih banyak, dan  $\beta$ -karotennya 15 kali lebih banyak dari paprika hijau. Paprika merah juga kaya akan karotenoid terutama *capsanthin*,  $\beta$ -karoten, dan likopen yang merupakan zat warna yang banyak ditemukan pada paprika merah. Berdasarkan penelitian, *capsanthin* bermanfaat dalam meningkatkan kadar HDL kolesterol dan signifikan dalam menurunkan resiko terjadinya karsinoma kolon (Narisawa *et al.*, 2000; Joseph, 2002; Perretta, 2006; Astawan, 2009; El-Shennawy *et al.*, 2009).

Selain vitamin C dan *capsanthin*, paprika merah juga mengandung thiamin, riboflavin, niasin, asam pantothenik, vitamin B6, folat, kolin,  $\alpha$  dan  $\beta$ -karoten, vitamin A, vitamin E ( $\alpha$ -tokoferol), dan vitamin K. Kandungan

*commit to user*

pada paprika bermanfaat untuk mencegah kanker, kolesterol tinggi, penyakit jantung koroner (PJK), stroke, dan diabetes melitus; meningkatkan kualitas sperma; serta sebagai antioksidan (Astawan, 2009; USDA, 2010).

Parasetamol merupakan obat analgetik dan antipiretik yang telah lama digunakan dunia (Farrel, 2010). Walaupun parasetamol relatif aman digunakan pada dosis terapi, namun bila penggunaannya overdosis dapat menimbulkan kerusakan hepar dan ginjal berupa nekrosis sentrilobular dan tubulus proksimalis pada manusia dan hewan coba (Lucas *et al.*, 2000). Jika asupan parasetamol melebihi dosis terapi dalam jangka waktu yang lama, metabolit reaktif berupa NAPQI akan teraktivasi, menekan *glutathione* hepar kemudian berikatan kovalen dengan protein. Ikatan kovalen ini berhubungan dengan toksisitas parasetamol yang mengakibatkan kerusakan ginjal (James *et al.*, 2003; Goodman dan Gilman, 2008; Farrell, 2010).

Paprika merah memiliki kandungan nutrisi dan antioksidan yang cukup tinggi jika dibandingkan dengan jenis paprika lainnya, namun penelitian terhadap paprika merah masih sangat sedikit. Berdasarkan hal tersebut maka peneliti ingin membuktikan apakah paprika merah (*Capsicum annuum var. grossum*) dapat mengurangi kerusakan histologis sel ginjal akibat pemberian parasetamol dosis toksik.

## B. Perumusan Masalah

Perumusan masalah pada penelitian ini adalah:

1. Apakah pemberian jus paprika merah (*Capsicum annuum var. grossum*) dapat mengurangi kerusakan histologis sel ginjal mencit yang diinduksi parasetamol?
2. Apakah peningkatan dosis jus paprika merah (*Capsicum annuum var. grossum*) dapat meningkatkan efek proteksi terhadap kerusakan histologis sel ginjal mencit yang diinduksi parasetamol?

## C. Tujuan Penelitian

Penelitian ini bertujuan untuk:

1. Mengetahui pengaruh pemberian jus paprika merah (*Capsicum annuum var. grossum*) dalam mengurangi kerusakan histologis sel ginjal mencit yang diinduksi parasetamol.
2. Mengetahui pengaruh peningkatan dosis jus paprika merah (*Capsicum annuum var. grossum*) dalam meningkatkan efek proteksi terhadap kerusakan histologis sel ginjal mencit yang diinduksi parasetamol.

## D. Manfaat Penelitian

1. Manfaat Teoritis

Penelitian ini diharapkan dapat memberikan informasi ilmiah mengenai pengaruh pemberian jus paprika merah (*Capsicum annuum var. grossum*) dalam mengurangi kerusakan histologis sel ginjal mencit yang diinduksikan parasetamol sehingga dapat digunakan sebagai bahan pertimbangan untuk penelitian lebih lanjut.

*commit to user*

## 2. Manfaat Aplikatif

Menjadi bahan pertimbangan dalam mengembangkan paprika merah (*Capsicum annuum var. grossum*) sebagai salah satu alternatif tanaman obat (fitofarmaka) dalam mencegah kerusakan ginjal.



## BAB II

### LANDASAN TEORI

#### A. Tinjauan Pustaka

##### 1. Ginjal

Ginjal adalah suatu organ yang secara struktural kompleks dan telah berkembang untuk melaksanakan sejumlah fungsi penting: ekskresi produk sisa metabolisme, pengendalian air dan garam, pemeliharaan keseimbangan asam yang sesuai, dan sekresi berbagai hormon autokoid (Cotran *et al.*, 2007). Ginjal berjumlah sepasang, terletak di bagian dorsal dari abdomen, di bagian kanan kiri dari columna vertebralis dimana ginjal kanan terletak sedikit lebih rendah dibandingkan ginjal kiri karena tertekan ke bawah oleh hati (Price dan Wilson, 2004; Budianto *et al.*, 2005).

Ginjal menjalankan fungsinya yang paling penting dengan cara menyaring plasma dan memisahkan zat dari filtrat dengan kecepatan yang bervariasi, bergantung pada kebutuhan tubuh (Guyton dan Hall, 2007). Fungsi vital ginjal dicapai dengan filtrasi plasma darah melalui glomerulus diikuti reabsorpsi sejumlah zat terlarut dan air dalam jumlah yang sesuai di sepanjang tubulus ginjal (Price dan Wilson, 2004).

Bila permukaan irisan ginjal yang dibelah dua, diamati dengan mata telanjang, maka dapat dibedakan bagian korteks yang coklat kemerahan gelap, dan medula yang berwarna lebih muda (Fawcett, *commit to user*)

2002). Korteks ginjal terdiri dari pars konvoluta dan pars radiata. Pars konvoluta tersusun dari korpuskuli ginjal dan tubuli yang membentuk labirin kortikal. Sedangkan pars radiata tersusun dari bagian-bagian lurus (segmen lurus tubulus proksimal dan segmen lurus tubulus distal) dari nefron dan duktus koligens. Medula ginjal hanya mengandung tubuli bagian lurus dan segmen-segmen tipis nefron (Ansa Henle) (Junqueira *et al.*, 2005).

Unit fungsional ginjal adalah nefron. Setiap ginjal mempunyai sekitar satu juta nefron yang pada dasarnya mempunyai struktur dan fungsi yang sama. Setiap nefron terdiri atas bagian yang melebar, korpuskulum ginjal; tubulus kontortus proksimal; segmen tebal dan tipis Ansa Henle; serta tubulus kontortus distal (Price dan Wilson, 2004; Junqueira *et al.*, 2005).

Korpuskulum ginjal terdiri atas berkas kapiler-kapiler yaitu glomerulus, dikelilingi oleh kapsula epitel berdinding ganda yang dinamakan kapsula Bowman. Kapsula Bowman merupakan suatu invaginasi dari tubulus proksimal. Ruang dalam kapsula Bowman disebut ruang Bowman (ruang urinarius) yang menerima cairan yang difiltrasi melalui dinding kapiler dan lapisan viseral. Glomerulus berhubungan dengan kapsula Bowman di bagian dalam melalui lapisan viseral yang tersusun oleh modifikasi sel-sel epitel yang disebut podosit (Price dan Wilson, 2004; Junqueira *et al.*, 2005).

Kapsula Bowman dilapisi sel-sel epitel. Sel-sel epitel parietal berbentuk gepeng dan membentuk bagian terluar dari kapsula sedangkan sel-sel epitel viseral jauh lebih besar dan membentuk bagian dalam kapsula dan melapisi bagian luar dari rumbai kapiler. Membrana basalis membentuk lapisan tengah dinding kapiler, terjepit di antara sel-sel endotel membentuk bagian terdalam dari rumbai kapiler. Sel endotel berkontak kontinu dengan membrana basalis. Sel-sel endotel, membrana basalis, dan sel-sel viseral merupakan tiga lapisan yang membentuk membrana filtrasi glomerulus (Price dan Wilson, 2004).

Glomerulus tersusun oleh suatu anyaman kapiler yang berasal dari cabang-cabang arteriol aferen glomerulus. Komponen jaringan ikat pada arteriol aferen tidak masuk ke dalam kapsula Bowman, dan secara normal sel-sel jaringan ikat digantikan oleh tipe sel khusus, yaitu sel-sel mesangial (Gartner dan Hiatt, 2007). Sel-sel mesangial adalah sel-sel endotel yang membentuk suatu jaringan kontinu antara lengkung-lengkung kapiler glomerulus dan diduga juga berfungsi sebagai jaringan penyokong. Sel-sel mesangial ini bukan merupakan bagian dari membrana filtrasi glomerulus (Price dan Wilson, 2004).

Tubulus proksimal adalah segmen terpanjang dari nefron dan merupakan bagian terbesar dari korteks ginjal (Fawcett, 2002). Epitel yang melapisi tubulus ini adalah epitel kuboid selapis yang menunjang dalam mekanisme absorpsi dan ekskresi. Sel-sel epitel ini memiliki sitoplasma asidofilik yang disebabkan oleh adanya mitokondria panjang



dalam jumlah besar untuk menyokong proses transpor aktif yang sangat cepat dan cukup tepat. Apeks sel memiliki banyak mikrovili dengan panjang sekitar 1  $\mu\text{m}$ , yang membentuk suatu *brush border* (Junqueira *et al.*, 2005; Guyton dan Hall, 2007). Pada bagian basal sel tampak adanya garis-garis basal yang disebut *basal striation* (Gartner dan Hiatt, 2007).

Ansa Henle adalah struktur berbentuk U terdiri atas segmen tebal desenden, dengan struktur yang sangat mirip tubulus kontortus proksimal; sedangkan segmen tipis desenden, segmen tipis asenden, dan segmen tebal asenden mempunyai struktur yang sangat mirip tubulus kontortus distal. Pada medula bagian luar, segmen tebal desenden, dengan garis tengah luar sekitar 60  $\mu\text{m}$ , secara mendadak menipis sampai sekitar 12  $\mu\text{m}$  dan berlanjut sebagai segmen tipis desenden (Junqueira *et al.*, 2005).

Lumen ruas nefron ini lebar karena dindingnya terdiri atas sel epitel gepeng yang intinya hanya sedikit menonjol ke dalam lumen. Bila segmen tebal asenden lengkung Henle yang menembus korteks, mempertahankan struktur histologisnya tetapi menjadi berkelok-kelok menjadi tubulus kontortus distal, yang merupakan segmen terakhir nefron. Tubulus ini dilapisi oleh sel-sel epitel kuboid selapis (Junqueira *et al.*, 2005).

Tubulus kontortus proksimal dan distal terdapat dalam korteks dan mempunyai epitel kuboid. Secara histologis, karakteristik tubulus kontortus proksimal dan distal dapat dibedakan sebagai berikut: sel-sel

tubulus proksimal lebih besar, mempunyai *brush border*, dan lebih asidofil karena mengandung banyak mitokondria. Lumen tubulus distal lebih besar dan sel-sel tubulus distal lebih pendek juga lebih kecil daripada sel-sel tubulus proksimal, pada potongan yang sama dinding tubulus distal terlihat lebih banyak sel dan lebih banyak inti (Junqueira *et al.*, 2005).

Sel-sel tubulus distal kurang asidofil daripada tubulus proksimal, dan juga sel-sel tubulus distal tidak menunjukkan *brush border* atau mikrovili yang banyak. Tubulus distal memiliki sedikit sitoplasma dan epitelnya berbentuk kuboid yang lebih pipih daripada tubulus proksimal. Pada pewarnaan, sel tubulus proksimal lebih eosinofilik dibanding sel tubulus distal (Junqueira *et al.*, 2005).

Ginjal khususnya rentan terhadap efek toksik, obat-obatan, dan bahan-bahan kimia tertentu karena: 1) ginjal menerima 25% dari curah jantung, sehingga sering dan mudah kontak dengan zat kimia dalam jumlah besar, 2) interstisium yang hiperosmotik memungkinkan zat kimia dikonsentrasikan pada daerah yang relatif hipovaskuler, dan 3) ginjal merupakan jalur ekskresi obligatorik untuk sebagian besar obat, sehingga insufisiensi ginjal mengakibatkan penimbunan obat dan meningkatkan konsentrasi dalam cairan tubulus (Price dan Wilson, 2004).

Besarnya aliran darah yang menuju ke ginjal ini menyebabkan keterpaparan ginjal terhadap bahan/zat-zat yang beredar dalam sirkulasi

cukup tinggi. Akibatnya bahan-bahan yang bersifat toksik akan mudah menyebabkan kerusakan jaringan ginjal dalam bentuk perubahan struktur dan fungsi ginjal. Keadaan inilah yang disebut sebagai nefropati toksik dan dapat mengenai glomerulus, tubulus, jaringan vaskuler, maupun jaringan interstitial ginjal (Alatas, 2002).

Tubulus proksimal adalah lokasi yang paling sering mengalami kerusakan akibat toksikan. Hal ini terjadi karena sebelum obat dan metabolitnya diekskresikan melalui urin, terlebih dahulu akan dikonsentrasikan dalam sel tubulus proksimal ginjal sehingga kadar toksik pada tubulus proksimal meningkat. Selain itu, sebagian besar sitokrom P<sub>450</sub> juga dapat dijumpai (Price dan Wilson, 2004; Wilmana, 2007).

## 2. Paprika Merah (*Capsicum annuum* var. *grossum*)

Taksonomi tanaman paprika (*Capsicum annuum* var. *grossum*):

Kingdom	: <i>Plantae</i>
Subkingdom	: <i>Tracheobionta</i>
Superdivisi	: <i>Spermatophyta</i>
Divisi	: <i>Magnoliophyta</i>
Subdivisi	: <i>Angiospermae</i>
Kelas	: <i>Dicotyledonae</i>
Subkelas	: <i>Asteridae</i>
Ordo	: <i>Solanales</i>
Famili	: <i>Solanaceae</i>

*commit to user*

Genus : *Capsicum*

Spesies : *Capsicum annum var. grossum* (Plantamor, 2008).

Paprika (*Capsicum annum var. grossum*) adalah sejenis cabai yang baru dikenal dan diusahakan di Indonesia. Tanaman ini berasal dari Amerika Selatan. Buahnya besar dan gendut seperti lonceng, rasanya tidak pedas, tetapi sedikit manis. Tanaman paprika cocok tumbuh di berbagai iklim di belahan dunia. Di Indonesia yang beriklim tropis, paprika cukup dikenal dan banyak dikembangkan secara hidroponik di Jawa, Bali, dan Nusa Tenggara Barat. Paprika dapat tumbuh dengan baik pada dataran tinggi sekitar 750-1500 m dari permukaan laut. Suhu yang diperlukan berkisar 18-23,5°C. Tanah yang baik untuk pertumbuhannya adalah tanah yang subur dengan kelembaban sekitar 80-90 % dan pH 5,5-7 (Astawan, 2009; Supriati, 2010).

Diantara jenis cabai, paprika dinilai memiliki ukuran sangat besar dengan diameter mencapai 7-8 cm. Warnanya pun beragam, ada yang berwarna merah, hijau, dan kuning (Tosin, 2010). Paprika hijau hanya memiliki rasa manis, tanpa pedas sama sekali. Paprika kuning dan merah memiliki rasa manis dan sedikit rasa pedas (Joseph *et al.*, 2002).

Paprika tergolong sayuran dengan kandungan vitamin C lebih unggul dan jauh lebih tinggi daripada jeruk yang selama ini dikenal sebagai sumber vitamin C (Astawan, 2009; Lingga, 2010). Paprika hijau dan merah kaya akan antioksidan berupa vitamin C dan  $\beta$ -karoten yang merupakan provitamin A. Namun, kandungan vitamin C pada paprika

merah 20 % lebih tinggi, vitamin A sembilan kali lebih banyak, dan  $\beta$ -karotennya 15 kali lebih banyak dari paprika hijau (Joseph, 2002; Perretta, 2006; Astawan, 2009).

Vitamin yang ditemukan dalam jumlah bermakna dalam paprika merah adalah vitamin C, thiamin, riboflavin, niasin, asam pantothenik, vitamin B6, folat, kolin,  $\alpha$  dan  $\beta$ -karoten,  $\beta$ -cryptosantin, capsanthin, likopen, vitamin A, vitamin E ( $\alpha$ -tokoferol), vitamin K, lutein, dan zeasantin. Mineral yang ditemukan dalam jumlah bermakna dalam paprika merah adalah kalsium (Ca), besi (Fe), magnesium (Mg), fosfor (P), potasium (K), sodium (Na), zinc (Zn), tembaga (Cu), mangan (Mn), dan selenium (Se) (USDA, 2010).

**Tabel 2.1.** Komponen Gizi paprika merah tiap 100 g

<b>Komponen Nutrisi</b>	<b>Kandungan Gizi</b>	<b>Penilaian WHFoods</b>
Vitamin C	127,7 mg	<i>Excellent</i>
Vitamin A	3131 IU	<i>Excellent</i>
Vitamin B6	0,29 mg	<i>Excellent</i>
Serat	2 g	<i>Very good</i>
Vitamin K	4,9 mcg	<i>Very good</i>
Mangan	0,11 mg	<i>Very good</i>
Folat	46 mcg	<i>Very good</i>
Potasium	211 mg	<i>Good</i>
Vitamin B1	0,05 mg	<i>Good</i>
Vitamin E	0,63 mg	<i>Good</i>
Tembaga	0,02 mg	<i>Good</i>

(Sumber: WHFoods, 2006; USDA, 2010)

Setiap 100 gram paprika merah mengandung 128 mg vitamin C, tertinggi di antara jenis paprika lainnya. Konsumsi paprika merah sebanyak 128 gram perhari hampir memenuhi kebutuhan diet vitamin C

perhari yang disarankan oleh National Health and Nutrition Examination Survey (Padayatty *et al.*, 2003; Astawan, 2009; USDA, 2010).

Paprika juga kaya akan vitamin A dan karotenoid. Paprika merah mengandung 3.131 IU vitamin A, tertinggi dibandingkan jenis paprika lainnya. Vitamin A sangat diperlukan tubuh untuk mencegah penyakit mata, pertumbuhan sel, sistem kekebalan tubuh, reproduksi, serta menjaga kesehatan kulit (Astawan, 2009).

Kandungan karotenoid yang terbanyak pada paprika merah berupa *capsanthin*,  $\beta$ -karoten, dan likopen. Selain itu, paprika merah juga mengandung pigmen karotenoid lain berupa  $\alpha$ -karoten, *capsorubin*,  $\beta$ -*cryptoxanthin*, lutein, dan zeasantin. Dalam 100 gram paprika merah mengandung 1624  $\mu$ g  $\beta$ -karoten, 0,07 mg lutein, 0,72 mg  $\beta$ -*cryptoxanthin*, 0,28 mg likopen, dan 3,54 mg *capsanthin* (Narisawa *et al.*, 2000; Winarsi, 2007; USDA, 2010).

Paprika merah mengandung pigmen oranye hingga merah dari *capsanthin* dan *capsorubin*. *Capsanthin* adalah karotenoid terbanyak yang ada pada paprika merah. Berdasarkan penelitian, *capsanthin* bermanfaat meningkatkan kadar HDL kolesterol dan ekspresi gen hepar serta menurunkan resiko terjadinya karsinoma kolon pada tikus yang diinduksi *N-Methylnitrosourea* (Narisawa *et al.*, 2000; Aizawa, 2009).

Sebagian besar kandungan  $\beta$ -karoten paprika terkonsentrasi pada bagian di dekat kulit. Sama seperti sayuran lainnya, semakin tua warna paprika,  $\beta$ -karoten di dalamnya semakin banyak (Astawan, 2009).  $\beta$ -

karoten merupakan salah satu dari 600 komponen karotenoid yang banyak ditemukan dalam tanaman. Salah satu peran  $\beta$ -karoten adalah meningkatkan efikasi kemoterapi dan radiasi pada kultur sel kanker manusia maupun hewan percobaan. Hasil penelitian epidemiologis menyatakan bahwa subjek yang banyak mengonsumsi  $\beta$ -karoten akan memiliki risiko yang rendah untuk terkena berbagai jenis kanker dan penyakit kardiovaskuler (Winarsi, 2007).

Pada paprika merah, terdapat likopen yang cukup tinggi. Likopen merupakan pigmen karotenoid yang membawa warna merah. Pigmen ini termasuk ke dalam golongan senyawa fitokimia yang mudah ditemui pada buah-buahan yang berwarna merah seperti paprika. Likopen dikenal dengan berbagai manfaat seperti antikanker (Astawan, 2009).

Giovannucci (1999) melaporkan struktur likopen sangat berpotensi sebagai antioksidan. Tidak adanya struktur ring betaione menyebabkan likopen mempunyai aktivitas antoksidan yang sangat baik. Likopen pada paprika merah dapat mempertahankan fungsi mental dan fisik para lansia. Setelah masuk ke dalam aliran darah, likopen akan menangkap radikal bebas pada sel-sel tua dan memperbaiki sel-sel yang telah mengalami kerusakan (Astawan, 2009).

### 3. Parasetamol

Parasetamol atau yang disebut juga asetaminofen merupakan metabolit fenasetin yang mempunyai efek analgetik dan antipiretik (Curhan, 2004; Goodman dan Gilman, 2008). Obat ini adalah

penghambat biosintesis prostaglandin yang lemah pada jaringan perifer dan tidak memiliki efek anti-inflamasi yang bermakna, oleh karena itu tidak digunakan sebagai anti-reumatik (Katzung, 2002; Wilmana, 2007).

Parasetamol, sering digunakan sebagai obat penghilang rasa nyeri atau penurun demam. Ternyata obat ini berbahaya bagi ginjal bila digunakan dalam waktu yang lama (Curhan, 2004). Efek antipiretik ditimbulkan oleh gugus aminobenzen. Efek analgesik parasetamol yaitu menghilangkan atau mengurangi nyeri ringan sampai sedang. Efek iritasi, erosi, dan perdarahan lambung tidak terlihat pada obat ini, demikian juga gangguan pernafasan dan keseimbangan asam basa (Wilmana, 2007).

Parasetamol diberikan peroral. Absorpsi cepat dan sempurna melalui saluran cerna. Absorpsinya tergantung kecepatan pengosongan lambung (Katzung, 2002). Konsentrasi tertinggi dalam plasma dicapai dalam waktu setengah jam dan masa paruh plasma antara 1-3 jam. Dalam plasma, 25 % parasetamol terikat protein plasma dan sebagian dimetabolisme enzim mikrosom hati (Wilmana, 2007). Di dalam hati, 60% dikonjugasi dengan asam glukoronat, 35 % asam sulfat dan 3 % asam sistein (Goodman dan Gilman, 2008).

Secara normal, 90 % parasetamol mengalami glukoronidasi dan sulfasi menjadi konjugat yang sesuai, sedangkan sisanya 3-8 % dimetabolisme melalui jalur sitokrom P<sub>450</sub>. Jalur glukuronidasi dan sulfasi tidak dapat digunakan lagi ketika asupan parasetamol jauh



melebihi dosis terapi dan akan beralih ke jalur sitokrom P<sub>450</sub>. Konjugasi melalui jalur sitokrom P<sub>450</sub> menghasilkan senyawa *N*-asetyl-*p*-benzoquinone imine (NAPQI) (Goodman dan Gilman, 2008).

NAPQI inilah yang merupakan suatu metabolit minor, tetapi bersifat sangat aktif (Katzung, 2002). Pada keadaan normal, senyawa antara ini dieliminasi melalui konjugasi dengan *glutathione* yang berikatan dengan gugus sulfhidril dan kemudian dimetabolisme lebih lanjut menjadi suatu asam merkapturat yang selanjutnya diekskresi ke dalam urin (Goodman dan Gilman, 2008).

Ketika terjadi overdosis, kadar *glutathione* dalam sel hepar menjadi sangat berkurang yang berakibat kerentanan sel-sel hepar terhadap cedera oleh oksidan (Goodman dan Gilman, 2008). *Glutathione* yang terpakai akan lebih cepat dari regenerasinya dengan berjalannya waktu dan akhirnya akan terjadi pengosongan *glutathione* dan terjadi penimbunan NAPQI. Metabolit ini akan berikatan kovalen dengan gugusan nukleofilik yang terdapat pada makromolekul sel seperti protein, DNA, dan mitokondria yang dapat menyebabkan toksisitas pada ginjal (Rubin *et al.*, 2005).

Reaksi antara NAPQI dengan makromolekul memacu terbentuknya *Radical Oxygen Species* (ROS). Selain itu, NAPQI dapat menimbulkan stres oksidatif, yang berarti bahwa NAPQI dapat menyebabkan terjadinya peroksidasi lipid. Peroksidasi lipid merupakan bagian dari proses atau rantai reaksi terbentuknya radikal bebas. Proses autokatalisis

adalah bagian dari peroksidasi lipid yang mengakibatkan kematian sel. Produk akhir peroksidasi lipid di dalam tubuh adalah malondialdehid (MDA) yang dapat menyebabkan kematian sel akibat proses oksidasi berlebihan dalam membran sel (Rubin *et al.*, 2005; Winarsi, 2007; Mayes, 2008).

Parasetamol merupakan salah satu obat yang paling sering menyebabkan kematian akibat keracunan (*self poisoning*) (Neal, 2006). Akibat dosis toksik yang paling serius adalah nekrosis hati, walaupun nekrosis tubuli renalis dan koma hipoglikemik juga dapat terjadi setelah menelan dosis tunggal 10-15 g (150-250 mg/kg BB). Dosis tunggal 20-25 g atau lebih dapat menyebabkan akibat fatal (Goodman dan Gilman, 2008).

Sekitar 10% pasien keracunan yang tidak mendapatkan pengobatan yang spesifik berkembang menjadi kerusakan hati yang hebat dan 10-20% akhirnya meninggal karena kegagalan fungsi hati. Kegagalan ginjal akut juga terjadi pada beberapa pasien (Goodman dan Gilman, 2008). Dosis toksik untuk mencit atau LD<sub>50</sub> mencit adalah 6,76 mg/20 g BB mencit (Wishart dan Knox, 2006). Penelitian pada hewan coba menunjukkan bahwa ketika parasetamol memenuhi ginjal, parasetamol akan dioksidasi melalui sitokrom P<sub>450</sub> sehingga dapat menyebabkan kerusakan tubulus proksimal ginjal (Zlatkovic *et al.*, 1998).

Penderita-penderita yang memakai analgetik dalam jumlah besar dapat mengalami nefritis interstitial kronis, yang sering disertai nekrosis

papiler ginjal. Nefritis interstitial dapat terjadi karena konsumsi analgetik yang berlebihan dalam waktu yang lama (Cotran, 2007).

#### 4. Mikroskopis Kerusakan Ginjal Setelah Pemberian Parasetamol

Salah satu efek merugikan overdosis parasetamol adalah nekrosis tubulus ginjal (Goodman dan Gilman, 2008). Nekrosis terjadi setelah suplai darah hilang atau setelah terpajan toksin dan ditandai dengan pembengkakan sel, denaturasi protein, serta kerusakan organel sel (Mitchell dan Cotran, 2007). Umumnya, walaupun perubahan-perubahan lisis yang terjadi pada jaringan nekrotik dapat melibatkan sitoplasma sel, perubahan-perubahan paling jelas bermanifestasi pada inti, menunjukkan kematian sel (Price dan Wilson, 2004).

Kematian sel dapat terjadi bersamaan dengan pecahnya membran plasma. Perubahan morfologis awal berupa edema sitoplasma, dilatasi retikulum endoplasma, disagregasi polisom, serta akumulasi trigliserid sebagai butiran lemak dalam sel dan terjadi pembengkakan mitokondria yang progresif dengan kerusakan kista (Price dan Wilson, 2004).

Perubahan nuklear nekrosis dapat dibagi menjadi tiga pola, yaitu:

1) Piknosis, ditandai dengan melisutnya inti sel dan peningkatan basofil kemudian DNA berkondensasi menjadi massa yang melisut padat, berwarna gelap batasnya tidak teratur; 2) Karioreksis, fragmen inti sel yang piknotik dengan meninggalkan pecahan-pecahan zat kromatin yang tersebar di dalam sel, yang selanjutnya dalam 1-2 hari inti dalam sel yang mati benar-benar menghilang; 3) Kariolisis, kromatin basofil

menjadi pucat, inti sel kehilangan kemampuan untuk diwarnai dan menghilang begitu saja, yang disebabkan oleh aktivitas enzim DNA-ase (*Deoxyribonuclease*) (Price dan Wilson, 2004; Mitchell dan Cotran, 2007).

Pada nekrosis tubuler akut nefrotoksik terjadi nekrosis segmen-segmen pendek tubulus, terutama pada tubulus proksimal, dengan membrana basalis tubuli umumnya masih baik dan secara klinik terjadi supresi akut fungsi ginjal. Secara histologis ditandai dengan sel-sel epitel tubulus yang semakin menipis dan datar, *brush border* menghilang, lumen tubulus melebar dan terisi oleh jaringan nekrotik. Hal ini terjadi karena sel epitel tubulus ginjal peka terhadap anoksia dan mudah rusak karena keracunan saat kontak dengan zat-zat yang diekskresi oleh ginjal (Cotran *et al.*, 2007).

Inti pada sel yang nekrosis sama sekali menghilang dengan berjalannya waktu. Sitoplasma berubah menjadi masa asidofil suram bergranula. Jaringan ginjal nekrosis yang bertahan selama seminggu akan mulai tampak regenerasi epitel dalam bentuk lapisan epitel kuboid rendah serta aktivitas mitotik di sel epitel tubulus yang tersisa. Regenerasi ini bersifat total dan sempurna, kecuali pada membran basal yang rusak (Cotran *et al.*, 2007).

## 5. Mekanisme Perlindungan Jus Paprika Merah terhadap Kerusakan Ginjal Akibat Induksi Parasetamol

Paprika merah mengandung vitamin A, vitamin C, vitamin E,  $\beta$ -karoten, *capsanthin*, dan likopen yang berfungsi sebagai antioksidan. Antioksidan bekerja dengan cara mendonorkan satu elektron kepada senyawa oksidan, dalam hal ini radikal bebas, sehingga aktivitas senyawa oksidan tersebut dapat dihambat (Winarsi 2007; USDA, 2010).

Sebagai antioksidan, vitamin C berperan sebagai penghancur *singlet oxygen* ( $O_2^-$ ), *radical peroxy scavenger*, dan menghambat peroksidasi lipid. Asupan vitamin C dapat mengurangi antibodi LDL teroksidasi, kerusakan DNA, kadar serum peroksidasi lipid, serum malondialdehid (MDA), dan mentransfer elektron ke dalam tokoferol teroksidasi (Winarsi, 2007).

*Capsanthin* memiliki kemampuan dalam mengikat oksigen tunggal (*singlet oxygen*) yang dimiliki oleh NAPQI. Khasiat *capsanthin* sama baiknya dengan  $\beta$ -karoten, lutein, dan *zeaxanthin* hanya saja kerjanya lebih lama daripada karotenoid yang lain dan memiliki efek sebagai *scavenger of free radicals* yang lebih panjang (Matsufuji, 2008).

Betakaroten biasanya digunakan sebagai suplemen nutrisi maupun prekursor vitamin A. Potensi  $\beta$ -karoten sebagai prekursor vitamin A dalam mempertahankan kesehatan mata dan integritas membran sel menjadikan senyawa ini sangat vital bagi tubuh (Winarsi, 2007). Beta-karoten merupakan jenis antioksidan yang dapat berperan penting

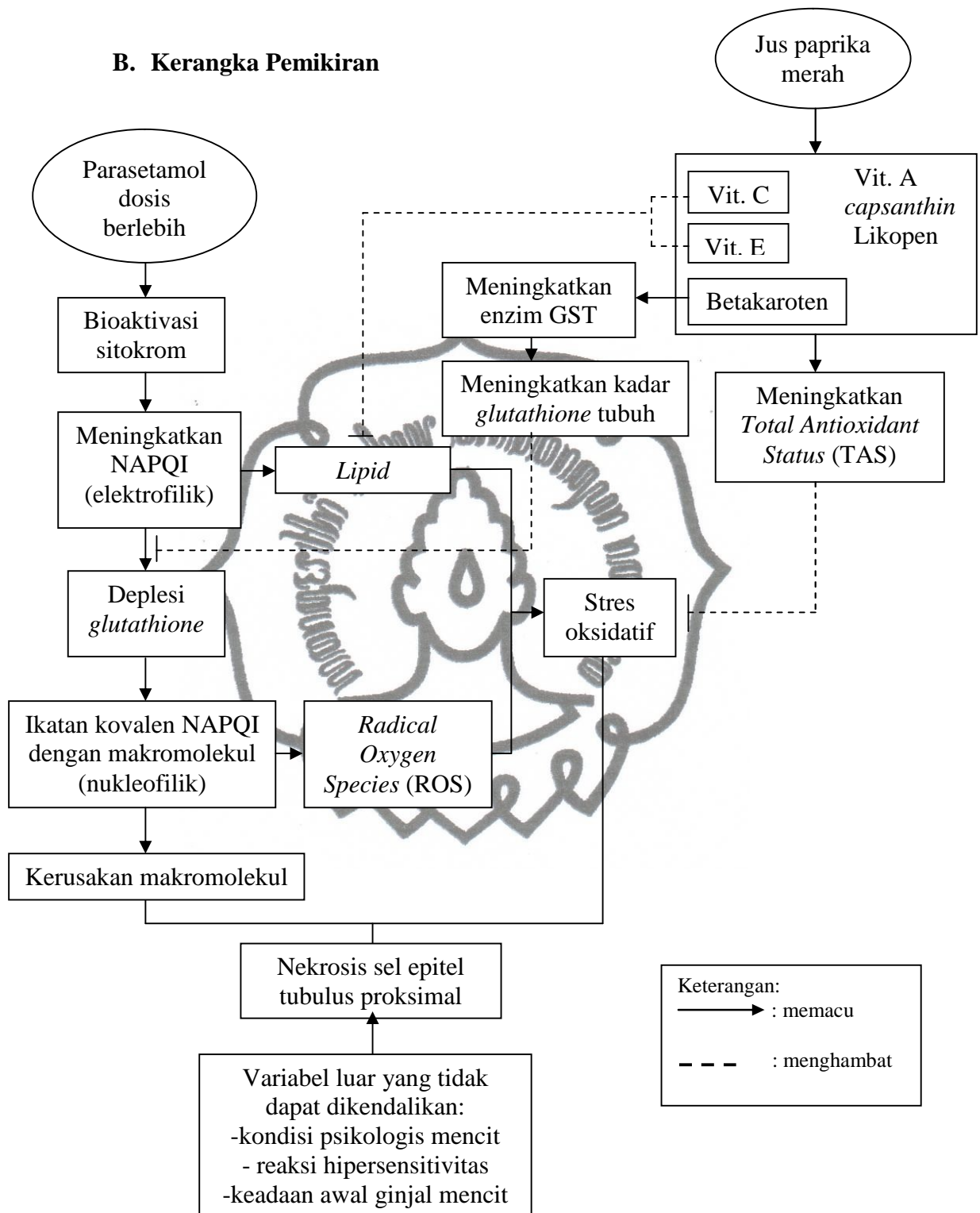
dalam mengurangi konsentrasi radikal peroksil dengan meningkatkan enzim Glutation S Transferase (GST). Enzim GST dapat meningkatkan kadar *glutathione* tubuh. Peningkatan kadar *glutathione* akan mengisi kembali kekosongannya di dalam tubuh dan dapat digunakan untuk konjugasi NAPQI (Frank, 1995; Astawan, 2009).

Kemampuan  $\beta$ -karoten bekerja sebagai antioksidan berasal dari kesanggupannya menstabilkan radikal berinti karbon dengan mengikat oksigen tunggal (*singlet oxygen*) yang dimiliki oleh NAPQI. Karena  $\beta$ -karoten efektif pada konsentrasi rendah oksigen,  $\beta$ -karoten dapat melengkapi sifat antioksidan vitamin E yang efektif pada konsentrasi tinggi oksigen (Agarwal dan Rao, 2000; Astawan, 2009).

Vitamin E secara khusus berperan menghambat peroksidasi lipid dan pembentukan *lipid peroxide* oleh radikal hidroksil yang dibentuk NAPQI melalui mekanisme penangkapan radikal bebas. Sebagai antioksidan, vitamin C telah diteliti merupakan penyetabil keberadaan vitamin E (Almatsier, 2004).

Potensi likopen sebagai antioksidan dan *scavenger of free radicals* merupakan efek yang sangat bermanfaat bagi manusia. Likopen dapat menurunkan derajat peroksidase lipid serta melindungi membran sel dari serangan oksidan dan radikal bebas dari  $\text{NO}_2$  karena likopen dapat berinteraksi dengan ROS seperti  $\text{H}_2\text{O}_2$  dan  $\text{NO}_2$ . Likopen juga membantu mencegah kerusakan oksidatif dan DNA (Winarsi, 2007).

**B. Kerangka Pemikiran**

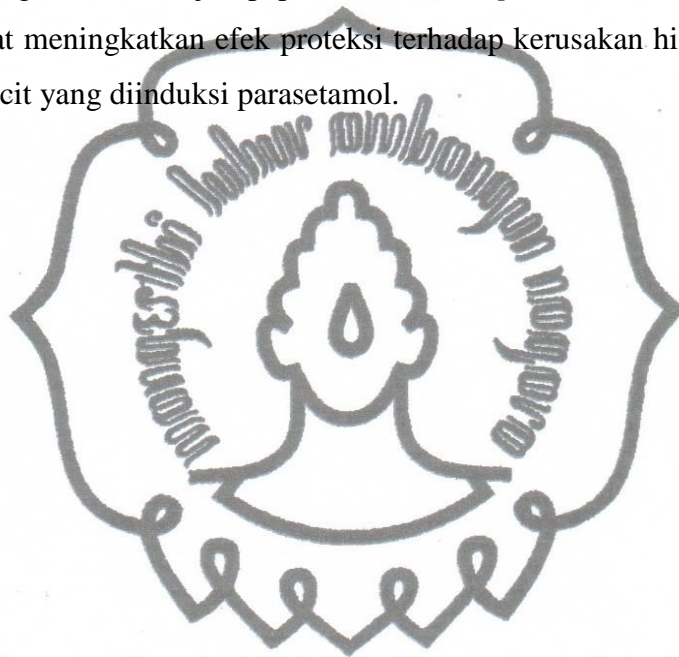


**Gambar 2.1.** Skema Kerangka Penelitian

### C. Hipotesis

Hipotesis penelitian ini adalah:

1. Pemberian jus paprika merah (*Capsicum annuum* var. *grossum*) dapat mengurangi kerusakan histologis sel ginjal mencit yang diinduksi parasetamol.
2. Peningkatan dosis jus paprika merah (*Capsicum annuum* var. *grossum*) dapat meningkatkan efek proteksi terhadap kerusakan histologis sel ginjal mencit yang diinduksi parasetamol.





## BAB III

### METODE PENELITIAN

#### A. Jenis Penelitian

Penelitian ini bersifat eksperimental laboratorik. Peneliti mengadakan perlakuan terhadap sampel yang telah ditentukan yaitu berupa hewan coba di laboratorium yang dibagi dalam kelompok-kelompok dan dibandingkan berdasarkan status perlakuannya, yakni kelompok perlakuan dan kelompok kontrol (Taufiqurohman, 2008; Murti, 2010).

#### B. Lokasi Penelitian

Penelitian ini dilaksanakan di Laboratorium Histologi, Fakultas Kedokteran Universitas Sebelas Maret.

#### C. Subyek Penelitian

Subjek yang digunakan dalam penelitian ini adalah mencit (*Mus musculus*) jantan dengan galur *Swiss Webster* yang berumur 2-3 bulan dengan berat  $\pm 20$  gram. Sampel sebanyak 28 ekor dibagi dalam 4 kelompok, masing-masing kelompok terdiri dari 7 ekor mencit. Jumlah ini diperhitungkan menurut rumus Federer (Purwawisastra, 2001), yaitu:

$$(k-1)(n-1) > 15$$

$$(4-1)(n-1) > 15$$

$$3 (n-1) > 15$$

$$3n > 15+3$$

$$n > 6 \approx 7$$

*commit to user*

Keterangan :

k : Jumlah kelompok

n : Jumlah sampel dalam tiap kelompok

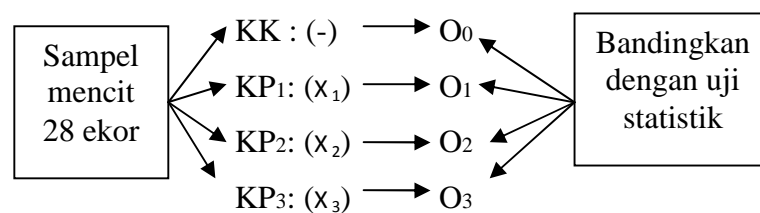
Pada penelitian ini, jumlah sampel yang digunakan dalam tiap kelompok sebanyak 7 ekor mencit ( $n > 6$ ) dimana mencit-mencit itu dibagi dalam 4 kelompok sehingga jumlah mencit yang dibutuhkan sebanyak 28 ekor mencit.

#### D. Teknik Pengambilan Sampel

Teknik pengambilan sampel yang dipakai adalah *convenient sampling* yang merupakan pencuplikan non-random yang mencuplik subjek dari populasi sasaran secara insidental (Murti, 2010).

#### E. Desain Penelitian

Rancangan penelitian yang digunakan adalah *Randomized Controlled Trial* (RCT) yang bertujuan untuk menghindari bias pada subjek-subjek di dalam kelompok eksperimen dan kelompok kontrol (Murti, 2010). Dalam rancangan ini, subjek dibagi menjadi 4 kelompok secara random. Setelah waktu yang ditentukan, semua kelompok diobservasi atau dilakukan pengukuran terhadap variabel efek yang diteliti. Perbedaan hasil pengukuran nilai variabel pada kelompok perlakuan dan kelompok kontrol merupakan efek dari perlakuan (Taufiqurohman, 2008).



**Gambar 3.1** Skema Rancangan Penelitian

*commit to user*

## Keterangan :

- KK = Kelompok kontrol tanpa diberi jus paprika merah maupun parasetamol.
- KP<sub>1</sub> = Kelompok perlakuan I yang diberi parasetamol tanpa diberi jus paprika merah.
- KP<sub>2</sub> = Kelompok perlakuan II yang diberi parasetamol dan jus paprika merah dosis I.
- KP<sub>3</sub> = Kelompok perlakuan III yang diberi parasetamol dan jus paprika merah dosis II.
- (-) = Pemberian aquades peroral sebanyak x ml/ 20 g BB mencit setiap hari selama 14 hari berturut-turut.
- (X<sub>1</sub>) = Pemberian aquades peroral sebanyak x ml/ 20 g BB mencit setiap hari selama 14 hari berturut-turut dan pada hari ke-12, 13, dan 14 diberi parasetamol 0,05 ml/ 20 g BB mencit perhari.
- (X<sub>2</sub>) = Pemberian jus paprika merah peroral dosis I (x ml/ 20 g BB mencit) setiap hari selama 14 hari berturut-turut dan pada hari ke-12, 13, dan 14 diberikan juga parasetamol dosis 0,05 ml/ 20 g BB mencit perhari 1 jam setelah pemberian jus paprika merah.
- (X<sub>3</sub>) = Pemberian jus paprika merah dosis II (2x ml/ 20 g BB mencit) perhari selama 14 hari berturut-turut, dimana hari ke-12, 13 dan 14 diberikan juga parasetamol dosis 0,05 ml/

20 g BB mencit perhari 1 jam setelah pemberian jus paprika merah.

- $O_0$  = Pengamatan jumlah inti sel epitel tubulus proksimal ginjal piknosis, karioreksis, dan kariolisis dari 50 sel di pars konvulata korteks ginjal kelompok kontrol.
- $O_1$  = Pengamatan jumlah inti sel epitel tubulus proksimal ginjal piknosis, karioreksis, dan kariolisis dari 50 sel di pars konvulata korteks ginjal  $KP_1$ .
- $O_2$  = Pengamatan jumlah inti sel epitel tubulus proksimal ginjal piknosis, karioreksis, dan kariolisis dari 50 sel di pars konvulata korteks ginjal  $KP_2$ .
- $O_3$  = Pengamatan jumlah inti sel epitel tubulus proksimal ginjal piknosis, karioreksis, dan kariolisis dari 50 sel di pars konvulata korteks ginjal  $KP_3$ .

Pengamatan jumlah inti sel epitel tubulus proksimal ginjal yang mengalami piknosis, karioreksis dan kariolisis dilakukan pada hari ke-15 setelah perlakuan pertama diberikan.

#### **F. Identifikasi Variabel Penelitian**

1. Variabel bebas : pemberian jus paprika merah
2. Variabel terikat : kerusakan histologis sel ginjal mencit
3. Variabel luar

- a. Variabel luar yang dapat dikendalikan:

Variasi genetik, umur, berat badan, dan jenis makanan mencit semuanya diseragamkan.

- b. Variabel luar yang tidak dapat dikendalikan:

Kondisi psikologis, reaksi hipersensitivitas, dan keadaan awal ginjal mencit.

### G. Definisi Operasional Variabel Penelitian

1. Variabel bebas: pemberian jus paprika merah (*Capsicum annuum var. grossum*)

Jus paprika merah diberikan secara per oral dengan sonde lambung dalam 2 dosis, diberikan selama 14 hari berturut-turut.

Dosis I : 416 mg/20 g BB mencit/hari, diberikan pada KP<sub>2</sub>.

Dosis II : 832 mg/20 g BB mencit/hari, diberikan pada KP<sub>3</sub>.

Paprika merah yang digunakan dalam penelitian ini adalah *Capsicum annuum var. grossum* atau cabai lonceng yang merupakan varietas dari Edison yang berwarna merah keseluruhan dan sudah matang. Paprika ini diperoleh dari Pasar Gede Surakarta. Skala pengukuran variabel ini adalah ordinal.

2. Variabel terikat: kerusakan histologis sel ginjal mencit

Yang dimaksud dengan kerusakan histologis sel ginjal mencit adalah gambaran mikroskopis sel epitel tubulus proksimal ginjal mencit yang diinduksi parasetamol setelah pemberian jus paprika merah. Beratnya kerusakan histologis dinilai dengan cara menghitung jumlah

sel epitel tubulus proksimal yang rusak dari tiap 50 sel epitel tubulus proksimal di suatu daerah tertentu pada pars konvoluta korteks ginjal.

Sel yang rusak ditandai dengan adanya inti sel yang mengalami piknosis, karioreksis, dan kariolisis. Inti sel yang mengalami piknosis ditandai dengan inti tampak lebih padat dan berwarna gelap hitam; karioreksis ditandai dengan inti yang terbagi atas fragmen-fragmen dan terlihat robek; kariolisis ditandai dengan inti yang pucat dan tidak nyata karena inti tidak dapat menyerap warna. Jadi jika dari 50 sel epitel tubulus proksimal tersebut terdapat 10 sel epitel tubulus proksimal dengan inti piknosis, 5 sel dengan inti karioreksis, dan 3 sel dengan inti kariolisis, maka jumlah sel epitel yang mengalami kerusakan adalah:

$$10 + 5 + 3 = 18$$

Semakin banyak jumlah sel epitel yang rusak, menandakan semakin besar kerusakan yang terjadi. Skala ukuran variabel ini adalah skala rasio.

### 3. Variabel luar

#### a. Variabel luar yang dapat dikendalikan:

##### 1) Variasi genetik

Jenis hewan coba yang digunakan adalah mencit (*Mus musculus*) dengan galur *Swiss Webster*.

##### 2) Umur

Umur mencit pada penelitian ini adalah 2-3 bulan.

3) Berat badan.

Berat badan hewan percobaan  $\pm 20$  g.

4) Jenis makanan.

Makanan yang diberikan berupa pellet dan minuman dari air Perusahaan Air Minum (PAM).

b. Variabel luar yang tidak dapat dikendalikan: kondisi psikologis, reaksi hipersensitivitas, dan keadaan awal ginjal mencit.

1) Kondisi psikologis mencit yang dipengaruhi lingkungan sekitar. Lingkungan yang terlalu ramai dan gaduh, pemberian perlakuan yang berulang kali, dan perkelahian antar mencit dapat mempengaruhi kondisi psikologis mencit.

2) Reaksi hipersensitivitas dapat terjadi karena adanya variasi kepekaan mencit terhadap zat yang digunakan.

3) Keadaan awal ginjal mencit tidak diperiksa pada penelitian ini sehingga mungkin saja terdapat mencit yang sebelum perlakuan, ginjalnya sudah mengalami kelainan.

## H. Alat dan Bahan Penelitian

1. Alat.

Alat yang digunakan adalah sebagai berikut :

- a. Kandang mencit 4 buah masing-masing untuk 7 ekor mencit.
- b. Timbangan hewan.
- c. Timbangan obat.

- d. Alat bedah hewan percobaan (*scalpel*, pinset, gunting, jarum, meja lilin).
  - e. Sonde lambung.
  - f. Alat untuk pembuatan preparat histologi.
  - g. Mikroskop cahaya medan terang.
  - h. Gelas ukur dan pengaduk.
  - i. Kamera “*Optic Lab.*”
2. Bahan.
- Bahan yang akan digunakan adalah sebagai berikut :
- a. Parasetamol *drops* 15 ml.
  - b. Jus paprika merah (*Capsicum annuum var. grossum*).
  - c. Makanan hewan percobaan (pelet).
  - d. Aquades.
  - e. Bahan untuk pembuatan preparat histologi dengan pengecatan HE.

## I. Cara Kerja

### 1. Dosis parasetamol

LD-50 untuk mencit secara peroral yang telah diketahui adalah 338 mg/kg BB atau 6,76 mg/20 g BB mencit. Dosis parasetamol yang digunakan untuk menimbulkan efek kerusakan ginjal berupa nekrosis sel epitel tubulus proksimal ginjal tanpa menyebabkan kematian mencit adalah dosis  $\frac{3}{4}$  LD-50 perhari (Alberta, 2006). Dosis yang digunakan adalah 338 mg/kg BB  $\times$  0,75



= 253,5 mg/kg BB  $\approx$  5 mg/20 g BB mencit. Parasetamol yang akan digunakan adalah parasetamol drop dimana setiap 0,1 ml parasetamol *drops* mengandung 10 mg parasetamol. Dalam percobaan yang dibutuhkan adalah 5 mg/20 g BB mencit. Jadi, parasetamol yang diperlukan adalah 0,05 ml. Sebanyak 0,05 ml parasetamol akan disondekan ke dalam lambung mencit 1 jam setelah pemberian jus paprika.

Parasetamol diberikan selama 3 hari berturut-turut yaitu pada hari ke-12, 13, dan 14. Pemberian parasetamol dengan cara ini dimaksudkan untuk menimbulkan kerusakan berupa nekrosis pada sel epitel tubulus proksimal di daerah pars konvoluta korteks ginjal tanpa menimbulkan kematian pada mencit. Berdasarkan penelitian Sabrang (2008), pemberian parasetamol dengan dosis 5 mg/20 g BB mencit selama 3 hari berturut-turut dapat menyebabkan kerusakan sel epitel tubulus proksimal tanpa mengakibatkan kematian pada mencit.

## 2. Dosis dan pembuatan jus paprika merah

Paprika merah yang digunakan adalah paprika yang didapat dari Pasar Gede Surakarta. Menurut penelitian Aizawa dan Inakuma (2009) 5,4  $\mu$ mol *capsanthin* dapat meningkatkan kadar HDL kolesterol. Menurut hasil penelitian Oshima (1997) pemberian paprika sebanyak 160 g mengandung 5,4  $\mu$ mol *capsanthin*, 2,3  $\mu$ mol *zeaxanthin*, 2,2  $\mu$ mol *cryptoxanthin* dan 6,1  $\mu$ mol  $\beta$ -karoten. Nilai

konversi dari manusia (70 kg) ke mencit (20 g) adalah 0,0026 (Ngatidjan, 1991). Jadi dosis untuk mencit adalah:

$$\begin{aligned} \text{Dosis} &= \text{nilai konversi} \times \text{dosis} \\ &= 0,0026 \times 160 \text{ g paprika/hari} \\ &= 0,416 \text{ g paprika/hari atau } 416 \text{ mg/hari} \end{aligned}$$

Pada penelitian ini, dosis paprika merah yang digunakan ada 2 macam yaitu:

Dosis I : 416 mg/20 g BB/hari dan

Dosis II : 832 mg/20 g BB/hari

Penelitian yang dilakukan oleh peneliti menggunakan 41,6 g paprika merah. Bila dijus, dari 41,6 g paprika merah akan menghasilkan 100x ml jus paprika merah sehingga dapat dinyatakan bahwa 41,6 g paprika merah setara dengan 100x ml jus paprika merah. Jadi pada penelitian ini, 0,416 g paprika merah yang dibutuhkan mencit perhari setara dengan x ml. Untuk mendapatkan 416 mg/20g BB/hari (dosis I) dibutuhkan x ml jus paprika merah, dan dibutuhkan 2x ml jus paprika merah untuk mendapatkan 832 mg/20 g BB/hari (dosis II). Pada praktek dilapangan, dari 41,6 g paprika merah yang dijus akan menghasilkan  $\pm 27$  ml jus paprika merah.

### 3. Persiapan mencit

Mencit jantan diadaptasikan selama tujuh hari di Laboratorium Histologi Fakultas Kedokteran Universitas Sebelas

Maret, Surakarta. Sesudah adaptasi, keesokan harinya dilakukan penimbangan untuk menentukan dosis dan dilakukan perlakuan.

#### 4. Pengelompokan Subjek

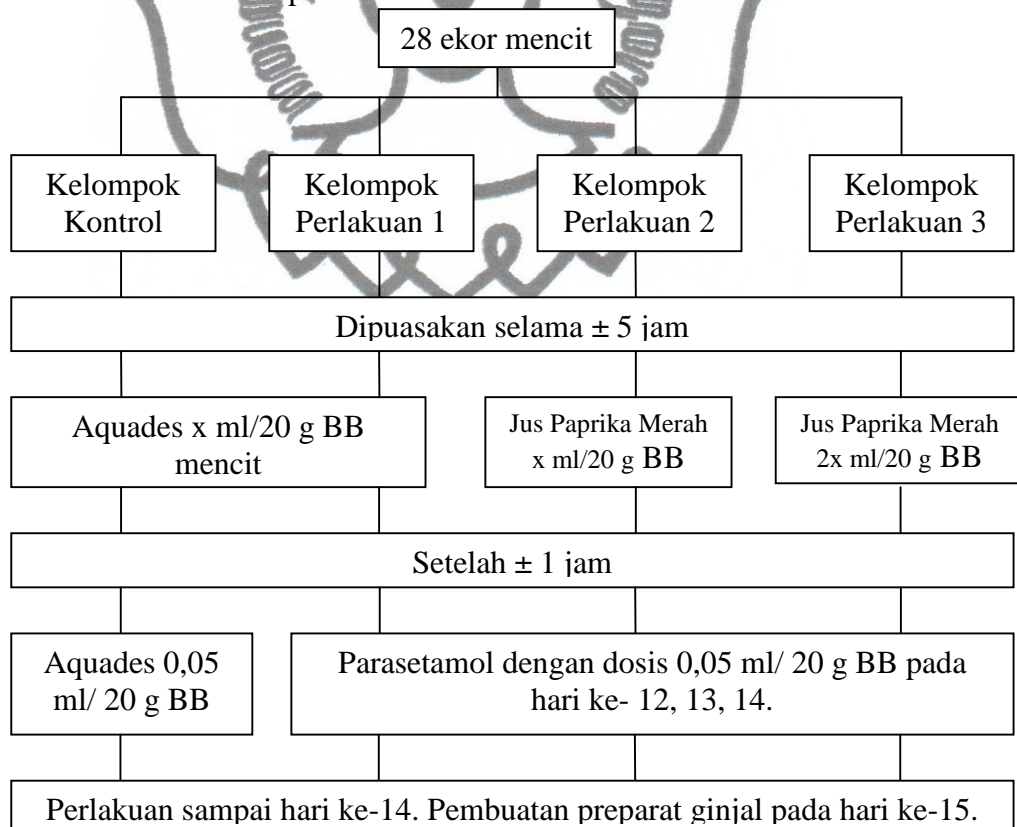
Pada minggu kedua mulai dilakukan percobaan. Subjek dikelompokkan menjadi empat kelompok secara random, dan masing-masing kelompok terdiri dari 7 mencit. Adapun pengelompokan subjek adalah sebagai berikut:

- a. KK = Kelompok kontrol diberi aquades per oral sebanyak  $x$  ml/ 20 g BB mencit per hari selama 14 hari berturut-turut.
- b. KP<sub>1</sub> = Kelompok perlakuan I diberi aquades per oral sebanyak  $x$  ml/ 20 g BB mencit per hari selama 14 hari berturut-turut, dimana pada hari ke 12, 13, dan 14 juga diberi parasetamol 0,05 ml/ 20 g BB mencit per oral per hari.
- c. KP<sub>2</sub> = Kelompok perlakuan II diberi jus paprika merah per oral dengan dosis  $x$  ml/ 20 g BB mencit per hari selama 14 hari berturut-turut, dimana hari ke-12, 13, dan 14 diberikan juga parasetamol per oral dengan dosis 0,05 ml/ 20 g BB mencit per hari setelah 1 jam pemberian jus paprika merah.
- d. KP<sub>3</sub> = Kelompok perlakuan III diberi jus paprika merah dosis II per oral yaitu  $2x$  ml/ 20 g BB mencit per hari selama 14 hari berturut-turut, dimana hari ke-12, 13, dan 14

diberikan juga parasetamol per oral dosis 0,05 ml/ 20 g BB mencit per hari setelah 1 jam pemberian jus paprika merah.

Setiap sebelum pemberian parasetamol dan jus paprika merah, mencit dipuaskan dahulu  $\pm 5$  jam untuk mengosongkan lambung. Pemberian parasetamol dilakukan  $\pm 1$  jam setelah pemberian jus paprika merah agar jus paprika merah terabsorpsi terlebih dahulu. Diluar waktu puasa dan perlakuan, mencit diberi makan berupa pellet dan minum air PAM *ad libitum*.

#### 5. Pemberian perlakuan



**Gambar 3.2** Skema Pemberian Perlakuan

## 6. Pengukuran hasil.

Pada hari ke-15 setelah perlakuan diberikan, semua hewan percobaan dikorbankan dengan cara *neck dislocation*. Hal ini dilakukan pada hari ke-15 agar efek dari perlakuan masih tampak nyata. Dari tiap mencit diambil ginjal kanan dan ginjal kiri, kemudian masing-masing ginjal dibuat 2 irisan secara frontal pada daerah pertengahan ginjal (untuk keseragaman) dengan ketebalan tiap irisan ginjal  $\pm 5-7 \mu\text{m}$ . Jarak antara irisan satu dengan yang lain adalah  $\pm 25$  irisan sehingga dari tiap mencit, jumlah preparat yang dibuat adalah 4 preparat. Preparat ginjal dibuat dengan metode blok parafin dengan pengecatan Hematoksin Eosin (HE).

Pengamatan preparat jaringan ginjal mula-mula dilakukan dengan perbesaran 100 kali untuk mengamati seluruh bagian irisan, kemudian ditentukan tubulus proksimal yang terletak pada pars konvoluta korteks ginjal. Pengamatan dilanjutkan dengan perbesaran 400 kali untuk mengamati sel epitel tubulus proksimal ginjal. Selanjutnya, pengamatan dilakukan dengan perbesaran 1000 kali untuk melihat dan membedakan inti sel yang piknosis, karioreksis, dan kariolisis dengan lebih jelas.

Pengamatan dilakukan pada tubulus proksimal ginjal karena pada tubulus proksimal terjadi absorpsi dan sekresi aktif serta kadar sitokrom P<sub>450</sub> lebih tinggi untuk mendetoksifikasi atau mengaktifkan

toksikan sehingga lebih mudah untuk mengalami kerusakan (Zlatkovic *et al.*, 1998).

Untuk mengetahui sel-sel epitel tubulus proksimal yang mengalami kerusakan, maka dari tiap irisan atau preparat ditentukan secara acak 1 daerah di pars konvoluta korteks ginjal kemudian pada tiap daerah tersebut dihitung jumlah sel epitel tubulus proksimal yang mengalami kerusakan dari tiap 50 sel epitel tubulus proksimal yang ada di daerah tersebut. Jika pada suatu daerah di pars konvoluta korteks ginjal terdapat 10 sel epitel tubulus proksimal dengan inti piknosis, 5 sel dengan inti karioreksis, dan 15 sel dengan inti kariolisis, maka jumlah sel epitel tubulus proksimal yang mengalami kerusakan adalah:

$$10 + 5 + 15 = 30$$

Setiap mencit diperoleh 4 nilai mengenai jumlah sel epitel tubulus proksimal yang mengalami kerusakan. Jadi setiap kelompok mencit mempunyai 28 nilai mengenai jumlah sel epitel tubulus proksimal yang mengalami kerusakan. Rata-rata dari 28 nilai inilah yang nantinya dianalisis dengan uji statistik.

## H. Teknik Analisis Data Statistik

Data yang diperoleh akan diuji menggunakan uji statistik *One-Way ANOVA*. Jika terdapat perbedaan yang bermakna, maka dilanjutkan dengan uji *Post Hoc Multiple Comparisons* (Riwidikdo, 2007).

## BAB IV

### HASIL PENELITIAN

#### A. Data Hasil Penelitian

Penelitian ini dilakukan di Laboratorium Histologi, Fakultas Kedokteran Universitas Sebelas Maret dengan menggunakan 28 mencit yang dibagi menjadi 4 kelompok, yaitu: KK (Aquades), KP<sub>1</sub> (Aquades+Parasetamol dosis toksik), KP<sub>2</sub> (Paprika dosis 1+Parasetamol dosis toksik), dan KP<sub>3</sub> (Paprika dosis 2+Parasetamol dosis toksik). Dari keempat kelompok tersebut, dinilai jumlah kerusakan histologis dari ginjal mencit. Data hasil penelitian ini berupa data rasio yaitu jumlah kerusakan histologis sel epitel tubulus proksimal ginjal. Hasil pengamatan jumlah inti sel epitel tubulus proksimal ginjal yang mengalami piknosis, karioreksis, dan kariolisis untuk masing-masing kelompok dan skornya disajikan pada lampiran 3.

**Tabel 4.1** Rerata Jumlah Kerusakan Histologis Sel epitel Tubulus Proksimal Ginjal pada Masing-masing Kelompok Mencit

<b>Kelompok</b>	<b>Rerata Jumlah</b>	<b>SD</b>
KK (Aquades)	10.39	1.56
KP <sub>1</sub> (Aquades+Parasetamol)	24.86	2.40
KP <sub>2</sub> ( Paprika dosis 1+Parasetamol)	17.93	1.77
KP <sub>3</sub> ( Paprika dosis 2+Parasetamol)	13.61	1.50

(Sumber: Data Primer,2011)

Dari Tabel 4.1, dapat dilihat bahwa rerata jumlah kerusakan yang paling tinggi terdapat pada kelompok KP<sub>1</sub> yaitu  $24.86 \pm 2.40$  dan rerata

*commit to user*

jumlah kerusakan paling rendah adalah pada kelompok KK yaitu  $10.39 \pm 1.56$ .

Gambaran histologis (fotomikrograf) tubulus proksimal pars konvoluta korteks ginjal mencit yang ditandai dengan piknosis, karioreksis, dan kariolisis. KK dapat dilihat pada lampiran 5 gambar 2, KP<sub>1</sub> pada lampiran 5 gambar 3, KP<sub>2</sub> pada lampiran 5 gambar 4, dan KP<sub>3</sub> pada lampiran 5 gambar 5.

## B. Analisis Data

Data yang diperoleh dari hasil penelitian dianalisis menggunakan program komputer *Statistical Product and Service Solution (SPSS) 16.0 for Windows*. Untuk mengetahui apakah terdapat perbedaan jumlah rerata kerusakan sel epitel tubulus proksimal ginjal yang bermakna antara kelompok kontrol dengan kelompok perlakuan parasetamol menggunakan uji t-independen. Adapun syarat untuk uji t-independen adalah variabel kontinu, sebaran data normal, dan variansi kedua kelompok dapat sama atau berbeda (untuk 2 kelompok). Metode analitik yang dapat digunakan untuk menentukan sebaran data normal atau tidak normal adalah uji Kolmogorov-Smirnov (sampel > 50).

**Tabel 4.2** Uji Normalitas Penyebaran Data dengan Uji Kolmogorov-Smirnov

Kelompok Perlakuan	p	Keterangan
KK (Aquades)	0.200	Distribusi normal
KP <sub>1</sub> (Aquades+Parasetamol)	0.130	Distribusi normal

Dari Tabel 4.2 pada uji normalitas penyebaran data dengan Kolmogorov-Smirnov, jumlah kerusakan sel ginjal mencit pada kelompok



KK mempunyai nilai  $p = 0.200$  dan nilai  $p$  pada kelompok  $KP_1 = 0.130$ . Karena nilai  $p > 0.05$ , dapat disimpulkan bahwa jumlah kerusakan sel ginjal mencit pada kelompok KK dan  $KP_1$  terdistribusi normal sehingga memenuhi syarat untuk dilakukan pengolahan dengan uji t-independen.

**Tabel 4.3** Hasil Analisis Data dengan Uji t-independen pada Kelompok KK dan  $KP_1$  terhadap Kerusakan Sel Ginjal Mencit

Kelompok Perlakuan	N	Mean	SD	t	p
KK (Aquades)	28	10.39	1.56	-26.67	< 0.001
$KP_1$ (Aquades+Parasetamol)	28	24.86	2.40		

Hasil uji statistik dengan Uji t-independen pada Tabel 4.3, didapatkan nilai kemaknaan  $p < 0.001$ . Hal ini menunjukkan bahwa terdapat perbedaan jumlah kerusakan sel ginjal mencit yang bermakna secara statistik antara kelompok KK dan  $KP_1$ . Pada kelompok  $KP_1$  yang diberi parasetamol berhasil menimbulkan kerusakan pada sel epitel tubulus proksimal ginjal mencit bila dibandingkan dengan kelompok KK.

Untuk mengetahui perbedaan jumlah rerata kerusakan sel epitel tubulus proksimal ginjal yang bermakna antara keempat kelompok dengan uji *One-Way* ANOVA. Adapun syarat untuk uji *One-Way* ANOVA adalah variabel kontinu, sebaran data normal, dan variansi antarkelompok harus sama. Metode analitik yang dapat digunakan untuk menentukan sebaran data normal atau tidak normal adalah uji Kolmogorov-Smirnov (sampel > 50).

**Tabel 4.4** Hasil Uji Normalitas Penyebaran Data dengan Uji Kolmogorov-Smirnov

Kelompok Perlakuan	p	Keterangan
KK (Aquades)	0.200	Distribusi normal
KP <sub>1</sub> (Aquades+Parasetamol)	0.130	Distribusi normal
KP <sub>2</sub> ( Paprika dosis 1+Parasetamol)	0.068	Distribusi normal
KP <sub>3</sub> ( Paprika dosis 2+Parasetamol)	0.127	Distribusi normal

Hasil uji normalitas penyebaran data dengan Kolmogorov-Smirnov dari Tabel 4.4 pada kelompok KK, KP<sub>1</sub>, KP<sub>2</sub>, dan KP<sub>3</sub> secara berturut-turut didapatkan nilai  $p = 0.200$ ;  $0.130$ ;  $0.068$ ; dan  $0.127$ . Dari keempat kelompok didapatkan nilai  $p > 0.05$ , hal ini menunjukkan bahwa data terdistribusi normal. Dari uji *Homogeneity of Variances* pada lampiran 4, Tabel 8 didapatkan nilai  $p = 0.192$ . Karena nilai  $p > 0.05$  pada uji *Homogeneity of Variances*, maka dapat disimpulkan bahwa varians data antarkelompok sama sehingga memenuhi syarat untuk dilakukan pengolahan dengan uji *One-Way ANOVA*.

**Tabel 4.5** Hasil Uji Anova Berdasarkan Perbandingan Antarkelompok pada Pemberian Paprika Merah

Kelompok Perlakuan	N	Mean	SD	F	p
KK (Aquades)	28	10.39	1.57	322.75	< 0.001
KP1 (Aquades+Parasetamol)	28	24.86	2.40		
KP2( Paprika dosis 1+ Parasetamol)	28	17.93	1.77		
KP3 (Paprika dosis 2+Parasetamol)	28	13.61	1.50		
Total	112	66.79	7.24		

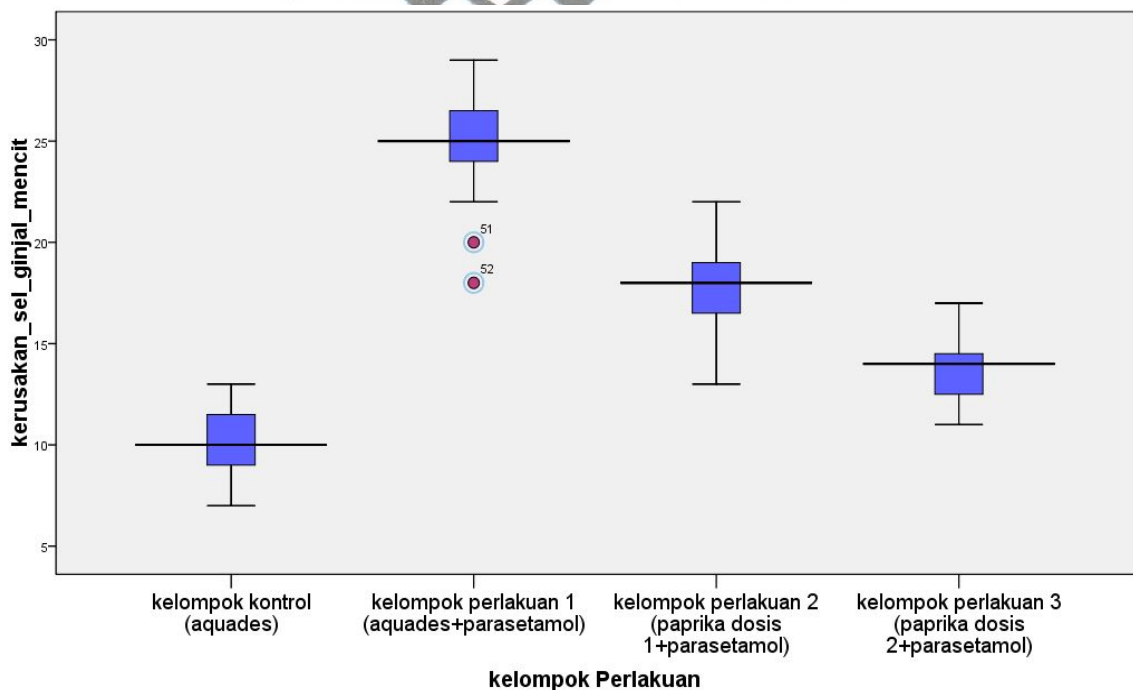
Dari hasil uji Anova pada Tabel 4.5 didapatkan nilai  $p < 0.001$ , hal ini menunjukkan bahwa terdapat perbedaan jumlah rerata kerusakan histologis sel epitel tubulus proksimal ginjal yang bermakna antarkelompok (KK, KP<sub>1</sub>, KP<sub>2</sub>, dan KP<sub>3</sub>). Karena nilai  $p$  dari hasil uji

Anova < 0.001, maka hasil uji statistik dapat dilanjutkan dengan uji *Post Hoc Multiple Comparisons* untuk mengetahui kelompok mana yang mempunyai perbedaan yang bermakna.

**Tabel 4.6** Hasil Uji *Post Hoc Multiple Comparisons* Perbedaan Kerusakan Sel Ginjal Mencit Antarkelompok terhadap Pemberian Jus Paprika Merah

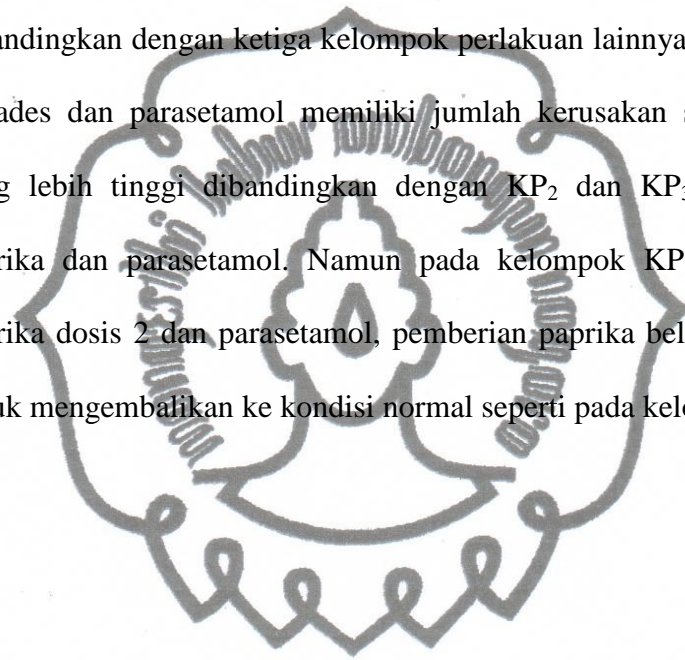
Kelompok I	Kelompok II	Beda Mean	p
KK (Aquades)	KP1 (Aquades+Parasetamol)	-14.46	< 0.001
	KP2( Paprika dosis 1+ Parasetamol)	-7.54	< 0.001
	KP3( Paprika dosis 2+ Parasetamol)	-3.21	< 0.001
KP1 (Aquades+Parasetamol)	KP2( Paprika dosis 1+ Parasetamol)	6.93	< 0.001
	KP3( Paprika dosis 2+ Parasetamol)	11.25	< 0.001
KP2( Paprika dosis 1+ Parasetamol)	KP3( Paprika dosis 2+ Parasetamol)	4.32	< 0.001

Uji *Post Hoc Multiple Comparisons* yang digunakan dalam penelitian ini adalah uji LSD. Dari hasil uji *Post Hoc*, Tabel 4.6 pada keempat kelompok didapatkan bahwa nilai  $p < 0.001$ . Hal ini menunjukkan adanya perbedaan kerusakan sel epitel ginjal mencit yang berbeda secara bermakna pada semua kelompok data.



**Gambar 4.1** Boxplot Perbandingan Kerusakan Sel Ginjal pada Empat Kelompok

Gambar 4.1 menunjukkan dengan lebih jelas perbedaan jumlah kerusakan sel epitel ginjal mencit pada keempat kelompok. Dari gambar di atas, dapat diperoleh informasi bahwa kelompok KK yang diberi aquades memiliki jumlah kerusakan sel ginjal mencit yang lebih rendah dibandingkan dengan ketiga kelompok perlakuan lainnya. KP<sub>1</sub> yang diberi aquades dan parasetamol memiliki jumlah kerusakan sel ginjal mencit yang lebih tinggi dibandingkan dengan KP<sub>2</sub> dan KP<sub>3</sub> yang diberikan paprika dan parasetamol. Namun pada kelompok KP<sub>3</sub> yang diberikan paprika dosis 2 dan parasetamol, pemberian paprika belum cukup efektif untuk mengembalikan ke kondisi normal seperti pada kelompok KK.



## BAB V

### PEMBAHASAN

Tubulus proksimal adalah segmen terpanjang dari nefron dan merupakan bagian terbesar dari korteks ginjal. Epitel yang melapisi tubulus ini adalah epitel kuboid selapis dengan *brush border* yang mencolok, batas sel tidak jelas. Sel-selnya memiliki satu inti bulat di dalam sitoplasma eosinofilik bergranula (Fawcett, 2002; Gartner dan Hiatt, 2007).

Dari 28 mencit dibagi menjadi empat kelompok yaitu, KK yang diberikan aquades saja, KP<sub>1</sub> yang diberi aquades dan parasetamol, KP<sub>2</sub> diberi jus paprika merah dosis 1 dan parasetamol, serta KP<sub>3</sub> diberi jus paprika merah dosis 2 dan parasetamol. Didapatkan bahwa sel epitel tubulus proksimal ginjal mencit yang dipapar dengan parasetamol dosis toksik akan mengalami kerusakan yang digambarkan dengan inti sel yang piknosis, karioreksis, dan kariolisis.

Kelompok kontrol digunakan sebagai pembanding terhadap kelompok perlakuan parasetamol dan dengan kelompok perlakuan paprika merah yang diberi parasetamol dimana pemberian aquades pada kelompok kontrol hanya sebagai plasebo saja. Pemberian jus paprika merah yang diikuti dengan pemberian parasetamol dosis toksik menunjukkan hasil berupa kerusakan sel epitel tubulus proksimal ginjal yang lebih sedikit jika dibandingkan dengan pemberian parasetamol tanpa jus paprika merah. Hal ini menunjukkan bahwa jus paprika merah memiliki efek nefroprotektif terhadap efek toksik parasetamol.

Kelompok kontrol juga memperlihatkan gambaran inti piknosis, karioreksis, dan kariolisis. Hal ini terjadi karena adanya proses apoptosis (kematian sel yang terprogram) yang secara fisiologi dialami oleh semua sel normal. Setiap sel dalam tubuh akan selalu mengalami penuaan yang diakhiri kematian sel dan digantikan oleh sel-sel baru yang sama fungsinya melalui proses regenerasi (Cotran, 2007; Underwood, 1999). Selain itu, pengaruh variabel luar yang tidak dapat dikendalikan juga dapat menjadi penyebab adanya gambaran inti piknosis, karioreksis, dan kariolisis pada kelompok kontrol.

Berdasarkan hasil uji t-independen, Tabel 4.3 pada kedua kelompok, KK (aquades) dengan kelompok KP<sub>1</sub> (aquades+parasetamol) didapatkan bahwa jumlah kerusakan sel epitel tubulus proksimal pada KP<sub>1</sub> lebih tinggi dibandingkan dengan kelompok KK. Hal ini sesuai dengan teori bahwa parasetamol dosis toksik mampu menginduksi kerusakan sel epitel tubulus proksimal ginjal akibat NAPQI yang reaktif dan toksik. NAPQI mengandung ion superoksida/radikal bebas oksigen/O<sub>2</sub><sup>-</sup> yang merupakan oksidan bagi sel. NAPQI akan bereaksi dengan gugus nukleofilik pada protein, DNA, dan mitokondria, serta menimbulkan stres oksidatif sehingga dapat menyebabkan kematian sel (Katzung, 2002; Wilmana, 2007; Rubin *et al.*, 2005).

Dari hasil uji *One-Way* ANOVA, Tabel 4.5 didapatkan nilai  $p < 0.001$  sehingga H<sub>0</sub> ditolak, artinya terdapat perbedaan yang bermakna dari nilai rerata jumlah kerusakan histologis sel epitel tubulus proksimal ginjal antara keempat kelompok.

Hasil uji *Post Hoc Multiple Comparisons*, Tabel 4.6 menunjukkan bahwa ada perbedaan bermakna kerusakan sel epitel ginjal mencit pada semua kelompok perlakuan. Hasil analisis kerusakan sel epitel tubulus proksimal ginjal pada kelompok KK menunjukkan perbedaan bermakna dengan kelompok KP<sub>1</sub>, begitupun dengan kelompok KP<sub>2</sub> dan KP<sub>3</sub> juga menunjukkan perbedaan bermakna dengan kelompok KP<sub>1</sub>.

Pemberian jus paprika merah dosis I (x ml/20 g BB mencit) yang diikuti dengan pemberian parasetamol pada kelompok KP<sub>2</sub> dapat mengurangi kerusakan sel epitel tubulus proksimal, namun belum dapat mengembalikan sel epitel tubulus proksimal ginjal ke kondisi seperti kelompok KK. Begitupun dengan pemberian jus paprika merah dosis II (2x ml/20 g BB mencit) dan parasetamol pada kelompok KP<sub>3</sub> dapat mengurangi kerusakan sel epitel tubulus proksimal lebih baik daripada kelompok KP<sub>2</sub> tetapi tidak dapat mengembalikan sel epitel tubulus proksimal ginjal ke kondisi seperti kelompok KK. Hal ini menunjukkan pemberian jus paprika merah dosis II (2x ml/20 g BB mencit) masih kurang optimal untuk melindungi sel ginjal dari kerusakan yang ditimbulkan oleh parasetamol.

Peningkatan dosis jus paprika dapat memperbaiki kerusakan sel ginjal mencit yang diinduksi parasetamol. Jika dibandingkan antara KP<sub>2</sub> dan KP<sub>3</sub>, derajat kerusakan sel epitel tubulus proksimal ginjal pada kelompok KP<sub>3</sub> lebih sedikit daripada kelompok KP<sub>2</sub>. Hal ini menandakan bahwa peningkatan dosis jus paprika merah dapat meningkatkan efek proteksi sebagai preventif dalam mengurangi kerusakan sel epitel tubulus proksimal ginjal mencit yang diinduksi

parasetamol. Namun bila dibandingkan dengan kelompok KK, jus paprika tidak dapat mencegah kerusakan sel ginjal mencit yang diakibatkan induksi parasetamol. Hal ini menandakan bahwa jus paprika berhasil sebagai preventif, tapi tidak memberikan arti yang bermakna bila digunakan sebagai pengobatan.

Jus paprika merah dapat mengurangi kerusakan sel epitel tubulus proksimal ginjal yang dipapar parasetamol karena mengandung zat antioksidan yang mampu mencegah dan menghambat efek toksik parasetamol. Antioksidan yang dimiliki paprika merah, antara lain vitamin A, vitamin C, vitamin E,  $\beta$ -karoten, *capsanthin*, dan likopen. Antioksidan tersebut bekerja dengan cara mendonorkan satu elektron kepada molekul radikal bebas dan memutus reaksi berantai dari radikal bebas ini sehingga dapat mencegah terjadinya stres oksidatif (Almatsier, 2004).

Karotenoid sebagai senyawa antioksidan dapat melindungi tubuh dari stres oksidatif. *Capsanthin* adalah jenis karotenoid terbanyak pada paprika merah. Menurut Aizawa (2009), *capsanthin* mempunyai aktivitas antioksidan dengan mengikat oksigen tunggal yang dimiliki NAPQI. Betakaroten dapat mengurangi konsentrasi radikal peroksil dengan meningkatkan kadar *glutathione* tubuh. Peningkatan kadar *glutathione* akan mengisi kekosongannya di dalam tubuh serta dapat digunakan untuk konjugasi NAPQI sehingga toksisitas ginjal karena ikatan kovalen ini dengan protein dapat dikurangi (Astawan 2009; Frank, 1995). Hasil penelitian yang didapatkan para peneliti tersebut mendukung hasil penelitian ini bahwa jus paprika merah dapat memberikan efek proteksi terhadap kerusakan sel epitel tubulus proksimal ginjal.



## BAB VI

### SIMPULAN DAN SARAN

#### A. Simpulan

Berdasarkan hasil penelitian dan pembahasan, maka dapat disimpulkan:

1. Jus paprika merah mempunyai efek proteksi terhadap kerusakan sel epitel tubulus proksimal ginjal mencit yang diinduksi parasetamol ( $p < 0.001$ ).
2. Peningkatan dosis jus paprika merah dari dosis I (x ml/20 g BB mencit) menjadi dosis II (2x ml/20 g BB mencit) dapat meningkatkan efek proteksinya terhadap kerusakan sel epitel tubulus proksimal ginjal mencit yang diinduksi parasetamol meskipun belum dapat mencapai derajat normal.

#### B. Saran

1. Perlu dilakukan penelitian lebih lanjut dengan menggunakan dosis dan lama pemberian jus paprika merah yang lebih bervariasi sehingga dapat diketahui dosis dan lama pemberian jus paprika merah yang paling tepat dan efektif untuk mengurangi kerusakan sel ginjal.
2. Perlu dilakukan penelitian lanjutan dengan sarana dan prasarana yang lebih canggih sehingga didapatkan data yang lebih lengkap tentang fungsi nefroprotektor dari masing-masing kandungan pada paprika merah.