



**PENGARUH KITOSAN TERHADAP SITOLOGI GINJAL
TIKUS PUTIH (*Rattus sp.*) JANTAN YANG DIPAPARI PLUMBUM
ASETAT**

***Effect of Chitosan On Kidney Cytology
White Rat (*Rattus sp.*) That are Exposed Plumbum Acetate***

Ulina Catarina Jenni Simatupang*

Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam,
Universitas Dian Nusantara
Jl. Jamin Ginting No.1

*Corresponding author: E-mail: Cat07lala@yahoo.co.id

Abstrak

Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui pengaruh kitosan pada ginjal tikus (*Rattus sp.*) Yang terpapar pada timbal asetat. Tiga puluh lima ekor hewan jantan dengan berat 250g dibagi menjadi 7 kelompok: K kelompok sebagai kontrol (tanpa perlakuan), P1 diberi Pb (40 mg / kg bb timbal asetat), sedangkan P2, P3, dan P4, semuanya menerima Pb (40 mg / Kg bb) dan kitosan (masing-masing 0,5%, 0,75%, dan 1%). Kelompok P5 hanya menerima kitosan (1%) dan kelompok P6 mendapat asam asetat 1%. Setelah 7 minggu menjalani perlakuan, hewan-hewan tersebut dikorbankan dan ginjalnya diambil untuk diamati. Kerusakan ginjal diamati secara mikroskopis. Dari hasil penelitian menunjukkan, perlakuan Pb (40 mg / kg bb) pada tikus jantan menyebabkan kerusakan mikroskopis ginjal dan pemberian kitosan mampu menurunkan kerusakan mikroskopis ginjal yang diakibatkan Pb tersebut. Kesimpulannya, kitosan memiliki kemampuan untuk mengurangi kerusakan mikrostruktur ginjal tikus yang terpapar Pb.

kata kunci : Pb, Kitosan, Ginjal

Abstract

The study aimed to determine the effect of chitosan on the kidney of rats (*Rattus sp.*) exposed to lead acetate. Thirty five male animals weighing 250g were divided into 7 groups: K group as a control (without treatment), P1 received Pb (40 mg/kg bw as lead acetate), while P2, P3, and P4, all received Pb (40 mg/kg bw) and chitosan (0,5%, 0,75%, and 1% respectively). P5 group received only chitosan (1%) and P6 group received acetic acid. After 7 weeks of treatment, the animals were sacrificed and the kidneys were isolated. Kidney damage was observed with microscopis. Result showed, treatment of Pb (40 mg/kg bw) in male rats caused damage microscopis. Chitosan able to decrease kidney damage resulted from Pb treatment. In conclusion, chitosan has the ability to reduce residue of Pb as well as microstructure damage of rat kidney exposed to Pb.

Keywords : Pb, Chitosan, Kidny

How to Cite: Simatupang, U.C.J., (2017), Pengaruh Kitosan Terhadap Sitologi Ginjal Tikus Putih (*Rattus sp.*) Jantan Yang Dipapari Plumbum Asetat, *BioLink*, Vol. 3 (2), Hal: 176-182

PENDAHULUAN

Plumbum (Pb) adalah logam toksis yang paling populer di antara logam toksik lainnya, karena logam ini banyak digunakan dalam proses industri dan campuran logam dalam peralatan rumah tangga (Darmono, 2009). Senyawa yang berbentuk PbCrO digunakan dalam industri cat, senyawa Pb-silikat digunakan sebagai bahan pengkilap keramik. Pada bahan kendaraan bermotor sebagai anti *knocing* yang berfungsi menaikkan angka oktan digunakan *tetraetyllled* (TEL) (WHO,1977; Palar 2004).

Absorpsi Pb yang dihirup tergantung dari bentuk, dapat berbentuk uap/partikel dan kira-kira 90% partikel Pb diabsorpsi melalui saluran napas (Syarif, 2007).

Dalam eritrosit waktu paruh Pb adalah selama 35 hari, dalam jaringan ginjal dan hati selama 40 hari, sedangkan waktu paruh dalam tulang adalah selama 25 tahun. Pb akan diekskresikan melalui sistem urinaria adalah sebesar 76 %, gastrointestinal 16% dan pada rambut, kuku serta keringat 8% (Klassaen *et al.*, 1986).

Pb yang terdapat dalam ginjal, akan diekskresikan melalui glomerulus. Dalam prosesnya logam berat yang difiltrasi melalui glomerulus dapat direabsorpsi kembali oleh sel tubulus sehingga sel tubuluslah yang paling sering mengalami kerusakan (Alatas *et al.*, 2002).

Kitosan memiliki kemampuan untuk membentuk sebuah membran yang berfungsi sebagai adsorben/penjerap yang dapat menyerap logam berat, seperti Zn, Cd, Pb, Mg dan Fe (Knorr, 1984). Menurut Hardjito & Linawati (2006) kitosan

belum memiliki dampak negatif bagi tubuh manusia.

METODE PENELITIAN

Alat dan bahan yang digunakan untuk memelihara hewan uji adalah; kandang hewan, jarum gavage, timbangan digital, Pb, serbuk kitosan, asam asetat 1%.

Alat yang digunakan untuk membuat preparat histologi ginjal adalah; botol winkler, oven, hotplate, kayu holder, mikrotum, pisau mikrotum, chumber box, timbang digital, gelas ukur, erlenmeyer, mikroskop, botol balsem, botol film, objek glass, cover glass, kuas, aquadest, alkohol 100%, 96%, 80%, 70%, 60%, 50%, 40%, 30%, H₂SO₄ pekat, asam pikrat, formalin 4%, parafin, pewarna *hematoxylin* dan eosin, canada balsam, xylol.

Penelitian ini merupakan penelitian eksperimental dengan menggunakan Rancangan Acak Lengkap (RAL). Besar sampel yang digunakan pada penelitian ini berdasarkan rumus Federer (1963):

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

t = kelompok perlakuan

n = jumlah sampel tiap kelompok

Sampel yang digunakan, 35 ekor tikus putih jantan yang dibagi secara acak dalam 7 kelompok, dimana tiap kelompok berisikan 5 ekor tikus putih. Semua tikus perlakuan diberikan makan biasa dan minum secara oral selama 7 minggu, dimana perlakuannya sebagai berikut:

K =Tanpa perlakuan (kontrol).

P1=Perlakuan Pb asetat selama 7 minggu.

P2 =Perlakuan Pb asetat selama 7 minggu dan kitosan 0,5% selama 5 minggu terakhir.

P3= Perlakuan Pb asetat selama 7 minggu dan kitosan 0,75% selama 5 minggu terakhir.

P4=Perlakuan Pb asetat selama 7 minggu dan kitosan 1% selama 5 minggu terakhir.

P5=Perlakuan kitosan 1% selama 7 minggu.

P6=Perlakuan pelarut asam asetat 1% selama 7 minggu.

Plumbum asetat (Pb)

Plumbum asetat dalam penelitian ini diberikan dalam bentuk cairan sebanyak 40mg/KgBB/hari (Napitupulu, 2008), yang dilarutkan dalam aquades 0,5 ml dan diberikan secara oral dengan menggunakan jarum *gavage*.

Kitosan

Kitosan yang diberikan pada penelitian ini berasal dari kulit udang dan telah diolah sehingga memiliki derajat destilisasi (DD) sebesar 80% (Kusumawati, 2009) dan dalam bentuk larutan dengan pelarut asam asetat sebesar 1% (Knoor, 1982; Purwoningsih, 2008). Kitosan diberikan secara oral dengan menggunakan jarum *gavage* sebanyak 0,5 ml.

Pemeriksaan Sel Nefron Ginjal

Pengamatan sel ginjal dilakukan dengan melakukan pembacaan keadaan mikroskopis sel pada lima lapangan pandang dengan pembesaran mikroskop sebesar 400X.

Sasaran yang diamati berupa pembengkakan sel-sel epitel tubulus (*hyperplasia*), pelebaran lumen tubulus, pelebaran ruang bowman, *piknosis* (pengerutan inti), *karyomegali* (pembesaran inti), pembentukan *intranuclear inclusion bodies* (benda-benda inklusi), adanya runtuhnya sel dan vakuolisasi lumen tubulus (Hariono, 2006; Alatas, 2002; Anggreni, 2008)

Jumlah presentase kerusakan kemudian dirata-ratakan dan disesuaikan dengan kriteria skoring. Derajat kerusakan sitologi ginjal dikuantitatifkan sebagai berikut;

- 0 = Tidak ada kerusakan sitologi
- 1 = 0-25% kriteria kerusakan
- 2 = 25%-50% kriteria kerusakan
- 3 = Lebih 50% kriteria kerusakan (Danuari, 2009).

Untuk menguji perbedaan masing-masing data sitologi dari mikrostruktur ginjal pada setiap kelompok percobaan, maka data penelitian yang diperoleh dianalisa dengan menggunakan uji non parametrik Kruskal-Wallis. Pada data yang bernilai $p < 0,05$, untuk membandingkan data antar kelompok perilaku dilanjutkan dengan uji Man-Whitney. Jika data yang ditemukan $p > 0,05$, maka pengujian tidak dilanjutkan lagi.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Derajat kerusakan pada sitologi ginjal tikus putih (*Rattus sp.*) jantan pada akibat pemberian Pb, terlihat sebagai berikut:

Tabel 1. Kerusakan Mikrostruktur Ginjal Tikus Putih (*Rattus sp.*) Setelah

Perlakuan Pb dan Pb+Kitosan Dengan Konsentrasi Berbeda

Kelompok	Derajat Kerusakan Mikrostruktur Ginjal (%)				Notasi
	0	1	2	3	
K	-	60	40	-	a
P1	-	-	-	100	b
P2	-	-	80	20	c
P3	-	20	60	20	ac
P4	-	20	60	20	ac
P5	-	80	20	-	ac
P6	-	80	20	-	ac

Keterangan:

K=kontrol; 0,75% P1=Pb; P2=Pb+kitosan 0,5%; P3=Pb+kitosan; P4=Pb+kitosan 1%; P5=kitosan 1%; P6=asam asetat 1%.

Hasil pengamatan mikrostruktur, menunjukkan mikrostruktur ginjal tikus putih (*Rattus sp.*) yang tidak diberikan perlakuan apapun (kontrol) ternyata tetap menunjukkan adanya perubahan pada sel-sel nefron ginjal secara mikrostruktur. Pada kelompok K, ditemukan beberapa sel yang mengalami piknosis, pelebaran ruangan Bowman dan adanya benda-benda inklusi (*intranuclear inclusion bodies*), hal tersebut dimungkinkan terjadi karena ditemukannya sejumlah kecil residu Pb di dalam ginjal tikus putih (*Rattus sp.*) kelompok K (kontrol). Menurut Ardyanto (2005), secara normal makhluk hidup tetap dapat terpapar Pb melalui saluran udara, pipa saluran air ataupun bahan makanan yang masuk kedalam saluran pencernaan tikus.

Dari tabel diatas menunjukkan kelompok P1 memiliki mikrostruktur ginjal yang paling banyak mengalami kerusakan hal tersebut ditandai dengan ditemukannya sel-sel tubulusnya mengalami pelebaran dan juga pelebaran pada ruang kapsul Bowman,

adanya benda- benda inklusi pada inti sel (*intranuclear inclusion bodies*), inti sel yang mengalami pembesaran (*Karyomegali*), inti sel yang mengecil (*piknosis*), adanya runtuh sel dan adanya vakuolisasi sesuai dengan pernyataan Alatas (2002), bahwa masuknya logam berat kedalam ginjal dapat mengenai hampir semua struktur subselular dari ginjal, seperti kerusakan pada membran sel, inti sel (pembentukan *intranuclear inclusion bodies*). Kelompok perlakuan pemberian P1 memiliki jumlah derajat kerusakan mikrostruktur yang lebih banyak dibandingkan dengan kelompok lainnya. Keadaan tersebut menunjukkan pada kelompok P1 terjadi akumulasi Pb pada tubulus ginjal sesuai dengan pernyataan (Amzad *et al.*, 2013).

Pada kelompok P2, P3, P4 dan P5 menunjukkan terjadinya pengurangan jumlah dari benda-benda inklusi (*intranuclear inclusion bodies*). Penurunan jumlah benda-benda inklusi (*intranuclear inclusion bodies*) menunjukkan bahwasanya kitosan dapat mengurangi efek kerusakan mikrostruktur ginjal akibat terpapar Pb. Pada penelitian Daniel (2009), yang meneliti pembuatan membran *hemodialisa* dari kitosan menyatakan pembentukan membran kitosan dapat menghambat proses difusi makromolekul seperti albumin dari dalam ginjal, hal ini dikarenakan berat molekul dari albumin yang lebih besar dari kitosan, sehingga albumin tidak akan dapat menembus membran dari kitosan.

Menurut Seely (1999), dalam keadaan normal, glomerulus akan memfiltrasi molekul-molekul protein yang berukuran besar. Akan tetapi, pada

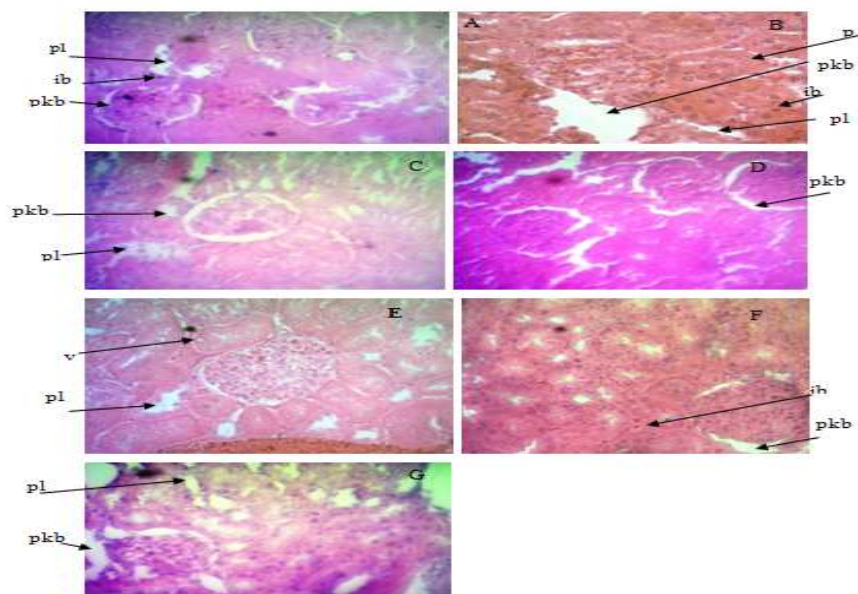
keadaan disfungsi glomerulus akibat bahan toksik, bahan-bahan asing akan lolos dengan mudah dan memasuki tubulus dalam jumlah berlebih. Hal ini akan memacu terjadinya kerusakan pada tubulus ginjal.

Hariono (2006) menyatakan bahwa pemberian Pb pada tikus putih akan menunjukkan adanya pelebaran konvulusus tubulus proksimal, terjadinya runtuhnya sel, pelebaran ruangan Bowman. Perubahan yang paling penting bagi ginjal yang terpapar Pb adalah ditemukan petunjuk berupa kerusakan sel yang parah juga adanya penemuan pengurangan jumlah glomerulus sehingga terjadi pelebaran ruangan Bowman pada mikrostruktur sel ginjal yang diamati, degenerasi dari beberapa sel epitel yang melapisi tubulus serta terjadinya penyempitan pada tubulus (Salah *et al.*, 2013).

Jika dibandingkan pada mikrostruktur kelompok tikus yang

diberikan Pb dengan kontrol juga kelompok tikus yang diberikan Pb dengan kelompok tikus yang diberikan Pb+kitosan dengan konsentrasi yang berbeda maka ditemukan tingkatan kerusakan mikrostruktur yang berbeda. Pada kelompok P1 banyak ditemukan bentuk glomerulus yang ukurannya mengecil sehingga membentuk ruang antara glomerulus dan kapsul Bowmannya. Pada mikrostruktur sel tikus putih (*Rattus sp.*) yang diberikan Pb ditemukan distribusi glomerulus yang tersisa berbentuk tidak teratur dengan kelainan yang tidak spesifik seperti sesekali terjadi pembengkakan, adanya distorsi organell dalam sitoplasma tetapi masih memiliki membran basement normal (Missoun *et al.*, 2010).

Gambaran lengkap sel-sel ginjal tikus putih (*Rattus sp.*) yang telah diberikan perlakuan selama 7 minggu seperti dibawah ini.



Gambar 1. Perubahan Sel-sel Ginjal Tikus Putih (*Rattus sp.*) Setelah Perlakuan Pb dan Pb+Kitosan Dengan Konsentrasi Berbeda.

A= K (Kontrol); B= P1 (Perlakuan Pb); C= P2 (Perlakuan Pb+Kitosan 0,5%); D= P3 (Perlakuan Pb+Kitosan 0,75%); E= P4 (Perlakuan Pb+Kitosan 1%); F= P5 (Perlakuan Kitosan 1%); G= P6 (Perlakuan asam asetat); pl (Pelebaran lumen tubulus); pkb (Pelebaran Ruang Kapsul Bowman); ib (*intranuclear inclusion bodies*); p (*pyknosis*); v (*Vakuolisasi*)

Pada pengujian statistik Kruskal-Wallis diperoleh $p=0,002$ ($p<0,05$) hasil perhitungan ini menunjukkan adanya perbedaan bermakna pada tiap perlakuan. Kemudian dilanjutkan dengan uji Man-Whitney, diperoleh adanya perbedaan yang bermakna pada kelompok K dengan P1; kelompok K dengan P2 dan kelompok P1 dengan P2; kelompok P1 dengan P3; kelompok P1 dengan P4; kelompok P1 dengan P5; kelompok P1 dengan P6 juga adanya perbedaan pada kelompok P2 dengan P5; kelompok P2 dengan P6. Hal ini membuktikan bahwa pemberian Pb dapat menyebabkan kerusakan mikrostruktur ginjal tikus putih (*Rattus sp.*) dan pemberian kitosan dengan konsentrasi yang berbeda akan menurunkan derajat kerusakan mikrostruktur ginjal tikus putih (*Rattus sp.*). Namun dari data yang diperoleh ditemukan derajat penurunan kerusakan mikroskopis ginjal tikus putih (*Rattus sp.*) setelah pemberian kitosan dengan konsentrasi berbeda tidak menunjukkan perbedaan yang bermakna ($p>0,05$).

SIMPULAN

Dari hasil penelitian terbukti pemberian Pb sebesar 40 mg/KgBB/hari pada tikus putih (*Rattus sp.*) jantan terbukti dapat merusak sel-sel penyusun nefron ginjal sehingga diperlukan kitosan mengurangi kerusakan sel-sel ginjal tersebut dan dari penelitian ini terbukti juga kemampuan kitosan sebagai pengkelat Pb.

DAFTAR PUSTAKA

- Ardyanto, D. 2005. Deteksi Pencemaran Timah Hitam (Pb) Dalam Darah Masyarakat yang Terpajan Timbal (Plumbum). *Jurnal Kesehatan Lingkungan*, Vol. 2, No. 1, Juli 2005 67-76.
- Alatas, H., Tambunan, T., Trihono, P.P., Pardede, S.O. 2002. *Buku Ajar Nefrologi Anak*. Edisi 2. Ikatan Dokter Anak Indonesia. Jakarta.
- Anggraini, D.R. 2008. *Gambaran Mikroskopis dan Makroskopis Hati dan Ginjal Mencit Akibat Pemberian Plumbum Asetat*. Sekolah Pasca Sarjana. Universitas Sumatera Utara. Medan.
- Daniel. 2009. Pembuatan dan Karakteristik Membran Kitosan yang Berasal dari Kulit Udang Sungai Mahakam. *Mulawarman Scientific*, Volume 8. No. 1, April 2009. ISSN 1412-498X
- Danuari, H. 2009. Analisa Enzim Alanin Amino Transfer (ALAT), Aspartat Amino Transfer (ASAT), Urea Darah dan Histopatologis Hati dan Ginjal Tikus Putih Galur Sprague-dawley Setelah Pemberian Angkak. *J. Teknol dan Industri Pangan*. Vol. XX No. 1. Thn 2009.
- Darmono.2009. *Farmasi Forensik dan Toksologi*. Universitas Indonesia. Jakarta.
- Federer, W.Y. 1963. *Experimental Design Theory and Application*. New York, Mac Millan. p: 544
- Hardjito., Linawati. 2006. *Ganti Formalin Dengan Khitosan* (Suara Merdeka Edisi Minggu 22 Januari).
- Hariono, B. 2006. Efek Pemberian Plumbum (Timah hitam) Organik Pada Tikus Putih (*Ratus norvegicus*). Bagian Patologi FKH UGM. *J. Sain Vet*. Vol. 24, No. 1.
- Kusumawati, N. 2009. Pemanfaatan Limbah Kulit Udang Sebagai Bahan Baku Pembuatan Membran Ultrafiltrasi. *Inotek*, Vol. 13, No. 2.
- Klasaaen, C.D., Amdur, M.O., Doull. J. 1986. *Toxicology The Basic Science of Poisons*. Macmilan Publishing Company. New York.
- Knorr, D. 1982. Function Properties of Chitin and Chitosan. *Journal of Food Science* 48; 36-41.
- Knorr, D. 1984. Function Properties of Chitin and Chitosan. *Journal of Food Science* 48; 36-41.
- Lubis, R., dan Usman, M. 2014. Pemanfaatan Kitosan dari Limbah Cangkang Kerang Bulu (*Anadara inflata*) Sebagai Bahan Penjernih Air Sungai. *BioLink*, Vol.1 (1) Juli 2014; Hal:35-39

- Napitupulu, R. R. J. 2008. *Pengaruh Pemberian Kalsium Secara Oral Terhadap Kadar Plumbum Dalam Darah Mencit (Mus musculus L)*. Sekolah Pasca Sarjana. Universitas Sumatera Utara. Medan.
- Palar, H. 2004. *Pencemaran dan Toksiologi Logam Berat*. Jakarta. Rineka Cipta.
- Salah, M., Farghali. A. A., Azmy. H., Khedr. M. 2013. Biological Compatibility of Carbon Nanotubes for Treatment of Pollution of Nile Tilapia (*Oreochromis Niloticus*) by Lead Acetate. *Life Science Journal*, 2013; 10 (2)
- Syarif, A. 2007. *Farmakologi dan Terapi*. Edisi 5. Departemen Farmakologi dan Terapeutik. Fakultas Kedokteran UI. Jakarta
- WHO. 1977. *Lead Environmental health*, Criteria No.3. Published Under The Joint Sponsorship of United Nation Environment and The Wo. 15-19; 68-74.rld Health Organization, Geneva.

