

**UJI POTENSI KITOSAN SEBAGAI ANTIDOT UNTUK LOGAM
MERKURI (Hg) PADA DARAH DAN GINJAL TIKUS (*Rattus norvegicus*)
YANG DIINDUKSI HgCl₂**

SKRIPSI

Oleh :

FITYA APRILLIA DALILATI

NIM. 13670030



JURUSAN FARMASI

FAKULTAS KEDOKTERAN DAN ILMU-ILMU KESEHATAN

UNIVERSITAS ISLAM NEGERI

MAULANA MALIK IBRAHIM MALANG

2018

**UJI POTENSI KITOSAN SEBAGAI ANTIDOT UNTUK LOGAM
MERKURI (Hg) PADA DARAH DAN GINJAL TIKUS (*Rattus novergicus*)
YANG DIINDUKSI HgCl₂**

SKRIPSI

Diajukan Kepada :
Fakultas Kedokteran dan Ilmu-ilmu Kesehatan
Universitas Islam Negeri Maulana Malik Ibrahim Malang
untuk Memenuhi Salah Satu Persyaratan dalam
Memperoleh Gelar Sarjana Farmasi (S.Farm)

Oleh :
FITYA APRILLIA DALILATI
NIM. 13670030

JURUSAN FARMASI
FAKULTAS KEDOKTERAN DAN ILMU-ILMU KESEHATAN
UNIVERSITAS ISLAM NEGERI MAULANA MALIK IBRAHIM
MALANG
2018

**UJI POTENSI KITOSAN SEBAGAI ANTIDOT UNTUK LOGAM
MERKURI (Hg) PADA DARAH DAN GINJAL TIKUS (*Rattus novergicus*)
YANG DIINDUKSI HgCl₂**

SKRIPSI

Oleh :
FITYA APRILLIA DALILATI
NIM. 13670030

Telah Diperiksa dan Disetujui untuk Diuji:
Tanggal : 15 Februari 2018

Pembimbing I

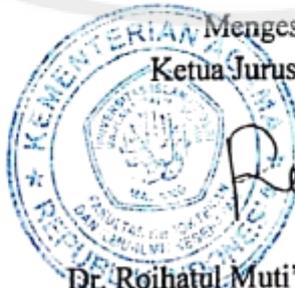
Begum Fauziyah, S.Si., M. Farm.
NIP. 19830628 200912 2004

Pembimbing II

Abdul Hakim, M.P. I., M. Farm., Apt.
NIP. 19761214 200912 1 002

Mengesahkan,

Ketua Jurusan Farmasi



Dr. Roihatul Muti'ah, M. Kes., Apt.
NIP. 19830628 200912 2004

**UJI POTENSI KITOSAN SEBAGAI ANTIDOT UNTUK LOGAM
MERKURI (Hg) PADA DARAH DAN GINJAL TIKUS (*Rattus novergicus*)
YANG DIINDUKSI HgCl₂**

SKRIPSI

Oleh :
FITYA APRILLIA DALILATI
NIM. 13670030

Telah Dipertahankan di Depan Dewan Penguji Skripsi
dan Dinyatakan Diterima sebagai Salah Satu Persyaratan
untuk Memperoleh Gelar Sarjana Farmasi (S.Farm)
Tanggal : 15 Februari 2018

Penguji Utama	: Dewi Sinta Megawati, M. Sc. NIDT. 19840116 20170101 2 125
Ketua Penguji	: Siti Maimunah, M.Farm., Apt. NIP. 19870408 20160801 2 084
Sekretaris Penguji	: Begum Fauziyah, S. Si., M. Farm. NIP. 19830628 200912 2 004
Anggota Penguji	: Abdul Hakim, M. P. I., M. Farm., Apt. NIP. 19761214 200912 1 002

Shuifa
.....
Maimunah
.....
Begum
.....
Abdul Hakim
.....

Mengetahui,

Ketua Jurusan Farmasi



Dr. Roihatul Muti'ah
.....
Dr. Roihatul Muti'ah, M.Kes., Apt.
NIP. 19800203 200912 2003

PERNYATAAN KEASLIAN TULISAN

Saya yang bertanda tangan dibawah ini:

Nama : Fitya Aprillia Dalilati
NIM : 13670030
Jurusan : Farmasi
Fakultas : Kedokteran dan Ilmu-Ilmu Kesehatan
Judul : Uji Potensi Kitosan sebagai Antidot untuk Logam Merkuri (Hg) pada Darah dan Ginjal Tikus (*Rattus Novergicus*) yang Diinduksi HgCl₂

menyatakan dengan sebenarnya bahwa skripsi yang saya tulis ini benar-benar merupakan hasil karya saya sendiri, bukan merupakan pengambilalihan data, tulisan atau pikiran orang lain yang saya akui sebagai hasil tulisan atau pikiran saya sendiri, kecuali dengan mencantumkan sumber cuplikan pada daftar pustaka. Apabila dikemudian hari terbukti atau dapat dibuktikan skripsi ini hasil jiplakan, maka saya bersedia menerima sanksi atas perbuatan tersebut.

Malang, 22 Februari 2018

Yang membuat pernyataan,



Fitya Aprillia Dalilati

NIM. 13670030

MOTTO

عن جابر قال : قال رسول الله صلى الله عليه وسلم :
المؤمن يألف ويؤلف ، ولا خير فيمن لا يألف ، ولا
يؤلف ، وخير الناس أنفعهم للناس

Diriwayatkan dari Jابر. Ia berkata, "Rasulullah SAW bersabda : 'Orang beriman itu bersikap ramah dan tidak ada kebaikan bagi seorang yang tidak bersikap ramah. Dan sebaik-baik manusia adalah orang yang paling bermanfaat bagi manusia.'" (HR. Thabrani dan Daruquthni).

LEMBAR PERSEMBAHAN

Bismillahirrahmanirrahiim, dengan ini kupersembahkan sebuah karya tulis ilmiah pertamaku untuk beberapa orang yang penting dalam hidupku yakni :

1. Orang tuaku, terima kasih atas do'anya selalu serta dukungannya baik secara *dhohir* maupun *bathin*.
2. Pembimbing, terima kasih atas bimbingan bapak dan ibu selama ini hingga terselesaikannya skripsi ini.
3. Teman seperjuangan Dea dan Ratih, Alhamdulillah ngurus etikanya “sesuatu” banget – *wa bil khusus* Mas Basyar, Mas Taufiq, Pak Mizan dan Mbak Deny disampaikan banyak terima kasih karena sudah banyak membantu dan maaf bila sudah sangat merepotkan.
4. Teman-teman tidurku: elsatun, hariroh, sona cantik, risa, dan idaroh. Kalian para saksi hidup pengerjaan skripsi ini yang *alhamdulillah* sekarang sudah selesai.
5. *All of my teachers in my life* :
Mb Ayu, Bestt kuu, Churin, Dianong, Fathiya, NJ, Nduk Firda, Nduk Anis, Kak Dyah, Nduk Nisa, Anggun, Mas Wafa, Mas Najib, Mas Thoriq, Izad, Ian, dan Gus Ririd. Terima kasih, dari kalian aku belajar banyak tentang kehidupan. Tanpa kalian mungkin tidak sempurna pelajaran sabar dan ikhlas dalam perjalanan hidupku (*Qadarullah wa maa sya-a fa'ala*).

Terakhir, spesial untuk seluruh penduduk bumi, ku persembahkan skripsi ini untuk dapat diambil pelajaran di dalamnya dan semoga dapat dimanfaatkan dengan sebaik-baiknya. *Aamiin*.

KATA PENGANTAR

Bismillahirrahmanirrahiim, puji syukur pada Allah yang mana dengan taufik, hidayah serta inayah-Nya skripsi yang berjudul “**Uji Potensi Kitosan sebagai Antidot untuk Logam Merkuri (Hg) pada Ginjal Tikus (*Rattus novergicus*) yang Diinduksi HgCl₂**” ini dapat terselesaikan. Kelancaran penulisan skripsi ini selain atas limpahan karunia Allah, juga berkat dukungan pembimbing, orang tua dan kawan-kawan. Untuk itu penulis mengucapkan terima kasih kepada semua pihak yang terlibat dalam penyusunan skripsi ini khususnya kepada :

1. Bapak Prof. Abdul Haris, M. Ag., selaku Rektor Universitas Islam Negeri Maulana Malik Ibrahim Malang
2. Bapak Prof. Dr. Bambang Pardjianto, Sp.B, Sp.BP-REDr, selaku Dekan Fakultas Kedokteran dan Ilmu-ilmu Kesehatan (FKIK), Universitas Islam Negeri Maulana Malik Ibrahim Malang
3. Ibu Dr. Roihatul Muti'ah. M. Kes., Apt., selaku Ketua Jurusan Farmasi, Universitas Islam Negeri Maulana Malik Ibrahim Malang
4. Ibu Begum Fauziah, S. Si., M. Farm., Bapak Abdul Hakim, M. P. I., M. Farm., Apt., dan Ibu Siti Maimunah, M. Farm., Apt. selaku pembimbing skripsi
5. Mas M. Basyaruddin, S. Si., Mas Moh. Taufiq, S. Si., Mas Chalid Al-Ayubi, S. Si., Bapak Mizan dan Mbak Deny selaku laboran yang telah membantu selama jalannya penelitian ini.

Demikian yang bisa penulis sampaikan. Semoga Allah SWT senantiasa memberikan balasan terbaik atas jasa-jasa yang telah diberikan baik di dunia maupun di akhirat. Penulis juga berharap skripsi ini dapat bermanfaat dan atau menjadi inspirasi bagi para pembaca sehingga menambah wawasan baik di bidang ilmu alam maupun ilmu agama.

Malang, 22 Februari 2018

Penulis

DAFTAR ISI

HALAMAN JUDUL	i
HALAMAN PENGAJUAN	ii
HALAMAN PERSETUJUAN	iii
HALAMAN PENGESAHAN	iv
HALAMAN PERNYATAAN	v
MOTTO	vi
HALAMAN PERSEMBAHAN	vii
KATA PENGANTAR	viii
DAFTAR ISI	ix
DAFTAR GAMBAR	xii
DAFTAR TABEL	xiii
DAFTAR GRAFIK	xiv
DAFTAR ISTILAH DAN SINGKATAN	xv
ABSTRAK	xx
BAB I PENDAHULUAN	
1.1 Latar Belakang.....	1
1.2 Rumusan Masalah.....	7
1.3 Tujuan Penelitian.....	7
1.4 Manfaat Penelitian.....	8
1.5 Batasan Masalah.....	8
BAB II TINJAUAN PUSTAKA	
2.1 Al-Qur'an sebagai Landasan IPTEK.....	9
2.2 Keracunan.....	11
2.3 Merkuri.....	12
2.3.1 Merkuri dalam Pertambangan Emas.....	14
2.3.2 Toksikokinetik Merkuri.....	15
2.3.3 Toksisitas Merkuri.....	16
2.4 Antidot.....	20
2.4.1 Kelator.....	22
2.4.2 Antidot Kasus Keracunan Merkuri.....	23
2.4.2.1 Dimerkaprol.....	23
2.4.2.2 Suksimer (Asam dimerkaptosuksinat; DMSA).....	23
2.4.2.3 EDTA (Asam etilendiamintetraasetat).....	24
2.4.2.4 Penisilamin.....	24
2.5 Kitosan.....	25
2.5.1 Struktur Kitosan.....	26
2.5.2 Penelitian Terdahulu mengenai Kitosan.....	26
2.5.3 Mekanisme Kitosan dalam Mengikat Logam Berat.....	27
2.5.4 Toksisitas Kitosan.....	29
2.6 Darah.....	29
2.7 <i>Inductively Coupled Plasma (ICP)</i>	30
2.7.1 Prinsip Kerja.....	31

2.7.2 Instrumentasi ICP.....	32
2.7.2.1 Nebulizer.....	32
2.7.2.2 Pompa Peristaltik Pump.....	32
2.7.2.3 Bagian Penyemprot (<i>Spray Chamber</i>).....	33
2.7.2.4 Saluran Air Drain.....	33
2.7.2.5 Obor <i>Thorch</i>	33
2.7.2.6 Generator Frekuensi Radio.....	34
2.7.2.7 Transfer Optik.....	34
2.7.2.8 Mikroprosesor Detektor.....	34
2.7.2.9 Komputer dan Prosesor.....	35
2.8 Ginjal.....	35
2.9 Histopatologi.....	36
2.10 Tikus (<i>Rattus novergicus</i>).....	37
BAB III KERANGKA KONSEPTUAL	
3.1 Kerangka Konseptual.....	40
3.2 Hipotesis Penelitian.....	42
BAB IV METODE PENELITIAN	
4.1 Jenis dan Rancangan Penelitian.....	43
4.2 Waktu dan Tempat Penelitian.....	44
4.3 Variabel Penelitian dan Definisi Operasional.....	44
4.3.1 Variabel Terikat.....	44
4.3.2 Variabel Bebas.....	45
4.3.3 Variabel Intervening.....	45
4.3.4 Variabel Kontrol.....	45
4.4 Alat dan Bahan Penelitian.....	45
4.4.1 Alat.....	45
4.4.2 Bahan.....	46
4.5 Prosedur Pengumpulan Data.....	47
4.5.1 Pembuatan suspensi antidot kitosan.....	47
4.5.2 Pembuatan larutan standar dan larutan induktor.....	47
4.5.3 Pembuatan larutan EDTA-Na ₂	48
4.5.4 Penetapan persamaan regresi linier untuk larutan standar metil merkuri.....	48
4.5.5 Pemberian larutan merkuri (HgCl ₂) pada tikus.....	48
4.5.6 Pemberian antidotum pada tikus.....	48
4.5.7 Perhitungan kadar Hg dalam darah tikus dengan ICP.....	49
4.5.8 Pengamatan gambaran histopatologi ginjal tikus.....	50
BAB V HASIL DAN PEMBAHASAN	
5.1 Tahap Penyiapan Larutan.....	51
5.2 Proses Aklimasi Tikus.....	52
5.3 Pemberian Antidotum.....	53
5.4 Profil Kadar Merkuri (Hg) dalam Darah Tikus yang Diinduksi Larutan Merkuri (HgCl ₂) saat Sebelum dan Setelah Pemberian Kitosan.....	54
5.5 Gambaran Histopatologi Ginjal Tikus yang Diinduksi Larutan Merkuri (HgCl ₂) saat Sebelum dan Setelah Pemberian Kitosan.....	67

BAB VI KESIMPULAN DAN SARAN

6.1 Kesimpulan.....	79
6.2 Saran.....	79

DAFTAR PUSTAKA	80
-----------------------------	-----------

LAMPIRAN 1. Dokumentasi Kegiatan Penelitian.....	87
---	-----------

LAMPIRAN 2. Perhitungan Pembuatan Larutan.....	91
---	-----------

LAMPIRAN 3. Data Kadar Darah pada Uji ICP.....	93
---	-----------

LAMPIRAN 4. Data Skor Tingkat Kerusakan Ginjal.....	95
--	-----------

LAMPIRAN 5. Keterangan Kelaikan Etik.....	96
--	-----------



DAFTAR GAMBAR

Gambar 2.1 Skema penghalangan kerja enzim oleh logam berat.....	12
Gambar 2.2 Unsur Merkuri.....	13
Gambar 2.3 Zona lesi pada sistem saraf.....	18
Gambar 2.4 Gambaran histopatologi ginjal tikus menggunakan pewarna HE (Hematoxylin/Eosin) pada perbesaran 100x dan 200x pada 18 jam setelah pemaparan merkuri.....	20
Gambar 2.5 Struktur Dimerkaprol.....	23
Gambar 2.6 Struktur kitosan.....	26
Gambar 2.7 Ikatan Kitosan dalam pelarut asam asetat dengan logam berat (Pb).....	28
Gambar 2.8 Susunan Instrumen ICP.....	32
Gambar 5.1 Larutan Merkuri; Suspensi EDTA-Na ₂ ; Suspensi Kitosan.....	51
Gambar 5.2 Pengikatan Gugus Belerang oleh Merkuri pada Sistein.....	60
Gambar 5.3 Pengikatan Merkuri oleh Kitosan	60
Gambar 5.4 Pengikatan Merkuri oleh EDTA.....	61
Gambar 5.5 Gambaran Histopatologi Ginjal Kelompok Normal dan Kelompok Negatif.....	70
Gambar 5.6 Gambaran Histopatologi Ginjal Kelompok Kitosan dan Kelompok EDTA-Na ₂	72

DAFTAR TABEL

Tabel 4.1 Kelompok Perlakuan Hewan Coba.....	43
Tabel 4.2 Pengaturan Microwave Digestion untuk Preparasi Sampel Darah.....	49
Tabel 5.1 Profil Kadar Merkuri Darah Tikus selama Empat Hari.....	57
Tabel 5.2 Acuan Penilaian Tingkat Kerusakan Ginjal yang Diamati.....	68
Tabel 5.3 Nilai Tingkat Kerusakan Ginjal Tikus.....	73



DAFTAR GRAFIK

Grafik 5.1 Profil Kadar Merkuri dalam Darah.....	62
Grafik 5.2 Skor Tigtat Kerusakan Ginjal.....	74



DAFTAR ISTILAH DAN SINGKATAN

-COOH	: gugus asam karboksilat
-NH ₂	: gugus amina
-OH	: gugus hidroksil
-SH	: gugus sulfhidril
<i>Abdomen</i>	: perut
<i>Absolute</i>	: murni
Absorpsi darah	: proses penyerapan zat ke dalam sirkulasi
<i>Acrodynia</i>	: kondisi iritasi kulit akibat terpapar merkuri
Adsorben	: penyerap pada permukaan
Afinitas	: kecenderungan suatu unsur untuk membentuk ikatan
Agen pengelasi (chelator)	: suatu agen yang digunakan untuk mengikat logam
Akselerasi	: proses mempercepat
Akumulasi	: penumpukan
Amalgamasi	: proses pembentukan amalgam
Anafilaksis	: reaksi alergi berat yang dapat membuat hilang kesadaran
Anoreksia	: penyakit psikis pada gangguan makan / rasa takut berlebihan terhadap peningkatan berat badan
Antidot racun	: suatu zat yang berfungsi sebagai penawar
Anurik	: keadaan organisme yang tidak memproduksi air kencing
BAL	: dimerkaprol
BAPEDAL	: Badan Pengendalian Dampak Lingkungan
Biodegradation	: penguraian oleh organisme

Biomarker	: suatu zat yang bisa diukur dalam tubuh
Cd	: kadmium
Cerebellum	: otak kecil
Cu	: cuprum (tembaga)
Da	: dalton
Degradasi	: proses penguraian
Detoksifikasi	: proses pengeluaran racun dari tubuh
Dilatasi	: keadaan pelebaran pada pembuluh darah
Divalen	: elektron valensi 2
DMSA	: asam dimerkaptosuksinat/ suksimer
DPCN	: penisilamin
DPPH	: <i>diphenylpicrylhydrazyl</i>
EDTA	: <i>ethylenediaminatetraasetat</i>
EDTA-Na ₂	: <i>di-natrium-ethylenediaminatetraasetat</i>
Ekskresi	: proses pengeluaran suatu zat dari tubuh
<i>Ekstraseluler</i>	: bagian di luar sel
Ekoton	: zona / wilayah peralihan dari dua bioma yang berbeda
Eliminasi	: proses pengeluaran suatu zat dari tubuh
FDA	: Food and Drug Administration
Fe	: ferum (besi)
Fiksasi	: prose pelekatan
HE	: Hematosiklin dan Eosin
Hg	: hydrargyrum (merkuri)
HgCl ₂	: merkuri klorida
Histopatologi	: ilmu yang mempelajari suatu jaringan dalam hubungannya dengan penyakit
HNO ₃	: asam nitrat

<i>In vivo</i>	: penelitian menggunakan media organisme hidup
<i>Intraseluler</i>	: bagian di dalam sel
IC 50	: Inhibitory Concentration 50 %
ICP	: Inductively Coupled Plasma
<i>Intra-peritoneal</i>	: jalur pemberian obat pada rongga perut
<i>Intravena</i>	: jalur pemberian obat pada pembuluh vena
Karioeksisi	: pecahnya sel menjadi bagian-bagian kecil (fragmen)
Kariolisis	: pecahnya sel hingga inti sel keluar dari sel
LD 50	: Letal Dose 50 %
Lesi	: luka
Lipofilitas	: kemampuan suatu zat untuk berikatan atau melarut dalam lemak
Matriks	: suatu zat atau lebih yang dapat mengganggu proses analisis
MeHg-sistein	: metil merkuri sistein
Membran plasma luminal	: bagian dalam membran sel
Membran plasma basolateral dasar dan atas	: bagian membran yang membatasi bagian
Metilasi	: proses penambahan gugus metil
Monokromatis	: cahaya dengan satu panjang gelombang
Nebulasi	: proses perubahan sampel dari cair menjadi aerosol
Nefrotoksik	: sifat beracun pada saraf
Nekrosis	: kematian sel yang disebabkan agen asing
Nukleofil seluler	: sifat kecenderungan sel yang tertarik kuat pada muatan positif
OAT	: Organic Anion Transporter

Occipital lobe	: otak besar
Oral	: jalur pemberian obat melalui mulut
Organometalik	: senyawa yang mengandung ikatan karbon dengan logam
P1	: kelompok normal
P2	: kelompok kontrol negatif
P3	: kelompok uji perlakuan
P4	: kelompok kontrol positif
PAM	: Perusahaan Air Minum
Parenteral	: jalur pemberian obat melalui suntik pada jaringan atau pembuluh darah
Pb	: plumbum (timbal)
Peristaltik	: gerakan semacam gelombang yang menimbulkan efek penyedotan
Permeabilitas	: kemampuan membran menyeleksi partikel
Piknosis	: proses mengerutnya sel dan penebalan inti sel
Pirogen	: suatu agen yang memicu keadaan demam
Polikromatis	: cahaya dengan berbagai warna dan panjang gelombang
Postcentral gyrus	: bagian otak yang menerima sensor
PPB	: Part Per Billion
PPM	: Part Per Million
Precentral gyrus	: bagian otak yang mengatur fungsi motorik
Prevalensi	: data kejadian suatu kasus dari waktu ke waktu
Psikoaktif	: suatu zat yang mempengaruhi psikis
Psikofisiologis	: ilmu yang mempelajari hubungan fenomena mental dengan proses jasmani

Retroperitoneal	: area di belakang usus
Toksik	: efek keracunan yang timbul akibat suatu toksikan
Toksisitas	: daya suatu zat untuk menimbulkan efek keracunan
Toksikan/toksin	: suatu agen yang menyebabkan keracunan
Trace element	: suatu unsur kimia yang dibutuhkan tubuh
Temporal transverse gyrus	: bagian otak yang mengatur fungsi ingatan, pendengaran dan penglihatan
Topikal	: jalur pemberian obat pada kulit untuk menimbulkan efek lokal
Trivalen	: elektron valensi 3
Torch	: Plasma yang dilengkapi tabung konsentris
Wet digestion	: proses destruksi basah oleh zat pengoksidasi
WHO	: World Health Organization
Zn	: zinc (seng)

ABSTRAK

Dalilati, F. A. 2017. Uji Potensi Kitosan sebagai Antidot untuk Logam Merkuri (Hg) pada Darah dan Ginjal Tikus (*Rattus novergicus*) yang Diinduksi HgCl₂. Skripsi. Jurusan Farmasi Fakultas Kedokteran dan Ilmu-ilmu Kesehatan Universitas Islam Negeri Maulana Malik Ibrahim Malang. Pembimbing I: Begum Fauziyah, S. Si, M. Farm.; Pembimbing II: Abdul Hakim, M. P. I., M. Farm., Apt.; Konsultan: Siti Maimunah, M. Farm., Apt.

Merkuri merupakan salah satu logam berbahaya yang banyak terdapat pada lingkungan. Masuknya merkuri ke dalam tubuh dalam jumlah tertentu (>200-500 ng/mL) dapat menyebabkan keracunan. Salah satu bentuk penanggulangan keracunan yang disebabkan oleh merkuri yakni menggunakan antidot (anti-racun). Rasulullah bersabda : “Tidaklah Allah turunkan penyakit kecuali Allah turunkan pula obatnya” (HR. Bukhari). Dijelaskan pula dalam *Al-Qur'an* pada surat *ali-imron* ayat 190-191 bahwa sesungguhnya pada segala ciptaan Allah itu tidak ada yang sia-sia dan terdapat pelajaran yang dapat diambil manfaatnya bagi kaum yang mau berfikir. Sebagai makhluk yang berakal sudah sepatutnya manusia untuk mengambil manfaat dari ciptaan-Nya untuk menciptakan kemaslahatan salah satunya berupa penelitian untuk menelusuri bahan obat baru. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui potensi kitosan sebagai antidot untuk logam merkuri melalui pengamatan kadar merkuri dalam darah dan gambaran histopatologi ginjal pada tikus yang diinduksi HgCl₂ (merkuri klorida).

Pengamatan terbagi ke dalam 4 kelompok dengan 3 kali ulangan. Kelompok normal (P1) adalah tikus yang hanya diberi akuades, kelompok negatif (P2) merupakan pemberian merkuri 0,8 mg tanpa pemberian terapi antidot, kelompok uji (P3) merupakan pemberian merkuri 0,8 mg dan kitosan 100 mg/hari (selama 3 hari), dan kelompok positif (P4) yakni kelompok dengan pemberian merkuri 0,8 mg dan EDTA-Na₂ 100 mg/hari (selama 3 hari).

Hasil pengamatan kadar merkuri dalam darah menunjukkan adanya penurunan kadar merkuri pada kelompok uji kitosan selama tiga hari yakni 11,4 ppb, 1 ppb, 44,6 ppb. Sedangkan pada pengamatan gambaran histopatologi ginjal didapatkan gambaran ginjal kelompok uji kitosan mengalami kerusakan yang lebih sedikit (skor = 10,2) dibandingkan dengan kelompok negatif (skor = 15,1).

Kata kunci: merkuri, antidot, kitosan, histopatologi, darah

ABSTRACT

Dalilati, F. A. 2017. Potential Test of Chitosan as Antidote for Mercury Metals (Hg) in Blood and Kidney of Rat (*Rattus novergicus*) Induced by HgCl₂. Essay. Department of Pharmacy Faculty of Medicine and Health Sciences Islamic State University Maulana Malik Ibrahim Malang. Supervisor I: Begum Fauziyah, S. Si, M. Farm .; Supervisor II: Abdul Hakim, M. P. I., M. Farm., Apt; Consultant: Siti Maimunah, M. Farm., Apt.

Mercury is one of the dangerous metals which can easily be found in the environment. The entrance of mercury into the body in a certain amount (> 200-500 ng / mL) can cause poisoning. One of methods to ward off poisoning caused by mercury is using antidote (anti-poison). Prophet (may peace be upon him) said: "Allah will not send down a disease unless Allah send down the medicine too" (Bukhari). Also explained in the Qur'an in the letter ali-imron verses 190-191 that indeed all creation of Allah are never in vain and there are lessons that can be taken benefit for those are who think. As a reasonable creature it is appropriate for human beings to benefit from his creation to create benefit and one of them in the form of research to trace new drug ingredients. The goal of this research is to find out the potential of chitosan as an antidote for mercury metals through observation of mercury levels in blood and renal histopathologic features in rat which induced by HgCl₂ (mercury chloride).

Observations were divided into 4 groups with 3 replications. The normal group (P1) is given aquades only, negative group (P2) is given 0,8 mg mercury without antidote therapy, the test group (P3) is given 0,8 mg mercury and chitosan 100 mg / day (for 3 day), and positive group (P4) is given mercury 0,8 mg and EDTA-Na₂ 100 mg / day (for 3 days).

The results of observations of mercury levels in blood showed a decrease in mercury levels in the chitosan test group for three days is 11,4 ppb, 1 ppb, 44,6 ppb. While in the observation of renal histopathologic picture, the chitosan test group showed less damage (score = 10,2) than the negative group (score = 15,1).

Keywords: mercury, antidote, chitosan, histopathology, blood

ملخص البحث

دليلاتي، فيتيا افريليا. ٢٠١٨. اختبار المحتملة من الشيتوزان كما أنتيدوت لزئبق في الدم و الكلى الفئران(راتوس نوفيروجيكوس) المستحث كلوريد الزئبق. البحث العلمي. قسم الصيدلية. كلية الطب والعلوم الصحية. جامعة مولانا مالك إبراهيم الإسلامية الحكومية بمالانج. المشرف الأول: بيجوم فوزية, متخرج العلومية, ماجستير الصيدلية؛ المشرف الثاني: عبد الحكيم, ماجستير التربية الإسلامية, ماجستير الصيدلية, الصيدلة؛ مستشار: ستي ميمونة, ماجستير الصيدلية, الصيدلة.

الزئبق هو واحدة من العديد من المعادن الضارة في بيئة. إذا دخل الزئبق في الجسم في مبلغ معين (< ٢٠٠-٥٠٠ نانغرام/ ميلي لتر) قد يسبب التسمم. شكال واحد من التدابير المضادة من التسمم الذي يسببه الزئبق يستخدم أنتيدوت (الترياق). قال رسول الله صلى الله عليه وسلم : "ما أنزل الله داء إلا أنزل له شفاء" (رواه البخاري). وصفت أيضا في القرآن الكريم في علي يعمرن الآيات ١٩٠-١٩١ ان في كل خلق الله لا يوجد عبثا شيء و هناك دروس لاتخاذ منافع لأولي الألباب. كما العاقل ينبغي للبشر لاتخاذ منافع من خلق الله و جعلها المصالح احد منها للبحث دواء جديد. وتهدف هذه البحث أن أعرف المحتملة من الشيتوزان كما أنتيدوت لزئبق، للمعادن الزئبقية عن طريق مراقبة مستويات الزئبق في الدم و صورة أمراض الأنسجة الكلوي في الفئران التي يسببها كلوريد الزئبق.

وتنقسم هذه الملاحظة إلى أربع مجموعات بثلاث مكررات. المجموعة العادية هي الفئران التي تعطى الماء المقطر فقط. المجموعة السلبية هي الفئران التي تعطى كلوريد الزئبق ٠,٨ ميلي غرام دون أن تعطى أنتيدوت. ومجموعة الاختبار هي الفئران التي تعطى كلوريد الزئبق ٠,٨ ميلي غرام و العلاج الشيتوزان ١٠٠ ميلي غرام/ يوميا (لمدة ثلاثة أيام). مجموعة إيجابية هي الفئران التي تعطى كلوريد الزئبق ٠,٨ ميلي غرام و العلاج إيثيل ديامين تيترا ائثات ١٠٠ ملغ يوميا (لمدة ثلاثة أيام).

ونتيجة الملاحظة عن أظهرت الزئبق في الدم انخفاضاً في مجموعة الشيتوزان لمدة ثلاثة أيام متتالية أي ٤,١١ جزء في البليون; ١ جزء في البليون; ٤٤,٦ جزء في البليون. بينما على مراقبة ملامح نسيجية من الكلى الحصول على صورة من الكلى من مجموعة اختبار الشيتوزان هناك أقل ضرراً (قيمة = ١٠,٢) من المجموعة السلبية (قيمة = ١٥,١).

الكلمات الرئيسية: الزئبق، الشيتوزان، علم أمراض الأنسجة، الدم.

BAB I

PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

Penggunaan logam di Indonesia semakin meluas baik itu di bidang rumah tangga, pendidikan, kesenian, dan lain sebagainya terlebih di bidang teknologi industri. Seperti yang kita ketahui segala sesuatu pasti terdapat kelebihan dan kekurangan di dalamnya. Meskipun logam memiliki manfaat dalam membantu pekerjaan kita sehari – hari namun logam juga dapat berdampak merugikan yakni umumnya pada suatu kasus keracunan logam berat. Banyak manusia yang tidak menyadari bahwa pada kesehariannya seseorang tersebut telah terpapar logam baik itu lewat kontak langsung, lewat udara (pernafasan), atau pun lewat pencernaan (makanan). Mulanya seorang yang terpapar tidak akan merasakan hal apapun karena kadar yang masuk belum mencapai kadar toksik dalam tubuh dan masih dapat ditoleransi oleh tubuh. Logam yang masuk ke dalam tubuh manusia tidak akan mudah diekskresi dan menumpuk pada tubuh sehingga dalam kurun waktu yang lama akan menimbulkan gejala keracunan ketika kadarnya telah mencapai kadar toksik dalam tubuh (Rachman, 2008).

Merkuri merupakan salah satu logam berat yang sering digunakan di Indonesia. Sejak lama, diketahui bahwa pertambangan merkuri berbahaya bagi kesehatan (Katzung, 2012). Laporan terkini mengenai keracunan merkuri disajikan oleh Bali Fokus pada Maret 2015 yang menunjukkan bahwa tanda-tanda keracunan merkuri atau Air Raksa, sudah ditemui di 3 wilayah Indonesia yakni Bomban-Sulawesi Tenggara, Sekotong-Lombok Barat, dan Cisitubanten-Banten.

Paparan logam tersebut banyak terjadi di kawasan daerah pertambangan emas di mana para pekerja tidak sadar bahwa dirinya telah terpapar ketika ia sedang bekerja. Prevalensi kejadian keracunan merkuri dapat dikatakan masih tinggi dari tahun ke tahun. Tahun 1999 Penduduk Desa Kenjeran Sukolali-Surabaya disinyalir keracunan limbah merkuri. Air sungainya tercemar limbah merkuri dari industri. “Sebanyak 80 persen anak di Kenjeran mengalami *slow learning*,” ungkap Daru Setyo Rini dari Ekoton. Sejumlah kasus kanker yang terjadi pada anak-anak diduga juga terkait dengan logam berat mematikan. Tahun 2002 Sungai Cisanade yang digunakan sebagai sumber air PAM untuk Jakarta dan Tangerang diberitakan tercemar merkuri. Pada pertengahan tahun 2004 terdapat banyak ikan yang mati mendadak amat tinggi disertai dengan pembengkakan yang tak biasa, hilangnya ikan bandeng muda dan spesies lain di wilayah Teluk Buyat, menurut penyelidikan independen kepada Pemerintah Indonesia atas kadar limbah tambang Newmont di Teluk Buyat-Sulawesi ditemukan sejumlah logam berat seperti arsen, antimon, merkuri, dan mangan yang tersebar di sana dengan kepadatan tertinggi di sekitar daerah penimbunan. Enam tahun terakhir ada 22 orang meninggal karena kecelakaan kerja seperti tertimbun longsor atau kehabisan oksigen dalam lubang galian di Krueng Sabee, Kabupaten Aceh Jaya. Kemudian tahun 2013 menurut Cut Nazly, peneliti dari BAPEDAL (Badan Pengendalian Dampak Lingkungan) Aceh menemukan dari enam titik lokasi sungai yang diuji sampel air, empat titik ditemukan logam merkuri dengan jumlah di atas ambang baku mutu air yang baik.

Keracunan logam berat dapat berakibat fatal. Logam berat yang beredar di dalam tubuh dapat merusak fungsi organ-organ dalam tubuh bahkan hingga menyebabkan kematian. Toksisitas logam ini diakibatkan dari ikatan ion divalennya dengan residu gugus sulfhidril (-SH) dari suatu enzim sehingga mereduksi aktivitas enzim (Bernard, 2008). Hal inilah yang menjadi sebab terjadinya kerusakan pada proses metabolisme tubuh di mana enzim yang semestinya bekerja dihambat oleh adanya logam berat. Cara yang paling efektif untuk menghambat aktivitas tersebut yakni dengan adanya ion pengganti yang lebih kuat afinitasnya dengan ion divalen dari logam.

Keracunan merupakan suatu keadaan yang sangat merugikan dalam kehidupan. Namun hal ini merupakan hasil ulah dari manusia itu sendiri yang mana kurang antusiasnya dalam mengolah limbah sehingga merugikan masyarakat dan lingkungan sekitar termasuk dirinya sendiri. Hal ini telah dijelaskan dalam al-qur'an mengenai adzab Allah yakni bencana ketika manusia berbuat kerusakan di muka bumi ini. Hal tersebut tercantum dalam surat Ar-Rum ayat 41 yang berbunyi :

ظَهَرَ الْفَسَادُ فِي الْبَرِّ وَالْبَحْرِ بِمَا كَسَبَتْ أَيْدِي النَّاسِ لِيُذِيقَهُمْ بَعْضَ الَّذِي عَمِلُوا لَعَلَّهُمْ
يَرْجِعُونَ ٤١

Artinya : Telah nampak kerusakan di darat dan di laut disebabkan karena perbuatan tangan manusia, supaya Allah merasakan kepada mereka sebahagian dari (akibat) perbuatan mereka, agar mereka kembali (ke jalan yang benar) (QS. Ar-Rum: 41).

Kerusakan tersebut dijelaskan dalam tafsir *Al Qurtubiy* jilid 14 (2009) oleh Ibnu Abbas, Ikrimah dan Mujahid yaitu seseorang membunuh (saling membunuh)

saudaranya (kerusakan di darat) dan mereka yang membawa kapal-kapal (mencari hasil laut) dengan paksa (kerusakan laut). Adapun kerusakan yang paling besar adalah syirik. Sudah nampak kemaksiatan-kemaksiatan kepada Allah dimanamana di darat maupun di laut dan itu semua *agar mereka kembali (ke jalan yang benar)* dan agar mereka kembali bertaubat dan meninggalkan maksiat. Hal ini dimaksudkan Allah memberi bencana kepada orang yang berbuat kerusakan (maksiat) di bumi sebagai pelajaran agar seseorang tersebut dapat mengambil hikmah dan kembali ke jalan yang benar (menyadari bahwa perbuatannya itu salah) sehingga ia mengadakan perbaikan atas perbuatannya.

Bencana yang terjadi di alam tidak selamanya akan menetap. Pun terkait dengan bencana kasus keracunan yang terjadi. Ketika manusia berniat dan mengadakan usaha perbaikan, Allah akan memberinya jalan keluar (solusi) atas bencana tersebut. Dalam hadits bukhori dijelaskan bahwa Nabi SAW pernah bersabda:

مَا أَنْزَلَ اللَّهُ دَاءً إِلَّا أَنْزَلَ لَهُ شِفَاءً

Artinya : Tidaklah Allah turunkan penyakit kecuali Allah turunkan pula obatnya (HR. Bukhari).

Hadits tersebut menjelaskan bahwa ketika terjadi suatu bencana penyakit, Allah pasti telah menetapkan penawarnya. Rasulullah pernah didatangi oleh orang badui dan ditanya mengenai keharusan berobat. Beliau menjelaskan bahwa Allah tidak menciptakan suatu penyakit melainkan juga penyembuhnya kecuali penyakit tua. Dijelaskan oleh Ibnu Qayyim Al-Jauziyyah (2000) dalam Kitab *Zadul Ma'ad* bahwa Allah telah menciptakan sebab akibat. Siapa yang memperhatikan

penciptaan hal-hal yang saling berlawanan di alam ini seperti penyakit dan penawarnya tentu dia akan mengetahui kesempurnaan ketentuan hikmah Allah. Bahkan hakikat tauhid tidak sempurna kecuali dengan memperhatikan sebab yang telah ditetapkan oleh Allah dan yang sesuai (berkaitan) dengannya. Kemudian dijelaskan pula pada suatu hadits dari Ibnu Mas'ud, bahwa Rasulullah bersabda:

إِنَّ اللَّهَ لَمْ يَنْزِلْ دَاءً إِلَّا أَنْزَلَ لَهُ شِفَاءً، عِلْمُهُ مَنْ عِلْمُهُ وَجَهْلُهُ مَنْ جَهْلُهُ

Artinya : Sesungguhnya Allah tidaklah menurunkan sebuah penyakit melainkan menurunkan pula obatnya. Obat itu diketahui oleh orang yang bisa mengetahuinya dan tidak diketahui oleh orang yang tidak bisa mengetahuinya (HR. Ahmad dan Ibnu Majah).

Dijelaskan dalam Kitab *Zadul Ma'ad* bahwa setiap ilmu, keahlian dan pekerjaan harus dimintakan pertolongan dari orang yang lebih pandai sebab yang demikian lebih mencapai kebenaran. Begitu pula pada orang yang meminta fatwa harus mendatangi mufti yang lebih pandai. Hal ini didasarkan dalam suatu peristiwa pada zaman Rasulullah ketika terdapat seorang laki-laki yang terluka dan mengeluarkan banyak darah sehingga dipanggilkan dua orang dari Bani Anmar yang keduanya mengaku pernah ditanyai oleh Rasulullah mengenai tingkat kepandaian dalam mengobati. Dalam hal inilah kemampuan seorang farmasis akan diuji yang mana dijelaskan bahwa obat itu (penawar) dapat diketahui oleh orang yang bisa mengetahui. Tentunya seorang farmasis telah memiliki bekal dalam penemuan suatu penyelesaian penyakit terkait pengobatannya.

Cara yang biasa digunakan untuk menanggulangi (mengobati) kasus keracunan yakni menggunakan agen pengelasi (*chelator*). *Chelator* dalam dunia

famasi termasuk ke dalam golongan obat antidotum. Antidotum merupakan golongan obat yang digunakan sebagai tujuan penawar racun dari suatu kasus keracunan khususnya keracunan logam berat. Kelator bekerja dengan jalan mengikat logam berat yang tersebar dalam tubuh. Diharapkan dari senyawa pengkelat tersebut dapat mengikat logam sehingga logam dapat ikut diekskresikan bersamaan dengan ekskresi senyawa kelat tersebut.

Kitosan diketahui pernah digunakan sebagai pengikat logam berat pada limbah industri. Dyahningtyas (1999) telah melaporkan penggunaan kitosan untuk menghilangkan cadmium (Cd) dalam larutan cair. Karthikeyan *et al.* (2004) melaporkan penggunaan kitosan untuk adsorpsi logam seng (Zn), sedangkan Franco *et al.* (2004) menggunakan kitosan dari *Cunninghamella elegans* (IFM 46109) untuk biosorpsi logam-logam berat Pb, Fe dan Cu. Semua penelitian tersebut melaporkan bahwa kitosan dapat digunakan sebagai adsorben atau pengikat logam-logam berat. Adapun pada penelitian Vedy (2015) kitosan dilaporkan telah efektif dalam mengikat logam berat pada ginjal mencit yang diinduksi plumbum asetat. Kitosan memiliki gugus asam amino dan gugus hidroksil yang menyebabkan kitosan berperan sebagai penukar ion yang dapat digunakan sebagai pengikat atau adsorben logam-logam berat (Nugroho dkk, 2011).

Ditinjau dari keamanannya kitosan dapat dikatakan aman digunakan. Rao, *et al* (1997) dalam Kean *and* Thanou (2010) melaporkan bahwa tidak ada efek toksik yang signifikan pada uji toksisitas akut kitosan pada mencit, tidak menimbulkan iritasi pada mata dan kulit pada kelinci dan guinea pig, serta tidak

bersifat pirogen. Hal ini menunjukkan bahwa kitosan dapat menjadi salah satu pilihan alternatif bahan obat yang minim efek samping.

Seperti yang telah diketahui manfaat kitosan banyak sekali pada kehidupan manusia dibidang pengikatan logam berat. Hal ini dapat dimanfaatkan sebagai antidotum pada suatu kasus keracunan logam berat. Kitosan pernah dilaporkan efektif dalam menurunkan jumlah sel ginjal yang mati dalam kasus keracunan Pb (timbal) secara *in vivo*, namun belum diketahui secara pasti mengenai profil keefektivannya pada kasus keracunan Hg (merkuri). Pada penelitian kali ini akan diuji potensi kitosan sebagai antidot dari kasus keracunan logam Hg melalui profil gambaran analisis histopatologi ginjal serta profil kadar Hg dalam darah mencit yang diinduksi larutan HgCl_2 setelah pemberian suspensi kitosan.

1.2 Rumusan Masalah

1. Apakah kitosan dapat menurunkan kadar Hg dalam darah tikus yang diinduksi larutan merkuri (HgCl_2) ?
2. Bagaimana gambaran histopatologi ginjal tikus yang diinduksi larutan merkuri (HgCl_2) saat sebelum dan setelah pemberian kitosan?

1.3 Tujuan Penelitian

1. Mengetahui profil kadar Hg (Merkuri) dalam darah tikus yang diinduksi larutan merkuri (HgCl_2) saat sebelum dan setelah pemberian kitosan ?
2. Mengetahui gambaran histopatologi ginjal tikus yang diinduksi larutan merkuri (HgCl_2) saat sebelum dan setelah pemberian kitosan?

1.4 Manfaat Penelitian

1. Dapat mengembangkan antidotum oral untuk kasus keracunan logam merkuri.
2. Dapat memberikan informasi nilai guna bahan alam (kitosan) dalam aspek pengembangan ilmu pengetahuan dan aplikasi di masyarakat.

1.5 Batasan Masalah

Batasan masalah pada penelitian ini yakni sebatas menguji potensi kitosan yang berasal dari kulit udang dengan derajat deasetilasi $\geq 75\%$ dalam mengatasi keracunan logam merkuri pada *Rattus novergicus* (tikus) umur ± 2 bulan dengan berat badan ± 200 g yang diinduksi larutan merkuri (HgCl_2). Adapun parameter uji yang akan dianalisis yakni kadar merkuri dalam darah dan jumlah sel ginjal yang mengalami nekrosis pada gambaran preparat histopatologi ginjal *Rattus novergicus* saat sebelum dan sesudah pemberian kitosan.

BAB II

TINJAUAN PUSTAKA

2.1 Al-Qur'an sebagai Landasan IPTEK

Al-qur'an sebagai kitab suci umat Islam perlu difungsikan dalam kehidupan sehari-hari, baik dalam bersikap, bertindak maupun bertingkah laku. Menurut penelitian Dr. Dawud al-athar bahwa saat ini kejahiliyahan terhadap al-qur'an telah menjadi gejala umum yang banyak menimpa kaum awam dan kaum pelajar. Untuk memfungsikan al-qur'an tersebut dengan baik, kaum muslimin dituntut untuk mengenali dan memahami sungguh-sungguh apa yang menjadi isi al-qur'an serta mengamalkannya dalam kehidupan sehari-hari. (Tim perumus fakultas teknik UMJ Jakarta, 1998)

Al-qur'an adalah kitabullah yang berisi petunjuk dan pedoman yang lengkap dalam memimpin seluruh segi kehidupan manusia ke arah kebahagiaan yang hakiki dan abadi. Al-qur'an juga mengandung ayat-ayat yang dapat dijadikan pedoman dalam pengembangan ilmu pengetahuan (sains) dan teknologi dalam rangka mempertebal keimanan dan meningkatkan kesejahteraan manusia. Semua makhluk merupakan objek yang layak untuk diteliti. Jika masing-masing makhluk terkandung di dalamnya ilmu pengetahuan tentang makhluk itu berarti jumlah ilmu pengetahuan yang ada sejak dulu sampai sekarang dapat dijadikan sebagai peluang manusia untuk memperoleh ilmu pengetahuan baru sebanyak makhluk yang diciptaan oleh Allah SWT. Al-qur'an merupakan produk iptek Allah yang diturunkan kepada manusia untuk menuntun manusia akan jalur-jalur penelitian

yang perlu ditempuh, sehingga manusia memperoleh hasil yang benar (Tim perumus fakultas teknik UMJ Jakarta, 1998).

Sebagaimana yang telah dibahas di atas, bahwa Al-qur'an dapat difungsikan sebagai petunjuk dalam penemuan atau penelitian sesuatu baik itu berupa lanjutan atau permulaan (baru). Hal ini tentunya hanya bisa diketahui oleh orang-orang yang mau berpikir. Sebab dalam proses berpikir itulah seseorang akan dapat lebih mendalami hal-hal yang berada di sekitarnya.

Dijelaskan dalam Al-qur'an surat *Ali-Imron* ayat 190-191 sebagai berikut:

إِنَّ فِي خَلْقِ السَّمَاوَاتِ وَالْأَرْضِ وَاخْتِلَافِ اللَّيْلِ وَالنَّهَارِ لآيَاتٍ لِأُولِي الْأَبْصَارِ ۙ ۱۹۰ الَّذِينَ يَذْكُرُونَ اللَّهَ قِيَامًا وَقُعُودًا وَعَلَىٰ جُنُوبِهِمْ وَيَتَفَكَّرُونَ فِي خَلْقِ السَّمَاوَاتِ وَالْأَرْضِ رَبَّنَا مَا خَلَقْتَ هَذَا بَاطِلًا سُبْحَانَكَ فَقِنَا عَذَابَ النَّارِ ۙ ۱۹۱

Artinya: Sesungguhnya pada penciptaan langit dan bumi, dan silih bergantinya malam dan siang, terdapat tanda-tanda kekuasaan Allah bagi kaum yang berakal (190) yaitu orang-orang yang mengingat Allah dalam keadaan berdiri, duduk, dan (bahkan) berbaring. Mereka memikirkan tentang penciptaan langit dan bumi seraya berkata, yaa Tuhan kami, tidaklah Kau ciptakan ini semua sia-sia, maka peliharalah kami dari azab neraka (191) (QS. Ali-Imron: 190-191).

Penciptaan langit dan bumi yang dimaksudkan yakni pada ketinggian dan keluasan langit dan kerendahan dan kepadatan bumi. Tanda-tanda kuasa yang dimaksud yakni terdapatnya ciptaan yang dapat dijangkau indera manusia berupa binatang, komet, daratan, lautan, pegunungan, pepohonan, tumbuh-tumbuhan, barang tambang, aneka makanan dan bebauan. Silih bergantinya malam-siang diartikan sebagai silih berganti yang mana kadang ada malam yang lebih panjang dan sebaliknya, lalu menjadi seimbang. Silih berganti maksudnya panjang, pendek, susul menyusulnya dan pergantiannya antara siang dan malam. Kesemuanya itu terdapat tanda bagi orang berakal yakni ulul albab. Mereka itu

adalah yang mempunyai akal sempurna lagi bersih, yang tau hakikat banyak hal secara jelas dan nyata. Mereka bukanlah orang tuli dan bisu yang tidak berakal (Ibnu katsir, 2006). Adapun menurut Jalalain (2008) penciptaan langit dan bumi (beserta keajaiban yang terdapat pada keduanya), pergantian siang dan malam (datang-pergi dan bertambah-berkurang) adalah tanda (bukti-bukti kekuasaan Allah) bagi orang yg berakal (yang menggunakan pikiran mereka).

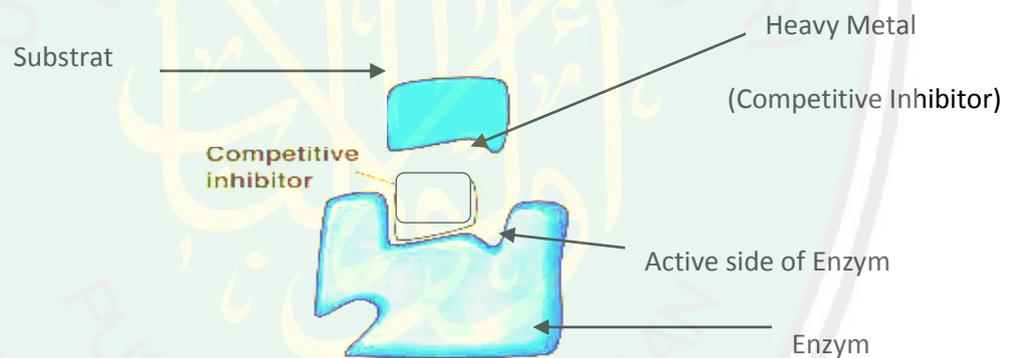
Allah memerintahkan untuk merenungi, melihat dan mengambil kesimpulan pada tanda-tanda yang ada di sekitar manusia. Karena tanda tersebut tidak mungkin ada kecuali diciptakan oleh Allah sehingga tanda tersebut dapat menjadi tanda bukti ketuhanan. Dengan menyakini hal tersebut maka keimanan manusia bersandarkan atas keyakinan yang benar, bukan ikut-ikutan. Pada kesempatan inilah salah satu fungsi akal yang diberikan kepada seluruh manusia, agar mereka menggunakan akal tersebut untuk merenung tanda-tanda yang telah diberikan oleh Allah. Yaitu mengingat Allah dalam berbagai keadaan. Ciptaan-Nya tidaklah ada yang sia-sia. Allah telah menciptakan semuanya dengan tujuan-tujuan tertentu (Al-Hifnawi dan Mahmud, 2008).

2.2 Keracunan

Definisi keracunan atau intoksikasi menurut WHO adalah “kondisi yang mengikuti masuknya suatu zat psikoaktif yang menyebabkan gangguan kesadaran, kognisi, persepsi, afek, perilaku, fungsi, dan repon psikofisiologis”. Dalam dasawarsa terakhir kejadian keracunan oleh logam berat seperti tembaga, merkuri, kadmium dan timbal menjadi masalah dunia. Kasus tersebut diduga bermula dari buangan industri dan pemanfaatan hasil industri yang mencemari lingkungan

(Palar, 2012). Logam berat yang bersifat racun di dalam tubuh akan membahayakan kesehatan bahkan dapat menyebabkan kematian. Jalur masuk logam ke dalam tubuh manusia dapat melalui makanan, air minum atau udara di lingkungan. (Murniasih dan Taftazani, 2013).

Keberadaan toksikan dalam tubuh akan mempengaruhi kerja dari enzim-enzim fisiologi tubuh. Toksikan dari logam berat mampu untuk berikatan dengan enzim dan menyebabkan enzim tersebut menjadi inaktif atau tidak dapat berfungsi sebagaimana semestinya sehingga akan terjadi ketidakseimbangan dalam sistem fisiologis. Hal itulah yang kemudian menjadi dasar dari munculnya penyakit-penyakit sebagai manifestasi dari keracunan (Palar, 2012).



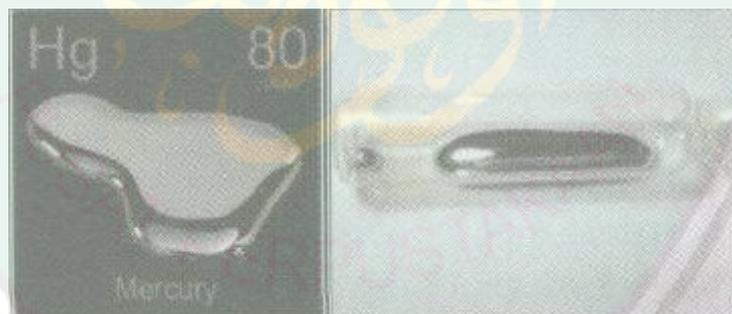
Gambar 2.1 Skema penghalangan kerja enzim oleh logam berat (Rezpector, 2015).

2.3 Merkuri

Merkuri (Hg) merupakan cairan yang berwarna putih keperakan, mudah menguap pada suhu ruangan, tidak larut dalam air tetapi larut dalam asam nitrat dan mudah larut dalam lemak. Hg mudah larut dan bersenyawa dengan logam lain kecuali dengan besi dan platinum. Logam ini memiliki waktu paruh (*half life*) sekitar 50 s/d 70 hari (1,5-2 bulan) (Direktorat Bina Kesehatan Kerja dan

Olahraga, 2012), sehingga ketika suatu organisme terpapar oleh logam merkuri potensi akumulasi dalam tubuh akan tinggi dikarenakan waktu paruhnya yang sangat lama.

Merkuri dalam tabel periodik termasuk dalam golongan IIB, menempati nomor atom 80 dengan bobot atom 200,59 (gambar 2.2), titik beku $-38,87^{\circ}\text{C}$, dan rapatan 13,534 gram m/L. Merkuri merupakan satu-satunya *trace element* yang mempunyai sifat cair pada temperatur ruang, mempunyai tekanan permukaan relatif tinggi 480,3 dyn/cm dan mempunyai miniskus cembung pada tabung gelas. Logam murninya tidak berbau, mengkilat dan menguap jika dipanaskan pada suhu $356,9^{\circ}\text{C}$ (Vogel, 1990). Logam ini dikategorikan sebagai logam berat karena memiliki massa jenis yang besar yakni 13,6 g/mL sebagaimana dijelaskan oleh Subowo, dkk (1999) bahwa logam berat merupakan unsur logam yang memiliki massa jenis lebih dari 5 g/mL.



Gambar 2.2 Unsur Merkuri (Direktorat Bina Kesehatan Kerja dan Olahraga, 2012).

Merkuri di alam ada dalam tiga bentuk yakni unsur logam merkuri murni, garam merkuri, dan merkuri organik. Umumnya unsur merkuri dalam bentuk bebas adalah logam berbentuk cair yang banyak digunakan pada termometer. Merkuri oksida bersifat hampir tidak larut dalam air dan umumnya digunakan

pada antiseptik topikal. Garam merkuri atau bentuk anorganiknya sebagai contoh adalah merkuri klorida. Merkuri organik sebagai contoh metil merkuri yang secara komersial digunakan sebagai fungisida, disinfektan, zat pengalkil pada sintesis organik bagi senyawa organometalik lainnya dan sebagai pengawet cat. Limbah merkuri dari polusi industri sering dalam bentuk merkuri anorganik. Namun dalam perjalanannya di sungai merkuri ini mengalami metilasi sehingga menjadi merkuri organik yang lebih toksik (Yanuar, 2008).

2.3.1 Merkuri dalam Pertambangan Emas

Merkuri digunakan secara luas dalam berbagai bidang yang salah satunya dalam bidang pertambangan emas. Umumnya penggunaan merkuri dalam pertambangan emas digunakan untuk pemisahan emas dari matriks atau logam lainnya atau dengan kata lain digunakan untuk memurnikan emas (Febriyana, 2012). Penggunaan merkuri secara komersial ini menyebabkan komponen merkuri menjadi banyak tersebar di tanah, udara, air dan organisme hidup sehingga merkuri banyak terakumulasi di lingkungan dan dapat meracuni hewan, tumbuhan dan mikroba (Hasyimi, 2014) yang dapat berakibat terjadinya kasus keracunan merkuri pada manusia.

Pemurnian emas oleh merkuri dilakukan melalui proses amalgamasi dimana merkuri (Hg) digunakan sebagai media untuk mengikat emas. Hal ini dikarenakan merkuri dapat melarutkan emas dan perak. Setelah merkuri mengikat emas akan terbentuk amalgam emas-merkuri yang kemudian amalgam akan dipanaskan untuk menguapkan merkuri dan meyisakan logam emas (Setiabudi, 2005).

2.3.2 Toksikokinetik Merkuri

Menurut Direktorat Bina Kesehatan Kerja Dan Olahraga (2012) merkuri masuk ke dalam tubuh melalui mulut (tertelan), kulit (kontak kulit) dan terutama melalui hidung (terhirup). Kadar merkuri dalam darah dan rambut merupakan biomarker pencemaran merkuri. Kadar merkuri dalam kedua biomarker tersebut sangat individual pada setiap orang maupun kelompok umur. Adapun konsentrasi puncak metil merkuri dalam darah terjadi dalam 24 jam setelah awal pemberian, sedangkan konsentrasi puncak dalam otak terjadi setelah 2-3 hari (Clarkson, 1972 dalam widyawati, 2007).

Merkuri dalam darah akan dioksidasi menjadi Hg^{2+} oleh hidrogen peroksida katalase. Ion tersebut kemudian diedarkan ke seluruh tubuh. Pada hewan coba (kelinci, tikus atau kera) 1% dari jumlah edaran merkuri tersebut akan terakumulasi di otak. Selain terakumulasi pada otak, logam ini juga terserap dan menumpuk pada hati dan ginjal (Palar, 2012). Hal ini mengindikasikan bahwa merkuri dapat dianalisis keberadaannya dalam darah, hati, otak dan ginjal.

Kerentanan tubuh terhadap efek bahaya dari merkuri didukung oleh faktor intraseluler dan ekstraseluler baik secara fisiologi dan patologinya. Seperti halnya di ginjal, kondisi fisiologi dan patologi ginjal saat terpapar merkuri akan sangat berpengaruh terhadap rentannya kerusakan ginjal oleh merkuri. Merkuri dapat masuk ke ginjal melalui mekanisme transpor oleh asam amino pada membran plasma luminal dan OAT (*Organic Anion Transporter*) pada membran plasma basolateral. Adapun OAT yang memfasilitasi transpor merkuri ke ginjal meliputi

OAT 1 dan OAT 3. OAT 1 berada pada tubula proximal sedangkan OAT 3 tersebar di seluruh bagian ginjal (Hazzlehoff *et al.*, 2012).

Metil merkuri dimetabolisme di dalam tubuh menjadi bentuk anorganik. Proses metabolisme ini dapat terjadi di hati, ginjal, dan saluran cerna oleh flora usus. Hasil metabolisme tersebut kemudian sebagian besar diekskresikan lewat feses (Yanuar, 2008).

2.3.3 Toksisitas Merkuri

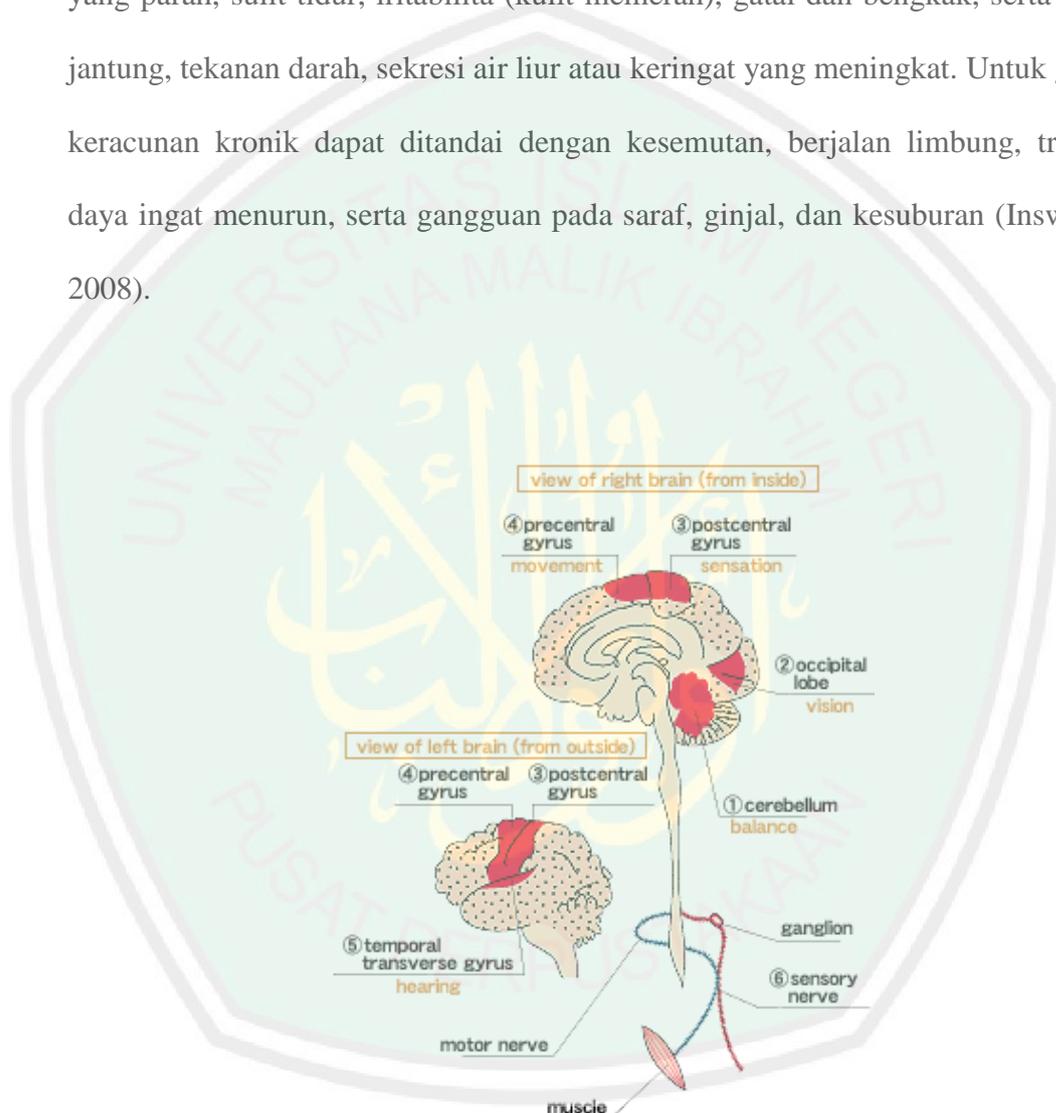
Merkuri memiliki perbedaan karakteristik dalam daya racun, distribusi, akumulasi, dan waktu retensinya di dalam tubuh. Transformasi biologi dapat terjadi di dalam lingkungan atau di dalam tubuh, yakni komponen merkuri diubah dari satu bentuk ke bentuk lainnya (Darmono, 1995 dalam Hasyimi, 2012). Diketahui dalam penelitian Seikh *et al.* (2013) LD 50 merkuri pada tikus yakni 40 mg/Kg BB dan setelah 28 hari nampak kerusakan pada organ ginjal meliputi nekrosis dan pendarahan.

Senyawa merkuri organik lebih toksik dibanding senyawa anorganiknya. Hal ini dikarenakan senyawa merkuri organik lebih mudah menembus sawar darah otak dan diabsorpsi sempurna pada saluran cerna. Menurut WHO (1976) awal dari efek toksik metil merkuri terjadi ketika kadar dalam darah antara 200-500 ng/mL. Hal ini setara dengan pemberian 30-50 mg merkuri per kg berat badan. Kemunculan gejala keracunan merkuri dapat tertunda beberapa minggu atau bulan tergantung dari akumulasi senyawa merkuri dalam tubuh. Merkuri organik menyerang susunan saraf pusat dengan target organ utama adalah otak (Yanuar, 2008).

Merkuri organik mudah menembus membran sel disebabkan oleh sifat lipofilisitasnya yang tinggi. Dalam darah, logam ini terikat secara eksklusif pada protein dan sulfhidril berbobot molekul rendah seperti sistein. Kompleks *MeHg-sistein* yang terbentuk kemudian dikenali sebagai analog asam amino yang mempunyai struktur mirip metionin sehingga dapat diangkut untuk melintas melalui sawar darah otak. Reaktifitasnya yang tinggi terhadap gugus sulfhidril yang terdapat pada berbagai protein, menyebabkan jumlah merkuri bebas dalam cairan biologis menjadi sangat kecil (Aberg *et al.*, 1969 dalam Widyawati, 2007).

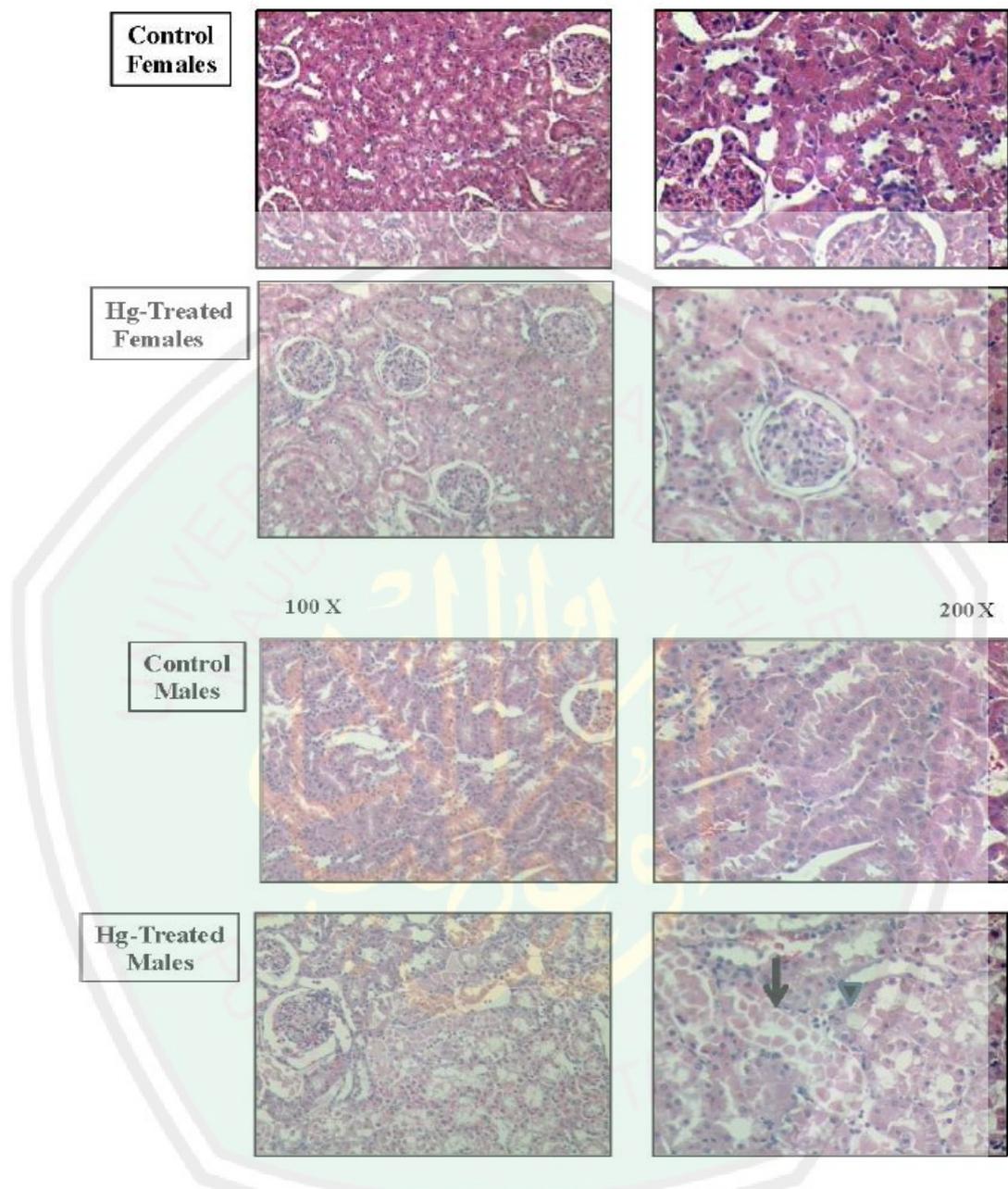
Dampak merkuri secara umum pada manusia dapat berupa gangguan fisiologis, gangguan system syaraf, gangguan pertumbuhan dan gangguan terhadap ginjal (Febriyana, 2012). Menurut Yanuar (2008) terhirupnya uap logam merkuri dapat mengakibatkan kerusakan paru-paru dan otak. Merkuri menyerang susunan saraf pusat dengan target organ utama adalah otak. Gambar 2.3 mengilustrasikan adanya daerah lesi di beberapa zona pada sistem saraf. Lesi pada *cerebellum* berakibat pada hilang keseimbangan (*ataxia*) dan gangguan bicara (*dysarthria*); Lesi pada *occipital lobe* menyebabkan gangguan penglihatan terjadi pada penyempitan bidang pandang, kesulitan penglihatan pada daerah tepi; Lesi pada *postcentral gyrus* menyebabkan gangguan sensasi atau *stereo anesthesia*; Lesi pada *precentral gyrus* menyebabkan kelemahan otot, kram atau gangguan pergerakan; Lesi pada *temporal transverse gyrus* menyebabkan kesulitan pendengaran; sedangkan Lesi pada saraf sensorik menyebabkan gangguan indera perasa, baik itu rasa nyeri, sentuhan ataupun suhu (Yanuar, 2008).

Gejala keracunan dalam literatur lain disebutkan gejala keracunan akut merkuri dapat berupa hilangnya nafsu makan dan menurunnya berat badan. Gejala lain yang pernah diketahui yakni adanya gejala *Acrodynia* meliputi kram kaki yang parah, sulit tidur, iritabilita (kulit memerah), gatal dan bengkak, serta detak jantung, tekanan darah, sekresi air liur atau keringat yang meningkat. Untuk gejala keracunan kronik dapat ditandai dengan kesemutan, berjalan limbung, tremor, daya ingat menurun, serta gangguan pada saraf, ginjal, dan kesuburan (Inswiasri, 2008).



Gambar 2.3 Zona lesi pada sistem saraf (Yanuar, 2008).

Hazzelhoff *et al* (2012) menyatakan pada penelitiannya mengenai perbedaan kerusakan ginjal pada tikus jantan dan betina dengan dosis 4 mg/kg BB, merkuri telah dapat membuat kerusakan pada ginjal setelah 18 jam dari waktu pemberian secara *intra-peritoneal*. Perbedaan kerusakan tersebut dipengaruhi oleh kadar OAT (*Organik Anion Transporter*) pada tubuh. Kadar OAT dalam tubuh jantan lebih banyak dibandingkan betina, sehingga jantan lebih memiliki resiko kerusakan ginjal lebih parah dibandingkan betina. Kadar OAT yang rendah pada betina ini didukung oleh banyaknya kadar estrogen pada betina yang mana dapat menghambat OAT tubuh. Gambaran dari perbedaan kerusakan ginjal yang terjadi pada tikus jantan dan betina yang telah diinduksi merkuri (HgCl_2) tersebut dapat dilihat pada gambar 2.4.



Gambar 2.4 Gambaran histopatologi ginjal tikus menggunakan pewarna HE (Hematoxylin/Eosin) pada perbesaran 100x dan 200x pada 18 jam setelah pemaparan merkuri (Hazzelhoff *et al.*, 2012).

2.4 Antidot

Antidot atau obat penawar racun merupakan suatu obat tau bahan yang mempunyai daya kerja bertentangan dengan racun, dapat mengubah sifat-sifat kimia racun atau mencegah absorpsi racun (Sartono, 1999).

Finkel *et al* (2009) menyatakan bahwa “Jaringan ataupun organ dalam tubuh dapat berpotensi terkena toksin kimiawi dan tentunya sebagian besar bahan kimia berdampak pada lebih dari satu jaringan”. Saat suatu organ terkena toksin maka dibutuhkan suatu obat (penawar racun) yang dalam istilah farmasi dikenal sebagai antidotum.

Berikut adalah beberapa type mekanisme kerja dari antidotum menurut Finkel *et al* (2009) :

a. Mengantagonis kerja toksik secara farmakologis

Antidotum ini bekerja menginhibisi reseptor tempat berikatannya logam-reseptor sehingga agen toksik akan bersaing dengan antidotum dalam menduduki reseptor target.

b. Mengubah senyawa menjadi lebih inaktif

Antidotum ini mengubah senyawa toksik menjadi senyawa yang lebih tidak toksik melalui ikatan senyawa antidotum-logam yang lebih mudah diekskresi sehingga mempercepat detoksifikasi agen toksik.

c. Menghambat pembentukan senyawa toksik

Mekanisme penghambatan ini dapat dilakukan dengan menghambat enzim yang berperan dalam proses pembentukan senyawa toksik, sehingga pembentukan senyawa toksik dapat berkurang.

d. Chelator (agen pengelasi)

Antidotum ini bekerja dengan membentuk senyawa kompleks dengan logam yang menjadi sebab toksin dalam tubuh. Biasanya antidotum ini ditujukan untuk kasus keracunan logam berat.

2.4.1 Kelator

Agen pengelasi adalah obat yang digunakan untuk mencegah atau memulihkan efek toksik logam berat pada suatu enzim atau target selular lainnya atau untuk mempercepat eliminasi logam dari tubuh. Agen ini biasanya tersusun atas molekul dengan dua atau lebih gugus elektronegatif yang berfungsi untuk membentuk ikatan kovalen-koordinat stabil dengan logam kationik (Katzung, 2012) sehingga logam yang telah berikatan dengan kelator akan mudah diekskresikan.

Efisiensi kelator sebagian ditentukan oleh jumlah gugus ligannya. Semakin banyak jumlah gugus ligan dalam kelator, semakin stabil pula kompleks logam-kelator yang terbentuk. Gugus-gugus ligan pengelasi meliputi gugus yang dapat memberikan elektron untuk berkoordinasi dengan logam seperti $-OH$, $-SH$ dan $-NH$. Ikatan seperti demikian efektif mencegah interaksi logam dengan gugus fungsional serupa pada enzim atau protein lain, koenzim, nukleofil seluler, dan membran (Katzung, 2012) sehingga mencegah terjadinya pembentukan senyawa toksik dalam tubuh dan atau mencegah terhambatnya fungsi kerja tubuh oleh logam berat.

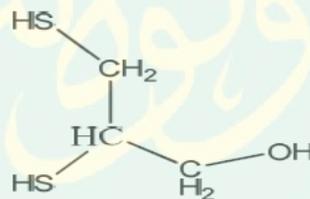
Kelemahan dari penggunaan kelator yakni kelator tidak spesifik pada logam berat. Logam esensial dalam tubuh seperti seng juga dapat diikat oleh kelator. Selain itu beberapa kelator mempunyai efek samping yang berpotensi serius seperti halnya pada dimerkaprol yang dapat meningkatkan nefrotoksik dan EDTA yang dapat menyebabkan defisiensi kalsium dalam tubuh, sehingga dalam hal ini penggunaan kelator perlu perhatian yang serius yakni pengobatan intoksikasi

logam berat dilakukan hanya bila manfaat terapinya lebih besar dibanding resiko yang ditimbulkan (Katzung, 2012).

2.4.2 Antidot Kasus Keracunan Merkuri

2.4.2.1 Dimerkaprol

Dimerkaprol telah disetujui oleh FDA sebagai agen terapi keracunan logam akut arsenik, merkuri anorganik, serta terapi keracunan timbal berat bila dikombinasikan dengan EDTA. Efek samping yang sering timbul yakni hipertensi, mual, dan muntah. Penggunaan umumnya digunakan secara intramuskular sehingga menimbulkan rasa sakit pada lokasi penyuntikan. Dimerkaprol tidak dianjurkan untuk kasus keracunan kronik, hal ini dikarenakan dimerkaprol dapat mendistribusikan merkuri dan arsen ke sistem saraf (Katzung, 2012).



Gambar 2.5 Struktur dimerkaprol (Prabawati dkk, 2013).

2.4.2.2 Suksimer (Asam dimerkaptosuksinat; DMSA)

Suksimer merupakan analog dimerkaprol yang larut-air. Menurut penelitian, suksimer dapat menurunkan kadar merkuri dalam ginjal yang merupakan organ target utama dalam kasus keracunan merkuri anorganik. Di AS (Amerika Serikat) suksimer diformulasikan secara eksklusif untuk penggunaan secara oral, namun sediaanannya dalam bentuk intravena berhasil digunakan di mana-mana.

Penggunaan suksimer secara per oral (dosis 10 mg/Kg) diketahui setara dengan pemberian EDTA secara parenteral. Efek samping yang dapat terjadi pada pemberian suksimer yakni gangguan saluran cerna termasuk anoreksia, mual, muntah (Katzung, 2012).

2.4.2.3 EDTA (Asam etilendiamintetraasetat)

EDTA secara *in vitro* dapat digunakan sebagai kelator yang efisien untuk logam divalen dan trivalen. Kelemahan dari EDTA yakni berpotensi untuk menurunkan kadar kalsium dalam tubuh sehingga pemberian EDTA hanya boleh diberikan sebagai garam kalsium dinatrium. EDTA efektif bila diberikan secara intravena, sebab jika diberikan secara oral akan meningkatkan penyerapan timbal dari saluran cerna. EDTA utamanya diindikasikan untuk keracunan timbal, seng, mangan. Efek samping yang pernah terjadi yakni nefrotoksik namun hal ini dapat dicegah dengan mempertahankan aliran urin, sehingga EDTA dikontraindikasikan pada pasien anurik (Katzung, 2012).

2.4.2.4 Penisilamin

Penisilin utamanya ditujukan untuk keracunan tembaga. Namun penggunaan pernah dilaporkan pada pasien rawat jalan keracunan merkuri dan timbal. Efek samping yang dapat timbul yakni demam, ruam, proteinuria, nefrotoksik dan insufisien ginjal pada penggunaan jangka panjang (Katzung, 2012).

Zat kelator (antidot) yang terbaik untuk mengatasi kasus keracunan merkuri sampai saat ini adalah asam 2,3-dimerkaptosuksinat (DMSA). Zat ini akan berkompetisi mengikat merkuri menggunakan gugus thiol dan memiliki toksisitas

rendah, pada percobaan dengan hewan memperlihatkan hasil yang jauh lebih baik dibanding dimerkaprol (BAL) ataupun d-penisilamin (DPCN) (Yanuar, 2008).

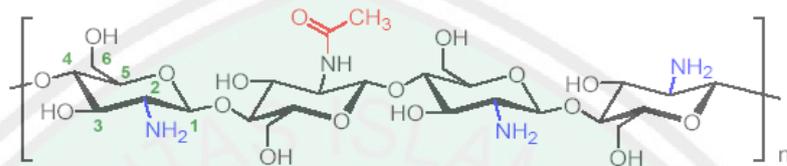
2.5 Kitosan

Kitosan adalah senyawa polimer alam turunan kitin yang diisolasi dari limbah perikanan seperti kulit udang dan cangkang kepiting. Sumber bahan lain yang dapat menjadi bahan baku kitosan di antaranya kalajengking, jamur, cumi, gurita, serangga, laba-laba, ulat sutera. Kitosan berbentuk lembaran tipis, berwarna putih atau kuning, dan tidak berbau. Kitosan dihasilkan melalui proses deasetilasi kitin melalui proses kimia menggunakan basa natrium hidroksida atau proses enzimatik menggunakan enzim *chitin deacetylase* (Rismana, 2006). Kitosan mempunyai sifat yang sukar larut dalam air, basa kuat, dan asam sulfat, tetapi sedikit larut dalam asam klorida, asam nitrat, dan asam fosfat. Kelarutannya tinggi dalam asam organik lemah atau pelarut organik lain dengan tingkat keasaman di bawah 6,5 (Mekawati dkk, 2000 dalam Nugroho, 2011).

Kitosan dapat terdegradasi oleh enzim yang menghidrolisis *glucosamine-glucosamine*, *glucosamine-N-acetyl-glucosamine* dan *N-acetyl glucosamine-Nacetyl-glucosamine*. Kitosan diperkirakan didegradasi pada vertebrata oleh lisozim dan bakteri di kolon. Mekanisme pengambilan kitosan dari saluran pencernaan secara umum tidak diteliti pada pemberian oral, namun absorpsi dan distribusi kitosan dalam tubuh bergantung pada berat molekulnya. Adapun proses eliminasi kitosan didahului oleh proses biodegradasi (Kean and Thanou, 2010).

2.5.1 Struktur Kitosan

Kitosan adalah jenis polimer rantai yang tidak linier yang mempunyai rumus umum $(C_6H_{11}O_4)_n$ atau disebut sebagai (1,4)-2-Amino-2-Deoksi- β -D-Glukosa, dimana strukturnya dapat dilihat pada gambar 2.6 sebagai berikut (Thate, 2004):



Gambar 2.6 Struktur kitosan (Thate, 2004).

2.5.2 Penelitian Terdahulu mengenai Kitosan

Telah banyak laporan tentang aplikasi kitosan untuk mengikat logam-logam berat. Dyahningtyas (1999) telah melaporkan penggunaan kitosan untuk menghilangkan cadmium (Cd) dalam larutan cair. Karthikeyan *et al.* (2004) melaporkan penggunaan kitosan untuk adsorpsi logam seng (Zn), sedangkan Franco *et al.* (2004) menggunakan kitosan dari *Cunninghamella elegans* untuk biosorpsi logam-logam berat Pb, Fe dan Cu. Bahkan kitosan jauh lebih efektif dibanding karbon aktif dalam mengadsorpsi ion logam Fe^{2+} , Ni^{2+} , Cu^{2+} (Guzel *and* Uzun, 2000). Hal ini diperkuat oleh Mekawati dkk (2000) dalam Rahayu dan Purnavita (2007) yang menyatakan bahwa khitosan dapat membentuk kompleks (khelat) dengan ion logam berat dan ion logam transisi terutama Cu^{2+} , Ni^{2+} , dan Hg^{2+} dalam percobaannya untuk adsorben logam merkuri. Semua penelitian tersebut melaporkan bahwa kitosan dapat digunakan sebagai adsorben atau pengikat logam-logam berat.

Telah dijelaskan pada Al – qur'an surat *Jatsiyah* ayat 13 :

وَسَخَّرَ لَكُمْ مَا فِي السَّمَاوَاتِ وَمَا فِي الْأَرْضِ جَمِيعًا مِنْهُ ۗ إِنَّ فِي ذَلِكَ لَآيَاتٍ لِّقَوْمٍ يَتَفَكَّرُونَ ١٣

Artinya: Dan Dia telah menundukkan untukmu apa yang di langit dan apa yang di bumi semuanya, (sebagai rahmat) daripada-Nya. Sesungguhnya pada yang demikian itu benar-benar terdapat tanda-tanda (kekuasaan Allah) bagi kaum yang berfikir (QS. Jatsiyah: 13).

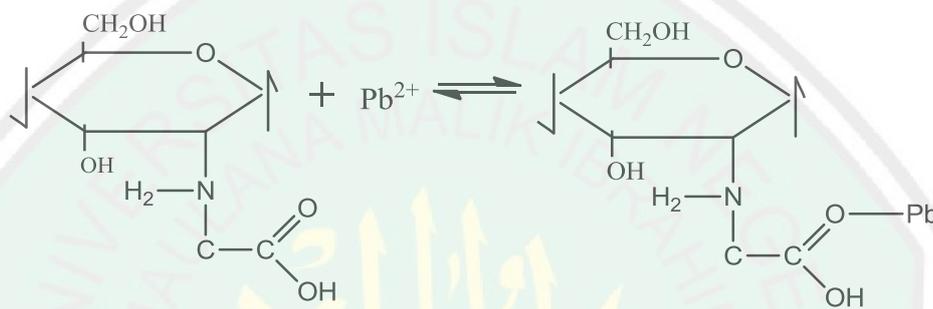
Dijelaskan dalam tafsir Ibnu Katsir (2007) bahwa yang dimaksudkan dengan menundukkan yakni Allah menceritakan berbagai nikmat-Nya untuk hambanya yang mana telah ditundukkan lautan bagi manusia supaya manusia dapat mencari karunianya sehingga manusia bersyukur. Kemudian dia menundukkan apa yang ada di langit dan bumi yakni berupa binatang, gunung, lautan, sungai, dan segala hal yang dapat dimanfaatkan. Hal itu hanya dapat disadari oleh kaum ulul albab (kaum yang berpikir). Sehingga jika dikaitkan dalam penelitian ini penjelasan mengenai kitosan menunjukkan bahwa kitosan memiliki manfaat yang dapat diperoleh dari ciptaan (tanda kekuasaan) Allah yakni sebagai contoh salah satu sumbernya pada kulit udang.

2.5.3 Mekanisme Kitosan dalam Mengikat Logam Berat

Kitosan memiliki gugus asam amino (NH_2) dan gugus hidroksil (OH) yang menyebabkan kitosan memiliki reaktifitas kimia yang tinggi (bersifat polielektrolit kation) sehingga dapat digunakan sebagai pengikat atau adsorben logam-logam berat (Mekawati dkk, 2000). Reaksi yang terjadi antara kitosan-logam yakni membentuk kompleks (khelat) yang merupakan reaksi asam-basa Lewis dengan asam Lewis adalah penerima elektron, dan basa Lewis adalah

penyumbang elektron (Underwood, 2001). Pada pembentukan kompleks khitosan-ion logam, ligan -NH_2 bertindak sebagai basa Lewis yang menyumbangkan sepasang elektron ke ion logam (asamnya) membentuk ikatan kovalen koordinasi.

Berikut adalah gambaran ikatan yang terjadi antara khitosan dalam pelarut asam asetat dengan salah satu logam berat (Pb):



Gambar 2.7 Ikatan Kitosan dalam pelarut asam asetat dengan logam berat (Pb) (Hirano, 1998 dalam Nirmala dkk, 2006)

Senyawa-senyawa pengompleks (pengkhelat), yang merupakan konjugat basa dari kation (ion logam atau H^+), membuat senyawa pengkelat memiliki kelemahan yakni kemampuannya dalam mengikat logam dipengaruhi oleh pH lingkungan. Hal ini dikarenakan ion-ion logam dan ion H^+ berkompetisi dalam memperebutkan ligan dari senyawa pengkelat. Mekawati dkk (2000) melaporkan bahwa adsorpsi ion logam Pb^{2+} dengan khitosan dari udang putih (*Penaeus merguensis*) pada pH 3 hingga pH 5 dan adsorpsi tertinggi diperoleh pada pH 5. Sedangkan Rahayu dan Purnavita (2007) melaporkan adsorpsi ion merkuri dengan khitosan diselidiki pada pH asam hingga pH sedikit netral (pH 6).

2.5.4 Toksisitas Kitosan

Menurut penelitian Kean *and* Thanou (2010) pemberian kitosan 7,1-8,6 mg/kg selama 5 hari melalui intra vena pada kelinci, kitosan tidak menimbulkan daya racun pada pemantauan 65 hari. Namun kitosan dapat menyebabkan kematian pada pemberian 50 mg/Kg secara intra vena. Namun hal tersebut disebabkan karena adanya penumpukan pada pembuluh darah yang dapat menyebabkan penyumbatan bukan karena adanya sifat toksik dari kitosan itu sendiri.

Rao, *et al* (1997) dalam Kean *and* Thanou (2010) menyatakan bahwa tidak ada efek toksik yang signifikan pada uji toksisitas akut kitosan pada mencit, tidak menimbulkan iritasi pada mata dan kulit pada kelinci dan guinea pig, serta tidak bersifat pirogen. LD 50 kitosan pada mencit yakni 72,16 mg/Kg, tidak menyebabkan anafilaksis pada guinea pig dan tidak menyebabkan iritasi pada pembuluh darah serta secara histopatologi pada kelinci dengan dosis 6 mg/Kg.

2.6 Darah

Darah merupakan suatu jaringan cair yang memiliki beberapa peran vital. Fungsi yang paling utama yakni kemampuannya untuk mengangkut oksigen dari paru-paru ke bagian lain jaringan tubuh dan mengeluarkan karbondioksida dari jaringan ke paru-paru. Fungsi lain-lain dari darah meliputi koagulan (pembekuan darah saat terluka), pengatur suhu tubuh, mempertahankan asam basa dan keseimbangan cairan, pergerakan nutrisi dan hormon ke jaringan tubuh (Adityarini, 1996).

Darah memiliki dua komponen utama yakni elemen-elemen bentukan (serum) dan plasma. Plasma merupakan bagian cairan yang bening dan berwarna kekuningan, sedangkan serum merupakan kumpulan dari sel-sel penyusun darah yakni sel darah merah (eritrosit), sel darah putih (leukosit) dan keping darah (trombosit) (Adityarini, 1996).

Sel darah merah tidak memiliki inti sel, mitokondria atau ribosom. Sel darah merah mengandung protein hemoglobin yang mengangkut sebagian besar oksigen dari paru-paru ke seluruh tubuh. Hemoglobin menempati sebagian besar ruang intrasel eritrosit. Hemoglobin terdiri dari materi yang mengandung besi yang disebut hem (heme) dan protein globulin. Setiap molekul hemoglobin memiliki empat tempat pengikatan untuk oksigen (Corwin, 2008).

Rasulullah pernah menganjurkan umatnya untuk berbekam salah satunya jika terjadi keracunan. Hal ini disebabkan darah merupakan penghantar racun ke jantung dan seluruh tubuh. Jika seseorang terkena racun dan ia cepat mengambil tindakan dengan mengeluarkan darah tersebut maka proses racun yang bercampur dengan darah akan bisa dikeluarkan. Dalam hal ini Nabi menganjurkan untuk berbekam pada punggung bagian atas sebab itulah tempat yang paling dekat dengan jantung sehingga unsur racun dapat keluar bersama darah meskipun tidak secara keseluruhan (Al-Jauziyyah, 2000).

2.7 Inductively Coupled Plasma (ICP)

Inductively Coupled Plasma (ICP) adalah sebuah teknologi analisis yang digunakan untuk mendeteksi logam pada suatu sampel. Teknologi dengan metode ICP yang digunakan pertama kali pada awal tahun 1960 dengan tujuan

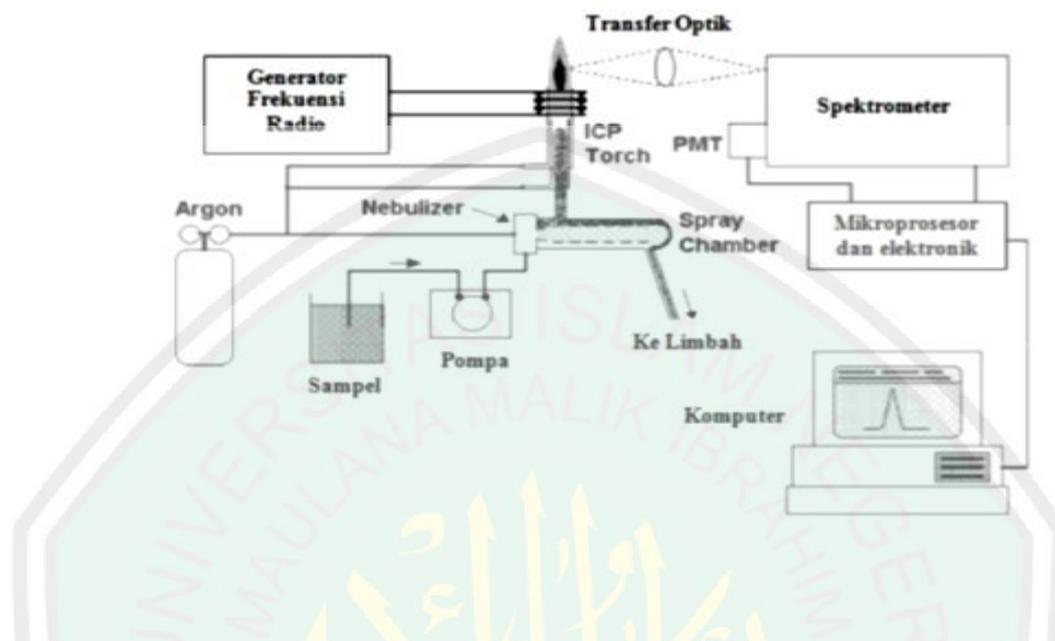
meningkatkan perkembangan teknik analisis (Anonim, 2011). Dibandingkan dengan teknik lain, ICP memiliki kemampuan alami untuk penentuan hingga 70 element secara bersamaan dengan batas deteksi yang sangat rendah yakni 0,1-100 ppb (Hou *and* Bradley, 2000) dalam (Pertiwi, 2017).

2.7.1 Prinsip Kerja

Gas argon diarahkan melalui torch kemudian gas tersebut akan terinduksi oleh energi yang ditimbulkan dari kumparan di atas *torch* yang terhubung pada generator radio frekuensi. Daya yang mengalir kumparan menciptakan adanya arus listrik dari medan magnet yang menyebabkan beberapa elektron terlepas dari atom argonnya. Elektron ini kemudian tertangkap dan diakselerasi dalam medan magnet. Peristiwa inilah yang disebut sebagai inductive coupling. Elektron berenergi tinggi ini selanjutnya bertumbukan dengan atom argon lainnya, menyebabkan lepasnya lebih banyak elektron. Ionisasi tumbukan gas argon ini berlanjut dalam reaksi berantai, mengubah gas menjadi plasma yang terdiri atas atom argon, elektron, dan ion argon. Hal inilah yang disebut sebagai *Inductively Coupled Plasma* (ICP) discharge (Boss *and* Fredeen, 1997).

Energi yang ditimbulkan oleh plasma pada *Inductively Coupled Plasma* menyebabkan elektron terluar dari atom atau ion logam akan berpindah ke lintasan energi yang lebih tinggi (tereksitasi) dengan menyerap energi dari plasma. Saat kembali ke kondisi energi terendah (ground state) terjadi pelepasan energi berupa cahaya yang mana intensitas cahaya yang dipancarkan sebanding dengan konsentrasi elemen logam yang akan diukur (Tobing, 2013).

2.7.2 Instrumentasi ICP



Gambar 2.8 Susunan instrumen ICP (Boss and Fredeen, 1997)

2.7.2.1 Nebulizer

Pengkabut adalah bagian yang mengubah cairan menjadi bentuk aerosol yang nantinya akan diteruskan ke dalam plasma. Proses nebulasi adalah salah satu langkah yang paling penting dalam ICP karena hanya bercak-bercak kecil yang dapat digunakan dalam ICP. Kemampuan untuk menghasilkan bercak kecil pada berbagai jenis sampel yang banyak tergantung pada nebulizer (Tobing, 2013).

2.7.2.2 Pompa Peristaltik Pump

Pompa peristaltik adalah jenis pompa perpindahan yang digunakan untuk memompa berbagai cairan yang masuk pada ICP. Pompa ini menggunakan sebuah penggulungan yang mendorong larutan sampel dimana tabung menggunakan proses peristaltik. Tabung pompa peristaltik adalah satu bagian dari sistem ICP yang biasanya memerlukan penggantian yang sering. Hal ini

dikarenakan jika terjadi aus pada tabung dapat mengakibatkan kinerja instrumen menurun karena dapat mencegah aliran sampel yang akan disampaikan ke pengkabut nebulizer (Tobing, 2013).

2.7.2.3 Bagian Penyemprot (*Spray Chamber*)

Spray chamber dalam ICP digunakan untuk menghapus tetesan besar dari aerosol. Secara umum, bagian penyemprot untuk ICP dirancang untuk memungkinkan tetesan dengan diameter sekitar 10 mm atau lebih kecil untuk lolos ke plasma. Tetesan yang besar kemudian dibuang ke wadah limbah. (Tobing, 2017). *Spray Chamber* ini letaknya berada di antara *nebulizer* dan *torch* (Boss and Fredeen, 1997).

2.7.2.4 Saluran Air Drain

Air drain ini berfungsi untuk membuang sampel yang berlebihan dari *spray chamber*. Selain membawa pergi sampel berlebihan, sistem pembuangan menyediakan tekanan baik yang diperlukan untuk memaksa sampel aerosol membawa aliran gas melalui tabung *nebulizer injector* obor dan masuk ke plasma. Jika sistem pembuangan tidak mengalir secara merata atau jika memungkinkan gelembung untuk melewatinya, injeksi sampel ke dalam plasma mungkin terganggu (Tobing, 2013).

2.7.2.5 Obor *Thor*

Obor terdiri dari tiga tabung konsentris untuk aliran argon dan injeksi aerosol. Jarak antara tabung luar dijaga bersempitan sehingga gas yang dialirkan diantara mereka muncul dengan kecepatan yang tinggi. Salah satu fungsi dari gas ini adalah

untuk menjaga dinding kuarsa aliran obor dingin. Untuk argon ICP, aliran gas luar biasanya sekitar 7-15 liter per menit (Tobing, 2013).

2.7.2.6 Generator Frekuensi Radio

Generator Frekuensi Radio (RF) adalah perangkat yang menyediakan daya untuk memelihara plasma. Besar daya yang dialirkan yakni sekitar 700-1500 watt yang ditransfer melalui kumparan pada bagian bagian atas obor. Kumparan yang bertindak sebagai antenna untuk mentransfer daya RF untuk plasma biasanya terbuat dari pipa tembaga dan didinginkan oleh air atau gas selama operasi (Tobing, 2013).

2.7.2.7 Transfer Optik

Sampel yang sudah berbentuk aerosol yang sudah diubah oleh obor akan dipancarkan ke transfer optik kemudian cahaya polikromatis yang dipancarkan oleh atom dalam sampel akan diubah menjadi cahaya monokromatis (Tobing, 2013).

2.7.2.8 Mikroprosesor Detektor

Detector berfungsi sebagai pendeteksi kadar logam dalam sampel. Setelah garis emisi yang tepat telah diisolasi dengan spektrofotometer ICP, detector akan menangkap sinyal intensitas garis emisi dan mengelolanya menjadi data sebagai hasil dari analisa. Sejauh ini detektor paling banyak digunakan untuk ICP adalah tabung photomultiplier (Tobing, 2013).

2.7.2.9 Komputer dan Prosesor

Komputer ini berfungsi untuk mengontrol jalannya ICP. Mayoritas fungsi otomatis instrumen ICP secara langsung dikontrol oleh komputer melalui tombol atau keypad yang terletak pada instrumen. Melalui komputer ini pula pembacaan hasil analisis kadar logam yang terkandung atau terdeteksi didalam sampel dilakukan (Tobing, 2013).

2.8 Ginjal

Ginjal merupakan suatu organ yang terletak retroperitoneal pada dinding abdomen di kanan dan kiri. Ginjal kanan terletak lebih rendah dari yang kiri karena besarnya lobus hepar. Ginjal dibungkus oleh tiga lapis jaringan. Jaringan yang terdalam adalah kapsula renalis, jaringan pada lapisan kedua adalah adiposa, dan jaringan terluar adalah fascia renal. Ketiga lapis jaringan ini berfungsi sebagai pelindung dari trauma dan memfiksasi ginjal (Tortora, 2011).

Ginjal memiliki korteks ginjal di bagian luar yang berwarna coklat terang dan medula ginjal di bagian dalam yang berwarna coklat gelap. Korteks ginjal mengandung jutaan alat penyaring disebut nefron. Setiap nefron terdiri dari glomerulus dan tubulus. Medula ginjal terdiri dari beberapa massa-massa triangular disebut piramida ginjal. Piramida ginjal berguna untuk mengumpulkan hasil ekskresi yang kemudian disalurkan ke tubulus kolektivus menuju pelvis ginjal (Tortora, 2011).

Ginjal merupakan alat utama yang sangat penting untuk mengeluarkan sisa-sisa metabolisme tubuh, termasuk zat-zat toksik yang tidak sengaja masuk ke dalam tubuh, akibatnya ginjal menjadi salah satu organ sasaran utama dari efek

toksik. Urin sebagai jalur utama ekskresi, dapat mengakibatkan ginjal memiliki volume darah yang tinggi, mengkonsentrasikan toksikan pada filtrat dan membawa toksikan melalui sel tubulus (Guyton *and* Hall, 1997).

Menurut Sherwood (2011), ginjal memiliki fungsi yaitu :

- a. Mempertahankan keseimbangan air dalam tubuh.
- b. Memelihara volume plasma (pengaturan tekanan darah).
- c. Membantu memelihara keseimbangan asam basa pada tubuh.
- d. Mengekskresikan produk-produk sisa metabolisme tubuh.
- e. Mengekskresikan senyawa asing seperti obat-obatan.

2.9 Histopatologi

Jaringan adalah kumpulan dari sel-sel sejenis atau berlainan jenis termasuk matrik antar selnya yang mendukung fungsi organ atau sistem tertentu. Histologi merupakan ilmu mempelajari jaringan penyusun tubuh, kimia jaringan dan sel yang dipelajari dengan metode analitik mikroskopik dan kimia (Harjana, 2011). Sedangkan histopatologi adalah cabang biologi yang mempelajari kondisi dan fungsi jaringan dalam hubungannya dengan penyakit. Histopatologi ini menggambarkan jaringan yang diduga terganggu dengan membandingkan kondisi jaringan sehat terhadap jaringan sampel (Pusbosari, 2016).

Sebagian besar jaringan tidaklah berwarna sehingga sulit untuk memeriksa jaringan yang tidak diwarnai di bawah mikroskop. Oleh karena itu dibutuhkan pewarnaan terlebih dahulu sehingga jaringan akan lebih jelas komponen-komponennya. Pewarnaan Hematoksilin dan Eosin (H&E) adalah jenis pewarnaan rutin yang paling umum dipakai dalam peneguhan diagnosis hewan (Muntiha, 2001).

Jaringan yang akan dianalisis biasanya direndam jaringan di dalam zat-zat kimia yang berfungsi sebagai bahan pengawet agar terhindar dari pencernaan jaringan oleh enzim-enzim (autolisis) atau bakteri dan untuk melindungi struktur fisik sel. Bahan pengawet yang rutin digunakan adalah larutan Buffered Neutral Formalin (BNF) 10%. Perbandingan antara organ dan larutan yaitu 1:10, sedangkan lamanya fiksasi minimal 2 hari. Sampel untuk pemeriksaan histopatologi harus segar, artinya jaringan diambil secepat mungkin setelah hewan mati. Keterlambatan pengambilan jaringan, terlebih dalam suhu lapangan yang panas, mengakibatkan jaringan cepat menjadi busuk (Muntiha, 2001).

2.10 Tikus (*Rattus novergicus*)

Tikus merupakan hewan laboratorium yang banyak digunakan dalam penelitian dan percobaan antara lain untuk mempelajari pengaruh obat-obatan, toksisitas, metabolisme, embriologi maupun dalam mempelajari tingkah laku (Malole dan Pramono, 1989; Hendriyani, 2003).

Tikus putih (*Rattus norvegicus*) merupakan hewan pengerat dan sering digunakan sebagai hewan percobaan atau digunakan untuk penelitian, dikarenakan tikus merupakan hewan yang mewakili hewan mamalia. Sehingga kelengkapan organ, kebutuhan nutrisi, metabolisme biokimianya, sistem reproduksi, pernafasan, peredaran darah dan ekskresi menyerupai manusia (Vazquez *et al.*, 2013). Berikut merupakan klasifikasi tikus putih (*Rattus norvegicus*) (Krinke,2000) :

Kingdom : Animalia

Filum : Chordata

Subfilum : Vertebrata
Kelas : Mammalia
Ordo : Rodentia
Subordo : Odontoceti
Familia : Muridae
Genus : *Rattus*
Species : *Norvegicus*

Etik penelitian kesehatan kepada hewan coba (dalam penelitian kali ini yakni tikus) secara umum tercantum dalam *World Medical Association* yaitu: *respect* yakni menghormati hak dan martabat makhluk hidup, *beneficiary* yakni bermanfaat bagi manusia dan makhluk lain dan manfaat tersebut harus lebih besar dibandingkan dengan risiko yang diterima oleh hewan coba, dan yang terakhir *justice* yakni bersikap adil dalam memanfaatkan hewan percobaan. Dalam penelitian kesehatan yang memanfaatkan hewan coba, juga harus diterapkan prinsip 3 R dalam protokol penelitian, yaitu: *replacement*, *reduction*, dan *refinement*. *Replacement* adalah keperluan memanfaatkan hewan percobaan sudah diperhitungkan secara seksama; *Reduction* diartikan sebagai pemanfaatan hewan coba digunakan dalam jumlah yang sesedikit mungkin namun tetap memberikan hasil yang akurat; dan *Refinement* adalah memperlakukan hewan percobaan secara manusiawi (*humane*) dengan memeliharanya secara baik dan tidak menyakiti hewan (Ridwan, 2013).

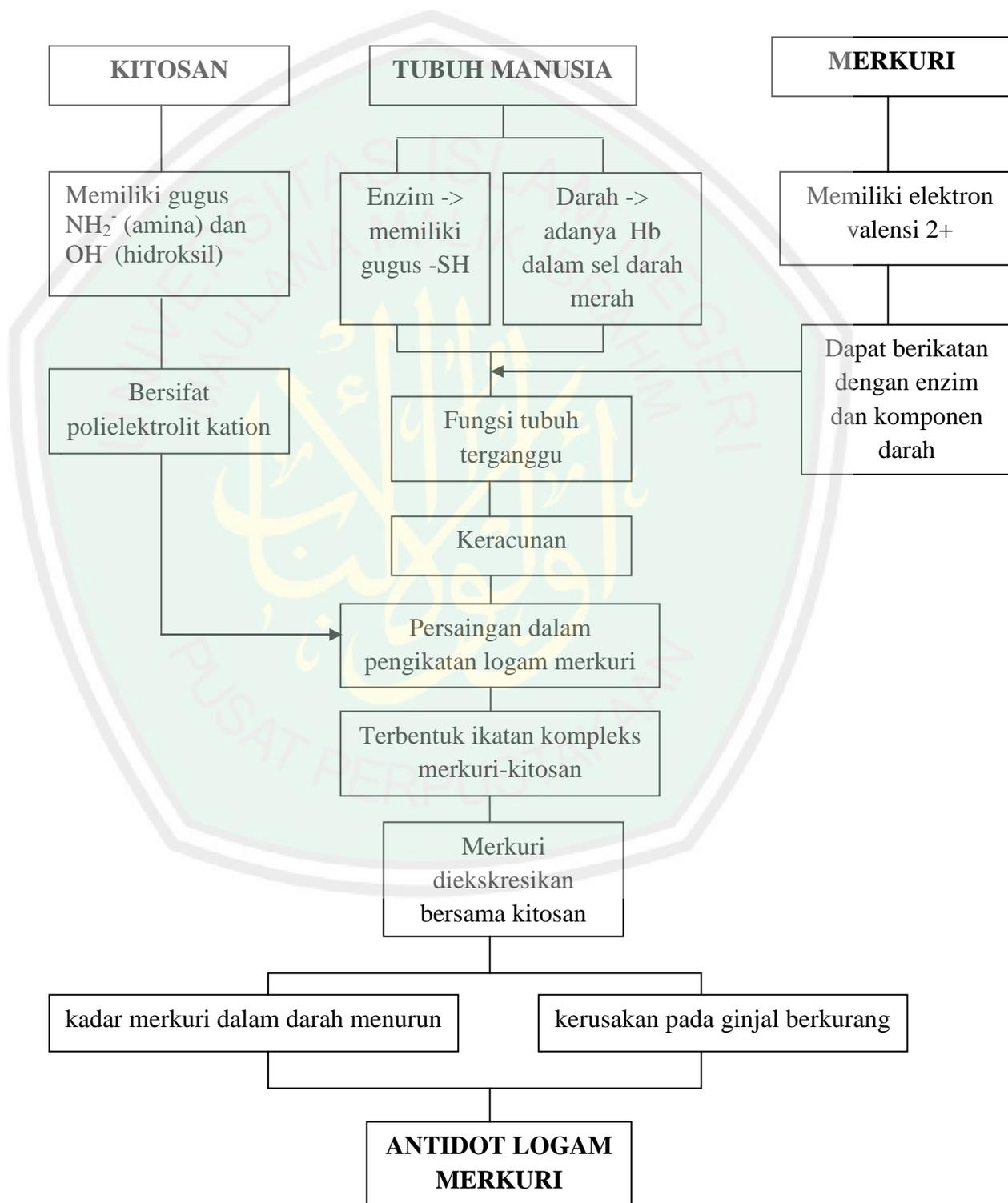
Metode pemberian perlakuan kepada tikus yang paling aman dan nyaman yakni melalui jalur per-oral. Metode ini pun lebih mudah dalam aplikasinya, cukup dengan mencampurkan zat yang akan diberikan dengan minuman atau

makanan tikus. Dalam hal ini pencampuran pada minuman lebih umum digunakan (Nebendahl, 2000). Untuk metode pengambilan darah dari tikus dapat melalui berbagai mekanisme. Salah satunya melalui ekor bagian tepi. Pengambilan darah melalui jalur ini dapat dilakukan secara harian dengan volume hingga 1 mL. Sebelum pengambilan darah hendaknya ekor direndam terlebih dahulu pada air hangat ($\pm 42^{\circ}\text{C}$) selama 40-50 detik untuk membuat kondisi dilatasi pada pembuluh darah. Hal ini dimaksudkan untuk membuat aliran darah yang lancar sehingga pengambilan darah dapat berjalan secara maksimal (Goosens *and* Lee, 2015). Pengambilan darah secara berulang diperbolehkan, namun hal ini dapat merusak ekor sehingga sekiranya untuk pengambilan sampel darah berulang maksimal 8 kali dalam 24 jam (Moore *and* Tough, 2015). Keuntungan dari pengambilan darah melalui ekor tepi yakni tidak membutuhkan anastesi, mudah dioperasikan, dan memungkinkan untuk pengambilan berulang (Institution Animal Care, 2014).

BAB III

KERANGKA KONSEPTUAL

3.1 Kerangka Konseptual



Logam berat yang masuk ke dalam tubuh dapat mempengaruhi kerja dari enzim-enzim fisiologi tubuh. Toksikan dari logam berat mampu untuk berikatan dengan enzim dan menyebabkan enzim tersebut menjadi inaktif atau tidak dapat berfungsi sebagaimana semestinya sehingga akan terjadi ketidakseimbangan dalam sistem fisiologis. Hal itulah yang kemudian menjadi dasar dari munculnya penyakit-penyakit sebagai manifestasi dari keracunan (Palar, 2012).

Jalur masuk logam ke dalam tubuh manusia dapat melalui makanan, air minum atau udara di lingkungan. (Murniasih dan Taftazani, 2013). Indonesia memiliki banyak wilayah dengan pertambangan emas. Hal ini memungkinkan terjadinya pencemaran merkuri di alam sebab merkuri digunakan dalam proses pemurnian emas (Setiabudi, 2005). Kadar merkuri yang banyak tersebar di lingkungan dapat masuk ke tubuh manusia dan menyebabkan keracunan logam berat.

Kitosan pernah digunakan sebagai adsorben logam berat pada limbah cair pada penelitian Nugroho dkk tahun 2011. Kitosan (2-asetamidadeoksi- β -D-glukosa) memiliki gugus asam amino dan gugus hidroksil yang menyebabkan kitosan memiliki reaktifitas kimia yang tinggi (bersifat polielektrolit kation) sehingga dapat berperan sebagai pengikat atau adsorben logam-logam berat. Kitosan juga pernah dilaporkan efektif dalam mengikat logam berat pada ginjal yang diinduksi plumbum asetat pada penelitian Vedy tahun 2015. Di mana gambaran histopatologi dari ginjal mencit terdapat pengurangan sel yang rusak oleh kitosan dibanding dengan mencit dengan kontrol negatif.

Berdasarkan penjelasan di atas diduga kitosan dapat dimanfaatkan sebagai antidotum oral untuk keracunan logam merkuri. Dugaan ini akan diujikan dengan melakukan analisis pada kadar logam merkuri darah dan gambaran histopatologi ginjal tikus (hewan coba). Analisis dilakukan pada ginjal tikus dikarenakan seperti yang kita ketahui bahwa metabolisme kebanyakan terjadi pada organ hati dan ginjal dalam buku karangan Neal pada tahun 2005. Sedangkan untuk analisis darah dilakukan karena darah berperan sebagai pembawa berbagai zat dalam sistem sirkulasi (Ganong, 1999 dalam Widyawati, 2007).

3.2 Hipotesis Penelitian

1. Kitosan dapat menurunkan kadar merkuri dalam darah tikus yang diinduksi larutan merkuri setelah pemberian suspensi kitosan.
2. Kitosan dapat memperbaiki kerusakan pada ginjal tikus yang diinduksi larutan merkuri setelah pemberian suspensi kitosan.

BAB IV

METODE PENELITIAN

4.1 Jenis dan Rancangan Penelitian

Uji potensi kitosan sebagai antidotum dilakukan secara *in vivo* menggunakan objek tikus jantan yang berumur sekitar \pm 2 bulan dengan berat \pm 200 g. Rancangan percobaan yang digunakan adalah *true experimental design* dengan 4 kelompok perlakuan masing-masing terdiri dari 3 ekor (lihat **tabel 4.1**). Tikus tersebut sebelum diberi perlakuan diaklimatisasikan selama 1 minggu. Tikus P2-P4 diberi larutan induktor (larutan merkuri) secara oral pada hari ke-1 pasca aklimatisasi untuk membuat akumulasi logam merkuri pada tikus. Pada hari ke-2 pasca aklimatisasi perlakuan dilanjutkan dengan pemberian *antidotum oral* kitosan pada kelompok P3 dan EDTA-Na₂ pada kelompok P4 hingga 3 hari berturut-turut.

Tabel 4.1 Kelompok Perlakuan Hewan Coba.

Kelompok	Perlakuan
P1 (Normal)	Akuades
P2 (Kontrol negatif)	Larutan HgCl ₂
P3 (Kontrol Perlakuan)	Larutan HgCl ₂ + kitosan dosis 100 mg/200 g BB tikus
P4 (Kontrol Positif)	Larutan HgCl ₂ + EDTA-Na ₂ dosis 100 mg/200 g BB tikus

Potensi kitosan diuji dengan menghitung kadar Hg (merkuri) dalam darah secara harian dan dari tingkat kerusakan sel (nekrosis) ginjal pada tikus. Pengukuran kadar Hg dalam darah diukur dengan instrumen ICP (*Inductively Coupled Plasma*) yang sebelumnya sampel dipreparasi dengan metode *wet*

digestion. Sampling darah ini dilakukan mulai hari ke-2 pasca aklimatisasi hingga 4 hari berturut-turut. Tingkat kerusakan sel (nekrosis) ginjal diketahui dengan menganalisa histopreparat ginjal yang telah diberi pewarna HE (*Hematosiklin & Eosin*) pada mikroskop elektron. Adapun pengambilan sampel darah diambil dari vena *ekor* tikus sebanyak ± 0.1 mL dengan cara menggunting *ujung ekor* tikus.

4.2 Waktu dan Tempat Penelitian

Penelitian ini akan dilakukan di Laboratorium Patologi Anatomi Universitas Brawijaya, Laboratorium LPPM (Lembaga Penelitian & Pengabdian Masyarakat) Institut Teknologi Sepuluh Nopember, Laboratorium Fisiologi Hewan Jurusan Biologi dan Laboratorium Kimia Analisis Jurusan Kimia Universitas Islam Maulana Malik Ibrahim Malang yang dimulai pada bulan April hingga bulan November.

4.3 Variabel Penelitian dan Definisi Operasional

4.3.1 Variabel Terikat

Variabel terikat dalam penelitian ini yakni terdiri dari kadar Hg (merkuri) darah dan gambaran histopatologi organ ginjal tikus. Gambaran tersebut didapat dari metode pewarnaan HE yang kemudian dianalisis pada mikroskop elektron, sedangkan untuk data kadar Hg diambil dari data absorbansi sampel darah tikus pada ICP (*Inductively Coupled Plasma*) menggunakan metode *wet digestion* untuk preparasi sampelnya.

4.3.2 Variabel Bebas

Variabel bebas dalam penelitian ini yakni perlakuan yang diberikan kepada tikus terkait terapi antidot yang digunakan (lihat tabel 4.1). Pemberian perlakuan ini dilakukan dengan memberikan antidotum secara oral melalui sonde.

4.3.3 Variabel *Intervening*

Variabel *intervening* adalah variabel-variabel yang mempengaruhi hubungan antara variabel-variabel independen dengan variabel-variabel dependen atau dengan kata lain merupakan variabel yang terletak diantara/penghubung variabel-variabel independen dengan variabel-variabel dependen (Indriantoro dan Supomo, 2001).

Variabel *intervening* dalam praktikum ini yakni pengukuran kadar Hg dalam sampel darah dan pengamatan histopatologi organ ginjal tikus. Pengukuran kadar Hg dilakukan menggunakan instrumen ICP, sedangkan untuk pengamatan histopatologi dilakukan dengan mikroskop elektron.

4.3.4 Variabel Kontrol

Variabel kontrol ini terdiri dari objek penelitian (tikus) dan larutan induktor (larutan HgCl_2) yang akan diinduksikan untuk meracuni tikus. Tikus yang digunakan yakni berjenis kelamin jantan berbobot ± 200 g dengan usia ± 2 bulan.

4.4 Alat dan Bahan Penelitian

4.4.1 Alat

Alat-alat yang dibutuhkan pada penelitian ini yakni botol semprot (ukuran sedang) 1 buah, tabung endroff (ukuran 1,5 mL) buah, sonde 2 buah, mortar-

stamper (ukuran sedang) 2 pasang, gunting bedah (ukuran sedang) 1 buah; kertas saring 1 gulung untuk penyaringan sampel darah hasil dari proses *wet digestion*, pipet tetes 3 buah, pot salep (ukuran sedang dan transparan) 16 buah, batang pengaduk ukuran sedang 1 buah, corong gelas (ukuran sedang) 1 buah, gelas arloji (ukuran besar) 1 buah, centrifuge tube ukuran 10 mL 48 buah, rak tabung, pipet ukur 10 mL + bola hisap masing-masing yakni 1 buah, labu ukur 50 mL 1 buah dan 25 mL 2 buah, Beaker glass ukuran 50 mL sejumlah 3 buah. Adapun merek peralatan gelas yang digunakan yakni dipilih merek pyrex (iwaki).

Instrumen yang digunakan dalam penelitian ini yakni ICP (*Inductively Coupled Plasma*) merek Teledyne, *freeze dryer* merek Labfreez tipe FD-10-MR, microwave digestion merek Sineo tipe MDS-6G, neraca analitik merek Kern tipe A J 220-4 dan mikroskop elektron merek Yazumi. Masing-masing jumlah yang dibutuhkan yakni 1 buah. Adapun alat-alat yang digunakan dalam pemeliharaan tikus yakni kandang ukuran 40 cm x 30 cm x 18 cm sebanyak 4 buah dengan tempat minum dan tempat makan masing-masing 1 buah per kandang. Pada bagian atas kandang diberi kawat dan diberi serbuk kayu pada bagian alasnya.

4.4.2 Bahan

Bahan-bahan yang dibutuhkan pada penelitian ini meliputi formalin 10 % ± 250 mL untuk pengawet preparat sampel jaringan ginjal tikus, merkuri (HgCl_2) 1 g sebagai agen toksin; akuades ± 1000 mL, asam asetat 2 % ± 5 mL, EDTA- Na_2 sebanyak 1 g sebagai kontrol positif, HNO_3 65% ± 500 mL sebagai pelarut dalam proses *wet digestion*; kloroform pa (*pro analysis*) 100 mL, Serbuk kayu untuk alas kandang tikus sebanyak ± 6 pak, pelet campuran BR1 dan AD2 untuk pakan tikus

sebanyak ± 4 pak (1 pak = 1 Kg), Serbuk kitosan merk Himedia 3 g yang digunakan sebagai bahan uji pada kontrol perlakuan, dan tikus putih (*Ratus novergicus*) jantan usia ± 2 bulan dengan berat badan ± 200 g sebanyak 12 ekor sebagai hewan coba.

4.5 Prosedur Pengumpulan Data

4.5.1 Pembuatan Suspensi Antidot Kitosan

Suspensi antidot kitosan dibuat dengan membasahi permukaan serbuk kitosan dengan ± 25 tetes asam asetat 2%, kemudian diaduk rata. Setelah tercampur ditambahkan sedikit akuades untuk melarutkan kitosan. Campuran kemudian dipindahkan pada labu ukur dan ditambahkan akuades hingga tanda batas. Sediaan yang dibuat yakni 25 mL dengan dosis 100 mg/200 g BB tikus. Suspensi kitosan ini ditujukan sebagai bahan uji pada kelompok kontrol perlakuan.

4.5.2 Pembuatan Larutan Standar dan Larutan Induktor

Larutan standar dibuat dari proses pengenceran larutan induk merkuri nitrat 1000 ppm. Larutan standar yang dibuat yakni konsentrasi 0,1 ppm, 0,5 ppm dan 1 ppm dengan pelarut asam nitrat 2 %. Pembuatan dilakukan dengan melarutkan sejumlah mL larutan induk merkuri nitrat pada labu ukur kemudian di ad kan asam nitrat hingga tanda batas. Adapun larutan induktor dibuat dengan melarutkan 16 mg HgCl_2 dalam akuades tepat larut lalu ditambahkan dengan akuades ad 50 mL. Hal ini disesuaikan dengan dosis untuk tikus 4 mg/Kg BB.

4.5.3 Pembuatan Larutan EDTA-Na₂

Pembuatan larutan EDTA-Na₂ ditujukan sebagai kontrol positif (pembanding antidot). EDTA-Na₂ yang dibuat yakni sediaan 25 mL dengan dosis 100 mg/200 g BB tikus. Pembuatannya yakni dilakukan dengan melarutkan serbuk EDTA-Na₂ dalam akuades hingga tepat larut kemudian larutan dipindah pada labu ukur dan ditambahkan akuades hingga tanda batas.

4.5.4 Penetapan Persamaan Regresi Linier Larutan Standar Metil Merkuri

Larutan standar yang telah dibuat diukur absorbansinya pada instrumen ICP kemudian dicari persamaan regresi linier. Persamaan regresi linier dicari melalui input data pada kalkulator *scientific* dengan pengaturan mode regresi linier, yang kemudian dilanjutkan dengan penentuan nilai a, b, dan r pada persamaan $y = ax + b$. Adapun data yang diinput adalah data absorbansi terhadap konsentrasi larutan standar merkuri.

4.5.5 Pemberian Larutan Merkuri (HgCl₂) pada Tikus

Hewan coba (tikus) disonde larutan metil merkuri pada dosis (4 mg/Kg BB). Dalam tahap ini hewan coba dikondisikan dalam keadaan telah mengalami keracunan. Pemberian larutan induktor merkuri dilakukan pada hari ke-1 pasca aklimatisasi.

4.5.6 Pemberian Antidotum pada Tikus

Hewan coba (tikus) disonde suspensi antidotum secara harian dimulai pada hari ke-2 pasca aklimatisasi hingga 3 hari berturut-turut. Untuk kontrol perlakuan diberi suspensi kitosan sedangkan untuk kontrol positif diberi larutan EDTA-Na₂.

Pemberian ini ditujukan sebagai bentuk terapi yang diberikan untuk menangani keracunan.

4.5.7 Perhitungan Kadar Hg dalam Darah Tikus dengan ICP

Tahap ini dilakukan secara harian. Pengambilan sampel darah dilakukan pada hari ke dua (setelah 24 jam dari waktu awal pemberian). Hal ini dikarenakan kadar puncak Hg dalam darah yakni 24 jam setelah waktu awal pemberian (Clarkson, 1972 dalam widyawati, 2007) . Pengukuran dilakukan selama 3 hari.

Sampel darah diambil secara intravena pada bagian samping ekor. Darah yang diambil ditampung pada tabung ependorf yang kemudian sampel dianalisis dengan ICP yang sebelumnya sampel dipreparasi terlebih dahulu menggunakan metode *wet digestion* dengan pelarut HNO_3 96%. Adapun penggunaan HNO_3 ditujukan untuk mengoksidasi Hg dalam sampel darah agar senyawa organik dalam darah terurai menjadi senyawa Hg anorganik yang dapat dianalisa.

Sampel darah dikeringkan terlebih dahulu dengan *freeze dryer* hingga benar-benar kering. Sampel yang telah dikeringkan ditambahkan HNO_3 10 mL kemudian sampel didigest menggunakan microwave digestion dengan ketentuan sebagai berikut :

Tabel 4.2 Pengaturan *Microwave Digestion* untuk Preparasi Sampel Darah

Langkah (N)	Suhu ($^{\circ}\text{C}$)	Waktu (menit)	Daya (watt)
1.	130	10	400
2.	150	5	400
3.	180	10	400

4.5.8 Pengamatan Gambaran Histopatologi Ginjal Tikus

Hewan coba (tikus) dimatikan pada hari di mana proses pengukuran kadar Hg dalam darah telah selesai secara keseluruhan. Tikus dibius dengan kloroform pa kemudian dibedah dan diambil organ ginjalnya. Organ ginjal yang telah diambil diawetkan dalam formalin 10 %. Untuk mengetahui gambaran histopatologi dari ginjal tikus, organ ginjal dibuat preparat histologi di Laboratorium Universitas Brawijaya dan dilakukan pengamatan terhadap sel ginjal yang mengalami nekrosis; dibandingkan antar kelompok perlakuan.

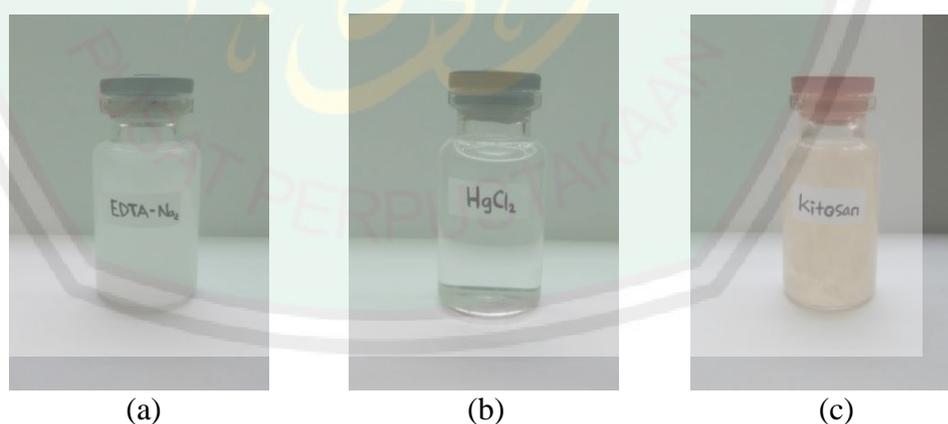


BAB V

HASIL DAN PEMBAHASAN

5.1 Tahap Penyiapan Larutan

Hal penting pertama yang dilakukan sebelum memasuki penelitian adalah tahap persiapan. Pada tahap persiapan dilakukan pembuatan larutan induktor (larutan merkuri), larutan EDTA- Na_2 , dan suspensi kitosan. Mula-mula masing-masing bahan ditimbang kemudian dilarutkan pada akuades. Penimbangan bahan disesuaikan berdasar dosis tikus per 200 g berat badan. Khusus untuk pelarutan kitosan ditambahkan oleh sedikit larutan asam asetat 2%. Pemberian asam asetat pada kitosan dilakukan hingga seluruh permukaan kitosan terbasahi. Hal ini ditujukan untuk membantu pelarutan kitosan pada akuades dimana kitosan sukar larut dalam air. Sedangkan untuk EDTA- Na_2 dan merkuri langsung dilarutkan pada akuades.



Gambar 5.1 larutan merkuri tidak berwarna (homogen) (a); larutan EDTA- Na_2 berwarna putih keruh (heterogen) (b); dan suspensi kental kitosan berwarna kuning kecoklatan (heterogen) (c)

Hasil pelarutan didapat larutan merkuri tidak berwarna. Merkuri dapat terlarut secara sempurna dalam akuades dengan sedikit pengadukan. Kemudian pada

larutan EDTA- Na_2 terbentuk larutan berwarna putih keruh. Hal ini dimungkinkan karena jumlah EDTA- Na_2 lebih banyak dibandingkan akuades yang mana jika jumlah zat terlarut melebihi kapasitas pelarut dalam melarutkan zat terlarut maka terjadi kejenuhan dalam larutan. Banyaknya jumlah EDTA- Na_2 tersebut disebabkan keterbatasan jumlah larutan pembawa yang diperbolehkan untuk disondekan pada tikus. Adapun pada suspensi kitosan didapat suspensi berwarna kuning kecokelatan dengan tekstur mirip gel. Larutan yang dibuat dimasukkan ke dalam botol dan siap untuk digunakan. Pembuatan larutan-larutan tersebut diperbarui saat sebelum memberi perlakuan. Hal ini ditujukan untuk didapatkan hasil yang maksimal dari perlakuan.

Pembuatan larutan yang lainnya yakni larutan standar untuk uji kadar merkuri pada ICP (*Inductively Coupled Plasma*). Larutan standar dibuat dengan mengencerkan larutan induk merkuri 1000 ppm. Diambil sejumlah larutan induk merkuri, dipindah pada labu takar kemudian ditambahkan pelarut hingga tanda batas sesuai dengan konsentrasi pengenceran. Adapun larutan standar merkuri yang dibuat yakni 0,1 ppm, 0,5 ppm, dan 1 ppm.

5.2 Proses Aklimatisasi Tikus

Tahap pertama yang dilakukan dalam melakukan penelitian pada hewan coba yakni aklimatisasi hewan coba. Hal ini ditujukan untuk membuat kondisi hewan coba telah sesuai dengan keadaan lingkungannya yang baru. Sehingga diharapkan hasil yang maksimal dari penelitian setelah diberikan perlakuan. Penyesuaian ini dapat berupa suhu, pH, dan kadar oksigen pada lingkungan baru (Rittner, 2005). Proses aklimatisasi tikus dilakukan dengan memberi tempat yang nyaman

mungkin dan memberi makan serta minum yang cukup serta memantau perkembangannya.

Hari pertama tikus menunjukkan keadaan yang lemah, pasif atau tidak banyak bergerak, dan tidak ramah. Pada hari kedua tikus mulai aktif dan banyak menghabiskan makanannya. Kemudian pada hari ketiga tikus sudah bergerak secara aktif. Hal ini dapat dijadikan suatu tanda bahwa tikus sudah mulai terbiasa dengan lingkungannya. Namun pada hari keempat tikus mengalami flu. Flu ini ditandai dengan gejala mirip cegukan yang berkelanjutan. Hal ini dimungkinkan tubuh tikus sedang menyesuaikan diri dengan suhu lingkungan yang baru. Diketahui menurut Praditya (2015) virus flu lebih cepat bereplikasi pada suhu hidung yang lebih dingin dibandingkan suhu inti tubuh. Dalam hal ini penanganan yang dilakukan yakni menjemur kandang di bawah sinar matahari selama 5 menit. Perlakuan tersebut berlangsung selama tiga hari. Setelah tiga hari keadaan tikus telah normal kembali atau sembuh dari flu.

Pada minggu pertama secara fisiologi dapat disimpulkan bahwa tikus telah beradaptasi dengan lingkungan. Namun secara psikis tikus dapat dikatakan telah beradaptasi setelah dua minggu. Hal ini terlihat dari sikap tikus yang masih belum nyaman dengan tempat tinggalnya yang mana tikus susah untuk dikondisikan. Sedangkan pada akhir minggu kedua nampak sikap tikus yang lebih tenang dan mudah dikondisikan.

5.3 Pemberian Antidotum

Pada hari ke-1 pasca aklimatisasi tikus diberi larutan merkuri klorida secara oral menggunakan sonde kecuali pada kelompok normal. Pemberian ini ditujukan

untuk menginduksi tikus mengalami keracunan merkuri secara akut. Kemudian pada hari ke-2 hingga hari ke-4 diambil sampel darah dari ujung ekor tikus yang dilanjutkan dengan pemberian antidot. Pada hari ke-5 diambil sampel darah yang kemudian dilanjutkan dengan pengambilan sampel ginjal melalui pembedahan pada bagian *abdomen*. Adapun darah yang diambil pada hari ke-2 sebagai sampel yang menunjukkan kadar merkuri sebelum pemberian antidot sedangkan darah yang diambil pada hari ke-3 hingga hari ke-5 adalah sampel yang menunjukkan kadar merkuri setelah pemberian antidot.

Pada hari ke-2 tikus mulai menjadi inaktif atau kurang nafsu makan. Hal ini dimungkinkan karena iritasi pada pencernaan yang disebabkan oleh merkuri. Kemudian pada hari ke-3 tikus menjadi agresif. Kedua keadaan tersebut dimungkinkan efek dari keracunan yang mana efek keracunan merkuri dapat berupa hilangnya nafsu makan (Inswiasri, 2008) dan perubahan perilaku (Widyawati, 2007). Kemudian pada hari ke-4 dan ke-5 pada kelompok yang hanya diberi merkuri (kontrol negatif) dan kelompok yang diberi merkuri dengan terapi EDTA (kontrol positif) masih menunjukkan tidak nafsu makan sedangkan pada kelompok uji perlakuan yang diberi merkuri dengan diterapi kitosan memperlihatkan nafsu makan yang membaik.

5.4 Profil Kadar Merkuri (Hg) dalam Darah Tikus yang Diinduksi Larutan Merkuri (HgCl₂) saat Sebelum dan Setelah Pemberian Kitosan

Pengukuran kadar Hg pada tikus dilakukan pada darah yang diambil melalui ujung ekor tikus. Sampling darah dilakukan dengan mengendalikan tikus pada posisi diam. Hal ini dilakukan dengan memegang tikus dengan handuk secara

erat. Kemudian dilanjutkan dengan mengusap area ekor yang akan diambil darahnya dengan kapas yang telah diberi alkohol sambil ekor diurut dari pangkal hingga ujung. Pemberian alkohol dilakukan untuk memperlebar pembuluh darah pada ekor sedangkan pengurutan dilakukan untuk mengndisikan darah banyak terkumpul di ujung ekor. Ujung ekor digunting secara cepat agar rasa sakit yang dirasakan tidak terlalu lama. Kemudian secara cepat diurut kembali ekor tikus untuk mengeluarkan darah dari ekor. Terlalu lama atau adanya jeda dalam pengurutan akan membuat darah tikus menggumpal dan dapat menyumbat jalur keluarnya darah. Darah yang diambil ditampung langsung dalam tabung ependorf 1.5 mL dan diberi label. Sampel darah yang telah diambil disimpan dalam freezer pada suhu -70°C untuk persiapan sebelum tahap pengeringan pada freeze dryer. Pembekuan pada freezer dilakukan 24 jam dari waktu pengambilan sampel.

Sampel darah yang telah beku dikeringkan dalam freeze dryer selama 24 jam. Tujuan pengeringan ini yakni untuk mengurangi kadar air agar memudahkan dalam proses destruksi sampel serta untuk agar sampel lebih tahan lama dalam masa penyimpanan sebelum preparasi. Sampel yang telah kering kemudian ditimbang sebanyak 10 mg kemudian dimasukkan pada vessel dan ditambahkan 10 mL asam nitrat 96%.

Pada *freeze dryer* air-air dalam sampel yang telah beku akan disublimkan dengan adanya pengaturan tekanan dan suhu sistem. Menurut Food Review Indonesia (2013) pada tekanan 4,58 torr (610,5 Pa) dan suhu 0°C , air akan berada pada kondisi kesetimbangan antara uap, air dan es (titik triple). Ketika suatu

bahan berada pada tekanan yang dipertahankan dibawah tekanan triple dan suhu sistem dinaikan maka saat itulah terjadi proses sublimasi.

Destruksi sampel pada penelitian ini dilakukan dengan microwave digestion merek sineo. Vessel-vesel yang telah siap dimasukkan pada microwave digestion dengan salah satu vesselnya terhubung pada suatu sensor microwave digestion untuk memantau keadaan suhu dan tekanan dalam sistem. Destruksi sampel berlangsung dengan adanya proses oksidasi oleh asam nitrat dengan bantuan energi panas yang dihasilkan dari interaksi gelombang mikro dengan senyawa dalam larutan sampel (Krisnadi, 2013). Pada proses tersebut zat-zat organik dalam sampel akan terurai menjadi zat-zat anorganik yang dapat dianalisa oleh instrumen. Hal ini ditujukan untuk menghilangkan matrik-matrik dalam larutan sampel. Sampel yang telah didestruksi disaring agar didapatkan larutan yang jernih.

Hasil destruksi sampel kemudian diencerkan dengan bantuan hot plate. Hal ini dikarenakan pada analisis ICP (*Inductively Coupled Plasma*) tidak disarankan menggunakan asam yang terlalu pekat sehingga perlu adanya pengenceran asam dalam larutan sampel. Larutan mula-mula dipanaskan di atas hot plate pada suhu 95°C kemudian diencerkan hingga 25 mL pada labu ukur. Hasil pengenceran kemudian diukur pada ICP.

Mula-mula ICP dikalibrasi terlebih dahulu dengan larutan blanko yakni asam nitrat 2% untuk memastikan bahwa tidak ada sampel yang masih terdapat dalam ICP. Kemudian dimasukan larutan standar yang telah dibuat yang kemudian dilanjutkan dengan memasukkan sampel satu per satu. Pada ICP sampel yang

masuk akan dikabutkan oleh *nebulizer* yang kemudian akan disemprotkan pada obor *torch* (plasma) yang telah dialiri arus listrik dari generator radio frekuensi. Energi yang ditimbulkan oleh plasma pada ICP menyebabkan elektron terluar dari atom merkuri akan berpindah ke lintasan energi yang lebih tinggi. Kemudian saat atom merkuri kembali ke kondisi energi terendah (ground state) akan terjadi pelepasan energi berupa cahaya yang mana intensitas cahaya yang dipancarkan sebanding dengan konsentrasi merkuri (Angelina, 2013)

Berdasar hasil uji kadar merkuri didapatkan kadar merkuri dalam darah tikus selama tiga hari terapi sebagai berikut :

Tabel 5.1 Profil Kadar Merkuri Darah Tikus Selama Empat Hari

Hari ke-	kelompok	konsentrasi (ppb)			konsentrasi rata-rata (ppb)	Penurunan (ppb)
		ulangan 1	ulangan 2	ulangan 3		
1	Normal (P1)	0	0	0	0	-
	Negatif (P2)	47,5	55,1	-	51,3	-
	Kitosan (P3)	62,7	53,2	55,1	57	-
	Positif (EDTA) (P4)	52,2	47,5	56	51,9	-
2	Normal (P1)	0	0	0	0	-
	Negatif (P2)	39,8	45,6	37,9	41,1	10,2
	Kitosan (P3)	33,2	52,2	51,3	45,6	11,4
	Positif (EDTA) (P4)	44,6	53,2	23,6	40,5	11,4
3	Normal (P1)	0	0	0	0	-
	Negatif (P2)	40,8	59,8	47,5	49,4	-
	Kitosan (P3)	44,6	0	0	44,6	1
	Positif (EDTA) (P4)	0	0	0	0	40,5
4	Normal (P1)	0	0	0	0	-
	Negatif (P2)	0	0	0	0	-
	Kitosan (P3)	0	0	0	0	44,6
	Positif (EDTA) (P4)	0	37,9	41,7	39,8	-

Keterangan :

- Normal = hanya pemberian akuades
Negatif = pemberian merkuri 0,8 mg tanpa terapi
Kitosan = pemberian merkuri 0,8 mg dengan terapi kitosan 100 mg
Positif (EDTA) = pemberian merkuri 0,8 mg dengan terapi EDTA 100 mg

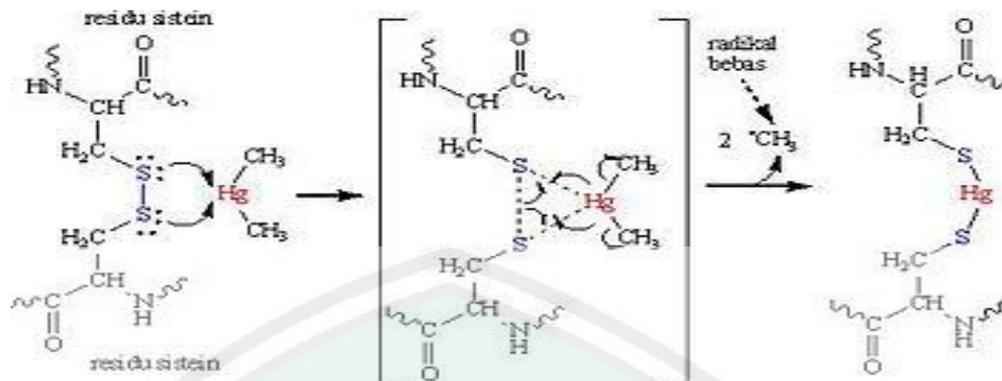
Berdasarkan tabel di atas dinyatakan bahwa kadar merkuri pada monitoring hari pertama (24 jam pasca pemberian merkuri) didapatkan kadar merkuri pada masing-masing kelompok P2,P3,P4 yakni 51,3 ppb, 57 ppb, dan 51,9 ppb. Sedangkan pada P1 kadarnya 0 ppb digunakan sebagai blanko kadar darah tikus yang tidak diinduksi merkuri, yang menunjukkan darah pada tikus normal yang digunakan pada penelitian ini tidak mengandung merkuri.

Merkuri yang masuk secara oral memiliki efek serius pada saluran cerna yakni dapat mengiritasi saluran cerna (*gastroenteritis*) (Yanuar, 2008). Hal ini terlihat pada hari pertama setelah merkuri diberikan, yakni tikus yang diberi merkuri nafsu makannya cenderung menurun. Adapun variasi data kadar merkuri dipengaruhi oleh proses absorpsi terkait sifat merkuri dan komponen membran sel. Penyerapan merkuri pada saluran cerna relatif sedikit. Hal tersebut dikarenakan sifat merkuri anorganik yang kelarutannya tinggi dalam air namun rendah dalam lemak sehingga merkuri cenderung sulit untuk menembus membran yang mana penyusun mayoritasnya berupa lemak.

Kadar Hg pada hari kedua (hasil terapi hari pertama) menyatakan bahwa adanya penurunan pada kelompok P2-P4. Penurunan kadar Hg pada P2 terjadi secara alami oleh metabolisme tubuh yang banyak diperankan oleh metalotionin. Metalotionin merupakan suatu protein kecil dengan ukuran molekul 6000 Da yang terdiri dari gugus thiol dan sistein (Zalups *and* Koropatnick, 2000). Metalotionin

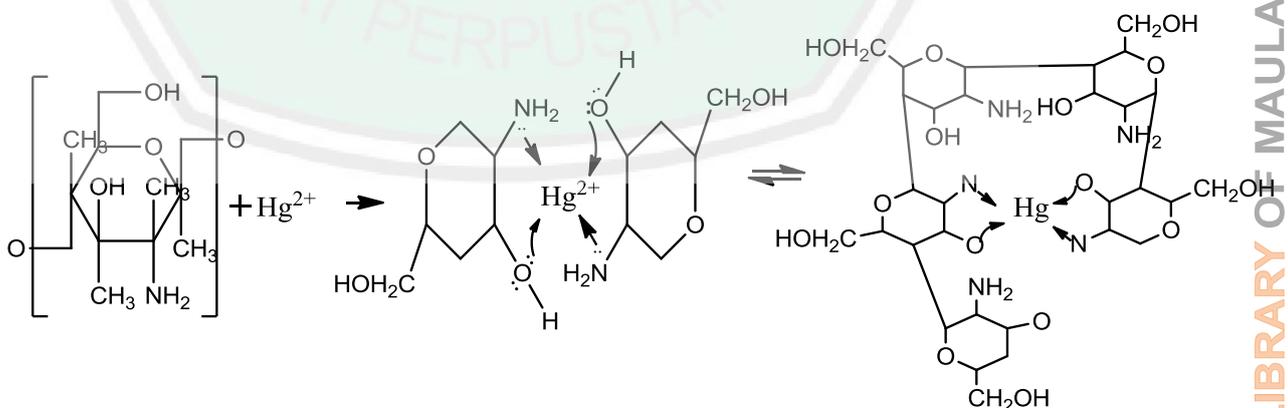
bekerja dengan mengikat logam pada gugus-gugus sistein nya. Dilaporkan pada penelitian Nielson *and* Winge (1983) bahwa metalotionin dapat mengikat logam hingga tujuh logam, dan tujuh logam tersebut terbagi atas dua kelompok yakni empat logam dan tiga logam yang mana tiap logam terikat secara tetrahedral dengan sistein dalam metalotionin. Faktor lainnya yang dapat mempengaruhi penurunan merkuri secara alami yakni faktor distribusi merkuri yang tidak selamanya dalam darah atau dengan kata lain merkuri banyak terdistribusi dan terdeposit pada jaringan-jaringan organ utamanya ginjal.

Merkuri yang telah diabsorpsi memasuki eritrosit, paru-paru, dan hati dalam bentuk kation divalent (Hg^{2+}) dengan reaksi oksidasi-reduksi (*Agency for Toxic Substances and Disease Registry*, 1997) dalam (Widyawati, 2007). Merkuri yang masuk ke aliran darah akan terikat dengan Hb (Hemoglobin) pada eritrosit dan mengikat beberapa protein lain yang penting dalam tubuh termasuk enzim-enzim yang ada pada tubuh. Pengikatan merkuri pada protein tersebut terkait dengan sifat merkuri yang mudah berikatan dengan belerang (S) yang ada pada mayoritas protein tubuh (Rianto, 2010). Efek yang ditimbulkan dari pengikatan tersebut yakni terhambatnya aktivitas enzim yang akan berpengaruh pada fungsi normal tubuh sehingga tubuh mengalami keracunan (WHO, 1976).



Gambar 5.2 Pengikatan gugus belerang oleh merkuri pada sistein (protein tubuh) (Anonim, 2015).

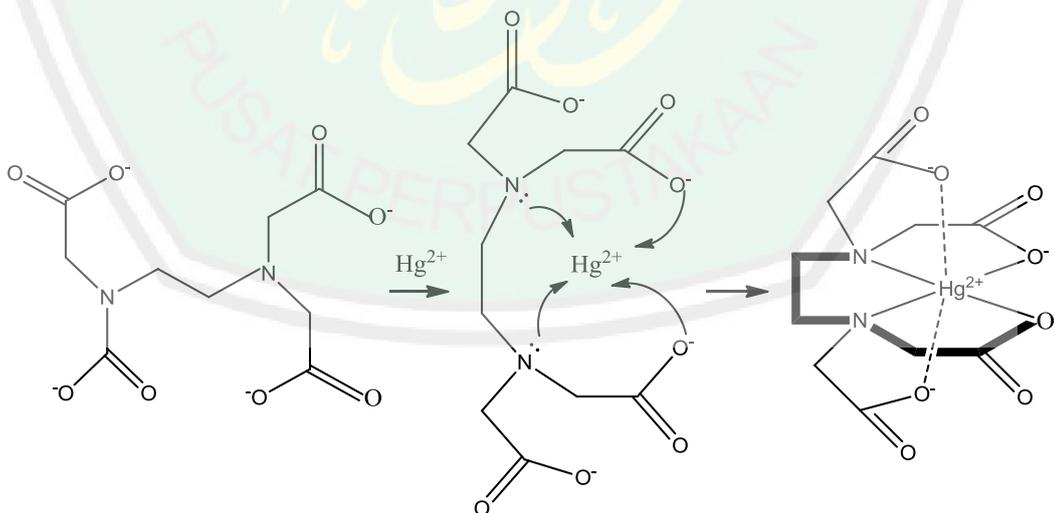
Pada kelompok P3 nampak bahwa terdapat penurunan kadar merkuri sebesar 11,4 ppb. Hal ini dikarenakan pada kitosan terdapat gugus amina (NH_2^-) dan gugus hidroksil (OH^-) yang dapat bertindak sebagai kelator untuk logam merkuri yang mana gugus-gugus tersebut bertindak sebagai ligan terhadap logam merkuri dan membentuk kelat yang dapat diekskresikan tubuh. Terbentuknya kelat stabil menyebabkan sifat kimia ion logam menjadi hilang dan dapat menurunkan kadar ion logam toksik dalam jaringan dengan mengikatnya sebagai kelat yang larut dan mudah diekskresikan oleh ginjal (Widyawati, 2007). Mekanisme yang terjadi saat pengikatan gugus amina dan hidroksil dapat dilihat pada gambar berikut :



Gambar 5.3 Pengikatan merkuri oleh kitosan (Cloirec and Mckay, 2007).

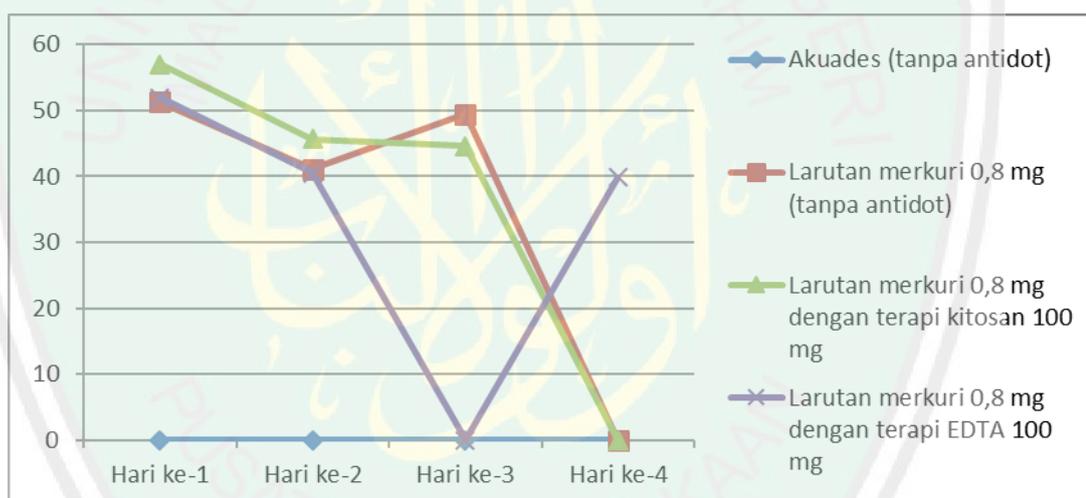
Pembentukan kompleks khitosan-ion logam diperankan oleh atom N pada gugus $-NH_2$ bertindak sebagai basa Lewis yang menyumbangkan sepasang elektron bebas pada merkuri (asam lewis) dan membentuk ikatan kovalen koordinasi (Rahayu dan Purnavita (2007). Begitu pula dengan atom O pada gugus $-OH$ diketahui memiliki keelektronegatifan yang tinggi sehingga akan terikat kuat dengan merkuri yang merupakan penerima elektron yang sangat kuat (Rivai, 1995). Menurut Cloirec & Mckay (2007) gugus hidroksil yang terlibat dalam pembentukan kelat ditunjang oleh pelepasan proton terlebih dahulu.

Pada kelompok P4 terdapat penurunan sebanyak 11,4 ppb. Penurunan ini disebabkan oleh pengikatan merkuri oleh gugus karboksil ($COOH^-$) dan amina (NH_2^-) pada $EDTA-Na_2$. $EDTA-Na_2$ berpotensi sebagai ligan heksadentat yang dapat berkoordinasi dengan sebuah ion logam dengan perbandingan 1:1 sehingga terbentuk kelat (Mohammad, 2011) yang larut dalam air dan akan diekskresikan melalui urin (Ferrero, 2016).



Gambar 5.4 Pengikatan Merkuri oleh gugus-gugus karboksil dan amina pada EDTA (Zhai and Bakker, 2016).

Merkuri terikat secara oktahedral pada atom-atom O dari gugus (COOH-) dan N dari gugus (NH₂-). Pengikatan merkuri oleh gugus inilah yang membuat merkuri menjadi inaktif. Mekanisme pengikatan merkuri oleh EDTA sama dengan mekanisme pengikatan merkuri oleh kitosan yang mana gugus-gugus ligan pada EDTA menyumbangkan elektronnya pada merkuri. Hal ini sesuai dengan pernyataan Aziz dkk (2015) bahwa Kompleks EDTA-Logam terbentuk saat atom yang kaya elektron pada molekul organik berbagi sepasang elektron dengan ion logam yang memiliki lapisan luar yang kosong sehingga menghasilkan senyawa koordinat.



Grafik 5.1 Profil kadar merkuri (ppb) hari ke-1 hingga hari ke-4.

Konsentrasi merkuri dalam darah kelompok P3 dan P4 pada hari ketiga masih menunjukkan penurunan yakni pada kelompok P3 terdapat penurunan sebesar 1 ppb, dan penurunan sebesar 40,5 ppb pada kelompok P4. Sedangkan pada kelompok P2 terdapat peningkatan sebesar 8,3 ppb. Hal ini dimungkinkan karena adanya reabsorpsi merkuri yang kembali ke dalam sirkulasi darah yang didukung oleh fungsi ginjal yang telah rusak sehingga sistem filtrasi dan reabsorbsinya tidak

lagi selektif sebagaimana yang telah dijabarkan oleh Contran (2007) bahwa kerusakan yang terjadi pada sel-sel epitel tubulus ginjal yang mengalami kontak langsung dengan bahan nefrotoksik yang direabsorpsi dapat mengakibatkan terjadinya degenerasi maupun nekrosis pada sel ginjal.

Konsentrasi merkuri pada hari keempat menunjukkan 0 ppb terkecuali pada kelompok P4. Hilangnya kadar merkuri dalam sirkulasi darah dapat dikatakan karena terdepositnya sebagian pada jaringan dan sebagian lainnya telah diekskresikan melalui urin baik secara alami maupun dengan bantuan antidot. Menurut Broussard *et al.* (2002) merkuri anorganik sangat berkemungkinan terdistribusi kembali ke jaringan tubuh lainnya sehingga kadar di dalam darah hanya akurat setelah dikonsumsi secara akut. Sedangkan adanya merkuri pada kelompok P4 dimungkinkan karena adanya sedikit reabsorpsi akibat kerusakan yang parah pada ginjal kelompok P4 yakni yang mana dua bahan nefrotoksik, merkuri dan EDTA, melewati ginjal setiap harinya.

Berdasarkan **grafik 5.1** adanya penurunan pada kelompok kitosan (P3) selama tiga hari berturut-turut. Hal tersebut menunjukkan bahwa kitosan dapat dijadikan sebagai antidot alami yang memanfaatkan bahan kulit udang. Bila ditinjau dari efektivitas untuk menurunkan kadar merkuri dalam darah kitosan dapat dikatakan memiliki tingkat efektivitas yang tidak jauh berbeda dengan EDTA-Na₂. Namun bila ditinjau dari keamanannya kitosan dapat dikatakan lebih aman dibandingkan dengan EDTA-Na₂ yang masih memiliki efek samping nefrotoksik. Dengan demikian kitosan memiliki potensi untuk dijadikan pilihan alternatif antidot untuk keracunan logam merkuri.

Allah menjelaskan bahwa sesungguhnya pada segala ciptaan Allah itu terdapat pelajaran yang dapat diambil manfaatnya bagi kaum yang mau berfikir.

Hal tersebut dijelaskan dalam surat *Ali-Imron* ayat 190-191 sebagai berikut:

إِنَّ فِي خَلْقِ السَّمَاوَاتِ وَالْأَرْضِ وَاخْتِلَافِ اللَّيْلِ وَالنَّهَارِ لآيَاتٍ لِأُولِي الْأَلْبَابِ ۗ الَّذِينَ يَذْكُرُونَ اللَّهَ قِيَامًا وَقُعُودًا وَعَلَىٰ جُنُوبِهِمْ وَيَتَفَكَّرُونَ فِي خَلْقِ السَّمَاوَاتِ وَالْأَرْضِ رَبَّنَا مَا خَلَقْتَ هَذَا بَاطِلًا سُبْحَانَكَ فَقِنَا عَذَابَ النَّارِ ۗ ١٩١

Artinya: Sesungguhnya pada penciptaan langit dan bumi, dan silih bergantinya malam dan siang, terdapat tanda-tanda kekuasaan Allah bagi kaum yang berakal (190) yaitu orang-orang yang mengingat Allah dalam keadaan berdiri, duduk, dan (bahkan) berbaring. Mereka memikirkan tentang penciptaan langit dan bumi seraya berkata, yaa Tuhan kami, tidaklah Kau ciptakan ini semua sia-sia, maka peliharalah kami dari azab neraka (191) (QS. Ali-Imron: 190-191).

Abu Bakar Al-Warraq dalam kitab tafsir *Al-Qurthuby* jilid 10 (2008) menjelaskan yang dimaksud mengambil pelajaran yakni dapat berupa ditundukkannya binatang untuk kepentingan pemiliknya atau dengan kata lain mengambil manfaat dari ciptaan Allah. Hal ini juga tidak terlepas dari apa-apa yang ada pada binatang tersebut.

Maha suci Allah yang telah menciptakan segala sesuatu yang ada di bumi dengan segala manfaatnya. Sejak jaman dahulu, Rasulullah telah menganjurkan umatnya untuk berbekam jika umat tersebut mendapati racun dalam tubuhnya (Al-Jauziyyah, 2000). Hal ini menunjukkan bahwa terdapat manfaat pada bekam yakni untuk mengeluarkan racun dari tubuh. Hal ini dikarenakan racun-racun dalam tubuh banyak terdapat pada darah. Bila diinterpretasikan secara general maka selain pada darah manusia hal tersebut juga berlaku untuk seluruh makhluk hidup yang memiliki darah. Dalam penelitian ini diambil sampel darah tikus untuk

mengetahui kadar merkuri (logam yang berpotensi sebagai racun) yang ada pada tubuh makhluk hidup.

Allah telah menciptakan segala sesuatunya dengan seimbang. Terkait permasalahan racun dalam tubuh maka penciptaannya pun pasti diikuti oleh penawar racunnya. Dari penjelasan ini dapat diambil kesimpulan bahwa Allah tidak akan menciptakan penyakit melainkan menciptakan pula obatnya. Hal ini dijelaskan dalam surat *yaasin* ayat 36 :

سُبْحَانَ الَّذِي خَلَقَ الْأَزْوَاجَ كُلَّهَا مِمَّا تُنْبِتُ الْأَرْضُ وَمِنْ أَنْفُسِهِمْ وَمِمَّا لَا يَعْلَمُونَ ۝ ٣٦

Artinya : Maha Suci Tuhan yang telah menciptakan pasangan-pasangan semuanya baik dari apa yang ditumbuhkan oleh bumi dan dari diri mereka maupun dari apa-apa yang mereka tidak ketahui (QS. Yaasin: 36).

Sejak awal keberadaan manusia, dapat diperhatikan hubungan berpasangan ini telah wujud. Lelaki pasangannya wanita, langit pasangannya bumi, matahari pasangannya bulan, siang pasangannya malam. Dari segi bahasa menurut pakar bahasa arab (*Ar-Raghib Al-Ashfahani*) kata pasangan dapat diartikan untuk masing-masing dari dua hal yang berdampingan baik makhluk hidup seperti hewan maupun untuk yang tidak bernyawa seperti halnya alas kaki. Berpasangan tersebut dapat diartikan sebagai akibat dari persamaan dan bisa juga karena bertolak belakang (Shihab, 2003). Dijelaskan pada surat *Adz-Zariyat* ayat 49 :

وَمِنْ كُلِّ شَيْءٍ خَلَقْنَا زَوْجَيْنِ لَعَلَّكُمْ تَذَكَّرُونَ ۝ ٤٩

Artinya : Dan segala sesuatu kami ciptakan berpasang-pasangan supaya kamu mengingat (kebesaran Allah) (QS. Adz-Zariyat: 49).

Ayat tersebut menjelaskan adanya malam dan siang, senang dan susah, atas dan bawah, demikian seterusnya. Hal ini menunjukkan bahwa segala sesuatu itu berpasangan kecuali sang *Khalik*. Ia tidak memiliki pasangan seperti yang pada kita ketahui bahwa Allah memiliki sifat wajib esa dan berbeda dari makhluk-Nya (Shihab, 2003). Dijelaskan pula mengenai penciptaan anggota tubuh yang seimbang dalam surat *Al-Infithaar* ayat 7 :

الَّذِي خَلَقَكَ فَسَوَّاكَ فَعَدَلَكَ ۝٧

Artinya : Yang telah menciptakan kamu lalu menyempurnakan kejadianmu dan menjadikan (susunan tubuh) mu seimbang (QS. Al-Infithaar: 7).

Berdasarkan ayat tersebut dijelaskan bahwa Allah telah menciptakan manusia secara sempurna yakni dijadikan-Nya anggota-anggota tubuh manusia lengkap dan seimbang yang artinya Dia menjadikan segala anggota tubuh telah disesuaikan-Nya. Makna sesuai dari ayat tersebut dapat diartikan dari segi ukuran, bentuk, serta fungsi-fungsi organ penyusun tubuh yang disesuaikan dengan kebutuhan dalam kelangsungan hidup kita. Dalam konteks ini dapat diambil pelajaran bahwa respon tubuh kita dalam menghadapi racun serta adanya darah yang dapat dimanfaatkan untuk menganalisa keracunan sekaligus untuk mengurangi kadar racun melalui proses bekam pun sudah disesuaikan oleh Allah sebagai bentuk rahmat-Nya.

Allah tidak menciptakan sesuatu pun untuk meraih sedikit manfaat untuk diriNya, melainkan berupa manifestasi dari kehendak-Nya untuk melimpahkan rahmat kepada makhluk – khususnya manusia. Jika ada ciptaan Allah yang tidak

seimbang maka tentulah terjadi kekacauan antara yang satu dengan yang lain. Allah mengatur kebutuhan antar makhluk menjadi berhubungan satu sama lain seperti halnya Allah membuat tanaman mengeluarkan oksigen, kemudian oksigen itu dihirup oleh manusia, kemudian dari hewan yang ia mengeluarkan karbon dioksida maka dijadikan zat tersebut dapat dihirup oleh tanaman dan menjadikannya bahan untuk berfotosintesis dan menghasilkan buah yang nantinya juga bermanfaat untuk berbagai makhluk (Shihab, 2004).

5.5 Gambaran Histopatologi Ginjal Tikus yang Diinduksi Larutan Merkuri (HgCl_2) saat Sebelum dan Setelah Pemberian Kitosan

Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui pengaruh pemberian terapi suspensi kitosan pada jaringan ginjal tikus yang dipapar oleh merkuri. Hasil gambaran histopatologi ginjal tikus yang diamati akan dinilai berdasar tingkat kerusakan sel (nekrosis) yang terdapat pada jaringan glomerulus. Pengamatan tingkat kerusakan meliputi tahap piknosis, karioksis, kariolisis, dan adanya perbesaran rongga pada jaringan. Hal tersebut didasarkan pada tahapan rusaknya sel secara umum oleh Price dan Lorraine (2006) yang menyatakan bahwa nekrosis diawali dengan perubahan morfologi inti sel (piknosis), kemudian inti pecah (karioreksis) dan inti menghilang (kariolisis). Penilaian tingkat kerusakan dinilai dari 3 lapang pandang menurut tabel sebagai berikut :

Tabel 5.2 Acuan Penilaian atau *Skoring* Tingkat Kerusakan Ginjal yang Diamati secara Histologis (Mufarrichah, 2011).

Skor	Tingkat Kerusakan
1	Tidak terdapat kerusakan
1,5	Kerusakan pada tahap piknosis mencapai $\leq \frac{1}{2}$ luas lapang pandang
2	Kerusakan pada tahap piknosis mencapai $\geq \frac{1}{2}$ luas lapang pandang
2,5	Kerusakan pada tahap karioeksis mencapai $\leq \frac{1}{2}$ luas lapang pandang
3	Kerusakan pada tahap karioeksis mencapai $\geq \frac{1}{2}$ luas lapang pandang
3,5	Kerusakan pada tahap kariolisis mencapai $\leq \frac{1}{2}$ luas lapang pandang
4	Kerusakan pada tahap kariolisis mencapai $\geq \frac{1}{2}$ luas lapang pandang
4,5	Kerusakan berupa penyempitan glumerulus dan pelebaran kapsula bowman
5	Kerusakan pada tahap nekrosis (ditandai hilangnya inti)

Pengambilan sampel ginjal dilakukan dengan membedah tikus pada bagian abdomen dengan gunting bedah. Adapun sebelum pembedahan dilakukan pembiusan terlebih dahulu menggunakan kloroform p.a. Mula-mula disiapkan wadah (toples) berisi kapas yang telah dibasahi oleh kloroform. Uap kloroform dibiarkan jenuh pada wadah tersebut kemudian dimasukkan tikus ke dalamnya dan tutup rapat. Tikus ditunggu hingga tak sadarkan diri lalu pindahkan tikus pada papan fiksasi. Tikus dibentangkan lalu difiksasi menggunakan jarum pentul. Tujuan dari proses fiksasi yakni untuk memudahkan dalam proses pembedahan sehingga tikus akan tetap pada posisinya. Ginjal yang telah diambil dibilas dengan menggunakan akuades hingga bersih kemudian ditempatkan pada wadah yang berisi formalin 10%. Formalin yang ditambahkan dibuat melebihi dari organ

ginjal. hal ini dikarenakan agar seluruh bagian organ terlapisi oleh formalin. Penambahan formalin ditujukan untuk mengawetkan organ selama masa simpan sebelum masuk ke tahap pembuatan preparat ginjal.

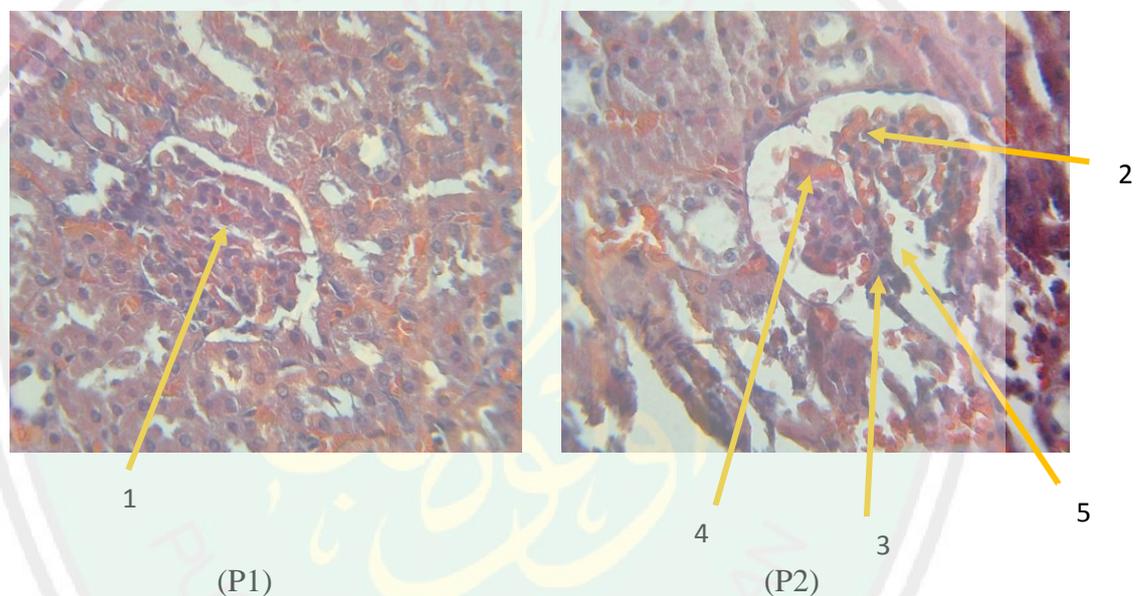
Pembuatan preparat dimulai dengan pemotongan jaringan berupa makross yakni jaringan dipotong dengan ketebalan 2-3 mili meter kemudian dimasukkan pada kaset dan diberi label. Potongan jaringan kemudian diproses pada Automatic Tissue Tex Prosesor selama 90 menit. Proses berlanjut dengan pengeblokan jaringan dengan paraffin kemudian dipotong jaringan menggunakan microtome dengan ketebalan 3-5 mikron.

Proses selanjutnya yakni deparafinisasi yakni penghilangan parafin dari jaringan untuk kemudian dilakukan pewarnaan pada jaringan. Potongan jaringan dioven selama 30 menit pada suhu 70-80°C. Setelah dioven jaringan dimasukan ke dalam 2 tabung larutan xylol masing-masing selama 20 menit, kemudian dilanjut pada 4 tabung alkohol masing-masing selama 3 menit, dan yang terakhir pada air mengalir selama 15 menit.

Jaringan diletakkan pada kaca preparat dan diberi pewarna hematosiklin selama 10 menit kemudian dicuci dengan air mengalir selama 15 menit, lalu alkohol 1 % sebanyak 5 celup, lalu amonia tithium karbonat sebanyak 5 celup. Terakhir jaringan diwarnai dengan eosin selama 10 menit. Setelah pengecatan jaringan dicelupkan pada alkohol secara bertingkat, alkohol 70% ; alkohol 80%; alkohol 96%; alkohol *absolude* masing-masing selama 3 menit. Kemudian jaringan dijernihkan menggunakan xylol selama 15 menit diulang sebanyak 2 kali. Terakhir kaca preparat ditutup dengan *cover glass* dan biarkan kering pada suhu

ruangan. Preparat yang telah kering diamati menggunakan mikroskop elektron pada perbesaran 400 x.

Hasil pengamatan histopatologi didapatkan bahwa kitosan memiliki potensi sebagai antidot untuk logam merkuri tanpa memiliki efek samping kerusakan pada ginjal. Hal ini sesuai dengan penelitian Kean *and* Thanou (2010) bahwa kitosan dikatakan sebagai bahan yang tidak toksik. Hal ini dapat dibuktikan dengan perbandingan jaringan ginjal pada kelompok negatif dan kelompok positif.



Gambar 5.5 Gambaran histopatologi ginjal kelompok normal (P1) dan kelompok negatif (P2) pada perbesaran 400 x.

Keterangan :

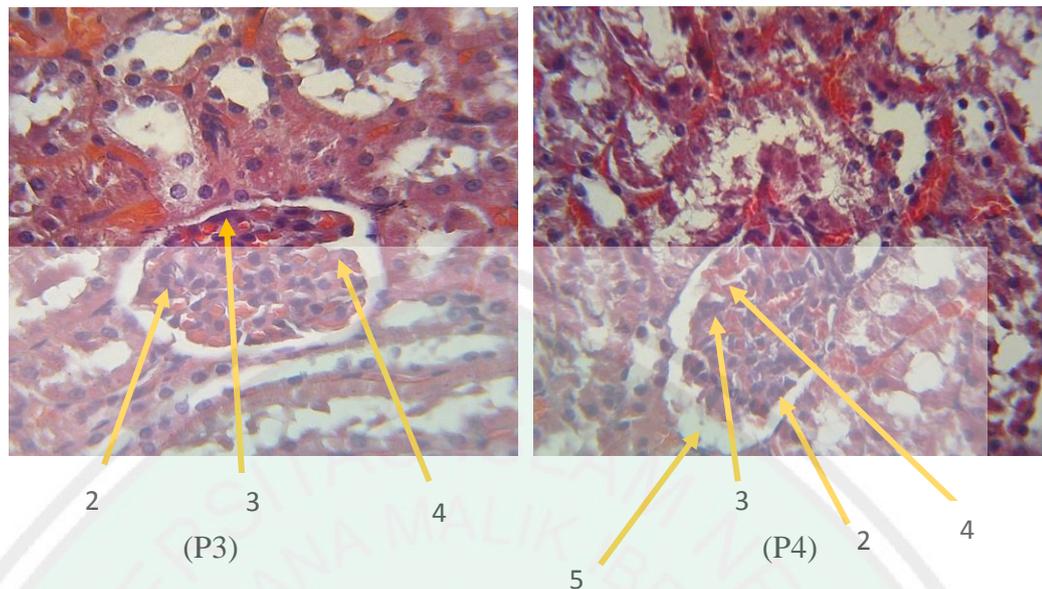
(P1) Gambaran ginjal tikus normal

(P2) Gambaran ginjal tikus yang diinduksi merkuri 0.8 mg

(1) Inti sel normal (2) Inti sel piknosis (3) Inti sel karioeksis (4) Inti sel kariolisis (5) perbesaran rongga bowman dan penyusutan glomerulus.

Ginjal yang terpapar oleh merkuri (kelompok negatif) menunjukkan berbagai kerusakan sel yakni terjadi piknosis, kariolisis, perbesaran rongga bowman dan penyusutan glomerulus hingga nekrosis. Hal ini dapat diamati pada banyaknya

kerusakan dibanding kelompok normal. Pada kelompok normal susunan sel ginjal sangat teratur dan nampak rongga bowman yang tidak begitu lebar. Kerusakan oleh merkuri yang terjadi pada ginjal merupakan kerusakan pada morfologi glomerulus yang tidak beraturan dan terdapat penyusutan sel yang parah pada glomerulus. Di samping itu banyak inti sel yang mengalami piknosis, kariolisis bahkan nekrosis. Kerusakan yang timbul diduga sebagai akibat dari ikatan yang terjadi antara merkuri dengan belerang pada gugus sulfidril (-SH) di membran sel ginjal. Merkuri berikatan dengan gugus SH dari protein membran hingga mempengaruhi integritas membran dan menyebabkan terjadinya nekrosis tubulus ginjal serta kerusakan pada glomerulus (Haschek, Rousseaux *and* Walling, 2002) dalam (Endrinaldi, 2009). Ditegaskan pula pada penelitian Lenaz (2012) bahwa mitokondria memainkan peran spesifik serta menjadi target subselular dari kasus nefrotoksik oleh merkuri. Merkuri yang masuk dalam tubuh kemudian diabsorpsi dan dengan cepat dioksidasi menjadi ion Hg^{2+} , yang memiliki afinitas berikatan dengan substrat-substrat yang kaya gugus belerang. Apabila terjadi akumulasi pada ginjal menyebabkan naiknya permeabilitas epitel tubulus sehingga akan menurunkan kemampuan fungsi ginjal (disfungsi ginjal) (Rianto, 2010).



Gambar 5.6 Gambaran histopatologi ginjal pada kelompok kitosan (P3) dan kelompok positif / EDTA- Na_2 (P4) pada perbesaran 400x.

Keterangan :

(P3) Gambaran ginjal tikus yang diinduksi merkuri dan diterapi kitosan 100 mg

(P4) Gambaran ginjal tikus yang diinduksi merkuri dan diterapi EDTA 100 mg

(1) Inti sel normal (2) Inti sel piknosis (3) Inti sel karioeksis (4) Inti sel kariolisis (5) perbesaran rongga bowman dan penyusutan glomerulus.

Gambaran ginjal yang diterapi oleh kitosan sel pada jaringan tampak jauh lebih teratur dibandingkan dengan kelompok negatif (P2) meskipun tidak sebaik keadaan ginjal pada kelompok normal (P1). Sedangkan bila dibandingkan dengan kelompok kontrol positif (P4), kelompok kitosan (P3) juga menunjukkan sel yang lebih teratur. Pada kelompok positif nampak jaringan glomerulus yang masih lumayan teratur namun pada daerah sekitar glomerulus terdapat perbesaran rongga bowman. Rongga tersebut membesar seiring menyusutnya glomerulus karena terdapat sel-sel yang mengalami nekrosis sehingga volume sel dalam glomerulus menjadi berkurang. Selain pada rongga bowman juga banyak terjadi pembesaran pada rongga daerah tubulus ginjal. Kerusakan tersebut dimungkinkan karena

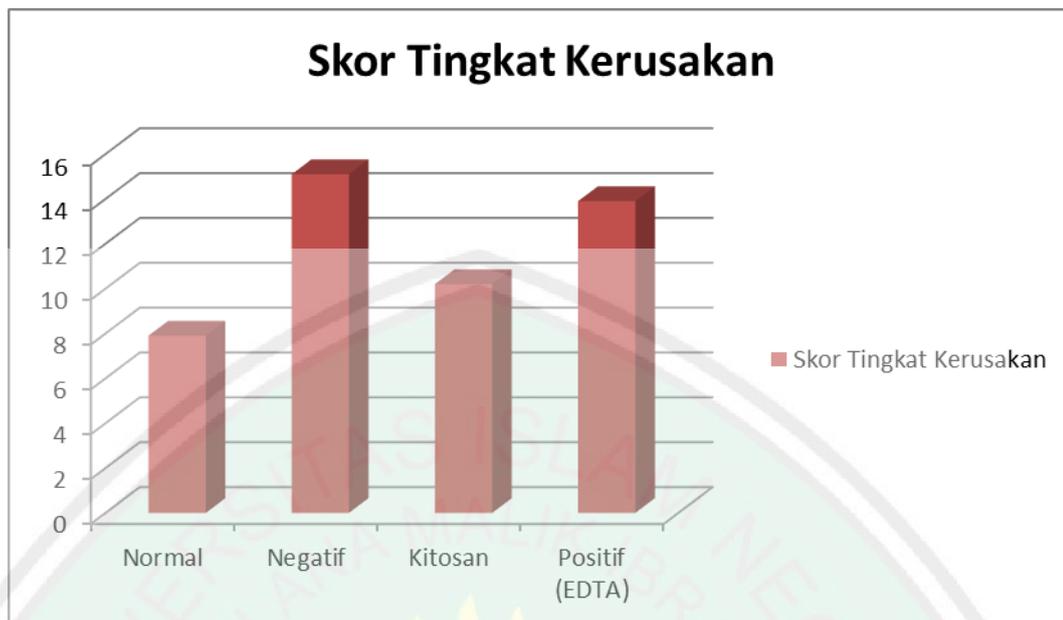
besarnya aliran darah yang menuju ginjal menyebabkan keterpaparan ginjal terhadap bahan yang beredar dalam sistem sirkulasi cukup tinggi, sehingga bahan yang bersifat nefrotoksik yakni merkuri dan EDTA akan mudah menyebabkan kerusakan jaringan ginjal dalam bentuk perubahan struktur dan fungsi renal (Husein dan Trihono, 1996). Hal ini juga dimungkinkan karena kerja EDTA yang lebih cenderung pada ekstraseluler sehingga perlindungan jaringan ginjal terhadap merkuri secara intraseluler menjadi kurang (Katzung, 2012).

Jika dihitung skor rata-rata masing-masing kelompok perlakuan tingkat kerusakan ginjal dapat dilihat pada tabel 5.3 sebagai berikut :

Tabel 5.3 Nilai Tingkat Kerusakan Ginjal Tikus.

Kelompok Perlakuan	Tingkat Kerusakan			Tingkat Kerusakan Rata-rata
	Replikasi 1	Replikasi 2	Replikasi 3	
Normal	8,3	7,8	7,5	7,9
Negatif	18,3	15,3	11,8	15,1
Kitosan	11,5	7,8	11,3	10,2
Positif (EDTA)	17,5	7,5	16,8	13,9

Disimpulkan dari data tersebut bahwa kitosan memiliki pengaruh proteksi terhadap kerusakan ginjal akibat merkuri. Hal ini sesuai pada penelitian Sari, dkk (2013) yang menyatakan bahwa kitosan memiliki aktivitas antioksidan dengan nilai IC50 130 ppm pada uji DPPH. Suatu senyawa dikatakan sebagai antioksidan yang kuat jika nilai IC50 kurang dari 200 ppm (Hanani *et al.*, 2005). Berikut adalah grafik tingkat kerusakan pada masing-masing kelompok :



Grafik 5.2 Skor Tingkat Kerusakan Ginjal

Grafik di atas menunjukkan kelompok uji kitosan memiliki tingkat kerusakan yang lebih rendah jika dibandingkan dengan kelompok positif (EDTA) dan kelompok negatif. Skor tingkat kerusakan jika diurutkan dari yang terendah yakni kelompok normal (skor = 7,9), kelompok kitosan (skor = 10,2), kelompok positif (EDTA) (Skor = 13,9), kelompok negatif (skor = 15,1). Mekanisme antioksidan dari kitosan tersebut yakni adanya pengikatan radikal bebas (OH^+) dari proses oksidasi lipida yang bereaksi dengan ion hidrogen dari gugus NH_3^+ pada kitosan sehingga menghasilkan suatu molekul yang lebih stabil dan menghasilkan senyawa antioksidan (Xie *et al* ., 2001) dalam Sari, dkk (2013). Radikal bebas merupakan atom atau molekul yang memiliki elektron tidak berpasangan. Molekul tersebut bersifat sangat reaktif dan tidak stabil yang dengan cepat dapat berikatan dengan komponen seluler yang ada pada sekitarnya seperti lipoprotein,

lipid, protein, dan DNA sehingga menyebabkan kerusakan struktur dan fungsi sel (Winarsi, 2007).

Sesungguhnya segala apa yang di bumi dan di langit semuanya kepunyaan Allah dan dari penciptaan tersebut Allah telah sempurnakan penciptaannya serta memberi petunjuk di dalamnya. Histopatologi merupakan ilmu di bidang biologi yang menjelaskan fungsi organ-organ tubuh dan hubungannya dengan penyakit atau terganggunya fungsi tubuh pada tingkat jaringan (Delyuzzar, 2012). Terganggunya fungsi tubuh pada makhluk hidup dapat diketahui melalui gambaran histopatologi sebagaimana dalam ayat al-qur'an surat *Al-A'la* ayat 1-3 :

سَبِّحْ اسْمَ رَبِّكَ الْأَعْلَى ۝ ۱ الَّذِي خَلَقَ فَسَوَّى ۝ ۲ وَالَّذِي قَدَّرَ فَهَدَى ۝ ۳

Artinya : Sucikanlah nama Tuhanmu Yang Maha Tinggi (1) Yang menciptakan, dan menyempurnakan (penciptaan-Nya) (2) Dan yang menentukan kadar (masing-masing) dan memberi petunjuk (3) (QS. Al-A'la: 1-3).

Pada ayat satu diterangkan bahwa maha tinggi Allah yang kemudian dilanjutkan pada ayat kedua yang menerangkan bahwa Allah menciptakan ciptaan-Nya dan menyempurnakannya. Pada ayat ketiga dijelaskan bahwa pada penciptaan makhluk tersebut Allah telah menunjukkan kadarnya masing-masing serta memberi petunjuk melalui ciptaan-Nya tersebut yang dapat berupa berbagai manfaat kemaslahatan dalam kelangsungan hidup makhluk-Nya mulai dari makanan hingga obat-obatan bahkan dari masalah dunia hingga masalah agama (Hifnawi dan Utsman, 2009). Adapun yang dimaksud dengan mensucikan nama tuhan yang maha tinggi di sini adalah mensucikan nama Allah dari berbagai hal yang tidak pantas seperti syirik atau menyebutnya pada tempat yang kotor/najis.

Sehingga pada dasarnya manusia diperintahkan untuk menyebut nama Allah dengan penuh keagungan dan kebesaran. Kemudian makna yang maha tinggi dalam surat *Al-A'laa* sendiri menunjukkan derajat Allah lah yang paling tinggi di atas seluruh makhluk-Nya yang menguasai segala sesuatu dan menghukuminya, yang menciptakan dan menyempurnakannya (tubuhnya), kemudian memberi petunjuk pada setiap makhluk untuk menuju pada takdirnya masing-masing sesuai dengan takdir yang ditetapkan-Nya (Al-Jazairi, 2009). Disebutkan lebih rinci oleh *Athal* dalam tafsir *Al-Qurthuby* jilid 20 (2009) bahwa Allah menjadikan apa yang bagus bagi tiap binatang dan Dia memberinya petunjuk kepada apa yang bagus tersebut. Dia menciptakan segala manfaat pada segala sesuatu dan memberi petunjuk pada manusia untuk dapat mengeluarkan manfaat itu dari segala sesuatu tersebut (memanfaatkannya) (Hifnawi dan Utsman, 2009). Salah satu bentuk kesempurnaan dari ciptaan Allah yakni pada proses penciptaan manusia. Allah menciptakan manusia dari sari pati tanah kemudian menjadikannya sebagai bentuk yang sempurna. Penciptaan ini tak luput pula dari bagian terkecil dari makhluk hidup yakni sel, lalu menjadi jaringan, lalu menjadi organ, lalu disempurnakanlah bentuknya dan dijadikan organ itu berfungsi dengan baik. Sebagaimana yang tertera dalam *Al-Qur'an* mengenai keterangan penciptaan manusia yang terdapat pada surat *Al-Hajj* ayat 5 :

يَا أَيُّهَا النَّاسُ إِن كُنْتُمْ فِي رَيْبٍ مِّنَ الْبَعْثِ فَإِنَّا خَلَقْنَاكُمْ مِّن تَرَابٍ ثُمَّ مِّن نُّطْفَةٍ ثُمَّ مِّن عَلَقَةٍ ثُمَّ مِّن مُّضْغَةٍ مُّخَلَّقَةٍ وَ غَيْرِ مُخَلَّقَةٍ لِّنُبَيِّنَ لَكُمْ وَ نُقَرِّ فِي الْأَرْحَامِ مَا نَشَاءُ إِلَىٰ أَجَلٍ مُّسَمًّى ثُمَّ نُخْرِجُكُمْ طِفْلًا ثُمَّ لِتَبْلُغُوا أَشُدَّكُمْ صَلىٰ وَ مِنْكُمْ مَّن يُّتَوَفَّىٰ وَ مِنْكُمْ مَّن يُرَدُّ إِلَىٰ أَرْدَلِ الْعُمُرِ لِكَيْلَا يَعْلَمَ مِن بَعْدِ عِلْمٍ شَيْئًا وَ تَرَى الْأَرْضَ هَامِدَةً فَإِذَا أَنزَلْنَا عَلَيْهَا الْمَاءَ اهْتَزَّتْ وَ رَبَّتْ وَ أَنْبَتَتْ مِن كُلِّ زَوْجٍ بَهِيجٍ ٥

Artinya : Hai manusia, jika kamu dalam keraguan tentang kebangkitan (dari kubur), maka (ketahuilah) sesungguhnya Kami telah menjadikan kamu dari tanah, kemudian dari setetes mani, kemudian dari segumpal darah, kemudian dari segumpal daging yang sempurna kejadiannya dan yang tidak sempurna, agar Kami jelaskan kepada kamu dan Kami tetapkan dalam rahim, apa yang Kami kehendaki sampai waktu yang sudah ditentukan, kemudian Kami keluarkan kamu sebagai bayi, kemudian (dengan berangsur-angsur) kamu sampailah kepada kedewasaan, dan di antara kamu ada yang diwafatkan dan (adapula) di antara kamu yang dipanjangkan umurnya sampai pikun, supaya dia tidak mengetahui lagi sesuatupun yang dahulunya telah diketahuinya. Dan kamu lihat bumi ini kering, kemudian apabila telah Kami turunkan air di atasnya, hiduplah bumi itu dan suburlah dan menumbuhkan berbagai macam tumbuh-tumbuhan yang indah (QS. Al-Hajj: 5).

Berdasarkan ayat di atas dijelaskan bahwa proses penciptaan manusia dimulai dari mani yang sedikit kemudian menjadi segumpal darah lalu segumpal daging kemudian akan ditiupkan ruh pada malam ke-42 (Hifnawi dan Utsman, 2009). Pada penciptaan tersebut dijelaskan bahwa Allah menyempurnakan bentuk rupa serta organ-organ makhluk ciptaan-Nya. Hal ini menunjukkan betapa besar kekuasaan Allah dalam menciptakan makhluk secara sempurna. Kemudian dijelaskan pula pada surat *Al-Ghaafir* ayat 67 :

هُوَ الَّذِي خَلَقَكُمْ مِنْ تُرَابٍ ثُمَّ مِنْ نُطْقَةٍ ثُمَّ مِنْ عَلَقَةٍ ثُمَّ يُخْرِجُكُمْ طِفْلًا ثُمَّ لِتَبْلُغُوا أَشُدَّكُمْ ثُمَّ لِتَكُونُوا شُيُوخًا وَمِنْكُمْ مَنْ يُتَوَفَّى مِنْ قَبْلٍ وَلِتَبْلُغُوا أَجَلًا مُّسَمًّى وَلَعَلَّكُمْ تَعْقِلُونَ ٦٧

Artinya : Dialah yang menciptakanmu dari tanah, kemudian dari setetes mani, lalu dari segumpal darah, kemudian kamu dilahirkan sebagai seorang anak, kemudian dibiarkan kamu sampai dewasa, lalu menjadi tua. Tetapi di antara kamu ada yang dimatikan sebelum itu. (Kami perbuat demikian) agar kamu sampai kepada kurun waktu yang ditentukan, agar kamu mengerti (QS. Al-Ghaafir: 67).

Hifnawi dan Utsman (2009) menjelaskan pada kitab tafsir *Al-Qurthuby* jilid 15 (2009) bahwa manusia berawal dari dari segumpal darah yang kemudian

ditangguhkan hingga masa dewasa yang mana pada masa tersebut kekuatan dan akal seseorang telah berkumpul. Ayat-ayat di atas merupakan dalil bahwa Allah telah menciptakan makhluk secara sempurna serta dalam penciptaannya itu terdapat petunjuk yang bila diintegrasikan pada penelitian ini yakni dari organ ginjal tikus yang dari sel-sel nya dapat kita jadikan suatu petunjuk yang menggambarkan keadaan ginjal tikus yang diinduksi merkuri, normal dan yang telah diterapi sebagai identifikasi potensi kitosan dalam memperbaiki kerusakan ginjal akibat merkuri.

Petunjuk yang Allah berikan kepada manusia melalui ciptaan-Nya bila dikembalikan pada ayat ulul albab (**lihat halaman 64**) maka apa-apa yang menjadi petunjuk tersebut menjadi tanda-tanda kekuasaan Allah bagi kaum yang mau berpikir (ulul albab). Dikisahkan dalam buku karangan Jalaluddin As-Suyuthi (2008) bahwa sebab diturunkannya surat *Ali-Imron* ayat 190 yakni ketika kaum *Quraisy* mendatangi nabi dan meminta nabi berdo'a pada Allah untuk menjadikan bukit *Shafa* dan *Marwah* menjadi gunung emas untuk mereka sebagai tanda kekuasaan Allah lalu Allah menjawab dengan ayat tersebut yakni tanda kekuasaan Allah sangatlah luas dan terdapat di alam semesta dan hanya dapat diketahui oleh orang yang mau berpikir. Dalam tafsir *Al-Aisar* jilid 2 (2007) dijelaskan bahwa yang dimaksud dengan ulul albab yakni orang yang berakal yang dengan akalnya mereka mampu menangkap dan memahami ciptaan Allah. Mereka mendapat suatu petunjuk untuk lebih mengenal Allah sehingga bertambah keimanan mereka lalu mereka bersyukur kepada-Nya atas karunia (ciptaan Allah) yang telah diberikan.

BAB VI

KESIMPULAN DAN SARAN

6.1 Kesimpulan

Kesimpulan secara umum yang dapat diambil dari penelitian ini yakni kitosan memiliki potensi sebagai antidot untuk logam merkuri berdasarkan dari hasil penelitian dua parameter pada rumusan masalah sebagai berikut :

1. Kadar merkuri dalam darah tikus sebelum dan setelah diterapi oleh kitosan selama 3 hari terjadi penurunan yakni 57 ppb (sebelum terapi) dan 0 ppb (setelah terapi).
2. Gambaran histopatologi ginjal tikus yang diterapi oleh kitosan memiliki tingkat kerusakan lebih rendah (skor = 10,2) dengan lebih sedikit piknosis, karioeksis, dan kariolisis dibandingkan dengan sebelum terapi (skor = 15,1)

6.2 Saran

Berdasarkan penelitian yang telah dilakukan maka disarankan kepada peneliti selanjutnya untuk meninjau lebih dalam mengenai potensi kitosan sebagai antidot untuk logam merkuri terkait :

1. Dosis kitosan yang paling efektif sebagai antidot untuk logam merkuri.
2. Efektivitas kitosan dalam ukuran partikel yang lebih kecil seperti mikroemulsi dan atau nanoemulsi.
3. Perbandingan efektifitas dan efisiensi rute pemberian kitosan dalam mengekskresikan logam merkuri.

DAFTAR PUSTAKA

- Al-Hifnawi, M. I. & Utsman, M. H. 2008. *Tafsir Al-Qurtuby [Jilid 4]*. Jakarta; Pustaka Azzam
- Al-Hifnawi, M. I. & Utsman, M. H. 2009. *Tafsir Al-Qurtuby [Jilid 10]*. Jakarta; Pustaka Azzam
- Al-Hifnawi, M. I. & Utsman, M. I. 2009. *Tafsir Al-Qurtuby [Jilid 14]*. Jakarta; Pustaka Azzam
- Al-Hifnawi, M. I. & Ustaman, M. I. 2009. *Tafsir Al-Qurtuby [Jilid 15]*. Jakarta; Pustaka Azzam
- Al-Hifnawi, M. I. & Utsman, M. I. 2009. *Tafsir Al-Qurtuby [Jilid 20]*. Jakarta; Pustaka Azzam
- Abdullah. 2006. *Tafsir Ibnu Katsir [Jilid 2]*. Jakarta; Pustaka Imam Syafi'i
- Abdullah. 2007. *Tafsir Ibnu Katsir [Jilid 7]*. Jakarta; Pustaka Imam Syafi'i
- Abubakar, B. 2008. *Terjemah Tafsir Jalalain*. Bandung; Sinar Baru Algensindo
- Adityarini, M., dkk. 1996. *Segala Sesuatu yang Perlu Anda Ketahui Medical Tests: Pemeriksaan Medis*. Jakarta; Grasindo
- Anonim. 2015. *Malapetaka Besar akibat Merkuri Mengancam Indonesia*. <http://sains.kompas.com/read/2015/04/20/20503221/Malapetaka.Besar.akibat.Merkuri.Mengancam.Indonesia>. diakses pada tanggal 29/10/2016 pukul 13.54
- Anonim. 2016. <http://pionas.pom.go.id/ioni/bab-16-penanganan-darurat-pada-keracunan/penyebab-dan-penanganan-keracunan/penyebab-lainnya-2>. diakses pada 12/11/2016 pukul 15.19
- Al-aththar, D. 1979. *Mujaz 'ulum al-qur'an*. Beirut ; *Mu'assasah al-a'limi li al-mathbu'ah*
- Al-Jazairi, A. B. J. 2007. *Tafsir Qur'an Al-Aisar [Jilid 2]*. Terjemahan oleh Darus Sunnah. 2007. Jakarta; Darus Sunnah
- Al-Jazairi, A. B. J. 2009. *Tafsir Qur'an Al-Aisar [Jilid 7]*. Terjemahan oleh Darus Sunnah. 2009. Jakarta; Darus Sunnah
- Al – Jauziyyah, I. Q. 2000. *Zadul Ma'ad*. Jakarta; Pustaka Azzam
- As-Suyuthi, J. 2008. *Asbabun Nuzul : Sebab Turunnya Ayat Al-Qur'an*. Terjemah oleh Tim Abdul Hayyie. 2008. Jakarta; Gema Insani

- Aziz, T., Dkk. 2015. *Removal Logam Berat dari Tanah Terkontaminasi dengan Menggunakan Chelating Agent (EDTA)*. Jurnal Teknik Kimia, No. 2, Vol. 21
- Bernard, A. 2008. Cadmium and Its Adverse Effect on Human Health. *Indian Journal, Vol. 128, No 4*
- Boss, C. B. and Fredeen, K. J. 1997. *Concept, Instrumentation, and Technique in Inductively Coupled Plasma Optical Emission Spectrometry, Second Edition*. USA ; Perkin Elmer
- Broussard, et al. 2002. The Toxicology of Mercury. *Laboratorymedicine journal, vol. 33, no. 8*
- Cloirec, P. L. and Mckay, G. 2007. Application of Chitosan for the Removal of Metals From Wastewaters by Adsorption—Mechanisms and Models Review. *Environmental Science and Technology Journal, Vol. 37*
- Contran, R. S., Rennke, H. and Kumar, V. 2007. *Ginjal dan Sistem Penyalurnya. dalam: Kumar, Cotran, Robbin (ed)*. Buku Ajar Patologi Robbins Volume 2. Edisi VII. Jakarta: EGC, pp: 572, 594-7
- Corwin, E. J. 2008. *Buku Saku Patofisiologi. Edisi ke-3*. Terjemahan oleh Nike Budhi Subekti. 2009. Jakarta: EGC Medical Publisher.
- Direktorat Bina Kesehatan Kerja dan Olahraga. 2012. *Pedoman Tatalaksana Penyakit Akibat Kerja bagi Petugas Kesehatan: Penyakit Akibat Kerja Karena Paparan Logam Berat*. Jakarta; Kementerian Kesehatan Republik Indonesia
- Delyuzzar. 2012. <https://klinikjkm.wordpress.com/2012/06/>. Diakses pada tanggal 10 November 2017
- Dyahningtyas, T. E. 1999. Penghilangan Kadmium (Cd) dengan Menggunakan Chitosan. *Prosiding Seminar Nasional Kimia V*. Laboratorium Kimia Anorganik FMIPA UGM Yogyakarta, tanggal 8-9 Maret 1999
- Darmono. 1995. *Logam dalam Biologi Makhluk Hidup*. Jakarta; Penerbit Universitas Indonesia (UI Press)f
- Endrinaldi. 2010. *Logam-logam Berat Pencemar Lingkungan dan Efek terhadap Manusia*. Jurnal Kesehatan Masyarakat, Vol. 4, No. 1
- Franco, L. O., et al. 2004. Heavy Metal Biosorption by Chitin and Chitosan Isolated from *Cunninghamella elegans*. *J.Microbiol.*, Vol.35, No.3
- Febriyana, I. W. 2012. *Dampak Pencemaran Merkuri Terhadap Biota Air dan Kesehatan Manusia*. Jurnal Lingkungan Hidup

- Finkel, R., et al. 2009. *Farmakologi: edisi 4*. New Jersey: Lippincott's Williams and Wilkins
- Food Review Indonesia. 2013. *Freeze Drying Technology: for Better Quality & Flavor of Dried Products*. Jurnal teknologi, vol. 7, no. 2
- Goosens, K. A. & Lee, G. 2015. Sampling Blood from the Lateral Tail Vein of the Rat. *Journal of Visua Experimen*
- Guzel, F. and Uzun, I. 2000. Adsorption of Some Heavy Metal Ion from Aqueous Solution by Activated Carbon and Comparison of Percent Adsorption Result of Activated Carbon with Those of Some Other Adsorbent. *Turk. J. Chem.*Vol.24
- Guyton, A. C. and Hall, J. E. 2008. *Buku Ajar Fisiologi Kedokteran. Edisi 11*. Jakarta: EGC
- Hanani, E., dkk. 2005. *Identifikasi senyawa antioksidan dalam spons Callispongia sp dari Kepulauan Seribu*. Majalah Ilmu Kefarmasian 2:127- 133.
- Harjana, T. 2011. *Buku Ajar Histologi*. Yogyakarta; Universitas Negeri Yogyakarta
- Hasyimi, M., dkk. 2014. *Persepsi Jajaran Kesehatan Tentang Dampak Kegiatan Penambangan Emas Di Kabupaten Buru Provinsi Maluku Tahun 2012*. Jurnal Ekologi Kesehatan, Vol. 13, No 2
- Hazelhoff, M. H., et al. 2012. Gender Related Differences in Kidney Injury Induced by Mercury. *International Journal of Molecular Sciences*
- Hendriyani, D. (2003). *Kajian Bioavailabilitas Klorofil Bubuk Daun Cincau Hijau (Cyclea Barbara L. Miers) pada Hati Plasma Tikus (Rattus novergicus)*. [Skripsi]. Bogor : Institut Pertanian Bogor
- Husein, A. T. T. dan Trihono. 1996. *Buku Ajar Nefrologi Anak*. Jakarta; Ikatan Dokter Anak Indonesia
- Indriantoro, N. dan Supomo, B. 2001. *Metodologi Penelitian Bisnis*. Yogyakarta: BPFE
- Institutional Animal Care and Use Committee Policy, Guidelines, and Standard Operating Procedures. 2014. *Blood Collection*. Emory University
- Inswiasri. 2008. *Paradigma Kejadian Penyakit Paparan Merkuri (Hg)*. Jurnal Ekologi Kesehatan, Vol. 7, No. 2
- Karthikeyan, G., Anbalagan, K. and Andal, N. M. 2004. Adsorption Dynamic and Equilibrium Studies of Zn (II) onto Chitosan. *J. Chem. Sci.* Vol.116, No.02

- Katzung, B. G. 2012. *Farmakologi Dasar dan Klinik : Edisi 6*. Jakarta : EGC
- Krinke, G. J. 2000. *The Handbook of Experimental Animals The Laboratory Rat*. New York; Academy Press
- Krisnadwi. 2013. *Prinsip Kerja Microwave*. <https://bisakimia.com/2013/03/23/prinsip-kerja-microwave/>. Diakses pada 10 November 2017
- Lenaz, G. 2012. Mitochondria and Reactive Oxygen Species. Which role in physiology and pathology Adv Exp proximal convoluted tubules epithelium of kidneys. *Med Biol*. 942:93–136
- Malole M. B. M. dan Pramono C. S. U. 1989. *Penggunaan Hewan-Hewan Percobaan Dilaboratorium*. ITB; Bogor
- Mekawati, F. E. dan Sumardjo, D. 2000. *Aplikasi Kitosan Hasil transformasi Limbah Udang (Penaeus merguensis) untuk Adsorpsi Ion Logam Timbal*. *Jurnal Sains and Matematika*, Vol. 8, No.2
- Mohammad, E. 2011. *Fitoremediasi Logam Berat Kadmium(Cd) pada Tanah dengan Menggunakan Bayam Duri (Amaranthus Spinous L)*. [Laporan Penelitian Pengembangan Iptek Dana PNBPN]. Gorontalo; Universitas Negeri Gorontalo
- Moore, S. and Tough, J. 2016. *Rodent Blood Collection Guidelines and Techniques*. Standard Operating Procedure-Carleton University
- Mufarrichah, L. 2011. *Pengaruh Pemberian Tepung Lumbricus Rubellus terhadap Gambaran Histologis Usus Halus dan Ginjal pada Rattus norvegicus yang Terinfeksi Salmonella Typhi*. [Skripsi]. Malang; UIN Press
- Muntiha, M. 2001. *Teknik Pembuatan Preparat Histopatologi dari Jaringan Hewan dengan Pewarnaan Hematoksin dan Eosin (H&E)*. *Jurnal Temu Teknis Fungsional Non Peneliti*
- Murniasih, S. dan Taftazani, A. 2013. *Evaluasi Hg, Cd, Co, Cr, Dan As Dalam Sampel Produk Agroindustri Berdasarkan Keputusan BPOM dan ADI (Accept Daily Intake)*. *Jurnal Iptek Nuklir Ganendra*, Vol. 16, No. 1
- Neal, M. J. 2005. *At a Glance, Farmakologi Medis, edisi kelima*. Jakarta; Erlangga
- Nebendahl, K. 2000. *Routes of Administration*. Germany; Academic Press of University of Gottingen
- Nielson, K. B. dan Winge, D. R. 1983. Order of Binding in Metallothionein. *Journal of Biological Chemistry* 258, 13063-9

- Nirmala, K., Sekarsari, J. dan Suptijah, P. 2006. *Efektivitas Khitosan sebagai Pengkhelat Logam Timbal dan Pengaruhnya Terhadap Perkembangan Awal Embrio Ikan Zebra*. Jurnal Akuakultur Indonesia, Vol. 5, No. 2
- Nugroho, A., dkk. 2011. *Sintesis dan Karakterisasi Membran Kitosan untuk Aplikasi Sensor Deteksi Logam Berat*. Jurnal Molekul, Vol. 6, No. 2
- Palar, H. 2012. *Pencemaran dan Toksikologi Logam Berat*. Jakarta; Rineka Cipta
- Pertiwi, C. 2017. *Analisis Kandungan Logam Berat Pada Kerang di Pantai Sari Ringgung dan Sekitarnya dengan Metode ICP-OES*. [Skripsi]. Lampung: UNILA
- Praditya, D. F. 2015. <http://www.bhataramedia.com/3013/virus-flu-bereplikasi-lebih-baik-pada-suhu-lebih-dingin/2015/01/06/>. Diakses pada tanggal 06 Oktober 2017
- Prabawati, S. Y., dkk. 2013. Pemanfaatan Senyawa Poli-Monoaliloksi-Kalik[6] Arena sebagai Antidotum Keracunan Kadmium Pada Mencit. *J. Manusia dan Lingkungan*. Vol. 20, No. 2
- Price, S. and Lorraine, M. W. 2006. *Patofisiologi: Konsep Klinis Proses-Proses Penyakit*. Jakarta ; EGC
- Purbosari, A. 2016. *Makalah Pemeriksaan Histopatologi sebagai Bioindikator Kontaminasi Logam Berat* [Makalah]. Semarang; Universitas Negeri Semarang
- Rachman, A. 2008. *Mekanisme Toksisitas Logam Berat*. <http://mavia-lontong.blogspot.co.id/2008/06/mekanisme-toksisitas-logam-berat.html>. diakses pada 10/05/2016 pukul 20.58
- Rahayu, L. H. dan Purnavita, S. 2007. *Optimasi Pembuatan Kitosan dari Kitin Limbah Cangkang Rajungan (Portunus Pelagicus) untuk Adsorben Ion Logam Merkuri*. Jurnal Reaktor, Vol. 11, No.1
- Rezpector, S. 2015. *Definisi, Struktur, Kerja, dan Faktor yang Mempengaruhi Enzim*. <http://pusatilmoe.blogspot.co.id/2015/05/definisi-struktur-kerja-dan-faktor-yang.html>. diakses pada 09/01/2017 pukul 08.00
- Rianto, S. 2010. *Analisis Faktor-faktor yang Berhubungan dengan Keracunan Merkuri Pada Penambang Emas Tradisional di Desa Jendi Kecamatan Selogiri Kabupaten Wonogiri*. [Tesis]. Semarang; UNDIP
- Ridwan, E. 2013. *Etika Pemanfaatan Hewan Percobaan dalam Penelitian Kesehatan*. Jurnal Indon Med Assoc., Vol. 63, No. 3

- Rismana, E. 2003. *Serat Kitosan Mengikat Lemak*.
<http://www.kompas.com/kompascetak/0301/09/iptek/>. diakses pada 12/11/2016 pukul 12.03
- Rivai, H. 1995. *Asas Pemeriksaan Kimia*. Jakarta : UI Press
- Sherwood, L. 2011. *Fisiologi Manusia dari Sel ke Sistem*. Jakarta. EGC
- Seikh, T. J., et al. 2013. Repeated Dose Oral Toxicity of Inorganic Mercury in Wistar Rats: Biochemical and Morphological Alterations. *Journal of Veterinary Pathology*
- Sartono. 2012. *Racun & Keracunan*. Jakarta; Widya Medika
- Setiabudi, B. T. 2005. *Penyebaran Merkuri Akibat Usaha Pertambangan Emas di Daerah Sangon, Kabupaten Kulon Progo, D.I. Yogyakarta*. Jurnal Kolokium Hasil Lapangan
- Subowo, dkk. 1999. Pengaruh Logam Berat Pb dalam Tanah terhadap Kandungan Pb, Pertumbuhan dan Hasil Tanam Caisem (*Brassica rapa*). *Prosiding Seminar Sumber Daya Tanah, Iklim dan Pupuk*. Bogor; Puslittanak
- Tortora, D. B. 2011. *Principles of Anatomy and Physiology Maintenance and Continuity of the Human Body 13th Edition*. Amerika Serikat: John Wiley & Sons, Inc
- Tim perumus fakultas teknik UMJ Jakarta. 1998. *Al-Islam dan IPTEK I*. Jakarta ; PT Raja Grafindo Persada.
- Thatte. 2004. *Synthesis And Antibacterial Assessment of Water Soluble Hydrophobic Chitosan Derivatives Bearing Quaternary Ammonium Functionality*. [Disertasi]. Louisiana State University
- Tobing, F. A. L. 2013. *Penentuan Kadar Logam Kromium (Cr), Zink (Zn), dan Selenium (Se) Pada Air Sungai Denai Dengan Metode Inductively Couple Plasma (ICP)*. [Skripsi]. Medan; Universitas Sumatera Utara
- Underwood, A. L. dan Day, R. A., 2001. *Analisis Kimia Kuantitatif: Edisi VI*. Jakarta; Penerbit Erlangga
- Vazquez, et al. 2013. Anatomy of the Liver In Wistar Rat (*Rattus norvegicus*). *Jurnal Morphology*
- Vedy, H. I. 2015. *Efektifitas Kitosan sebagai Absorben Logam Berat pada Gambaran Anatomi Ginjal Mencit (*Mus Musculus L*) yang Dinduksi Plumbum Asetat*. Jurnal Majority, Vol. 4, no. 7
- Vogel, A. I. 1990. *Buku Teks Analisa Anorganik Kualitas Makro dan Semimikro: Edisi ke-5*. Jakarta; Indonesia University Press

Widyawati, W. 2007. *Efek Ekstrak Daun Sambung Nyawa (Gynura Procumbens (Lour) Merr.) terhadap Kadar Metil Merkuri Darah dan Karakteristik Eritrosit Tikus Putih (Rattus Norvegicus L.) paska Pemaparan Metil Merkuri Klorida*. [Skripsi]. Universitas Sebelas Maret Surakarta

WHO (World Health Organization). 1976. *Environmental health criteria for Mercury in Environmental Health Criteria 1*. Geneva; World Health Organization

Xie, W. P. X. and Liu, Q. 2001. Antioxidant activity of water-soluble chitosan derivatives. *Biomedical Chemistry, vol 11*

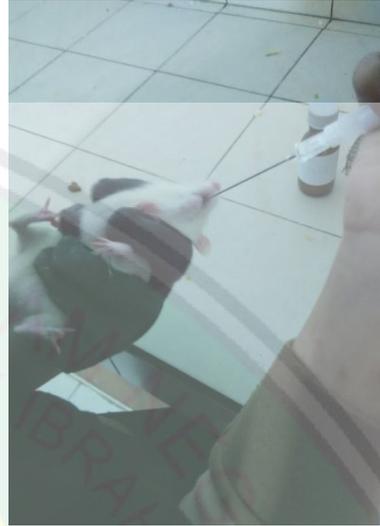
Yanuar, A. 2008. *Toksistas merkuri di sekitar kita*. Jakarta; Departemen Farmasi FMIPA-Universitas Indonesia

Zalups, R. K. and Koropatnick, J. 2000. *Molecular Biology and Toxicology of Metal*. New york ; Taylor & Francis

Zhai, J. and Bakker, E. 2016. Complexometric Titrations: New Reagents and Concepts to Overcome Old Limitations. *The Royal Society of Chemistry, Vol. 141, 4252–4261*

Lampiran 1. Dokumentasi Kegiatan Penelitian

A. Pemberian Perlakuan melalui Jalur Oral



B. Proses Aklimatisasi Tikus pada Laboratorium



C. Pengambilan Sampel Darah dari Ujung Ekor Tikus



D. Penimbangan Sampel Darah (I) dan Pemberian Asam Nitrat 65% pada Sampel Darah (II)



E. Proses penyaringan Larutan Hasil Destruksi



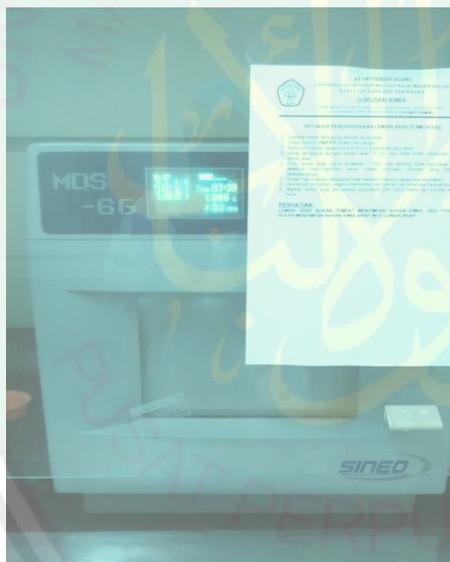
F. Istrumen Mikroskop Elektron (a), Freeze Dryer (b), Microwave Digestion (c), ICP (Inductively Couple Plasma) (d)



(a)



(b)

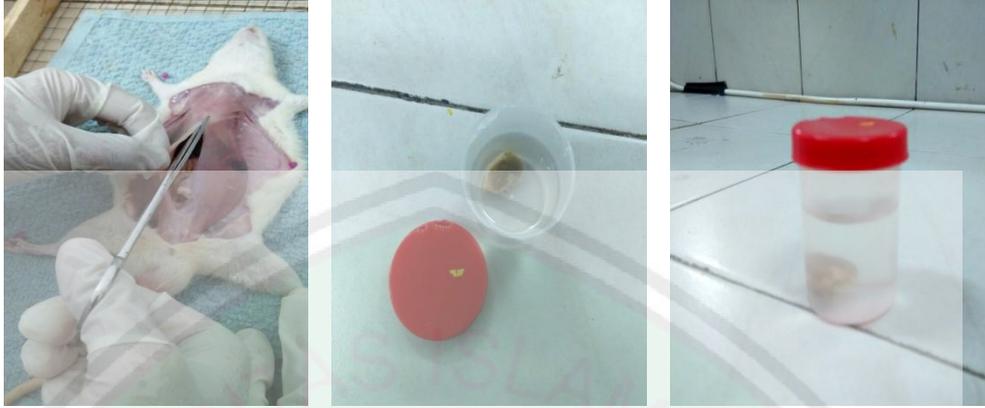


(c)



(d)

G. Pengambilan Sampel Ginjal Tikus



H. Preparat Ginjal Tikus



Lampiran 2. Perhitungan Pembuatan Larutan

1. Larutan Induktor

Dosis : 4 mg/Kg BB >> 0.8 mg / tikus
 BB : ± 200 g

Merkuri yang ditimbang : 0.8 mg x 12 ekor (P2+P3+P4) = 9.6 mg
 Larutan pembawa : 2.5 mL x 12 ekor = 30 mL

Dibuat 50 mL larutan induktor, maka merkuri yang ditimbang :

$$\frac{30 \text{ mL}}{50 \text{ mL}} = \frac{9.6 \text{ mg}}{X} \quad \therefore X = 16 \text{ mg}$$

2. Larutan EDTA

Dosis : 100 mg/tikus (200g)

EDTA yang ditimbang : 100 mg x 4 ekor (P4) = 400 mg
 Larutan pembawa : 2.5 mL x 4 ekor = 10 mL

Dibuat 25 mL larutan EDTA, maka EDTA yang ditimbang :

$$\frac{10 \text{ mL}}{25 \text{ mL}} = \frac{400 \text{ mg}}{X} \quad \therefore X = 1 \text{ g}$$

3. Suspensi Kitosan

Dosis : 100 mg/tikus (200g)

Kitosan yang ditimbang : 100 mg x 4 ekor (P4) = 400 mg
 Larutan pembawa : 2.5 mL x 4 ekor = 10 mL

Dibuat 25 mL larutan kitosan, maka kitosan yang ditimbang :

$$\frac{10 \text{ mL}}{25 \text{ mL}} = \frac{400 \text{ mg}}{X} \quad \therefore X = 1 \text{ g}$$

4. Larutan Standar Merkuri

Diencerkan larutan induk merkuri (1000 ppm) menjadi 0.1 ppm; 0.5 ppm; dan 1 ppm menurut persamaan berikut :

$$M1 \times V1 = M2 \times V2$$

$$V1 = \frac{M2 \times V2}{M1}$$

Keterangan :

M1 = konsentrasi larutan yang diencerkan

M2 = konsentrasi larutan yang dibuat

V1 = volume larutan yang diambil

V2 = volume larutan yang dibuat



Lampiran 3. Data Kadar Darah pada Uji ICP

Hari ke-	Kelompok	Intensitas (Cd)			Konsentrasi (ppb)			Konsentrasi rata-rata (ppb)	Penurunan (ppb)
		Ulangan 1	Ulangan 2	Ulangan 3	Ulangan 1	Ulangan 2	Ulangan 3		
1	Normal	-134	-75	-108	0	0	0	0	-
	Negatif	5	13	-	47,5	55,1	-	51,3	-
	Kitosan	21	11	13	62,7	53,2	55,1	57	-
	Positif (EDTA)	10	5	14	52,2	47,5	56	51,9	-
2	Normal	-123	-119	-139	0	0	0	0	-
	Negatif	-3	3	-5	39,8	45,6	37,9	41,1	10,2
	Kitosan	-10	10	9	33,2	52,2	51,3	45,6	11,4
	Positif (EDTA)	2	11	-20	44,6	53,2	23,6	40,5	11,4
3	Normal	-110	-155	-124	0	0	0	0	-
	Negatif	-2	18	5	59,8	47,5	49,4	49,4	-
	Kitosan	2	-158	-200	0	0	44,6	44,6	1
	Positif (EDTA)	-70	-5	-1	0	0	0	0	40,5
4	Normal	-126	-114	-105	0	0	0	0	-
	Negatif	-203	-216	-196	0	0	0	0	-
	Kitosan	-183	-145	-158	0	0	0	0	44,6
	Positif (EDTA)	-70	-5	-1	37,9	41,7	39,8	39,8	-

Keterangan :

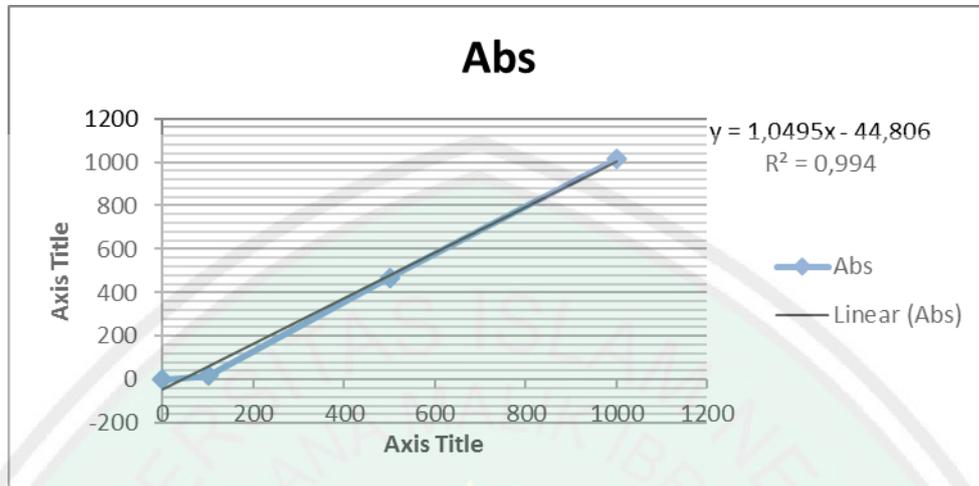
Normal = hanya pemberian akuades

Negatif = pemberian merkuri 0,8 mg tanpa terapi

Kitosan = pemberian merkuri 0,8 mg dengan terapi kitosan 100 mg

Positif (EDTA) = pemberian merkuri 0,8 mg dengan terapi EDTA 100 mg

Kurva standar uji ICP



No	Sample ID	Conc.	Element	Line	Intensity
1	blanko - 1	-0.1541	Mercury	Hg 253.652	47
2	blanko - 2	-0.1746	Mercury	Hg 253.652	35
3	blanko - 3	-0.2209	Mercury	Hg 253.652	8
4	0.1 ppm - 1	-0.1095	Mercury	Hg 253.652	73
5	0.1 ppm - 2	-0.1352	Mercury	Hg 253.652	58
6	0.1 ppm - 3	-0.0958	Mercury	Hg 253.652	81
7	0.5 ppm - 1	0.8617	Mercury	Hg 253.652	640
8	0.5 ppm - 2	0.8669	Mercury	Hg 253.652	643
9	0.5 ppm - 3	0.884	Mercury	Hg 253.652	653
10	1 ppm - 1	1.7713	Mercury	Hg 253.652	1171
11	1 ppm - 2	1.8364	Mercury	Hg 253.652	1209
12	1 ppm - 3	1.7987	Mercury	Hg 253.652	1187

Lampiran 4. Data Skor Tingkat Kerusakan Ginjal

No	Kelompok Perlakuan	Skor Tingkat Kerusakan												Rerata Skor Tingkat Kerusakan
		Tikus 1				Tikus 2				Tikus 3				
		Lapang pandang I	Lapang pandang II	Lapang pandang III	Rerata kerusakan	Lapang pandang I	Lapang pandang II	Lapang pandang III	Rerata kerusakan	Lapang pandang I	Lapang pandang II	Lapang pandang III	Rerata kerusakan	
1	Normal	8,5	7,5	9	8,3	8,5	7,5	7,5	7,8	7,5	7,5	7,5	7,5	7,9
2	Negatif	18	18,5	18,5	18,3	18,5	18,5	9	15,3	9	8,5	18	11,8	15,1
3	Kitosan	8,5	7,5	7,5	7,8	17,5	8,5	8	11,3	8	8,5	18	11,5	10,2
4	Positif (EDTA)	17	17,5	16	16,8	6,5	8,5	7,5	7,5	17	18	17,5	17,5	13,9

Lampiran 5. Keterangan Kelaikan Etik



KEMENTERIAN RISET, TEKNOLOGI, DAN PENDIDIKAN TINGGI
UNIVERSITAS BRAWIJAYA
FAKULTAS KEDOKTERAN
KOMISI ETIK PENELITIAN KESEHATAN

Jalan Veteran Malang - 65145, Jawa Timur - Indonesia
Telp. (62) (0341) 551611 Ext. 168; 569117; 567192 - Fax. (62) (0341) 564755
http://www.fk.ub.ac.id e-mail : kep.fk@ub.ac.id

KETERANGAN KELAIKAN ETIK
("ETHICAL CLEARANCE")

No. 117 / EC / KEPK – S1 / 03 / 2017

KOMISI ETIK PENELITIAN KESEHATAN FAKULTAS KEDOKTERAN UNIVERSITAS BRAWIJAYA, SETELAH MEMPELAJARI DENGAN SEKSAMA RANCANGAN PENELITIAN YANG DIUSULKAN, DENGAN INI MENYATAKAN BAHWA PENELITIAN DENGAN

JUDUL : Uji Potensi Kitosan sebagai Antidot untuk Logam Merkuri (Hg) pada Tikus (*Rattus norvegicus*) yang diinduksi HgCl₂.

PENELITI : Fitya aprillia Dalilati

UNIT / LEMBAGA : Universitas Islam Negeri Maulana Malik Ibrahim Malang.

TEMPAT PENELITIAN : Laboratorium Biosains Universitas Brawijaya Malang, Laboratorium Fisiologi Hewan Jurusan Biologi dan Laboratorium Kimia Analisis Jurusan Kimia Universitas Islam Negeri Maulana Malik Ibrahim Malang.

DINYATAKAN LAIK ETIK.

Malang, 24 MAR 2017

An. Ketua,
Koordinator Divisi I

Prof. Dr. dr. Teguh W. Sardjono, DTM&H, MSc, SpPark
NIP. 19520410 198002 1 001

Catatan :

Keterangan Laik Etik Ini Berlaku 1 (Satu) Tahun Sejak Tanggal Dikeluarkan Pada Akhir Penelitian, Laporan Pelaksanaan Penelitian Harus Diserahkan Kepada KEPK-FKUB Dalam Bentuk Soft Copy. Jika Ada Perubahan Protokol Dan / Atau Perpanjangan Penelitian, Harus Mengajukan Kembali Permohonan Kajian Etik Penelitian (Amandemen Protokol).