

PENGARUH EKSTRAK ETANOLIK UMBI BAWANG LANANG (*Allium sativum* L. var. solo garlic) TERHADAP GAMBARAN HISTOPATOLOGI ORGAN HATI DAN GINJAL PADA UJI TOKSISITAS SUB KRONIS

Skripsi

untuk memenuhi sebagian persyaratan
mencapai gelar Sarjana Farmasi



Disusun Oleh:

Muhammad Zidnal Huda

33101700034

**PROGRAM STUDI FARMASI FAKULTAS KEDOKTERAN
UNIVERSITAS ISLAM SULTAN AGUNG
SEMARANG**

2022

SKRIPSI

PENGARUH EKSTRAK ETANOLIK UMBI BAWANG LANANG (*Allium sativum* L. var. solo garlic) TERHADAP GAMBARAN HISTOPATOLOGI ORGAN HATI DAN GINJAL PADA UJI TOKSISITAS SUB KRONIS

Yang di persiapkan dan di susun Oleh:

Muhammad Zidnal Huda

33101700034

Yang di pertahankan di depan dewan penguji
pada tanggal, 25 Juli 2022
dan di nyatan telah memenuhi syarat.

Susnan Tim Penguji

Pembimbing I,

Anggota Tim Penguji,

Apt. Ika Buana Januarti, M.Sc

Apt. Chintiana Nindya Putri, M.Farm

Pembimbing II,

Apt. Fadzil Latifah, M.Farm

Dr. Apt. Atina Hussana, M.Si

Semarang, 25 Juli 2022
Fakultas Kedokteran
Universitas Islam Sultan Agung
Dekan



Dr. dr. H. Setyo Trisnadi, Sp.KF., SH

SURAT PERNYATAAN

Yang bertandatangan di bawah ini:

Nama : Muhammad Zidnal Huda

NIM : 33101700034

Dengan ini menyatakan bahwa skripsi saya yang berjudul:

PENGARUH EKSTRAK ETANOLIK UMBI BAWANG LANANG (*Allium sativum* L. var. solo garlic) TERHADAP GAMBARAN HISTOPATOLOGI ORGAN HATI DAN GINJAL PADA UJI TOKSISITAS SUB KRONIS

Adalah benar hasil karya saya dan penuh kesadaran bahwa saya tidak melakukan tindakan plagiasi atau mengambil alih seluruh atau sebagian besar karya tulis orang lain tanpa menyebutkan sumbernya. Jika saya terbukti melakukan tindakan plagiasi, saya bersedia menerima sanksi sesuai dengan aturan yang berlaku.

Semarang, 25 Juli 2022

Yang menyatakan,



Muhammad Zidnal Huda

PERNYATAAN PERSETUJUAN PUBLIKASI KARYA ILMIAH

Saya yang bertandatangan di bawah ini:

Nama : Muhammad Zidnal Huda

NIM : 33101700034

Fakultas : Kedokteran

Alamat Asal : Ds. Kertosari RT/RW 02/03, Kecamatan Singorojo, Kab. Kendal

No HP/ Email : 081225545106/ muhammadzidnal25@gmail.com

Dengan ini menyatakan karya tulis ilmiah berupa skripsi dengan judul:

PENGARUH EKSTRAK ETANOLIK UMBI BAWANG LANANG (*Allium sativum* L. var. solo garlic) TERHADAP GAMBARAN HISTOPATOLOGI ORGAN HATI DAN GINJAL PADA UJI TOKSISITAS SUB KRONIS

Dan menyetujui menjadi hak milik Universitas Islam Sultan Agung serta memberikan Hak Bebas Royalti Non Eklusif untuk di simpan, dialihmediakan, di kelola dalam pangkalan data dan publikasi di internet atau media lain untuk kepentingan akademis selama tetap mencantumkan nama penulis sebagai pemilik Hak Cipta.

Pernyataan ini saya buat dengan sungguh sungguh. Apa bila di kemudian terbukti ada penggaran Hak Cipta Plagiarisme dalam karya tulis ini, maka segala bentuk tuntutan hukum yang timbul akan saya tanggung secara pribadi tanpa melibatkan pihak Universitas Islam Sultan Agung.

Semarang, 25 Juli 2022

Yang menyatakan,



Muhammad Zidnal Huda

PRAKATA

بِسْمِ اللَّهِ الرَّحْمَنِ الرَّحِيمِ

Assalamu'alaikum Wr. Wb

Alhamdulillah *robbil 'alamiin*, puji syukur kehadiran Allah SWT atas segala limpahan karunia dan rahmat-Nya sehingga penulis dapat menyelesaikan skripsi ini dengan judul **“PENGARUH EKSTRAK ETANOLIK UMBI BAWANG LANANG (*Allium sativum* L. var. solo garlic) TERHADAP GAMBARAN HISTOPATOLOGI ORGAN HATI DAN GINJAL PADA UJI TOKSISITAS SUB KRONIS”** untuk memenuhi persyaratan menempuh gelar Sarjana Farmasi di Fakultas Kedokteran Universitas Islam Sultan Agung Semarang. Sholawat serta salam senantiasa selalu tercurahkan kepada Nabi Agung Muhammad SAW, para keluarga, para sahabat, serta para tabiin.

Dengan terselesaikannya skripsi ini, membuka peluang bagi penulis untuk mengucapkan terimakasih untuk pihak-pihak yang telah membantu dalam skripsi ini. Ucapan terimakasih penulis haturkan kepada :

1. Bapak Prof. Dr. Gunarto, SH., M.Hum, selaku Rektor Universitas Islam Sultan Agung Semarang.
2. Bapak Dr. dr. H. Setyo Trisnadi, Sp.KF., SH, selaku Dekan Fakultas Kedokteran Universitas Islam Sultan Agung Semarang.
3. Ibu Apt. Rina Wijayanti, M.Sc, selaku Ka. Prodi Farmasi Universitas Islam Sultan Agung Semarang.
4. Ibu Apt. Ika Buana Januarti, M.Sc, selaku dosen pembimbing I serta Ibu Apt. Fadzil Latifah, M.Farm, selaku dosen pembimbing II yang telah memberikan bimbingan dan arahan dengan baik, sabar dan pengertian pada penulis, sehingga penulis mampu menyelesaikan penelitian skripsi ini dengan baik.
5. Ibu Apt. Chintiana Nindya Putri, M.Farm, selaku dosen penguji I serta Ibu Dr. Apt. Atina Hussana, M.Si, selaku dosen penguji II yang telah memberikan masukan dan saran pada peneliti sehingga penulis dapat memperbaiki skripsi ini.

6. LPPM (Lembaga Penelitian dan Pengabdian Masyarakat) dan Prodi Farmasi Fakultas Kedokteran Universitas Islam Sultan Agung Semarang yang telah berkontribusi dalam pendanaan penelitian.
7. Kedua orang tua saya Bapak Nukholis dan Ibu Istiqomah, terimakasih yang tak terhingga atas doa, semangat, perhatian, kasih sayang, dan pengorbanannya, serta selalu memberikan dukungan baik secara moral dan finansial sehingga dapat menyelesaikan penelitian ini sesuai dengan harapan.
8. Teman-teman Sedativa 2017, terima kasih atas kebersamaannya selama berjuang dalam S1 Farmasi, atas suka duka, dan setiap peluang yang selalu memberi dukungan semangat dalam bentuk apapun kepada penulis.
9. Analis Laboratorium Farmasi Terpadu FK Unissula (Mbak Ninis dan Mbak Indah), serta pihak lain yang tidak dapat penulis sebutkan satu persatu yang telah membantu terlaksananya penelitian ini.

Penulis sangat menyadari bahwa dalam penyusunan skripsi ini jauh dari kata sempurna. Untuk itu penulis mengharapkan kritik dan saran pembaca untuk kemajuan penelitian dimasa mendatang. Semoga skripsi ini bisa bermanfaat bagi pengembangan ilmu pengetahuan selanjutnya. Aamiin.

Wallahul muwafiq ila aqwamith thoriq

Wassalamu'alaikum Wr. Wb.

Semarang, 25 Juli 2022

Muhammad Zidnal Huda

DAFTAR ISI

HALAMAN JUDUL.....	i
HALAMAN PENGESAHAN.....	ii
SURAT PERNYATAAN.....	iii
PERNYATAAN PERSETUJUAN PUBLIKASI KARYA ILMIAH	iv
PRAKATA.....	v
DAFTAR ISI.....	vii
DAFTAR SINGKATAN	xi
DAFTAR GAMBAR	xii
DAFTAR TABEL.....	xiii
DAFTAR LAMPIRAN.....	xiv
INTISARI.....	xv
BAB I PENDAHULUAN.....	1
1.1. Latar Belakang	1
1.2. Rumusan Masalah	3
1.3. Tujuan Penelitian.....	3
1.3.1. Tujuan umum	3
1.3.2. Tujuan Khusus	4
1.4. Manfaat Penelitian.....	4
1.4.1. Manfaat teoritis	4
1.4.2. Manfaat praktis.....	4
BAB II TINJAUAN PUSTAKA.....	5
2.1. Bawang Lanang (<i>Allium sativum</i> L. var.solo.garlic).....	5
2.1.1. Taksonomi Tanaman Bawang Lanang.....	5
2.1.2. Morfologi Tanaman Bawang Lanang	6
2.1.3. Kandungan Senyawa Kimia Bawang Lanang.....	6
2.1.4. Aktifitas Farmakologi Bawang Lanang	8
2.2. Metode Ekstraksi.....	10
2.2.1. Definisi Ekstrak.....	10
2.2.2. Ekstraksi.....	10

2.2.3. Maserasi	11
2.3. Uji Toksisitas.....	12
2.3.1. Uji Toksisitas Subkronik.....	12
2.3.2. Faktor-Faktor Yang Mempengaruhi Uji Toksisitas	14
2.4. Pengamatan Gambaran Histopatologi	15
2.5. Hepar	15
2.5.1. Anatomi Hepar	15
2.5.2. Histologi Hepar	17
2.5.3. Histopatologi Hepar	18
2.6. Ginjal	21
2.6.1. Anatomi Ginjal.....	21
2.6.2. Histologi Ginjal.....	23
2.6.3. Histopatologi ginjal.....	24
2.7. Hubungan Pemberian Toksisitas Subkronik Ekstrak Etanolik Umbi Bawang Lanang Terhadap Gambaran Histopatologi Hati Dan Ginjal.....	25
2.8. Kerangka Teori.....	28
2.9. Kerangka Konsep	28
2.10.Hipotesis.....	28
BAB III METODE PENELITIAN.....	29
3.1. Jenis Penelitian dan Rancangan Penelitian	29
3.2. Variabel dan Definisi Operasional.....	29
3.2.1. Variabel Penelitian	29
3.2.2. Definisi Oprasional	29
3.3. Populasi dan Sampel	31
3.3.1. Populsi.....	31
3.3.2. Sampel.....	32
3.4. Kriteria inklusi dan eksklusi.....	32
3.5. Instrumen dan Bahan Penelitian.....	32
3.5.1. Instrumen penelitian.....	32
3.5.2. Bahan penelitian.....	33
3.6. Cara Penelitian	33

3.6.1. Determinasi tanaman.....	33
3.6.2. Pembuatan Ekstrak Etanolik Umbi Bawang Lanang.....	33
3.6.3. Pengujian Ekstrak Etanolik Umbi Bawang Lanang.....	34
3.6.4. Penyiapan Hewan uji.....	35
3.6.5. Pembuatan Larutan Pengujian.....	35
3.6.6. Pemberian Ekstrak Etanol Umbi Bawang Lanang.....	36
3.6.7. Perlakuan hewan uji	36
3.6.8. Pembedahan hewan uji.....	37
3.6.9. Penentuan bobot organ relatif	38
3.6.10. Pembuatan Preparat Histopatologi organ hati dan ginjal.....	38
3.6.11. Pengamatan Gambaran Histopatologi Organ Hati.....	40
3.6.12. Pengamatan Gambaran Histopatologi Organ Ginjal.....	40
3.7. Alur Penelitian.....	41
3.8. Tempat dan Waktu	42
3.8.1. Tempat.....	42
3.8.2. Waktu	42
3.9. Analisis Hasil	42
BAB IV HASIL DAN PEMBAHASAN	43
4.1 Hasil Penelitian	43
4.1.1. Determinasi Tanaman	43
4.1.2. Ekstrak Etanolik Umbi Bawang Lanang.....	43
4.1.3. Hasil Bobot Organ Relatif Hati.....	44
4.1.4. Hasil Bobot Organ Relatif Ginjal.....	49
4.1.5. Hasil Gambaran Histopatologi Organ Hati	54
4.1.6. Hasil Gambaran Histopatologi Organ Ginjal.....	57
4.2 Pembahasan	59
4.2.1. Detrminasi Tanaman	59
4.2.2. Pembuatan Ekstrak Etanolik Umbi Bawang Lanang.....	60
4.2.3. Bobot Organ Relatif	61
4.2.4. Gambaran Histopatologi Organ Hati Dan Ginjal.....	63

BAB V KESIMPULAN DAN SARAN.....	69
5.1. Kesimpulan.....	69
5.2. Saran	69
DAFTAR PUSTAKA	70



DAFTAR SINGKATAN

ANOVA	: <i>Analysis of Variance</i>
ATP	: Adenosina trifosfat
BB	: Berat Badan
cm	: Centi Meter
EEUBL	: Ekstrak Etanolik Umbi Bawang Lanang
FSH	: <i>Follicle Stimulating Hormone</i>
g	: Gram
HE	: Haematoxylin Eosin
kg	: Kilogram
LD ₅₀	: <i>Lethal Dose 50%</i>
LH	: <i>Luteiniasi Hormon</i>
LSD	: <i>Least Significant Differences</i>
mg	: Milli Gram
ml	: Milli Liter
Na CMC	: <i>Natrium-Carboxy Methyl Cellulose</i>
SGOT	: <i>Serum Glutamic Oxaloacetic Transaminase</i>
SGPT	: <i>Serum Glutamic Pyruvic Transaminase</i>



DAFTAR GAMBAR

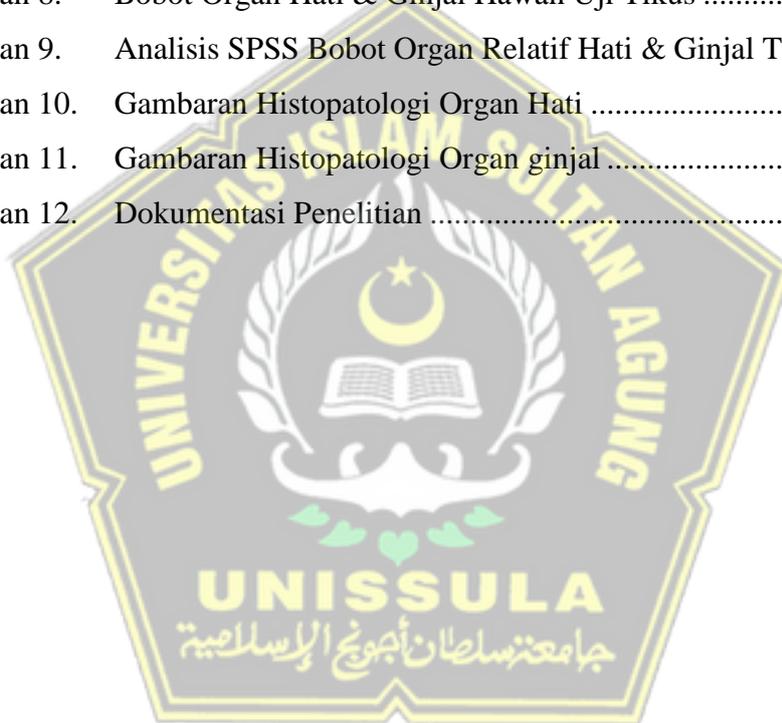
Gambar 2.1.	Gambar Bawang Lanang.....	5
Gambar 2.2.	Hepar Tampak Anterior Dan Permukaan Posterior	16
Gambar 2.3.	Lobulus Hepar Perbesaran 60x	18
Gambar 2.4.	Steatosis Hepatosit Perbesaran 200x.....	20
Gambar 2.5.	Nekrosis Hepatosit Perbesaran 400x.....	20
Gambar 2.6.	Anatomi Ginjal.....	22
Gambar 2.7.	Korteks Ginjal Dan Medula Bagian Atas	23
Gambar 2.8.	Degenerasi & Nekrosis Sel Tubulus Ginjal Pembesaran 1000x...	25
Gambar 2.9.	Kerangka Teori.....	28
Gambar 2.10.	Kerangka Konsep.....	28
Gambar 3.1.	Alur Penelitian	41
Gambar 4.1.	Diagram Bobot Organ Hati Relatif (%)	45
Gambar 4.2.	Diagram Bobot Organ Ginjal Relatif (%)	50
Gambar 4.3.	Gambaran Sel Hepatosit Normal Perbesaran 400x.....	55
Gambar 4.4.	Gambaran Sel Tubulus Ginjal Normal Perbesaran 400x	57

DAFTAR TABEL

Tabel 4.1.	Hasil Uji Organoleptik EEUBL.....	44
Tabel 4.2.	Hasil Pengujian Kadar Air EEUBL.....	44
Tabel 4.3.	Data Bobot Organ Relatif Hati Tikus Betina (%)	45
Tabel 4.4.	Data Bobot Organ Relatif Hati Tikus Jantan (%).....	46
Tabel 4.5.	Hasil Uji Normalitas	46
Tabel 4.6.	Hasil Uji Homogenitas	47
Tabel 4.7.	Hasil Uji Parametrik One Way Anova	47
Tabel 4.8.	Hasil Uji Normalitas	48
Tabel 4.9.	Hasil Uji Homogenitas	48
Tabel 4.10.	Hasil Uji Oneway Anova.....	48
Tabel 4.11.	Hasil Analisis SPSS Uji Post Hoc.....	49
Tabel 4.12.	Data Bobot Organ Relatif Ginjal Tikus Betina (%)	50
Tabel 4.13.	Data Bobot Organ Relatif Ginjal Tikus Jantan (%).....	51
Tabel 4.14.	Hasil Uji Normalitas.....	51
Tabel 4.15.	Hasil Uji Homogenitas	52
Tabel 4.16.	Hasil Uji parametrik One Way Anova	52
Tabel 4.17.	Hasil Uji Normalitas.....	53
Tabel 4.18.	Hasil Homogenitas	53
Tabel 4.19.	Parametrik One Way Anova.....	53
Tabel 4.20.	Hasil Analisis SPSS Uji Post Hoc	54
Tabel 4.21.	Hasil Skoring Gambaran Histopatologi Organ Hati.....	56
Tabel 4.22.	Hasil Skoring Gambaran Histopatologi Organ Ginjal.....	58

DAFTAR LAMPIRAN

Lampiran 1.	Surat Keterangan Hewan Uji Tikus Wistar.....	75
Lampiran 2.	<i>Ethical Clearance</i>	76
Lampiran 3.	Hasil Determinasi Tanaman Bawang Lanang.....	77
Lampiran 4.	Kadar Air Ekstrak Kental Umbi Bawang Lanang.....	78
Lampiran 5.	Hasil Persentase Rendemen EEUBL	79
Lampiran 6.	Perhitungan Pembuatan EEUBL.....	80
Lampiran 8.	Bobot Organ Hati & Ginjal Hewan Uji Tikus	82
Lampiran 9.	Analisis SPSS Bobot Organ Relatif Hati & Ginjal Tikus	84
Lampiran 10.	Gambaran Histopatologi Organ Hati	94
Lampiran 11.	Gambaran Histopatologi Organ ginjal	127
Lampiran 12.	Dokumentasi Penelitian	160



INTISARI

Bawang lanang telah terbukti memiliki aktifitas sebagai afrodisiak pada tikus jantan galur *wistar* dengan dosis 270 mg/200gBB. Kandungan senyawa aktif yang terdapat pada bawang lanang apabila dikonsumsi dalam jangka waktu lama dengan beberapa kali pengulangan belum terbukti aman, dapat dikhawatirkan memiliki pengaruh toksik. Perlu dilakukan penelitian ini untuk membuktikan efek ekstrak etanolik umbi bawang lanang (EEUBL) terhadap gambaran histopatologi organ hati dan ginjal tikus galur *wistar* pada uji toksisitas sub kronis.

Penelitian ini menggunakan desain *post test only control group design* dengan sampel 24 ekor tikus jantan dan 24 ekor tikus betina yang masing-masing dibagi dalam 4 kelompok. Kelompok kontrol Na-CMC1%, kelompok dosis 270mg/200gBB, kelompok dosis 280mg/200gBB, kelompok dosis 290mg/200gBB. Tikus diberikan perlakuan selama 28 hari pembedahan dilakukan pada hari ke-29 dan hari ke-43 setelah pemberian ekstrak dihentikan selama 14 hari khusus kelompok perlakuan dosis 290 mg/200gBB sebagai kelompok satelit. Data bobot organ relatif dianalisis menggunakan uji parametrik *One Way Anova* dan non parametrik *Kruskal Wallis*, pengamatan gambaran histopatologi organ hati dan ginjal dilakukan secara mikroskopik dan dilakukan penilaian dengan menggunakan sistem skoring pada 5 lapang pandang.

Hasil penelitian menunjukkan data bobot organ relatif hati tikus betina tidak terdapat perbedaan bermakna antar kelompok kontrol dan kelompok perlakuan ($p>0,05$), data bobot organ relatif hati tikus jantan terdapat perbedaan bermakna antar kelompok kontrol dan kelompok perlakuan ($p<0,05$), pada kelompok satelit didapatkan nilai rata-rata $3,06\pm 0,48$, masih dalam kisaran normal (2,3-3,10% dari bobot badan tikus), data bobot organ relatif ginjal tikus betina tidak terdapat perbedaan bermakna antar kelompok kontrol dan kelompok perlakuan ($p>0,05$), data bobot organ relatif hati tikus jantan terdapat perbedaan bermakna antar kelompok kontrol dan kelompok perlakuan ($p<0,05$) namun nilai rata-rata bobot organ ginjal tikus pada semua kelompok masih dalam kisaran normal (0,4-0,9% dari bobot badan tikus). Hasil pengamatan gambaran histopatologi organ hati dan ginjal tikus jantan dan betina *wistar* menunjukkan tidak terdapat perubahan patologis.

Kesimpulan dari penelitian ini yaitu Pemberian ekstrak etanolik umbi bawang lanang (*Allium sativum* var.solo garlic) secara subkronik (28hari) pada rentang dosis 270mg/200g BB, 280mg/200g BB, dan kelompok satelit 290mg/200g tidak mempengaruhi gambaran histopatologi organ hati dan ginjal hewan uji tikus jantan dan betina *wistar*.

Kata kunci : toksisitas subkronik, ekstrak etanolik umbi bawang lanang, histopatologi, hati, ginjal.

BAB I

PENDAHULUAN

1.1. Latar Belakang

Bawang lanang telah terbukti memiliki aktifitas sebagai afrodisiak pada tikus jantan galur *wistar* dengan dosis 270 mg/200gBB yang ditinjau dari *Mating Behaviour* menggunakan parameter ICC (*Introduction, Climbing, and Coitus*) (Nurferawati, Januarti, & Latifah, 2018). Aktifitas afrodisiak pada bawang lanang dibuktikan oleh peningkatan hormon testosteron, peningkatan tersebut dapat dibuktikan dari meningkatnya jumlah sel leydig setelah dilakukan pemberian ekstrak etanolik umbi bawang lanang terhadap tikus jantan galur *wistar*. Peningkatan jumlah sel leydig diduga karena adanya kandungan senyawa flavonoid dalam bawang lanang. Flavonoid mempengaruhi reseptor LH dan FSH dengan merangsang androgenesis testis dan spermatogenesis yang kemudian akan mengaktifkan pembentukan testosteron oleh sel leydig dan pembentukan sperma oleh sel Sertoli (Januarti, Latifah, & Fatmawati, 2021).

Khasiat obat tradisional dapat disebabkan karena terdapat senyawa kimia yang terkandung didalamnya, disisilain dapat pula menyebabkan adanya efek toksik. Kandungan senyawa aktif yang terdapat pada bawang lanang yaitu senyawa flavonoid, alkaloid, saponin, dan alisin, kandungan senyawa tersebut pada dosis tertentu apabila dikonsumsi dalam jangka waktu lama dengan beberapa kali pengulangan belum terbukti aman, dapat dikhawatirkan memiliki pengaruh toksik (Gines, Kamath, & Arroyo,

2011). Senyawa yang terkandung dalam bawang lanang yang berpotensi dapat menyebabkan ketoksikan dan menyebabkan kerusakan sel pada organ diantaranya yaitu alkaloid, saponin dan alisin (Yusuf *et al.* 2018; Afifa, Yulianti, and Dharmmika 2017).

Berdasarkan penelitian Bunchorntavakul & Reddy (2013) prevalensi kerusakan hati akibat obat herbal yang mengakibatkan hepatotoksisitas sebanyak 2-11% pasien dan 5-10% pasien mengalami kegagalan hati akut yang terjadi di Amerika Serikat dan Eropa (Bunchorntavakul & Reddy, 2013). Prevalensi laporan kasus penyakit gagal ginjal akut di cina sekitar 40% diakibatkan karena pemakaian obat tradisional cina yang tidak sesuai dengan standart atau tidak sesuai dengan dosis yang dapat di toleransi oleh organ ginjal (Yang, 2016).

Ekstrak etanolik umbi bawang lanang (EEUBL) sudah diuji toksisitas akut dan sub kronis. Ekstrak etanolik umbi bawang lanang (EEUBL) mempunyai LD_{50} semu (LD_0) > 50.000 mg/kgBB pada uji toksisitas akut (Murniati, Latifah, & Januarti, I, 2019). Pada uji toksisitas sub kronik, ekstrak etanolik umbi bawang lanang (EEUBL) tidak menunjukkan gejala ketoksikan subkronik dan tidak meningkatkan kadar SGOT & SGPT secara signifikan pada tikus betina galur *wistar* sedangkan pada tikus jantan kadar SGOT & SGPT meningkat secara signifikan (Azizah, Januarti, & Latifah, 2021).

Hati merupakan organ utama yang berperan dalam proses biotransformasi obat sedangkan ginjal merupakan organ yang berfungsi

sebagai tempat ekskresi senyawa asing seperti obat atau senyawa toksin yang masuk dalam tubuh sehingga efek toksik obat dapat terjadi pada organ tersebut (Sasta Handani *et al.*, 2018; Abrori, Nurfadhila, & Sakinah, 2019). Untuk mengidentifikasi adanya kerusakan dan efek toksik dalam organ perlu dilakukan pengamatan terhadap gambaran histopatologi organ hati dan organ ginjal secara mikroskopik, Berdasarkan latar belakang tersebut maka perlu dilakukan penelitian ini, untuk membuktikan efek ekstrak etanolik umbi bawang lanang (EEUBL) terhadap gambaran histopatologi organ hati dan ginjal tikus galur wistar pada uji toksisitas sub kronis.

1.2. Rumusan Masalah

Berdasarkan latar belakang dapat diambil rumusan masalah yaitu: Bagaimana pengaruh pemberian ekstrak etanolik umbi bawang lanang (EEUBL) terhadap gambaran histopatologi organ hati dan ginjal tikus galur wistar pada uji toksisitas subkronis?

1.3. Tujuan Penelitian

1.3.1. Tujuan umum

Tujuan umum dilakukan penelitian ini adalah untuk mengetahui pengaruh pemberian ekstrak etanolik umbi bawang lanang (EEUBL) terhadap gambaran histopatologi organ hati dan ginjal tikus galur wistar pada uji toksisitas sub kronis.

1.3.2. Tujuan Khusus

1.3.2.1. Mengetahui pengaruh dosis ekstrak etanolik umbi bawang lanang dalam jangka pemberian subkronik (28 hari), ditinjau dari histopatologi organ hati tikus wistar.

1.3.2.2. Mengetahui pengaruh dosis ekstrak etanolik umbi bawang lanang dalam jangka pemberian subkronik (28 hari), ditinjau dari histopatologi organ ginjal tikus wistar.

1.4. Manfaat Penelitian

1.4.1. Manfaat teoritis

Penelitian ini diharapkan mampu memberi hasil data sebagai bukti ilmiah terkini terhadap pengaruh pemberian dosis subkronik ekstrak etanolik umbi bawang lanang (EEUBL) pada tikus wistar ditinjau dari gambaran histopatologi organ hati dan ginjal sehingga hasil data penelitian ini dapat di gunakan sebagai sumber acuan terkait penelitian selanjutnya.

1.4.2. Manfaat praktis

Penelitian ini dapat di jadikan sebagai acuan keamanan ekstrak etanolik umbi bawang lanang (EEUBL) ditinjau dari gambaran histopatologi organ hati & gambaran histopatologi organ ginjal untuk dapat di kembangkan menjadi obat tradisional.

BAB II

TINJAUAN PUSTAKA

2.1. Bawang Lanang (*Allium sativum* L. var. solo.garlic)

2.1.1. Taksonomi Tanaman Bawang Lanang

Gambaran bawang lanang ditunjukkan melalui gambar 2.1 dibawah ini:



Gambar 2.1. Gambar Bawang Lanang

Determinasi dari tanaman bawang lanang secara taksonomi dapat diidentifikasi sebagaimana berikut:

Divisio :Magnoliophyta

Classis :Liliopsida

SubClassis :Liliidae

Ordo :Liliales

Familia :Liliaceae

Genus :Allium

Species :*Allium sativum* L.

Varietas :*Allium sativum* L. var. sativum.

Cultivar :*Allium sativum* L. ctv. Solo

Vern.name :Bawang putih tunggal, Bawang lanang/pearl garlic,
Solo garlic (Azizah, Januarti, and Latifah 2021).

2.1.2. Morfologi Tanaman Bawang Lanang

Bawang putih tunggal dapat tumbuh baik pada daerah dengan ketinggian kisaran 200m-250m diatas permukaan laut. Tanaman bawang putih tunggal merupakan tanaman dengan tinggi 25-70cm dan berhabitus tema. Akar pada taman ini berbentuk serabut dengan jumlah yang banyak pada pangkal batang dan memiliki panjang akar < 10 cm. Akar yang bersifat rudimenter tumbuh dari batang utama, panjang dan lebar dari helaian daun pada tanaman ini berkisar antara 30–60 cm untuk panjang dan lebar 1–2,5 cm, dengan bentuk daun pita. Setiap tanaman terdapat kurang lebih 7–10 helai daun. Batang semu merupakan pelepah daun yang membentuk satu kesatuan. Bunga berbentuk membulat yang memiliki diameter dengan kisaran antara 4–9 cm. Mahkota bunga dengan 6 tepala berupa tenda bunga dengan bentuk bulat lonjong. Panjang filamen sekitar 4-5mm pada setiap stamen dengan jumlah 6 stamen, bertumpu pada pangkal mahkota bunga. Ovarium superior memiliki 3 ruangan. Buah memiliki ukuran yang kecil dengan bentuk kapsul loculicidal (Amini, 2021) .

2.1.3. Kandungan Senyawa Kimia Bawang Lanang

Kandungan senyawa aktif dengan kadar tinggi dan paling dominan dalam bawang lanang antara lain Alliin (411,4 mg/mL), Allicin (268,2 mg/mL) dan ajoene dapat dibedakan menjadi E-ajoene (101,5 mg/mL) dan Z-ajoene (251,4 mg/mL) (Fitriana,

Rahayu Lestari, & Lukiati, 2018). Menurut hasil penelitian dari Amin (2015) menyatakan bahwa terdapat zat aktif flavonoid pada ekstrak etanolik bawang lanang, fraksi n-heksana, fraksi etil asetat. Pada fraksi etil asetat & fraksi air terdapat zat aktif steroid dan triterpenoid, senyawa saponin pada ekstrak etanolik bawang lanang, fraksi n-heksana, fraksi etil asetat, dan fraksi air. Senyawa alkaloid terdeteksi pada ekstrak etanol bawang lanang pada fraksi air dan senyawa tanin terdeteksi pada fraksi etil asetat (Amin, 2015).

Menurut hasil penelitian dari Januarti *et al.* (2019) menyatakan bahwa ekstrak etanolik umbi bawang lanang (EEUBL) yang berasal dari Tawangmangu mempunyai kadar total flavonoid lebih besar dibandingkan dengan ekstrak etanolik umbi bawang lanang (EEUBL) yang berasal dari Magetan, dimana ekstrak etanolik umbi bawang lanang (EEUBL) yang berasal dari Tawangmangu mempunyai kadar total flavonoid sebesar $14,4833 \pm 0,5911$ mg QE/gram, fenolik $92,222$ mg GAE/gram, dan aktivitas antioksidan dengan nilai IC_{50} $13,777$ ppm, sedangkan ekstrak etanolik umbi bawang lanang (EEUBL) yang berasal dari Magetan mempunyai kadar total flavonoid sebesar $12,1833 \pm 0,1943$ mg QE/gram, fenolik $70,244$ mg GAE/gram, dan aktivitas antioksidan dengan nilai IC_{50} $20,216$ ppm (Januarti, Taufiq, & Sulistyaningsih., 2019).

2.1.4. Aktifitas Farmakologi Bawang Lanang

Berdasarkan penelitian sebelumnya yang dilakukan oleh Nurferawati *et al.* (2018) menyatakan bahwa bawang lanang memiliki aktifitas sebagai afrodisiak yang dilakukan terhadap tikus jantan galur *wistar* pada dosis 270 mg/200gBB yang di tinjau dari *Mating Behaviour* menggunakan parameter ICC (*Introduction, Climbing, and Coitus*). Aktifitas afrodisiak pada bawang lanang dipengaruhi karena adanya senyawa aktif berupa flavonoid, alkaloid, saponin dan alisin (Nurferawati *et al.*, 2018), karena memiliki aktifitas sebagai afrodisiak bawang lanang juga dapat meningkatkan pembentukan hormon testosteron, hal tersebut dapat dilihat dari meningkatnya sel leydig setelah dilakukan pemberian pada ikus jantan galur *wistar* (Januarti *et al.*, 2021).

Flavonoid dalam bawang lanang dapat memiliki aktivitas sebagai afrodisiak, karena flavonoid mempengaruhi reseptor LH dan FSH dengan memicu pemebentukan androgen pada testis dan pemebentukan sperma yang kemudian akan mengaktifkan pembentukan testosteron oleh sel Leydig dan pembentukan sperma oleh sel Sertoli (Januarti *et al.*, 2021). Senyawa flavonoid yang dimiliki oleh bawang lanang juga dapat mengurangi resiko penyakit degeneratif, karena flavonoid juga dapat bekerja terhadap beberapa enzim pada produksi trigliserida atau kolesterol (Brouwer, 2018). Flavonoid memiliki aktifitas sebagai penangkal radikal bebas dengan

menurunkan aktifitas radikal bebas hidroksil yang menyebabkan radikal bebas menjadi tidak reaktif. (Isnindar, *et al.*, (2011) Flavonoid sebagai antioksidan memiliki mekanisme kerja pada tahap inisiasi awal dengan memecah rantai reaksi oksidasi lipid dan menyumbang hydrogen ke radikal bebas.

Bawang lanang memiliki aktifitas sebagai antijamur dan dapat menghambat pertumbuhan bakteri hal ini di sebabkan karena dalam bawang lanang memiliki senyawa allicin yang merupakan senyawa yang dominan dan memberikan aroma pada bawang lanang. Allicin berasal dari alliin bertemu dengan enzim alinase, kemudian alliin akan berubah menjadi allicin yang menyebabkan bawang putih mempunyai sifat antijamur dan dapat menghambat pertumbuhan bakteri (D. Andayani & Kurniawan, 2014). Sebagai antibakteri bawang putih merupakan salah satu imunostimulan alami, bekerja dengan cara meningkatkan kegiatan bakterisidanya dan memfasilitasi fungsi sel-sel fagositik (Erguig, Yahyaoui, Fekhaoui, & Dakki, 2015). Allicin memiliki aktifitas sebagai antioksidan dengan mekanisme mencegah stress oksidatif dan memodifikasi LDL. Aktivasi Nuclear Factor Kappa Beta (NFK β) di cegah oleh S-allyl cysteine (SAC), yang merupakan inisiasi pada proses inflamasi yang berperan sebagai transkripsi utama. Aktivitas sebagai antioksidan akan menahan agar stress oksidatif tidak meningkat dengan mencegah pembentukan radikal bebas, seperti radikal

hidroksil (OH), radikal peroksinitrit (ONOO^-) atau (LOO), anion superoksida (O_2^-), dan hidrogen peroksida (H_2O_2) (Chasanah, Gofur, & Lestari, 2019).

2.2. Metode Ekstraksi

2.2.1. Definisi Ekstrak

Ekstrak merupakan sediaan yang berbentuk kering, cair maupun kental yang terbuat dengan menyari simplisia nabati atau hewani dengan pelarut dan metode yang sesuai dan kemudian pelarut di uapkan sebagian atau seluruhnya dan di perlakukan sedemikian rupa sehingga sesuai dengan ketentuan yang berlaku (BPOM, 2014).

2.2.2. Ekstraksi

Ekstraksi adalah proses pemisahan suatu zat aktif dari padatan atau cairan menggunakan pelarut yang sesuai. Pada tahapan ekstraksi pemilihan pelarut sangat diperlukan, pelarut harus dapat mengekstrak atau memisahkan zat yang di inginkan tanpa melarutkan zat yang tidak dikehendaki (Prayudo, Novian, Setyadi, & Antaresti, 2015). Terdapat beberapa faktor yang dapat mempengaruhi hasil ekstrak dari proses ekstraksi diantaranya adalah jenis ekstraksi, persiapan sampel, waktu ekstraksi, jumlah sampel, suhu, dan jenis pelarut (Suhendra, Widarta, & Wiadnyani, 2019).

2.2.3. Maserasi

Maserasi merupakan metode ekstraksi yang dilakukan pada suhu kamar dengan mencampurkan serbuk simplisia dan pelarut yang yangdi gunakan dan di masukkan kedalam wadah inert yang tertutup rapat. Proses ekstraksi dapat di hentikan ketika tercapai kesetimbangan antara konsentrasi senyawa dalam pelarut dengan konsentrasi pada sel tanaman (Tetti, 2014). Pelarut yang digunakan diganti tiap 24 jam dengan menggunakan pelarut yang baru, dengan tujuan agar tidak terjadi penjenuhan pelarut, sehingga senyawa yang ter ekstrak saat ekstraksi lebih maksimal (Fadlilaturrahmah, Wathan, Firdaus, & Arishandi, 2020).

Kekurangan menggunakan metode maserasi diantaranya yaitu waktu yang di butuhkan cukup banyak, pelarut yang digunakan cukup banyak, dan terdapat kemungkinan menyebabkan hilangnya beberapa senyawa, dan tidak semua zat aktif dapat di ekstraksi pada suhu kamar (Tetti, 2014). Selain itu terdapat beberapa keuntungan dari metode maserasi di antaranya yaitu kemungkinan rusak atau terurainya bahan alam sangat kecil, karena metode ini tidak memerlukan pemanasan. Memungkinkan banyak senyawa yang terekstraksi karena pengerjaan metode maserasi dilakukan dalam waktu yang lama dalam keadaan diam (Susanty & Bachmid, 2016).

2.3. Uji Toksisitas

Uji toksisitas merupakan pengujian yang dilakukan untuk mengetahui dan menentukan dosis aman penggunaan suatu sediaan uji, mengetahui efek toksik yang ditimbulkan pada suatu zat dalam sistem biologi, yang kemudian diperoleh hasil data yang digunakan untuk mendapatkan data dosis respon yang khas dari sediaan uji. Data tersebut akan memberikan informasi tentang seberapa bahaya apabila manusia terpapar sediaan uji (BPOM, 2014).

2.3.1. Uji Toksisitas Subkronik

Uji toksisitas subkronis oral adalah suatu pengujian yang dilakukan pada hewan uji selama sebagian umur hewan, tetapi tidak lebih dari 10% seluruh umur hewan, untuk mendeteksi efek toksik yang akan timbul setelah sediaan uji diberikan dengan dosis secara berulang dengan pemberian secara oral (BPOM, 2014).

Tujuan dilakukan uji toksisitas subkronis oral yaitu untuk mendapatkan informasi mengenai kemungkinan terdapat efek toksik dari suatu zat yang tidak terdeteksi pada saat pengujian sebelumnya yaitu uji toksisitas akut, untuk mengetahui adanya efek toksik yang kemungkinan terjadi setelah pemberian sediaan uji secara dalam jangka waktu tertentu secara berulang, untuk mengetahui jumlah dosis aman yang tidak mengakibatkan efek toksik, dan memberikan informasi mengenai adanya efek kumulatif dan efek reversibilitas dalam zat yang terkandung dalam sediaan uji (BPOM, 2014).

Syarat dilakukan uji toksisitas subkronik ialah menggunakan hewan rodensia tikus putih dengan jenis *strain Wistar* ataupun *Sprague Dawley*, atau dapat juga menggunakan hewan uji mencit dengan jenis strain BALB/c, ddy, dan lain-lain. Hewan uji yang digunakan dalam penelitian harus sehat, dengan usia 6 sampai 8 minggu (BPOM, 2014).

Uji toksisitas subkronis oral dilakukan dengan berbagai tingkatan dosis, dilakukan setiap hari selama 28 atau 90 hari dengan di berikan sediaan uji pada beberapa kelompok hewan uji dengan memberikan satu dosis pada setiap kelompok. Untuk melihat adanya efek toksik yang timbul hewan uji harus diamati setiap hari selama pengujian (BPOM, 2014).

Hewan uji yang mati selama pengujian segera dibedah sebelum mengalami rigor mortis (kaku), untuk kemudian diambil jaringan dan organnya guna mengetahui penyebab kematian dan dilakukan pengamatan makropatologi dan histopatologi. Hewan uji yang masih hidup sampai akhir uji toksisitas subkronik kemudian diotopsi, untuk selanjutnya di amati secara makropatologi pada setiap jaringan dan organ, perlu juga di lakukan juga pengamatan hitopatologi dan pemetiksaan hematologi, biokimia klinis (BPOM, 2014). Untuk menilai toksisitas suatu zat pada organ dapat diidentifikasi melalui targetorgan dengan berbagai parameter, diantaranya yaitu dengan mengetahui gambaran histopatologi pada

organ tersebut, apakah terdapat kerusakan sel pada organ tersebut setelah dilakukan pemberian suatu zat pada hewan uji secara sub kronik (Farisi, Munawir, & Febianti, 2015).

2.3.2. Faktor-Faktor Yang Mempengaruhi Uji Toksisitas

Terdapat beberapa faktor yang dapat mempengaruhi hasil dari uji toksisitas *in vivo* diantaranya yaitu: hewan uji (penentuan spesies, galur dan jumlah hewan uji), cara pemberian sediaan uji, penentuan dosis sediaan uji, efek samping yang di timbulkan oleh sediaan uji, teknik dan prosedur yang dilakukan pada saat pengujian termasuk cara penanganan hewan selama pengujian. (BPOM, 2014).

Hasil uji toksisitas akan digunakan untuk mengetahui adanya efek biokimia, patologi dan fisiologi terhadap manusia pada suatu sediaan uji sebisa mungkin dalam pemilihan hewan uji harus mempertimbangkan cara sediaan uji akan di metabolisme, sensitivitas yang menyerupai manusia, kecepatan pertumbuhan hewan uji dan kemudahan cara penanganan pada saat dilakukan pengujian, pemberian sediaan uji kepada hewan uji harus disesuaikan dengan cara pemberian yang akan di terapkan pada manusia misalnya peroral (PO), topikal, injeksi intravena (IV), injeksi intraperitoneal (IP), injeksi subkutan (SK), injeksi intrakutan (IK), inhalasi dan harus dilakukan dengan benar, cara penanganan juga harus diperhatikan agar hewan uji tidak stress atau mati saat dilakukan pengujian, dalam penetapan dosis sediaan yang diberikan

kepada hewan uji harus mencakup dosis yang setara dengan dosis penggunaan yang lazim pada manusia, prosedur pengujian yang dilakukan harus sesuai dengan standar yang sudah ditetapkan agar hasil dapat memberikan petunjuk adanya toksisitas relatif dan membantu identifikasi efek toksik apabila terjadi pemaparan kepada manusia (BPOM, 2014)

2.4. Pengamatan Gambaran Histopatologi

Kerusakan pada suatu organ dapat di ketahui dengan melakukan pemeriksaan biokimia dan pengamatan histopatologi. Pengamatan gambaran histopatologi merupakan salahsatu *golden standard* metode yang digunakan untuk diagnosis, penilaian prognostik, dan panduan terapi berbagai penyakit yang menyerang pada suatu organ (Brachemi & Bolle, 2014). Untuk menganalisis setiap perubahan yang ditemukan dan untuk menginterpretasikan agar dapat mempermudah dalam menghitung dan menilai kerusakan yang terjadi pada organ di gunakan Sistem skoring untuk mendapatkan data kuantitatif yang kemudian di deskripsikan dan dibandingkan antar kelompok perlakuan dan kelompok placebo (Suhita, Sudira, & Winaya, 2013).

2.5. Hepar

2.5.1. Anatomi Hepar

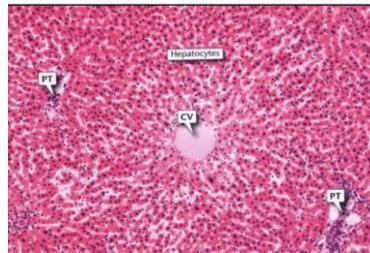
Hepar atau hati adalah kelenjar yang memiliki ukuran paling besar dalam tubuh dan mempunyai banyak fungsi yang salah satunya

Terdapat 4 lobus dalam hepar, lobus kanan yang memiliki ukuran terbesar dan nampak lebih jelas terlihat berjumlah dua lobus, sedangkan lobus kiri memiliki ukuran lebih yang kecil daripada lobus kanan dan berbentuk seperti baji (Waugh & Grant, 2011). Terdapat vena portae hepatis yang terletak diantara lobus tersebut, yang merupakan jalur keluar masuknya arteri, saraf dan ductus. Lobus dextra dibagi menjadi dua yaitu lobus caudatus dan lobus quadratus sebab terdapat fisura untuk ligamentum teres hepatis, vesical biliaris, vena cava inferior, dan juga terdapat fisura untuk ligamentum venosum. Porta hepatis di sebut juga hilus hepatis terletak di permukaan belakang bawah dan terletak antara lobus quadratus dan lobus caudatus (Snell, 2012).

2.5.2. Histologi Hepar

Sel-hepatosit atau hepatosit merupakan unsur utama struktur hepar. Hepatosit tersusun saling bertumpuk-tumpuk dan berkelompok menjadi lapisan-lapisan sel sehingga membentuk satu unit struktural yang disebut juga dengan lobulus hepar. Sel-hepatosit memiliki 1 atau 2 inti yang memiliki bentuk bulat dan memiliki 1 atau lebih nukleolus. Golongan Struktur pembentuk lobulus dikelompokkan menjadi 3 golongan yaitu lobulus klasik merupakan bangun yang memiliki bentuk heksagonal dan terdapat vena sentralis pada, saluran portal merupakan bangun yang memiliki bentuk segitiga Kiernan/ vena sentralis terletak pada sudut-sudutnya dan

saluran portal sebagai pusat, asinus hepar merupakan bangun paling kecil pada hepar (Junquiera & Carneiro, 2012).



Gambar 2.3. Lobulus Hepar. Keterangan : CV = vena sentralis, PT = saluran portal. Pewarnaan HE, Perbesaran 60x (Meutia, 2018)

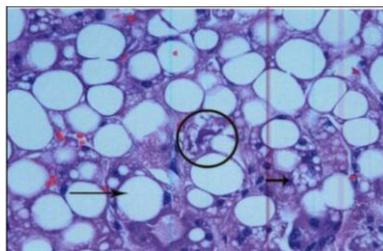
Terdapat beberapa retikulum endoplasma (RE) halus dan kasar dalam hepatosit. Retikulum endoplasma (RE) kasar berfungsi sebagai pembentukan protein plasma kemudian akan memberikan efek pada basofilia sitoplasma, Retikulum endoplasma (RE) kasar serta sering terlihat lebih jelas dihepatosit dekat dengan area portal, sedangkan RE halus tersebar diseluruh sitoplasma. RE halus berfungsi dalam proses oksidasi, metilasi, dan konjugasi yang di perlukan dalam menginaktifkan atau mendetoksifikasi bermacam-macam zat sebelum diekskresi. Retikulum endoplasma (RE) halus akan segera bereaksi terhadap molekul yang diterima oleh hepatosit (Junquiera & Carneiro, 2012)

2.5.3. Histopatologi Hepar

Gejala awal kerusakan sel hepatosit adalah degenerasi hidropik. Degenerasi hidropik disebabkan oleh sel yang tidak dapat menjaga cairan dan homeostasis ion, yang menyebabkan pompa ion

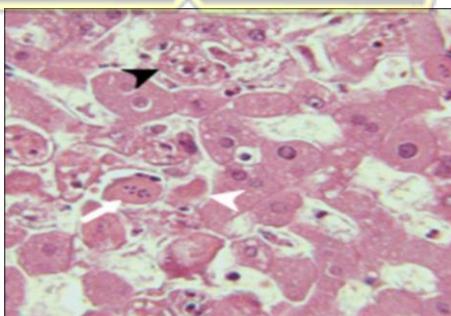
dependen- energi di membran plasma tidak dapat berfungsi. Kerusakan yang merata pada hepar, perubahan morfologi ini akan lebih mudah untuk diamati karena meningkatnya turgor, kepuccatan dan meningkatnya berat hepar. Terdapat vakuola-vakuola kecil dan transparan di sitoplasma Pada pemeriksaan mikroskopik. Terbentuk vakuola di karenakan terdapat segmen retikulum endoplasma (RE) yang trcabik dan terlepas (Kumar, Abbas, & Fausto, 2009)

Steatosis hepatosit berlangsung pada berbagai bentuk gejala toksik atau metabolik dan gejala hipoksik. Steatosis terjadi karena disebabkan adanya peningkatan lemak yang samapai pada hepar melalui arteri atau limfatik, menurunnya oksidasi lemak didalam hepar atau peningkatan sintesis, dan penurunan transportasi very low density ipoprotein(VLDL) dari hepar. Steatosis dapat berupa steatosis makrovesikuler dan mikrovesikuler. steatosis makrovesikuler terjadi apabila nyaris semua hepatosit berisi terisi butiran lemak dengan urukuran besar dan vakuola bergabung membentuk vakuola besar, sedangkan steatosis mikrovesikuler terjadi apabila terbentuk vakuola kecil namun tidak mendesak inti (Meutia, 2018)



Gambar 2.4. Steatosis Hepatosit. Keterangan: 1 = steatosis makrovesikuler, 2 = steatosis mikrovesikuler, lingkaran = mallory hyalin. Pewarnaan HE, perbesaran 200x (Meutia, 2018).

Nekrosis merupakan perubahan morfologi yang ditandai dengan adanya destruksi nukleus yang diakibatkan degradasi progresif oleh enzim-enzim pada sel yang mengalami jejas letal. Degenerasi hidropik dan steatosis bersifat reversibel, akan menjadi normal kembali apabila perangsang yang mengakibatkan jejas mereda dan dapat dikompensasi oleh hepatosit, tetapi apabila kerusakan yang dialami cukup berat dan terjadi dalam jangka waktu lama akan menjadikan sel tidak bisa lagi mentoleransi dan melakukan metabolisme, mengakibatkan ireversibel berubah yang berupa nekrosis (Kumar *et al.*, 2009).



Gambar 2.5. Nekrosis Hepatosit. Keterangan: kepala panah putih = kariolisis; panah putih = karioreksis; kepala panah hitam = piknosis. Pewarnaan HE, perbesaran 400x (Meutia, 2018).

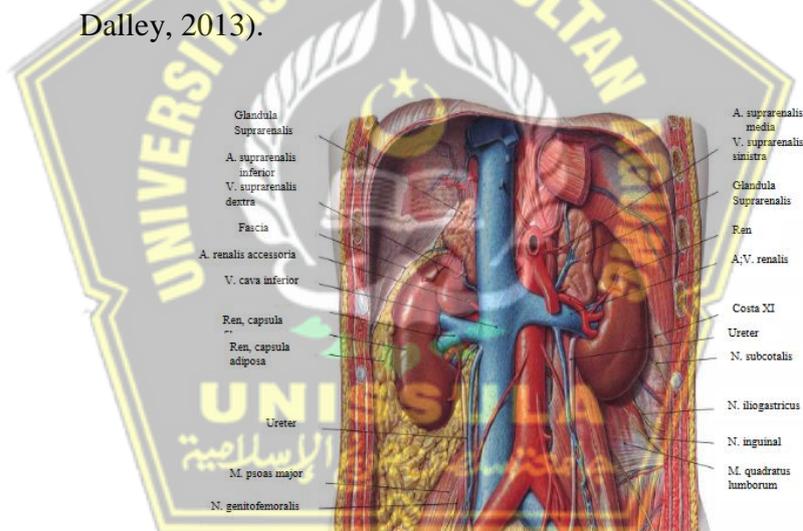
Penguraian DNA nonspesifik yang menyebabkan perubahan nukleus dapat tampak dalam satu dari tiga pola yaitu kariolisis, karioreksis, piknosis. Kariolisis adalah kerusakan yang diakibatkan oleh kegiatan DNase yang mengakibatkan basofilia kromatin pudar. Karioreksis adalah terjadinya fragmentasi di nukleus yang piknotik, Piknosis ditandai oleh adanya peningkatan basofilia dan penciutan sel, yang disebabkan karena pepadatan DNA membentuk massa basofilik yang solid (Kumar *et al.*, 2009)

2.6. Ginjal

2.6.1. Anatomi Ginjal

Ginjal terbagi menjadi dua bagian yaitu korteks dan medulla. Terdapat banyak nefron di dalam ginjal. Terdapat banyak duktuli ginjal pada medulla. Nefron merupakan unit terkecil pada ginjal yang tersusun atas tubulus kontortus proksimalis, tubulus kontortus distalis, korpuskulus renal, segmen tebal, dan tipis ansa Henle, serta tubulus kolagens. Di dalam glomeruli hasil sisa metabolisme yang terkandung dalam darah akan difiltrasi, kemudian zat yang masih digunakan tubuh akan diserap kembali dalam tubuli ginjal sedangkan zat sisa hasil metabolisme yang tidak diperlukan lagi oleh tubuh akan dikeluarkan bersama air membentuk urine. Urin yang terbentuk akan disalurkan melewati piramida ke dalam sistem pelvikalis ginjal selanjutnya akan disalurkan menuju ke dalam ureter (Hidayat *et al.*, 2017).

Ginjal mempunyai ukuran dengan panjang kurang lebih 10 cm, dengan lebar sekitar 5 cm, dan tebal sekitar 2,5cm. Pada sisi atas ginjal berbatasan diafragma, pada sisi batas bawah ginjal berbatasan musculus quadratus lumborum. Vena subcostalis, arteria subcostalis, nervus subcostalis, nervus iliohypogastricus menyimpang pada fascies belakang ginjal dengan diagonal dan melintas ke bagian bawah. Duodenum, colon ascendens dan hepar terdapat ventral pada ginjal kanan, sedangkan ginjal kiri berbatasan pankreas, lambung, spleen, jejunum dan colon descedens pada bagian perut (Moore & Dalley, 2013).



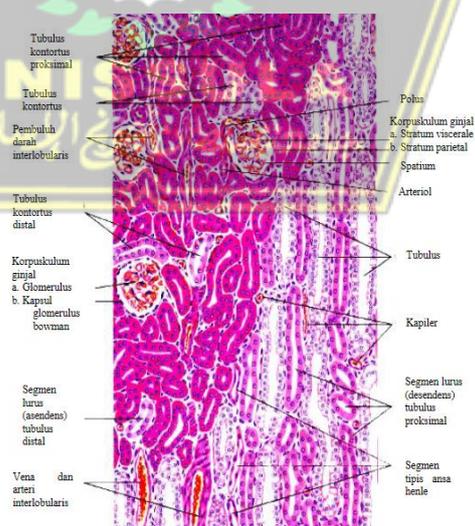
Gambar 2.6. Anatomi Ginjal
(Paulsen & Waschke, 2012)

Pada tepi bagian tengah kedua ginjal yang berbentuk cekungan, terdapat hilum renale merupakan celah vertikal tempat masuk vena renalis, arteri renalis, dan tempat keluarnya pelvis renalis. Hilum renale sinistrum terdapat pada permukaan transpilorik, yang berjarak 5cm dari permukaan bagian tengah,

setara dengan tinggi vertebra L1. hilum renale memberi celah ke dalam sinus renalis dengan berisi pelvis renalis, pembuluh, calices renales, saraf, jaringan lemak yang jumlahnya berbeda (Moore & Dalley, 2013).

2.6.2. Histologi Ginjal

Tubulus uriniferus adalah Unit fungsional ginjal terdiri atas duktus koligentes dan juga nefron. Berdasarkan letaknya nefron dibagi menjadi tiga jenis korpuskulum renal diantaranya: nefron kortikal, dan jukstamedularis. Kaki tipis dengan bentuk panjang dari ansa henle berfungsi dalam menentukan konsentrasi dalam medula renal dalam membentuk urine yang hipertonis. Korpuskulum renal tersusun atas podosit pada glomerulus Bowman. Dan Kapsula Bowman tersusun atas epitel gepeng dan sel mesangial.



Gambar 2.7. Korteks Ginjal dan Medula Bagian Atas (Gartner & Hiatt, 2012)

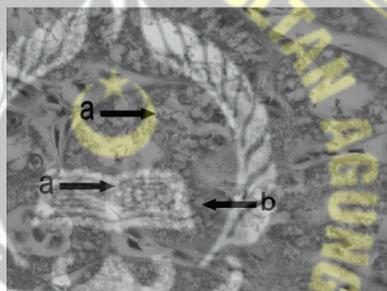
Sel tubulus kontortus proksimal pada permukaan lumennya memiliki banyak mikrovili. Membran plasma pada posisi lateral dan posisi basal memiliki bentuk yang berkelok. Lipatan-lipatan plasamalema basal memberikan kesan berkas bergaris jika dilihat karena memiliki banyak mitokondria. Secara histologi pada tubulus proksimal pars rekta atau yang biasa di kenal sebagai segmen yang tebal desendens ansa henle mempunyai persamaan dengan bagian yang berkelok, tetapi terdapat perbedaan yaitu pada brush border pada yang mempunyai bentuk lebih pendek di ujung distal, saluran tersebut akan terhubung langsung pada segmen berukuran tipis desendens ansa henle (Eroschenko, 2010).

Terdapat duktus koligens dalam tubulus uriniferus. Duktus koligens terhubung pada tubulus kontortus distal yang tersusun dari epitel kubis selapis. Sel-sel kubis tubulus koligens dibagi dalam 2 jenis, yaitu sel prinsipal dan sel interkalaris, sel prinsipal adalah sel yang tampak pucat, sedangkan sel interkalaris adalah sel-sel yang terlihat gelap dikenal. Duktus koligens yang menurun dari medula pada korteks melalui piramida menjadisatu menyusun duktus bellini, yang ujung di area kribosa (Gartner & Hiatt, 2012).

2.6.3. Histopatologi ginjal

Degenerasi merupakan indikator awal dari nekrosis yaitu suatu kerusakan nonspesifik yang dapat timbul dari berbagai etiologi yang mengganggu fungsi sel. Degenerasi dapat bersifat reversibel atau

irreversibel, dalam beberapa kasus degenerasi biasanya didahului dengan vakuolisasi. Secara umum degenerasi ditandai oleh sejumlah gambaran morfologi dan variabel sel, seperti pembengkakan sel disertai atau tidak di sertai dengan vakuolisasi sitoplasma, sitoplasma yang terfragmentasi, dan pewarnaan menjadi lebih pucat. Degenerasi dibedakan berdasarkan dari apoptosis yang merupakan proses normal pergantian sel di ginjal. Nekrosis umumnya termasuk pembengkakan sel, *nuclear pyknosis* disertai atau tidak di sertai dengan karioreksis, dan peluruhan sel (Frazier *et al.*, 2012).



Gambar 2.8. Degenerasi & Nekrosis sel tubulus ginjal. a= Degenerasi, b= Nekrosis pewarna HE, perbesaran 1000x.
(Fahrimal, R, & Aliza, 2016)

2.7. Hubungan Pemberian Toksisitas Subkronik Ekstrak Etanolik Umbi Bawang Lanang Terhadap Gambaran Histopatologi Hati Dan Ginjal.

Berdasarkan penelitian yang di lakukan oleh Lifah *et al* (2018) mengemukakan bahwa terdapat kandungan senyawa metabolit sekunder alkaloid, saponin, flavonoid dan terdapat juga kandungan alicin dalam dalam ekstrak etanolik umbi bawang lanang, yang merupakan zat organosulfur paling banyak di temukan pada bawang putih (Lifah, N, Januarti, I, & Latifah, 2018).

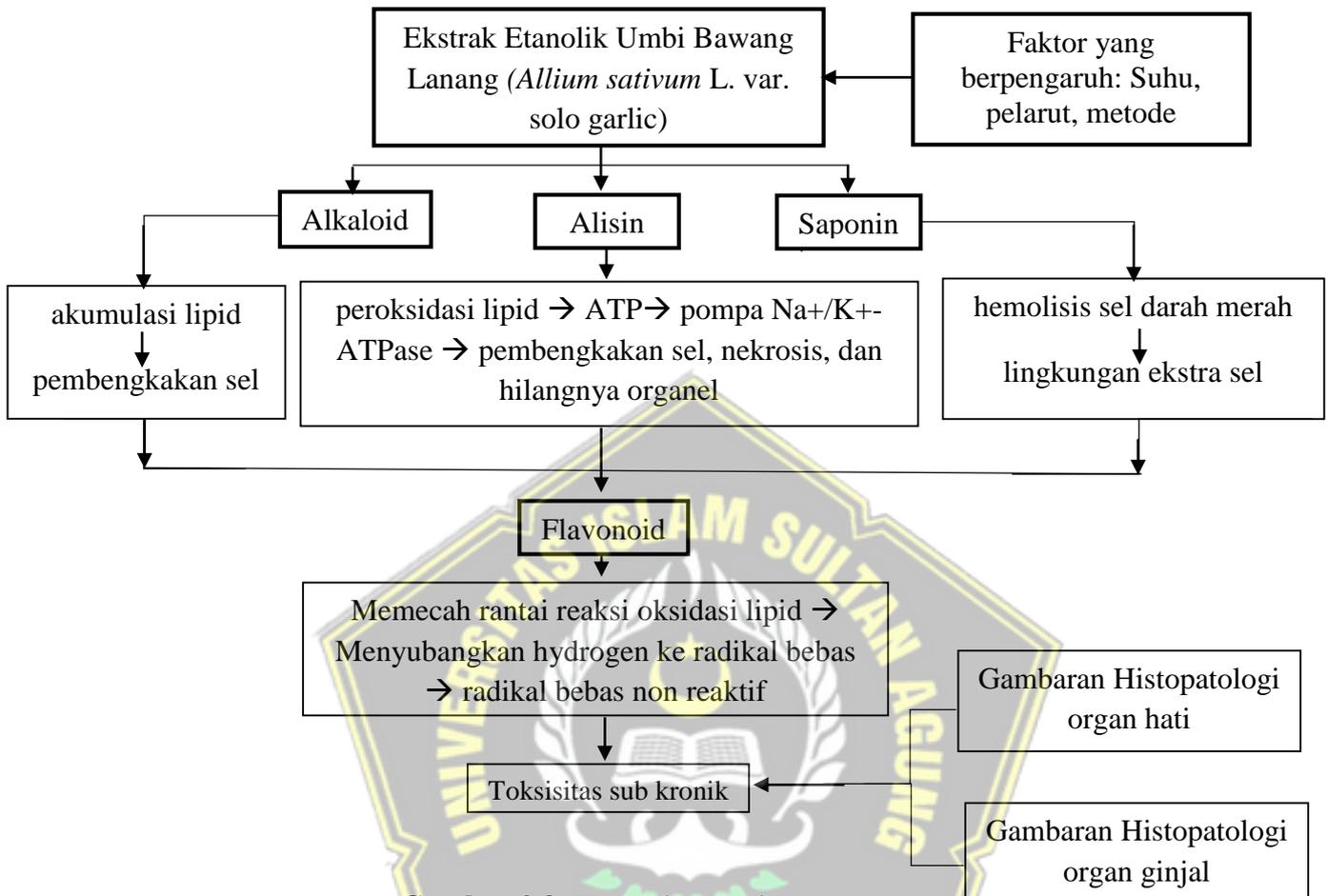
Menurut penelitian yang dilakukan oleh Yusuf *et al* (2018) mengemukakan bahwa terdapat beberapa zat yang berpotensi dapat menyebabkan ketoksikan dan menyebabkan kerusakan sel, diantaranya Alkaloid dan saponin. Senyawa saponin dapat menyebabkan hemolisis sel darah merah menyebabkan terganggunya lingkungan ekstra sel. Senyawa alkaloid dapat menyebabkan ketoksikan di karenakan alkaloid memerlukan waktu yang lama supaya dapat di ekskresikan dan di metabolisme, menyebabkan alkaloid akan lebih lama kontak dengan sel hati dan mengakibatkan kerusakan hati (Yusuf *et al.*, 2018). Pemberian alkaloid dengan konsentrasi tinggi dalam jangka waktu lama dapat menyebabkan akumulasi lipid dan mengakibatkan terjadi pembesaran terhadap sel (Wahyuningtyas, Sitasiwi, & Mardiaty, 2018). Suatu zat sisa metabolisme akan di sekresi secara aktif melalui darah ke dalam urine, senyawa tersebut akan di akumulasikan ke tubulus proksimal atau akan di reabsorpsi dari urin melalui sel-ael epitel tubulus dengan konsentrasi tinggi, akibat proses tersebut maka zat yang bersifat toksik akan terakumulasi dalam ginjal dan mengakibatkan kerusakan di ginjal, terutama pada tubulus ginjal dikarenakan ginjal merupakan tempat proses reabsorpsi dan ekskresi dari zat toksik (Dewi, Suarni, & Suaniti, 2013).

Allicin yang terkandung dalam ekstrak etanolik umbi bawang lanang pada dosis tinggi dapat menyebabkan peroksidasi lipid di membran sel dalam tubuh. Peroksidasi lipid dapat terjadi pada membran plasma dan membran mitokondria akan menyebabkan terjadi kekurangan ATP.

Kekurangan ATP akan mengakibatkan terganggunya aktivitas pompa $\text{Na}^+/\text{K}^+-\text{ATPase}$ sehingga terjadi peningkatan kadar natrium dalam sel yang akan mengakibatkan pembengkakan sel, nekrosis, dan hilangnya organel (Afifa *et al.*, 2017).

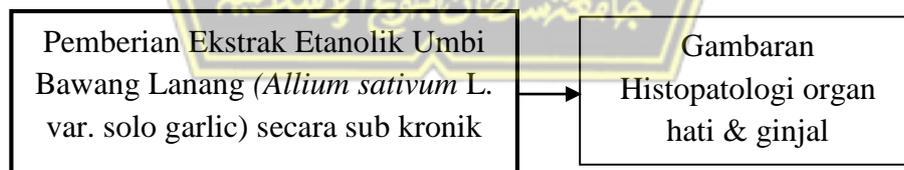
Kerusakan pada sel-sel hepatosit dan tubulus ginjal di sebabkan karena masuknya toksikan ke dalam organ hati & ginjal, hal itu disebabkan karena adanya partisipasi metabolit terhadap bahan toksik yang kemudian akan di respon oleh tubuh dengan mendatangkan respon imun, bahkan apabila toksikan yang masuk kedalam organ bersifat sangat toksik dapat berpengaruh langsung terhadap biokimia sel. Kerusakan yang dapat terjadi pada sel-sel hepatosit dan tubulus ginjal diantaranya dapat mengalami degenerasi dan atrofi sehingga lumen melebar. Kerusakan lebih lanjut dapat mengakibatkan kematian pada sel. Matinya sel diakibatkan karena sel sebelumnya telah mengalami degenerasi. Degenerasi sel merupakan kemunduran sel yang mengakibatkan berubahnya bentuk maupun fungsi. Terjadinya nekrosis dapat terdeteksi karena terdapat perubahan pada sitoplasma dan inti sel. Ketika membran plasma suatu sel mengalami kerusakan maka enzim-enzime dan sitosol akan dilepas dalam darah, ini dapat dijadikan sebagai penanda kerusakan sel pada suatu organ.

2.8. Kerangka Teori



Gambar 2.9. Kerangka Teori

2.9. Kerangka Konsep



Gambar 2.10. Kerangka Konsep

2.10. Hipotesis

Pemberian ekstrak etanolik umbi bawang lanang (EEUBL) secara subkronik dapat mempengaruhi gambaran histopatologi organ hati dan ginjal hewan uji tikus jantan dan betina galur *Wistar*.

BAB III

METODE PENELITIAN

3.1. Jenis Penelitian dan Rancangan Penelitian

Penelitian yang dilakukan ini merupakan jenis penelitian eksperimental dengan rancangan “*post test only control group design*”.

3.2. Variabel dan Definisi Operasional

3.2.1. Variabel Penelitian

3.2.1.1. Variabel bebas

Ekstrak Etanolik Umbi Bawang Lanang (*Allium sativum* L. var. solo garlic).

3.2.1.2. Variabel terikat

Gambaran histopatologi organ hati dan ginjal tikus galur *wistar*.

3.2.1.3. Variabel terkontrol

Jenis (galur) tikus, usia, berat badan hewan coba, dan lama perlakuan.

3.2.2. Definisi Operasional

3.2.2.1. Ekstrak etanolik bawang lanang yang diberikan secara subkronik

Ekstrak etanolik bawang lanang dibuat dengan metode maserasi dan dilakukan pemberian secara subkronik

selama 28 hari perlakuan dengan pemberian konsentrasi atau dosis ekstrak yang di gunakan yaitu 270 mg/200gBB, 280 mg/200gBB dan 290 mg/200gBB.

Skala: Nominal

3.2.2.2. Bobot organ relatif

Pembedahan dilakukan pada hari ke-29 setelah hewan uji tikus di beri perlakuan selama 28 hari dan hari ke-43 setelah pemberian ekstrak diberhentikan selama 14 hari khusus kelompok perlakuan dosis 290 mg/200gBB jantan dan betina, organ hati dan ginjal tikus dicuci menggunakan larutan natrium klorida dan dikeringkan terlebih dahulu sebelum ditimbang. Berat organ relatif di hitung berdasarkan bobot organ (g) dibagi berat badan (g)x100.

Skala : Rasio

3.2.2.3. Gambaran Histopatologi organ hati

Pengamatan preparat dilakukan menggunakan mikroskop cahaya pada perbesaran 10x40. Penentuan kerusakan organ hati di tentukan menggunakan penilaian gambaran histopatologi organ hati pada 5 lapang pandang, menggunakan sistem skoring sebagai berikut :

0 : bila sel tampak normal

1 : bila ditemukan degenerasi atau nekrosis terf okus di satu tempat

2 : bila ditemukan degenerasi atau nekrosis di beberapa tempat

3 : bila ditemukan degenerasi atau nekrosis di seluruh tempat

Skala: Ordinal.

3.2.2.4. Gambaran Histopatologi organ ginjal

Pengamatan preparat di lakukan menggunakan mikroskop cahaya pada perbesaran 10x40. Penentuan kerusakan organ ginjal di tentukan menggunakan penilaian gambaran histopatologi organ ginjal pada 5 lapang pandang, menggunakan sistem skoring sebagai berikut :

0 : bila sel tampak normal

1 : bila ditemukan degenerasi atau nekrosis terf okus di satu tempat

2 : bila ditemukan degenerasi atau nekrosis di beberapa tempat

3 : bila ditemukan degenerasi atau nekrosis di seluruh tempat

Skala: Ordinal.

3.3. Populasi dan Sampel

3.3.1. Populsi

Populasi dalam penelitian ini adalah tikus jantan dan betina galur *wistar* usia 6-8 minggu dengan berat badan minimal 120 gram

3.3.2. Sampel

Sampel dalam penelitian ini menggunakan tikus jantan dan betina galur *wistar* dengan usia 6-8 minggu yang memiliki berat badan minimal 120 gram, dibagi dalam 4 kelompok perlakuan, masing-masing kelompok perlakuan terdiri dari 5 tikus jantan dan 5 tikus betina.

3.4. Kriteria inklusi dan eksklusi

Kriteria inklusi : tikus jantan dan betina galur *Wistar*, umur 6-8 minggu, berat minimal 120 gram, kondisi hewan uji sehat dan tidak mengalami kecacatan

Kriteria eksklusi : hewan uji sakit, tidak normal, mati ketika penelitian sedang berlangsung.

3.5. Instrumen dan Bahan Penelitian

3.5.1. Instrumen penelitian

Pada penelitian ini alat yang digunakan meliputi seperangkat alat gelas laboratorium (batang pengaduk, botol kaca, beakerglas 50 ml (Pyrex), beakerglas 100 ml (Pyrex), corong, pipet), *rotary evaporator* (Heidolph WB 2000), blender, neraca analitik (Shimadzu 0,01%), spatula besi, *moisturizer balance test* (Shimadzu 0,01%), aluminium foil, kandang tikus, tempat air minum, timbangan hewan uji, sonde tikus, spuit injeksi oral 1 ml, alat-alat bedah (gunting

bedah, pisau bedah, swab kapas steril, pinset steril, papan, jarum), pot plastik tempat organ, mikroskop cahaya.

3.5.2. Bahan penelitian

Pada penelitian ini bahan-bahan yang digunakan meliputi umbi bawang lanang (*Allium sativum* L. Var. solo garlic), etanol 95% (CV. Pancaran sinar persada), aquadest (PT. Medikalab Indojoya), tikus berat badan minimal 120 gr, pakan hewan, CMC-Na 1 % (CV. pancaran sinar persada), formalin 10% (PT. Medikalab Indojoya), dan hematoxilin eosin.

3.6. Cara Penelitian

3.6.1. Determinasi tanaman

Determinasi tanaman umbi bawang lanang dilakukan di Laboratorium Biologi FMIPA UNNES dengan menggunakan tanaman yang masih utuh, segar dan baik.

3.6.2. Pembuatan Ekstrak Etanolik Umbi Bawang Lanang

Sebanyak 4 kg umbi bawang lanang dikupas kemudian dicuci dan tiriskan. Umbi bawang lanang di haluskan dengan blender dengan ditambahkan sebagian dari etanol, kemudian dimasukkan dalam wadah maserasi dan di ekstraksi dengan pelarut etanol 95% dengan perbandingan 1:10, selama 3 x 24 jam sambil di aduk dan selanjutnya di saring, filtrat yang didapat di kumpulkan dan di uapkan dengan *rotary evaporator* dan *waterbath* hingga didapat

ekstrak kental. Hasil ekstrak kental di hitung nilai rendemennya dengan menggunakan persamaan : $\% \text{Rendeme} =$

$$\frac{\text{Berat ekstrak yang diperoleh}}{\text{Berat bahan yang diekstrak}} \times 100\% \text{ (Azizah et al., 2021).}$$

3.6.3. Pengujian Ekstrak Etanolik Umbi Bawang Lanang

3.6.3.1. Uji organoleptik

Penetapan organoleptik dilakukan sebagai pengenalan awal dengan menggunakan panca indra dan mendeskripsikan bentuk, warna, bau, dan rasa. dengan mengamati langsung bentuk secara fisik.

3.6.3.2. Uji kadar air

Penetapan kadar ekstrak dilakukan menyalakan tombol *on/off* pada alat *moisture balance*. pinggan disimpan di bagian tengah dan kemudian diset program. Ekstrak ditimbang sebanyak 1g, disimpan dalam punch, dan Persen kadar air akan tertera secara otomatis.

Tujuan penetapan kadar air adalah mengetahui besarnya kandungan air, terkait dengan kemurnian dan kontaminasi yang mungkin terjadi. persyaratan nilai batas untuk kadar air secara umum yaitu tidak boleh melebihi batas 10% karena kadar air ekstrak yang lebih dari 10% dapat meningkatkan risiko tumbuhnya jamur pada ekstrak.

3.6.4. Penyiapan Hewan uji

Penyiapan hewan uji dilakukan sebelum pengujian toksisitas subkronis dengan melakukan aklimatisasi pada tikus selama 1 minggu, aklimatisasi pada hewan uji tikus dilakukan bertujuan agar tikus dapat beradaptasi dengan lingkungan barunya. tikus diberi makan dan minum secukupnya (*ad libitum*) setiap hari, dan kandang tikus dibersihkan dua kali seminggu secara rutin (BPOM, 2014).

3.6.5. Pembuatan Larutan Pengujian

3.6.5.1. Larutan Na-CMC 1%

Na-CMC 1% di timbang sebanyak 1 gram, di larutkan dalam 100 ml air panas di aduk dengan pengaduk hingga homogen.

3.6.5.2. Larutan EEUBL Dosis 270 mg/200 gBB

Ekstrak ditimbang sebanyak 10,8 g dan di larutkan dalam 100ml larutan Na-CMC1%.

3.6.5.3. Larutan EEUBL Dosis 280 mg/200 gBB

Ekstrak ditimbang sebanyak 11,2 g dan dilarutkan dalam 100 ml larutan Na-CMC 1%.

3.6.5.4. Larutan EEUBL Dosis 290 mg/200 gBB

Ekstrak ditimbang sebanyak 11,6g dan dilarutkan dalam 100ml larutan Na-CMC1%.

3.6.6. Pemberian Ekstrak Etanol Umbi Bawang Lanang

Ekstrak umbi bawang lanang diberikan secara per oral pada tikus putih dengan tiga varian dosis yaitu dosis rendah (270mg/200gBB), dosis sedang (280mg/200gBB), dan dosis tinggi (290mg/200gBB). sebelum perlakuan Masing-masing hewan uji di timbang berat badannya untuk menghitung volume Pemberian ekstrak umbi bawang lanang (Azizah *et al.*, 2021).

3.6.7. Perlakuan hewan uji

Hewan uji yang di gunakan merupakan tikus jantan dan betina galur *wistar* dengan usia 6-8 minggu yang memiliki berat badan minimal 120 gram, dibagi dalam 4 kelompok perlakuan, masing-masing kelompok perlakuan terdiri dari 5 tikus jantan dan 5 tikus betina. Untuk mencegah adanya drop out, maka jumlah sampel diberikan kelebihan sebanyak 20% sehingga tiap kelompok menggunakan 6 tikus jantan dan 6 tikus betina. Sebelum di lakukan perlakuan Tikus dipuasakan (tidak diberikan pakan) selama 3-4 jam terlebih dahulu dengan tetap diberikan minum (*ad libitum*). Tikus dipuasakan dengan tujuan agar nantinya ketika hewan uji tikus diberikan sampel diharapkan sampel tidak terganggu oleh adanya makanan yang ada disaluran pencernaan dan sampel dapat langsung kontak dengan sistem pencernaan. pembagian kelompok perlakuan hewan uji jantan dan betina sebagai berikut :

- a. Kelompok kontrol NaCMC1% tikus betina sebagai kontrol negatif (selama 28hari).
- b. Kelompok kontrol NaCMC1% tikus jantan sebagai kontrol negatif (selama 28 hari).
- c. Kelompok EEUBL dengan dosis 270mg/200gBB Tikus betina (selama 28 hari).
- d. Kelompok EEUBL dengan dosis 270mg/200gBB Tikus jantan (selama 28 hari).
- e. Kelompok EEUBL dengan dosis 280mg/200gBB tikus betian (selama 28 hari).
- f. Kelompok EEUBL dengan dosis 280mg/200gBB tikus jantan (selama 28 hari).
- g. Kelompok EEUBL dengan dosis 290mg/200gBB tikus betina (selama 28 hari), di lanjutkan dengan 14 hari tanpa pemberian ekstrak.
- h. Kelompok EEUBL dengan dosis 290mg/200gBB tikus jantan (selama 28 hari), dil anjutkan dengan 14 hari tanpa pemberian ekstrak.

3.6.8. Pembedahan hewan uji

Pembedahan dilakukan pada hari ke-29 setelah hewan uji tikus di beri perlakuan selama 28 hari dan hari ke-43 setelah pemberian ekstrak diberhentikan selama 14 hari khusus kelompok perlakuan dosis 290 mg/200gBB jantan dan betina, sebelum dilakukan

pembedahan pada hewan uji tikus terlebih dahulu dimatikan dengan kloroform yang di letakkan pada sebuah wadah tertutup bersama beberapa ekor tikus sehingga tikus tersebut bisa menghirup baunya (Putri, 2018). Setelah telah tikus tidak bergerak selanjutnya dilakukan pembedahan pada bagian ventral tubuh tikus secara ventrikel.

3.6.9. Penentuan bobot organ relatif

Organ hati dan ginjal tikus dicuci menggunakan larutan natrium klorida dan dikeringkan terlebih dahulu sebelum ditimbang. Berat organ relatif di hitung berdasarkan bobot organ (g) dibagi berat badan (g)x100 (Wahyuningtyas *et al.*, 2018). Organ hati dan ginjal difiksasi dalam larutan formalin 10% dan dimasukkan kedalam pot plastik tempat organ. untuk mendapatkan hasil fiksasi yang sempurna Perbandingan volume spesimen dengan larutan formalin yang digunakan adalah 1: 10. Organ hati dan ginjal yang sudah di fiksasi dengan menggunakan formalin 10% selanjutnya dikirimkan ke laboratorium patologi anatomi FKH UGM untuk kemudian dilakukan pembuatan preparat dan pemeriksaan histopatologi dan hasilnya akan dianalisis secara deskriptif.

3.6.10. Pembuatan Preparat Histopatologi organ hati dan ginjal

Pembuatan preparat histopatologi organ hati dan ginjal dilakukan dengan menggunakan metode parafin. Sampel organ hati

dan ginjal yang telah di fiksasi kemudian dilakukan proses pencucian dengan menggunakan larutan alkohol 70%, selanjutnya dilakukan poses dehidrasi dan juga penjernihan dengan memasuk kan potongan jaringan ke dalam alkohol bertingkat dan toluol. Proses infiltrasi parafin di lakukan dengan memasukkan potongan jaringan kedalam campuran toluol parafin dengan perbandingan 2:1,1:1, selama 30 menit,kemudian parafin murni 1 selama 30 menit,parafin murni 2, dan parafin murni 3 selama 60menit, selanjutnya di lakukan penanaman terhadap jaringan(embedding). Proses berikutnya yaitu pemotongan organ dengan menggunakan mikrotom, dengan ketebalan irisan 8 mikron, proses selanjutnya yaitu menempelkan irisan pada gelas objek yang sebelumnya sudah diolesi dengan albumin mayers, selanjutnya pada bagian permukaan di tetesi dengan sedikit aquades, agar dapat menempel dengan sempurna gelas objek dipanaskan di atas hot plate, selanjutnya masuk pada prosespewarnaan hematoxylin eosin dengan cara preparat di tetesi dengan hematoxilin selama tiga menit atau sampai di dapatkan hasil warna yang paling baik. Selanjutnya dicuci dengan menggunakan air mengalir selama 10 menit dan di bilas dengan aquadest selama 5 menit. Gelas ojek kemudian di celupkan kedalam larutan xylol sampai dengan paraffin larut (15 menit) dan di keringkan. Masukkan kedalam larutan alkohol bertingkat dimulai dari konsentrasi 96%, 90%, 80%, dan 70% dan dibilas dengan aquadest masing-masing 1

menit. Kemudian dimasukkan dalam alkohol asam dan dibilas dengan aquadest 5-15 menit, selanjutnya di masukkan dalam eosin 1-2 menit, bilas dengan menggunakan larutan alkohol bertingkat mulai dari konsentrasi 70, 80, 96% dan alkohol absolut masing-masing 1 menit. Selanjutnya dimasukkan kedalam larutan xylol selama 10 menit (Wahyuningtyas *et al.*, 2018).

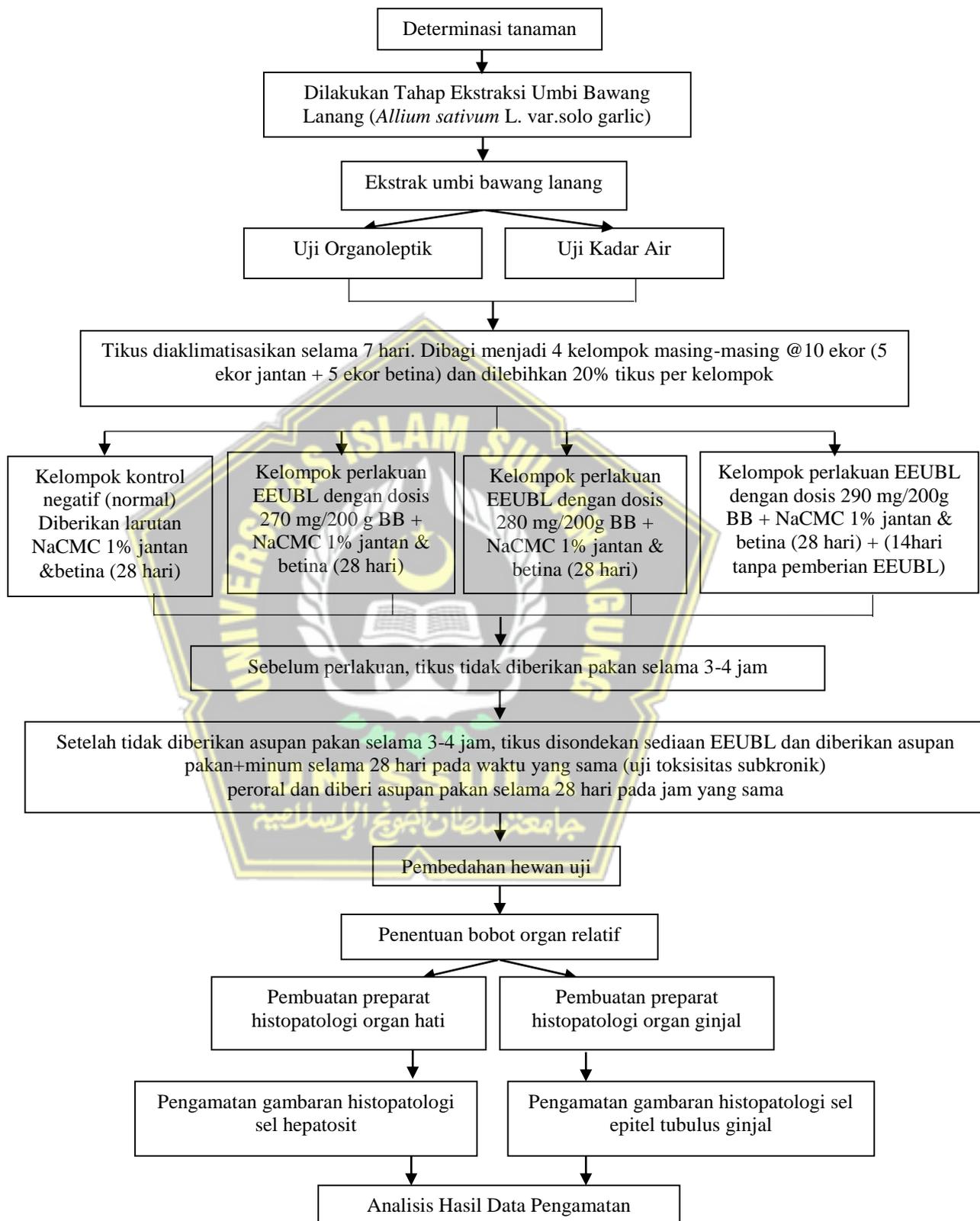
3.6.11. Pengamatan Gambaran Histopatologi Organ Hati

Pengamatan preparat dilakukan menggunakan mikroskop cahaya pada perbesaran 10x40. Penentuan kerusakan organ hati ditentukan menggunakan penilaian gambaran histopatologi organ hati pada 5 lapang pandang setiap preparat, menggunakan sistem skoring.

3.6.12. Pengamatan Gambaran Histopatologi Organ Ginjal

Pengamatan preparat dilakukan menggunakan mikroskop cahaya pada perbesaran 10x40. Penentuan kerusakan organ ginjal ditentukan menggunakan penilaian gambaran histopatologi organ ginjal pada 5 lapang pandang setiap preparat, menggunakan sistem skoring.

3.7. Alur Penelitian



Gambar 3.1. Alur Penelitian

3.8. Tempat dan Waktu

3.8.1. Tempat

Penelitian dilakukan dlaboratorium Farmasi Unissula, laboratorium Biologi Unissula, Laboratorium biologi FMIPA UNNES, dan laboratorium Patologi Anatomi FKH UGM.

3.8.2. Waktu

Penelitian dilakukan pada bulan Juni 2021-Desember 2021.

3.9. Analisis Hasil

Analisis data gambaran histopatologi organ hati dan ginjal dilakukan dengan melakukan skoring dan membandingkan tingkat kerusakan organ ginjal dan hati antar kelompok perlakuan. Data berat organ relatif diuji normalitas (*Saphiro-Wilk*) dan uji homogenitas(*Levene Test*). Data terdistribusi normal dan homogen kemudian dilanjutkan dengan uji parametrik *One Way Anova* dan *Post Hoc* dengan LSD. Data berat organ relatif tidak terdistribusi normal dan tidak homogen maka digunakan uji non parametrik (*Kruskal Wallis*), data signifikan dilanjutkan uji *Mann Whitney*.

BAB IV

HASIL DAN PEMBAHASAN

4.1 Hasil Penelitian

Penelitian terkait dengan pengaruh ekstrak etanolik umbi bawang lanang (*allium sativum* l. var. solo garlic) terhadap gambaran histopatologi organ hati dan ginjal pada uji toksisitas sub kronis dilakukan pada bulan Agustus 2021 sampai bulan Desember 2021. Penelitian dilakukan di Laboratorium patologi FKH Universitas Gajah Mada, Laboratorium Biologi FMIPA UNNES, Laboratorium Farmasi FK UNISSULA. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui pengaruh pemberian ekstrak etanolik umbi bawang lanang (EEUBL) terhadap gambaran histopatologi organ hati dan ginjal tikus galur wistar pada uji toksisitas sub kronis.

4.1.1. Determinasi Tanaman

Determinasi tanaman umbi bawang lanang dilakukan di Laboratorium Biologi FMIPA Universitas Negeri Semarang menggunakan buku *Flora of Java*. Hasil determinasi tersaji dalam lampiran 2.

4.1.2. Ekstrak Etanolik Umbi Bawang Lanang

4.1.2.1. Presentase Rendemen Ekstrak

Sebanyak 308,77 gram ekstrak kental dihasilkan dari umbi bawang lanang Sebanyak 3.660 gram, hasil perhitungan persentase rendemen sebanyak 8,4363% yang

tertuang pada lampiran 6 hasil persentase rendemen EEUBL.

4.1.2.2. Pengujian Organoleptik Ekstrak

Pengamatan organoleptik ekstrak etanolik umbi bawang lanang dilakukan di Laboratorium Farmasi Terpadu FK Universitas Islam Sultan Agung Semarang. Hasil pengamatan organoleptik ekstrak tersaji pada tabel 4.1.

Tabel 4.1. Hasil Uji Organoleptik EEUBL

Uji Organoleptik	Hasil Sampel
Bentuk	Ekstrak kental
Warna	Coklat kekuningan
Bau	Khas bawang lanang
Rasa	Pahit

4.1.2.3. Pengujian Kadar Air

Pengujian kadar air dilakukan dengan menggunakan alat berupa *moisturizer test*. Hasil kadar air ekstrak kental umbi bawang lanang tersaji pada tabel 4.2.

Tabel 4.2. Hasil Pengujian Kadar Air EEUBL

Sampel	Berat (gram)	Kadar Air
Ekstrak kental	0,448	5,80%

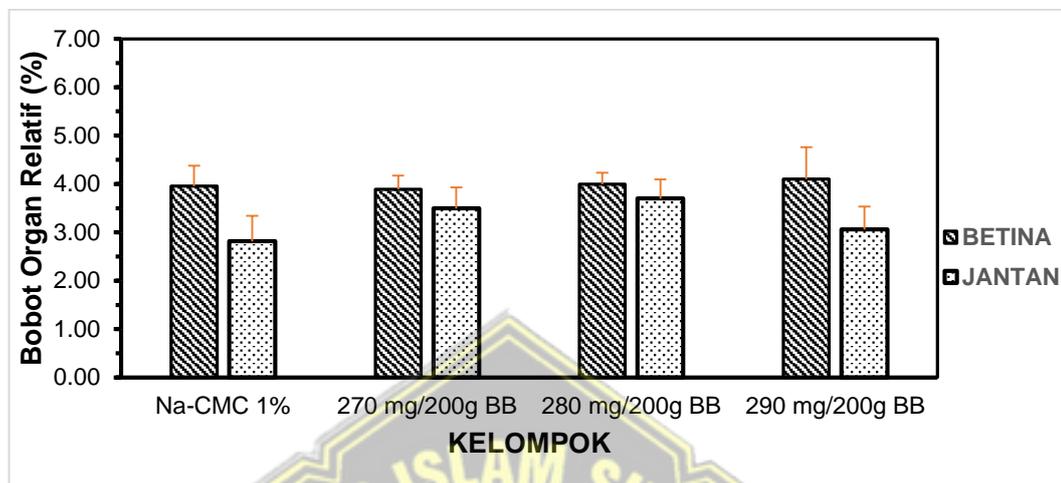
4.1.3. Hasil Bobot Organ Relatif Hati

Untuk menentukan bobot organ relatif digunakan perhitungan

sebagai berikut: $\text{Bobot Organ Relatif (\%)} = \frac{\text{Berat Organ (g)}}{\text{Berat badan (g)}} \times 100\%$

Hasil diagram perhitungan bobot organ hati relatif tersaji pada gambar 4.1, perhitungan bobot organ relatif hati tikus betina tersaji

pada tabel 4.3. dan perhitungan bobot organ relatif hati tikus jantan tersaji pada tabel 4.4.



Gambar 4.1. Diagram Bobot Organ Hati Relatif (%)

Tabel 4.3. Data Bobot Organ Relatif Hati Tikus Betina (%)

Tikus	Bobot Organ Relatif			
	Na-CMC1%	270mg/200g BB	280mg/200g BB	290mg/200g BB (satelit)
1	4,03	4,12	4,13	3,70
2	4,37	4,10	4,39	4,56
3	3,86	3,78	3,92	5,14
4	4,47	3,76	3,80	3,66
5	3,63	3,42	4,00	4,17
6	3,38	4,13	3,73	3,38
MEAN±SD	3,96±0,42	3,89±0,28	4,00±0,24	4,10±0,66

Berdasarkan tabel bobot organ relatif hati tikus betina diatas dapat dilihat nilai rata-rata tertinggi pada kelompok dosis 290mg/200g BB (satelit) sebesar $4,10 \pm 0,66$ kemudian kelompok dosis 280mg/200g BB sebesar $4,00 \pm 0,24$, kelompok kontrol Na-CMC1% sebesar $3,96 \pm 0,42$, selanjutnya nilai rata-rata bobot organ relatif terendah pada kelompok dosis 270mg/200g BB sebesar $3,89 \pm 0,28$.

Tabel 4.4. Data Bobot Organ Relatif Hati Tikus Jantan (%)

Tikus	Bobot Organ Relatif			
	Na-CMC1%	270mg/200g BB	280mg/200g BB	290mg/200g BB (satelit)
1	2,67	2,80	3,49	2,45
2	2,29	3,83	4,11	3,24
3	2,49	4,02	3,45	3,78
4	2,52	3,55	3,66	3,25
5	3,24	3,52	4,24	2,99
6	3,68	3,26	3,26	2,65
MEAN±SD	2,81±0,53	3,49±0,43	3,70±0,39	3,06±0,48

Berdasarkan tabel bobot organ relatif hati tikus jantan diatas dapat dilihat rata-rata nilai tertinggi pada kelompok dosis 280mg/200g BB sebesar 3,70±0,39 kemudian kelompok dosis 270mg/200g BB sebesar 3,49±0,43 selanjutnya kelompok dosis 290mg/200g BB (satelit) sebesar 3,06±0,48, sedangkan rata-rata nilai bobot organ relatif terendah pada kelompok kontrol Na-CMC1% sebesar 2,81±0,53.

4.1.3.1. Analisis Bobot Organ Relatif Hati Tikus Betina

Analisa statistik bobot organ relatif hati tikus betina menggunakan *software* SPSS. Uji normalitas data menggunakan *Shapiro-Wilk*, sedangkan uji homogenitas dengan *Levene-Test*. Nilai p pada uji normalitas dan homogenitas tersaji pada Tabel 4.5. dan Tabel 4.4.

Tabel 4.5. Hasil Uji Normalitas

Uji Shapiro-Wilk	Nilai p	Keterangan
Na-CMC1%	0,821	Distribusi normal
270 mg/200g BB	0,154	Distribusi normal
280 mg/200g BB	0,765	Distribusi normal

Berdasarkan tabel diatas diperoleh bahwa semua kelompok mempunyai distribusi data yang normal ($p > 0,05$), selanjutnya di lakukan uji homogenitas menggunakan *Levene-Test* dengan hasil sebagai berikut :

Tabel 4.6. Hasil Uji Homogenitas

Uji <i>Levene-Test</i>	Nilai p	Keterangan
Kontrol Na-CMC1%		
Dosis 270 mg/200g BB	0,279	Homogen
Dosis 280 mg/200g BB		

Berdasarkan tabel di atas dapat dilihat bahwa hasil uji homogenitas pada seluruh kelompok di peroleh nilai $p = 0,279$ ($p > 0,05$), hasil tersebut menunjukkan bahwa data homogen, dengan demikian dapat dilakukan uji parametrik *One Way Anova*. Hasil uji parametrik *One Way Anova* tersaji pada tabel 4.7.

Tabel 4.7. Hasil Uji Parametrik *One Way Anova*

Uji <i>Oneway Anova</i>	Nilai p	Keterangan
Kontrol Na-CMC1%		
Dosis 270 mg/200g BB	0,839	Tidak Signifikan
Dosis 280 mg/200g BB		

Hasil uji parametrik *One Way Anova* pada tabel diatas diperoleh nilai $p = 0,839$ ($p > 0,05$), hal tersebut menunjukkan bahwa tidak ada perbedaan bermakna pada bobot organ relatif antar kelompok.

4.1.3.2. Analisis Bobot Organ Relatif Hati Tikus Jantan

Analisa statistik bobot organ relatif hati tikus betina menggunakan *software* SPSS. Uji normalitas data menggunakan *Shapiro-Wilk*, sedangkan uji homogenitas

dengan *Levene-Test*. Nilai *p* pada uji normalitas dan homogenitas tersaji pada Tabel 4.8. dan Tabel 4.9.

Tabel 4.8. Hasil Uji Normalitas

Uji Shapiro-Wilk	Nilai <i>p</i>	Keterangan
Kontrol Na-CMC1%	0,272	Distribusi normal
Dosis 270 mg/200g BB	0,855	Distribusi normal
Dosis 280 mg/200g BB	0,408	Distribusi normal

Berdasarkan tabel diatas diperoleh bahwa semua kelompok mempunyai distribusi data yang normal ($p > 0,05$), selanjutnya dilakukan uji homogenitas menggunakan *Levene-Test* dengan hasil sebagai berikut:

Tabel 4.9. Hasil Uji Homogenitas

Uji <i>Levene-Test</i>	Nilai <i>p</i>	Keterangan
Kontrol Na-CMC1%	0,618	Homogen
Dosis 270 mg/200g BB		
Dosis 280 mg/200g BB		

Berdasarkan tabel diatas dapat dilihat bahwa hasil uji homogenitas pada seluruh kelompok diperoleh nilai $p = 0,618$ ($p > 0,05$), hasil tersebut menunjukkan bahwa data homogen, dengan demikian dapat dilakukan uji parametrik *One Way Anova*. Hasil uji parametrik *One Way Anova* tersaji pada tabel 4.10.

Tabel 4.10. Hasil Uji Oneway Anova

Uji <i>Oneway Anova</i>	Nilai <i>p</i>	Keterangan
Kontrol Na-CMC1%	0,011	Signifikan
Dosis 270 mg/200g BB		
Dosis 280 mg/200g BB		

Hasil uji parametrik *One Way Anova* pada tabel diatas diperoleh nilai $p = 0,011$ ($p < 0,05$), hal tersebut menunjukkan

bahwa terdapat perbedaan bermakna pada bobot organ relatif antar kelompok, untuk melihat perbedaan nilai signifikansi antar kelompok perlu di lihat melalui uji post hoc sebagai berikut:

Tabel 4.11. Hasil Analisis SPSS Uji Post Hoc

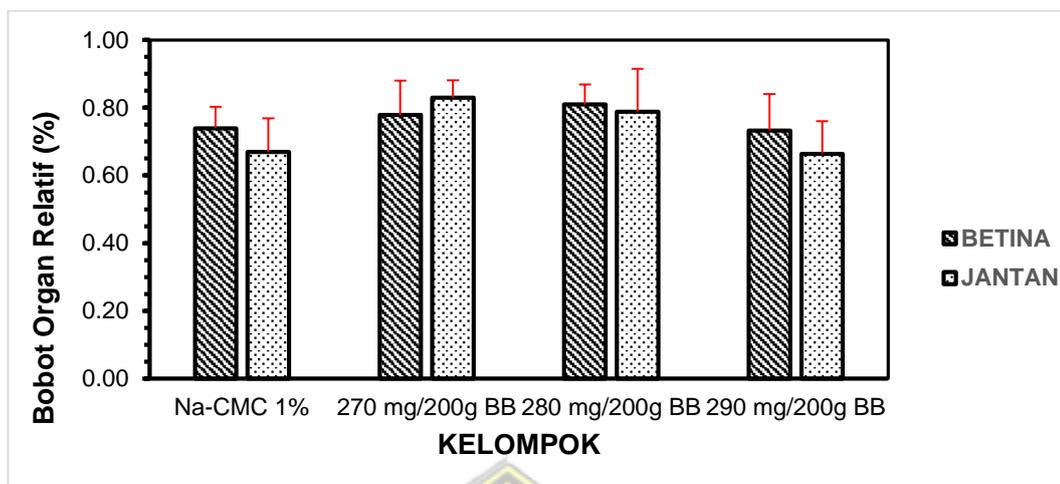
Kelompok	<i>Post Hoc Test</i>		
		Signifikansi	Keterangan
Kontrol Na- CMC1%	270mg/200g BB	0,020	Berbeda bermakna
	280mg/200g BB	0,004	Berbeda bermakna
Dosis 270mg/200g BB	Na-CMC1%	0,020	Berbeda bermakna
	280mg/200g BB	0,448	Tidak berbeda bermakna
Dosis 280mg/200g BB	Na-CMC1%	0,004	Berbeda bermakna
	270mg/200g BB	0,448	Tidak berbeda bermakna

Berdasarkan tabel diatas dapat dilihat bahwa terdapat nilai signifikansi berbeda bermakna antara kelompok kontrol Na-CMC1% dengan kelompok perlakuan dosis 270mg/200g BB dan 280mg/200g BB.

4.1.4. Hasil Bobot Organ Relatif Ginjal

Untuk menentukan bobot organ relatif di gunakan perhitungan sebagai berikut: $\text{Berat Organ Relatif (\%)} = \frac{\text{Berat Organ (g)}}{\text{Berat badan (g)}} \times 100\%$

Hasil diagram perhitungan bobot organ hati relatif tersaji pada gambar 4.2, perhitungan bobot organ relatif ginjal tikus betina tersaji pada tabel 4.11. dan perhitungan bobot organ relatif ginjal tikus jantan tersaji pada tabel 4.12.



Gambar 4.2. Diagram Bobot Organ Ginjal Relatif (%)

Tabel 4.12. Data Bobot Organ Relatif Ginjal Tikus Betina (%)

Tikus	Bobot Organ Relatif			
	Na-CMC1%	270mg/200g BB	280mg/200g BB	290mg/200g BB (satelit)
1	0,85	0,67	0,78	0,78
2	0,66	0,86	0,87	0,63
3	0,70	0,68	0,88	0,88
4	0,74	0,91	0,82	0,81
5	0,73	0,82	0,78	0,65
6	0,76	0,73	0,73	0,64
MEAN±SD	0,74±0,06	0,78±0,10	0,81±0,06	0,73±0,11

Berdasarkan tabel bobot organ relatif hati tikus betina diatas dapat dilihat rata-rata nilai tertinggi pada kelompok dosis 280mg/200g BB sebesar $0,81 \pm 0,06$ selanjutnya kelompok dosis 270mg/200g BB sebesar $0,78 \pm 0,10$ kemudian kelompok kontrol Na-CMC1% sebesar $0,74 \pm 0,06$, sedangkan rata-rata nilai bobot organ relatif terendah pada kelompok dosis 290mg/200g BB (satelit) sebesar $0,73 \pm 0,11$.

Tabel 4.13. Data Bobot Organ Relatif Ginjal Tikus Jantan (%)

Tikus	Bobot Organ Relatif			
	Na-CMC1%	270mg/200g BB	280mg/200g BB	290mg/200g BB (satelit)
1	0,58	0,90	0,76	0,65
2	0,58	0,82	0,82	0,77
3	0,66	0,83	0,79	0,74
4	0,66	0,85	0,75	0,68
5	0,68	0,83	1,00	0,65
6	0,85	0,74	0,62	0,49
MEAN±SD	0,67±0.10	0,83±0.05	0,79±0.13	0,66±0.10

Berdasarkan tabel bobot organ relatif hati tikus jantan diatas dapat dilihat rata-rata nilai tertinggi pada kelompok Dosis 270mg/200g BB sebesar $0,83 \pm 0,05$, kemudian kelompok Dosis 280mg/200g BB sebesar $0,79 \pm 0,13$, selanjutnya kelompok kontrol Na-CMC1% sebesar $0,67 \pm 0,10$, sedangkan rata-rata nilai bobot organ relatif terendah pada kelompok Dosis 290mg/200g BB (satelit) sebesar $0,66 \pm 0,10$.

4.1.4.1. Analisis Bobot Organ Relatif Ginjal Tikus Betina

Analisa statistik bobot organ relatif hati tikus betina menggunakan *software* SPSS. Uji normalitas data menggunakan *Shapiro-Wilk*, sedangkan uji homogenitas dengan *Levene-Test*. Nilai p pada uji normalitas dan homogenitas tersaji pada Tabel 4.14. dan Tabel 4.15.

Tabel 4.14. Hasil Uji Normalitas

Uji Shapiro-Wilk	Nilai p	Keterangan
Kontrol Na-CMC1%	0,740	Distribusi normal
Dosis 270 mg/200g BB	0,470	Distribusi normal
Dosis 280 mg/200g BB	0,608	Distribusi normal

Berdasarkan tabel diatas diperoleh bahwa semua kelompok mempunyai distribusi data yang normal ($p > 0,05$), selanjutnya dilakukan uji homogenitas menggunakan *Levene-Test* dengan hasil sebagai berikut :

Tabel 4.15. Hasil Uji Homogenitas

Uji <i>Levene-Test</i>	Nilai p	Keterangan
Kontrol Na-CMC1% Dosis 270 mg/200g BB Dosis 280 mg/200g BB	0,114	Homogen

Berdasarkan tabel diatas dapat dilihat bahwa hasil uji homogenitas pada seluruh kelompok diperoleh nilai $p = 0,114$ ($p > 0,05$), hasil tersebut menunjukkan bahwa data homogen, dengan demikian dapat dilakukan uji parametrik *One Way Anova*. Hasil uji parametrik *One Way Anova* tersaji pada tabel 4.16.

Tabel 4.16. Hasil Uji parametrik *One Way Anova*

Uji <i>Kruskal-Wallis Test</i>	Nilai p	Keterangan
Kontrol Na-CMC1% Dosis 270 mg/200g BB Dosis 280 mg/200g BB	0,309	Tidak Signifikan

Hasil uji parametrik *One Way Anova* pada tabel di atas di peroleh nilai $p = 0,371$ ($p > 0,05$), hal tersebut menunjukkan bahwa tidak ada perbedaan bermakna pada bobot organ relatif antar kelompok.

4.1.4.2. Analisis Bobot Organ Relatif Ginjal Tikus Jantan

Analisa statistik bobot organ relatif ginjal tikus jantan menggunakan *software* SPSS. Uji normalitas data

menggunakan *Shapiro-Wilk*, sedangkan uji homogenitas dengan *Levene-Test*. Nilai p pada uji normalitas dan homogenitas tersaji pada Tabel 4.17. dan Tabel 4.18.

Tabel 4.17. Hasil Uji Normalitas

Uji Shapiro-Wilk	Nilai p	Keterangan
Kontrol Na-CMC1%	0,112	Distribusi normal
Dosis 270 mg/200g BB	0,112	Distribusi normal
Dosis 280 mg/200g BB	0,584	Distribusi normal

Berdasarkan tabel di atas diperoleh bahwa semua kelompok mempunyai distribusi data yang normal ($p > 0,05$), selanjutnya dilakukan uji homogenitas menggunakan *Levene-Test* dengan hasil sebagai berikut:

Tabel 4.18. Hasil Homogenitas

Uji Levene-Test	Nilai p	Keterangan
Kontrol Na-CMC1%		
Dosis 270 mg/200g BB	0,480	Homogen
Dosis 280 mg/200g BB		

Berdasarkan tabel di atas dapat dilihat bahwa hasil uji homogenitas pada seluruh kelompok di peroleh nilai $p = 0,979$ ($p > 0,05$), hasil tersebut menunjukkan bahwa data homogen, dengan demikian dapat dilakukan uji parametrik *One Way Anova*. Hasil uji parametrik *One Way Anova* tersaji pada tabel 4.19.

Tabel 4.19. Parametrik One Way Anova

Uji Oneway Anova	Nilai p	Keterangan
Kontrol Na-CMC1%		
Dosis 270 mg/200g BB	0,029	Signifikan
Dosis 280 mg/200g BB		

Hasil uji parametrik *One Way Anova* pada tabel diatas diperoleh nilai $p= 0,029$ ($p<0,05$), hal tersebut menunjukkan bahwa terdapat perbedaan bermakna pada bobot organ relatif antar kelompok, untuk melihat perbedaan nilai signifikansi antar kelompok perlu di lihat melalui uji *post hoc* sebagai berikut:

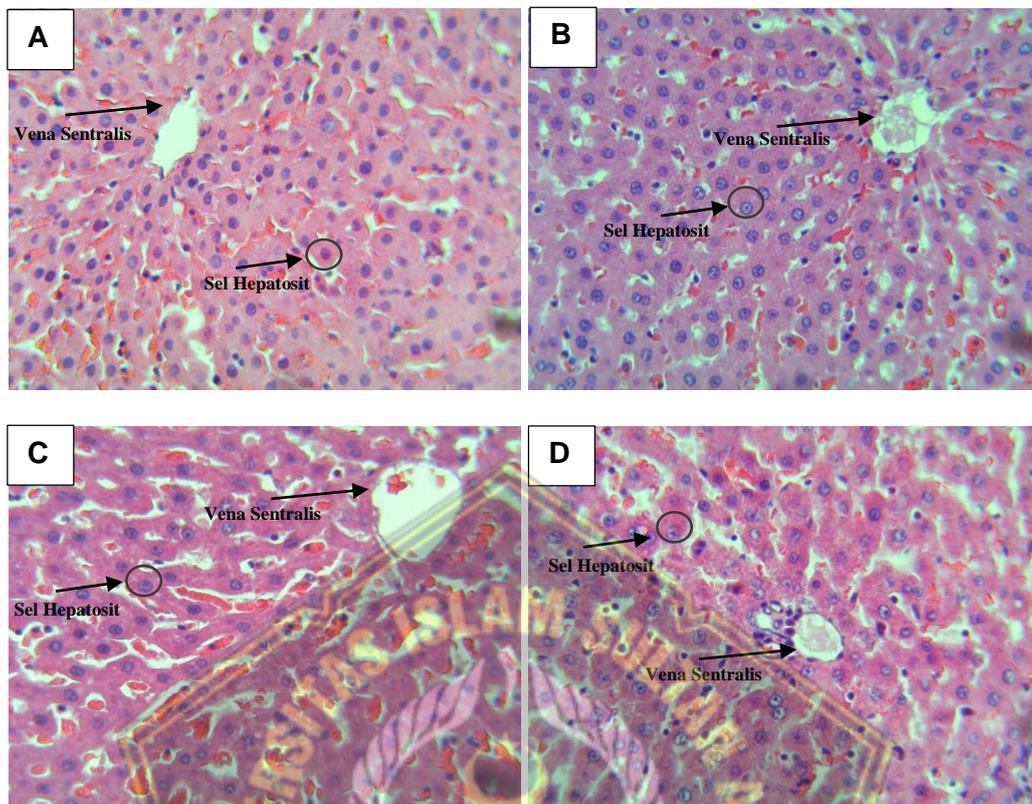
Tabel 4.20. Hasil Analisis SPSS Uji Post Hoc

Kelompok	<i>Post Hoc Test</i>		
		Signifikansi	Keterangan
Kontrol Na- CMC1%	270mg/200g BB	0,011	Berbeda bermakna
	280mg/200g BB	0,045	Berbeda bermakna
Dosis 270mg/200g BB	Na-CMC1%	0,011	Berbeda bermakna
	280mg/200g BB	0,501	Tidak berbeda bermakna
Dosis 280mg/200g BB	Na-CMC1%	0,045	Berbeda bermakna
	270mg/200g BB	0,501	Tidak berbeda bermakna

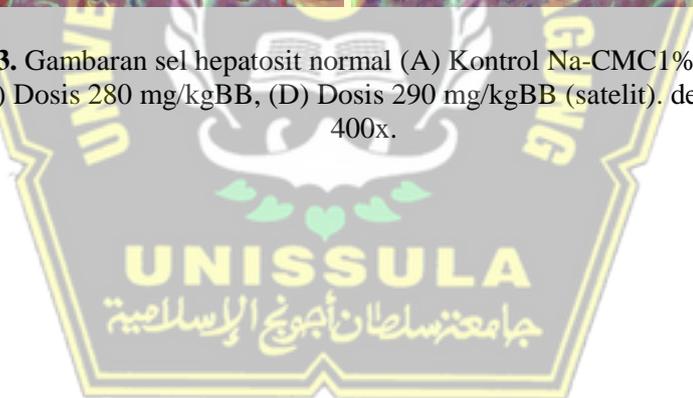
Berdasarkan tabel diatas dapat dilihat bahwa terdapat nilai signifikansi berbeda bermakna antara kelompok kontrol Na-CMC1% dengan kelompok perlakuan dosis 270mg/200g BB dan 280mg/200g BB.

4.1.5. Hasil Gambaran Histopatologi Organ Hati

Pengamatan gambaran histopatologi organ hati tikus dilakukan pada lima lapang pandang disetiap preparatnya dan dinilai menggunakan sistem skoring untuk sel hati normal pada gambar 4.3. Hasil skor pada masing-masing kelompok tersaji pada tabel 4.20.



Gambar 4.3. Gambaran sel hepatosit normal (A) Kontrol Na-CMC1% (B) Dosis 270 mg/kgBB, (C) Dosis 280 mg/kgBB, (D) Dosis 290 mg/kgBB (satelit). dengan perbesaran 400x.



Tabel 4.21. Hasil Skoring Gambaran Histopatologi Organ Hati

Kelompok	Tikus	Skor		Keterangan	
		Jantan	Betina	Jantan	betina
Kontrol Na-CMC1%	1	0	0	Tidak ada perubahan patologis	Tidak ada perubahan patologis
	2	0	0	Tidak ada perubahan patologis	Tidak ada perubahan patologis
	3	0	0	Tidak ada perubahan patologis	Tidak ada perubahan patologis
	4	0	0	Tidak ada perubahan patologis	Tidak ada perubahan patologis
	5	0	0	Tidak ada perubahan patologis	Tidak ada perubahan patologis
	6	0	0	Tidak ada perubahan patologis	Tidak ada perubahan patologis
Dosis 270 mg/kgBB	1	0	0	Tidak ada perubahan patologis	Tidak ada perubahan patologis
	2	0	0	Tidak ada perubahan patologis	Tidak ada perubahan patologis
	3	0	0	Tidak ada perubahan patologis	Tidak ada perubahan patologis
	4	0	0	Tidak ada perubahan patologis	Tidak ada perubahan patologis
	5	0	0	Tidak ada perubahan patologis	Tidak ada perubahan patologis
	6	0	0	Tidak ada perubahan patologis	Tidak ada perubahan patologis
Dosis 280 mg/kgBB	1	0	0	Tidak ada perubahan patologis	Tidak ada perubahan patologis
	2	0	0	Tidak ada perubahan patologis	Tidak ada perubahan patologis
	3	0	0	Tidak ada perubahan patologis	Tidak ada perubahan patologis
	4	0	0	Tidak ada perubahan patologis	Tidak ada perubahan patologis
	5	0	0	Tidak ada perubahan patologis	Tidak ada perubahan patologis
	6	0	0	Tidak ada perubahan patologis	Tidak ada perubahan patologis
Dosis 290 mg/kgBB (satelit)	1	0	0	Tidak ada perubahan patologis	Tidak ada perubahan patologis
	2	0	0	Tidak ada perubahan patologis	Tidak ada perubahan patologis
	3	0	0	Tidak ada perubahan patologis	Tidak ada perubahan patologis
	4	0	0	Tidak ada perubahan patologis	Tidak ada perubahan patologis
	5	0	0	Tidak ada perubahan patologis	Tidak ada perubahan patologis
	6	0	0	Tidak ada perubahan patologis	Tidak ada perubahan patologis

Keterangan:

Skor 0 =sel terlihat normal

Skor 1 =bila ditemukan degenerasi atau nekrosis terfokus di satu tempat

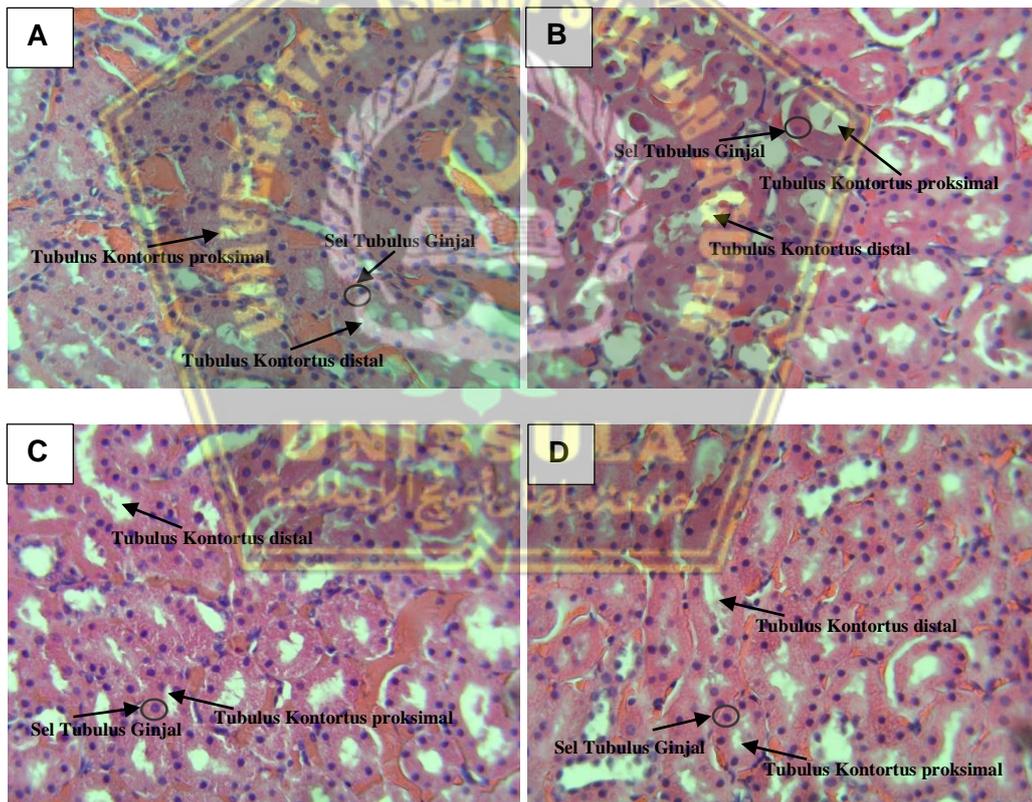
Skor 2 =bila ditemukan degenerasi atau nekrosis di beberapa tempat

Skor 3 =bila ditemukan degenerasi atau nekrosis di seluruh tempat

Hasil pengamatan histopatologi organ hati pada tabel diatas menunjukkan bahwa tidak terdapat perubahan atau kerusakan pada sel hepatosit.

4.1.6. Hasil Gambaran Histopatologi Organ Ginjal

Pengamatan gambaran histopatologi organ hati tikus dilakukan pada lima lapang pandang disetiap preparatnya dan dinilai menggunakan sistem skoring untuk sel hati normal pada gambar 4.4. Hasil skor pada masing-masing kelompok tersaji pada tabel 4.21.



Gambar 4.4. Gambaran sel tubulus ginjal normal (A) Kontrol Na-CMC1% (B) Dosis 270 mg/kgBB, (C) Dosis 280 mg/kgBB, (D) Dosis 290 mg/kgBB (satelit). dengan perbesaran 400x.

Tabel 4.22. Hasil Skoring Gambaran Histopatologi Organ Ginjal

Kelompok	Tikus	Skor		Keterangan	
		Jantan	Betina	Jantan	betina
Kontrol Na-CMC1%	1	0	0	Tidak ada perubahan patologis	Tidak ada perubahan patologis
	2	0	0	Tidak ada perubahan patologis	Tidak ada perubahan patologis
	3	0	0	Tidak ada perubahan patologis	Tidak ada perubahan patologis
	4	0	0	Tidak ada perubahan patologis	Tidak ada perubahan patologis
	5	0	0	Tidak ada perubahan patologis	Tidak ada perubahan patologis
	6	0	0	Tidak ada perubahan patologis	Tidak ada perubahan patologis
Dosis 270 mg/kgBB	1	0	0	Tidak ada perubahan patologis	Tidak ada perubahan patologis
	2	0	0	Tidak ada perubahan patologis	Tidak ada perubahan patologis
	3	0	0	Tidak ada perubahan patologis	Tidak ada perubahan patologis
	4	0	0	Tidak ada perubahan patologis	Tidak ada perubahan patologis
	5	0	0	Tidak ada perubahan patologis	Tidak ada perubahan patologis
	6	0	0	Tidak ada perubahan patologis	Tidak ada perubahan patologis
Dosis 280 mg/kgBB	1	0	0	Tidak ada perubahan patologis	Tidak ada perubahan patologis
	2	0	0	Tidak ada perubahan patologis	Tidak ada perubahan patologis
	3	0	0	Tidak ada perubahan patologis	Tidak ada perubahan patologis
	4	0	0	Tidak ada perubahan patologis	Tidak ada perubahan patologis
	5	0	0	Tidak ada perubahan patologis	Tidak ada perubahan patologis
	6	0	0	Tidak ada perubahan patologis	Tidak ada perubahan patologis
Dosis 290 mg/kgBB (satelit)	1	0	0	Tidak ada perubahan patologis	Tidak ada perubahan patologis
	2	0	0	Tidak ada perubahan patologis	Tidak ada perubahan patologis
	3	0	0	Tidak ada perubahan patologis	Tidak ada perubahan patologis
	4	0	0	Tidak ada perubahan patologis	Tidak ada perubahan patologis
	5	0	0	Tidak ada perubahan patologis	Tidak ada perubahan patologis
	6	0	0	Tidak ada perubahan patologis	Tidak ada perubahan patologis

Keterangan:

Skor 0 =sel terlihat normal

Skor 1 =bila ditemukan degenerasi atau nekrosis terfokus di satu tempat

Skor 2 =bila ditemukan degenerasi atau nekrosis di beberapa tempat

Skor 3 =bila ditemukan degenerasi atau nekrosis di seluruh tempat

Hasil pengamatan histopatologi organ ginjal pada tabel diatas menunjukkan bahwa tidak terdapat perubahan atau kerusakan pada sel tubulus ginjal.

4.2 Pembahasan

4.2.1. Detrminasi Tanaman

Determinasi tanaman dilakukan dengan tujuan untuk mengetahui jenis taksonomi tanaman, sehingga spesies dari tanaman yang digunakan dalam penelitian dapat diketahui, untuk meminimalisir kesalahan pengumpulan bahan, karena setiap varian tanaman memberikan hasil yang berbeda (BPOM, 2010). Identifikasi tanaman di lakukan di Laboratorium taksonomi tumbuhan jurusan Biologi FMIPA UNNES. Tanaman bawang lanang yang digunakan berasal dari daerah Tawangmangu jawa tengah, untuk determinasi digunakan satu tanaman utuh sabagai sampel. Hasil determinasi menyatakan bahwa tanaman yang dipakai dalam penelitian ini benar dari famili Liliceae dan merupakan spesies dari *Allium sativum* L.

Berdasarkan hasil determinasi yang diperoleh menyatakan bahwa sampel tanaman yang digunakan merupakan spesies tanaman yang akan di teliti sebagai bahan utama yaitu spesies *Allium sativum* dari famili Liliceae.

4.2.2. Pembuatan Ekstrak Etanolik Umbi Bawang Lanang

Bagian dari tanaman bawang lanang yang digunakan sebagai bahan utama untuk diteliti adalah umbinya, sebelum dilakukan ekstraksi umbi bawang lanang kupas terlebih dahulu untuk menghilangkan kulit bagian luarnya, dibersihkan dengan menggunakan air mengalir, di keringkan dengan diangin anginkan dan dilap menggunakan kain bersih, kemudian ditimbang dan dihaluskan menggunakan blender. Umbi bawang lanang yang sudah dihaluskan diekstraksi menggunakan metode maserasi dengan perendaman menggunakan etanol 95%. Pemilihan etanol 95% sebagai pelarut didasarkan karena etanol 95% dapat menyari beberapa kandungan berdasarkan tingkat kepolaran tinggi hingga nonpolar, selain itu etanol 95% juga bersifat aman dan mudah untuk di uapkan (Sa'adah, *et al.*, 2017).

Hasil pengamatan organoleptik dari ekstrak etanolik umbi bawang lanang yang di ekstraksi menggunakan metode maserasi dengan pelarut etanol 95% di dapatkan data spesifik berupa bentuk ekstrak yang kental, warna coklat kekuningan, rasa pahit dengan bau khas bawang lanang. Perhitungan persen rendemen di dapatkan presentase sebanyak 8,4363%. Hasil pengujian kadar air sebesar 5,80%, hasil tersebut menunjukkan bahwa nilai tersebut memenuhi persyaratan ekstrak kental yang baik yaitu <10% (BPOM, 2014).

4.2.3. Bobot Organ Relatif

Bobot organ relatif hati tikus dapat dikategorikan pada kisaran normal apabila bobot organ relatif 2,3-3,10% dari bobot badan tikus (Apriandi, *et al.*,2016). Hasil rata-rata bobot organ relatif hati tikus betina setelah pemberian EEUBL selama 28hari (subkronik) yaitu 3,96-4,00%, sedangkan pada kelompok satelit dosis perlakuan 290mg/200g BB yaitu sebesar $4,10 \pm 0,66$. Hasil rata-rata bobot organ relatif hati tikus jantan setelah pemberian EEUBL selama 28hari (subkronik) yaitu 2,81-3,70%, sedangkan pada kelompok satelit dosis perlakuan 290mg/200g BB yaitu sebesar $3,06 \pm 0,48$, hasil tersebut menunjukkan terdapat peningkatan bobot organ relatif hati tikus. Menurut penelitian Siddique, *et al.*, (2015) menyatakan bahwa kenaikan berat badan hewan uji berbanding lurus dengan bobot organ hati dimana terjadi peningkatan baik berat badan hewan maupun bobot organ hati. Analisis hasil bobot organ relatif hati tikus betina didapatkan nilai $P = 0,839 (>0,05)$, artinya tidak terdapat perbedaan bermakna antar kelompok kontrol dengan kelompok perlakuan dosis. Analisis hasil bobot organ relatif hati tikus jantan didapatkan nilai $P = 0,011 (<0,05)$, artinya terdapat perbedaan bermakna antar kelompok kontrol dengan kelompok perlakuan dosis, perbedaan signifikan antar kelompok kontrol Na-CMC1% dengan kelompok perlakuan dosis 270mg/200gBB dan 280mg/200gBB.

Peningkatan bobot organ relatif pada kelompok hewan uji tikus betina tidak hanya terjadi pada kelompok tikus perlakuan dosis saja melainkan terjadi juga pada kelompok kontrol Na-cmc1% dengan rata-rata bobot organ relatif 3,96%. Silitonga, *et al.*, (2021) menyatakan bahwa peningkatan bobot organ relatif hati tikus dapat terjadi kemungkinan di sebabkan oleh beberapa faktor di antaranya yaitu faktor makanan dan lingkungan, hal tersebut menyebabkan peningkatan yang terjadi tidak hanya terjadi pada tikus yang di berikan perlakuan saja melainkan terjadi juga pada kelompok tikus kontrol. Pakan tikus yang mengandung tinggi sukrosa dapat mengakibatkan fatty liver, peningkatan asam urea dan trigliserida didalam hati, dan peningkatan jumlah monocyte chemoattractant protein1 sehingga menyebabkan bobot organ hati meningkat (Andayani. P. L, *et al.*, 2017).

Bobot organ relatif ginjal tikus dapat di kategorikan normal apabila bobot organ relatif ginjal tikus adalah 0,4-0,9% dari berat badan tikus (Apriandi *et al.*, 2016). Hasil rata-rata bobot organ relatif ginjal tikus betina setelah pemberian EEUBL selama 28hari (subkronik) yaitu $0,74 \pm 0,06$ - $0,81 \pm 0,06$, sedangkan pada kelompok satelit dosis perlakuan 290mg/200g BB yaitu sebesar $0,73 \pm 0,11$. Hasil rata-rata bobot organ relatif ginjal tikus jantan setelah pemberian EEUBL selama 28hari (subkronik) yaitu $0,67 \pm 0,10$ - $0,83 \pm 0,05$, sedangkan pada kelompok satelit dosis perlakuan

290mg/200g BB yaitu sebesar $0,66 \pm 0,10$. Berdasarkan hasil tersebut dapat diartikan bahwa bobot organ relatif ginjal tikus pada semua kelompok masih dalam kisaran normal. Analisis hasil bobot organ relatif ginjal tikus betina didapatkan nilai $P= 0,309 (>0,05)$, artinya tidak terdapat perbedaan bermakna antar kelompok kontrol dengan kelompok perlakuan dosis, analisis hasil bobot organ relatif ginjal tikus jantan didapatkan nilai $P= 0,029 (>0,05)$, artinya terdapat perbedaan bermakna antar kelompok kontrol dengan kelompok perlakuan dosis, perbedaan signifikan antar kelompok kontrol Na-CMC1% dengan kelompok perlakuan dosis 270mg/200gBB dan 280mg/200Gbb, meskipun terdapat perbedaan bermakna antar kelompok kontrol dengan kelompok perlakuan dosis, bobot organ ginjal tikus jantan masih dalam kisaran normal atau tidak mengalami perubahan bobot organ relatif.

4.2.4. Gambaran Histopatologi Organ Hati Dan Ginjal

Pengamatan gambaran histopatologi organ hati dan ginjal tikus dilakukan setelah hewan uji tikus diberikan perlakuan secara subkronik selama 28 hari dengan ekstrak etanolik umbi bawang lanang, khusus kelompok perlakuan dosis 290 mg/200gBB jantan dan betina perlakuan di tambah 14 hari tanpa pemberian EEUBL setelah 28 hari pemberian EEUBL sebagai kelompok satelit. Pembuatan preparat histopatologi organ hati dan organ ginjal tikus dilakukan di laboratorium patologi FKH UGM dengan menggunakan

pewarna HE. Hewan uji yang digunakan pada penelitian ini menggunakan hewan uji tikus galur *wistar* dengan jenis kelamin jantan dan betina, penggunaan perbedaan jenis kelamin yaitu jantan dan betina pada penelitian ini dimaksudkan untuk mengetahui perbedaan faktor penyebab dari jenis kelamin jantan dan betina dan untuk membandingkan parameter hasil pengujian (BPOM, 2014).

Fungsi hati sangat penting bagi tubuh yaitu untuk mensintesis asam empedu dan menjaga tubuh agar terbebas dari zat-zat yang bersifat toksik (Chinnala, *et al.*, 2018). Pada hati terdapat sel hepatosit yang mengandung banyak enzim yang berfungsi sebagai katalisator didalam metabolisme substansi termasuk obat dan makanan (Rachmawati & Ulfa, 2018). Karena Fungsi hati tersebut menyebabkan sel pada hati mudah untuk mengalami kerusakan struktural yang mengakibatkan terganggunya fungsi hati (Nugraha, *et al.*, 2018).

Hasil pengamatan gambaran histopatologi organ hati tikus jantan dan betina (Tabel 4.14) menunjukkan bahwa semua kelompok perlakuan subkronik maupun kelompok satelit tidak mengalami perubahan patologis atau sel hepatosit tidak mengalami kerusakan. Hasil tersebut sesuai dengan penelitian sebelumnya Yuniarti, *et al.*, (2019) gambaran histopatologi organ hati pada uji toksisitas akut dengan dosis perlakuan 500mg/kgBB, 5.000mg/kgBB, 50.000mg/kgBB ekstrak etanolik umbi bawang lanang tidak

menunjukkan adanya perubahan patologis terhadap gambaran histopatologi sel hepatosit.

Gambaran histopatologi sel hepatosit normal (Gambar 4.3) di tunjukkan dengan sel-sel hepatosit yang tersebar padat dan merata, inti sel ber bentuk bulat dan oval dengan posisi berada ditengah sel, dan batas sel atau sinusoid masih dapat teramati dengan jelas. Yusuf, *et al.*, (2018) menyatakan bahwa kerusakan pada sel hepatosit yaitu degenerasi dan nekrosis, degenerasi ditandai dengan adanya pembengkakan pada sitoplasma dan terdapat ruang-ruang atau globul dalam sitoplasma yang terisi dengan air atau lemak, nekrosis ditandai dengan lisisnya membran sel sehingga terdapat ruang-ruang kosong dan ciri-ciri lain apabila sel mengalami nekrosis yaitu inti sel atau nukleus lisis (kariolisis), mengkerut (piknosis), pecah (kariokinesis).

Ginjal merupakan organ yang memiliki fungsi sebagai filtrasi plasma yang terjadi di sepanjang kapiler glomerulus, mekanisme rebsorpsi dan mensekresikan berbagai zat pada tubulus ginjal, proses tersebut akan menghasilkan hasil akhir yang di keluarkan dalam bentuk urin (Prasetyaning, *et al.*, 2017). Ginjal juga memiliki peran mempertahankan keseimbangan cairan, garam dan elektrolit dalam tubuh, 25-30% sirkulasi darah masuk ke dalam ginjal untuk dibersihkan, sehingga ginjal menjadi salah satu organ yang rentan akan pengaruh zat toksik yang masuk kedalam tubuh yang

memungkinkan terjadi perubahan patologi sangat tinggi (Suhita *et al.*, 2013).

Hasil pengamatan gambaran histopatologi organ ginjal tikus jantan dan betina (Tabel 4.15) menunjukkan bahwa semua kelompok perlakuan sybkronik maupun kelompok satelit tidak mengalami perubahan patologis, Hasil tersebut sesuai dengan penelitian sebelumnya oleh (Riyandini, I, Latifah, & Januarti, I, 2019) gambaran histopatologi organ ginjal pada uji toksisitas akut dengan dosis perlakuan 500mg/kgBB, 5.000mg/kgBB, 50.000mg/kgBB ekstrak etanolik umbi bawang lanang tidak menunjukkan adanya perubahan patologis terhadap gambaran histopatologi organ ginjal.

Gambaran histopatologi sel tubulus ginjal normal (Gambar 4.4) di tunjukkan dengan sel-sel tubulus ginjal yang tersebar padat dan merata mengelilingi tubulus ginjal, inti sel berbentuk bulat dan oval dengan posisi berada ditengah sel, dan batas-batas sel atau sinusoid masih dapat teramati dengan jelas. Menurut peneliti Frazier, *et al.*, (2012) kerusakan yang dapat terjadi pada sel tubulus ginjal yaitu berupa degenerasi yang merupakan indikator awal dari nekrosis yaitu suatu kerusakan nonspesifik yang dapat timbul dari berbagai etiologi yang mengganggu fungsi sel, degenerasi didahului dengan dengan vakuolisasi, Secara umum degenerasi ditandai oleh sejumlah gambaran morfologi dan variabel sel, seperti pembengkakan sel disertai atau tidak di sertai dengan vakuolisasi

sitoplasma, sitoplasma yang terfragmentasi, dan pewarnaan menjadi lebih pucat. Nekrosis sel ditandai dengan pembengkakan sel, *nuclear pyknosis* disertai atau tidak di sertai dengan karioreksis, dan peluruhan sel.

Ekstrak etanolik umbi bawang lanang berdasarkan penelitian Januarti *et al.*, (2019) yang berasal dari Tawangmangu mempunyai kadar total flavonoid sebesar $14,4833 \pm 0,5911$ mg QE/gram, fenolik 92,222 mg GAE/gram, dan aktivitas antioksidan dengan nilai IC_{50} 13,777 ppm. Menurut Engida *et al.*, (2013), flavonoid memiliki aktifitas sebagai penangkal radikal bebas dengan menurunkan aktifitas radikal bebas hidroksil yang menyebabkan radikal bebas menjadi tidak reaktif. (Isnindar, *et al.*, (2011) Flavonoid sebagai antioksidan memiliki mekanisme kerja pada tahap inisiasi awal dengan memecah rantai reaksi oksidasi lipid dan menyumbang hydrogen ke radikal bebas. Adanya senyawa flavonoid sebagai antioksidan pada ekstrak etanolik umbi bawang lanang menjadikan tidak terjadinya kerusakan pada sel hepatosit dan tubulus ginjal.

Keterbatasan dalam penelitian ini ialah penilaian gambaran histopatologi organ hati dan ginjal pada kelompok perlakuan dosis 290mg/200g BB hanya dilakukan pada kelompok satelit setelah pemberian EEUBL selama 28 hari ditambah 14 hari tanpa pemberian EEUBL, sehingga tidak diketahui efek yang terjadi pada hari ke 29 setelah 28 hari pemberian EEUBL. Jenis penelitian "*post test only*

control group design” tidak memungkinkan penilaian gambaran histopatologi organ hati dan ginjal dilakukan sebelum perlakuan pemberian EEUBL, sehingga tidak diketahui perbandingan gambaran histopatologi organ hati dan ginjal sebelum dan sesudah perlakuan pemberian EEUBL. Disarankan untuk peneliti selanjutnya dapat melakukan pengembangan mengenai potensi ketoksikan pada tingkatan kronis (90 hari).



BAB V

KESIMPULAN DAN SARAN

5.1. Kesimpulan

5.1.1. Pemberian ekstrak etanolik umbi bawang lanang (*Allium sativum* var. solo garlic) secara subkronik (28 hari) pada rentang dosis 270mg/200g BB, 280mg/200g BB, dan kelompok satelit 290mg/200g BB tidak mempengaruhi gambaran histopatologi organ hati hewan uji tikus jantan dan betina *wistar*.

5.1.2. Pemberian ekstrak etanolik umbi bawang lanang (*Allium sativum* var. solo garlic) secara subkronik (28 hari) pada rentang dosis 270mg/200g BB, 280mg/200g BB, dan kelompok satelit 290mg/200g BB tidak mempengaruhi gambaran histopatologi organ ginjal hewan uji tikus jantan dan betina *wistar*.

5.2. Saran

Untuk melihat pengaruh ekstrak etanolik umbi bawang lanang terhadap organ lain perlu dilakukan pengamatan gambaran histopatologi organ lain seperti jantung dan limpa, perlu juga dilakukan pengembangan penelitian lanjutan mengenai potensi ketoksikan pada tingkatan kronis (90 hari) dan uji teratogenik.

DAFTAR PUSTAKA

- Afifa, C. N., Yulianti, A. B., & Dharmmika, S. (2017). Efek Toksik Ekstrak Air Bawang Putih Tunggal (*Allium sativum*) Dosis Tinggi Terhadap Cedera Hepatosit. *Prosiding Pendidikan Dokter*, 3(2), 40–45.
- Amin, S. (2015). Uji Aktivitas Antioksidan Umbi Bawang Lanang (*Allium sativum*) Terhadap Radikal Bebas Dpph (1,1-Difenil-2-Pikrihidrazil). *Jurnal Kesehatan Bakti Tunas Husada: Jurnal Ilmu-Ilmu Keperawatan, Analisis Kesehatan Dan Farmasi*, 13(1).
- Amini, I. R. (2021). Zona Hambat Ekstrak Bawang Putih Tunggal (*Allium sativum*) Terhadap *Streptococcus mutans* ATCC® 21752TM (In Vitro). *SKRIPSI*.
- Andayani, D., & Kurniawan, R. A. (2014). Uji Daya Hambat Ekstrak Etanol Bawang Putih Tunggal (*Allium Sativum* L.) terhadap Jamur (*Candida Albicans*). *Jurnal Ilmu Kesehatan Dan Farmasi*, 2(1), 15–19.
- Andayani, P. L., Santoso, K., Kusumorini, N., Satyaningtijas, A. S., & Supiyani, A. (2017). Determinasi Pemberian Sukrosa Terhadap Kadar Sgpt Dan Sgot Tikus Galur Wistar Sebagai Indikator Fungsi Hati. *Bioma*, 12(1), 60.
- Apriandi, A., Tarman, K., & Sugita, P. (2016). Toksisitas Subkronis Ekstrak Air Kerang Lamis Secara In Vivo Pada Sprague Dawley. *Jphpi*, 19(2), 177–183.
- Azizah, N., Januarti, I., & Latifah, F. (2021). Uji Toksisitas Subkronik Ekstrak Etanolik Umbi Bawang Lanang (*Allium sativum* L. var.solo garlic) Pada Tikus Galur Wistar Ditinjau Dari Kadar Sgot Dan Sgpt. *SKRIPSI*.
- BPOM. (2010). *Acuan Sediaan Herbal* (1st ed., Vol. 5). Jakarta: Direktorat OAI.
- BPOM. (2014a). Pedoman Uji Toksisitas Nonklinis Secara In Vivo. *Badan Pengawas Obat Dan Makanan Republik Indonesia*, 66–68.
- BPOM. (2014b). *Peraturan Kepala Badan Pengawas Obat dan Makanan Republik Indonesia Nomor 12 tahun 2014 tentang Persyaratan Mutu Obat Tradisional* (Kepala Badan Pengawas Obat dan Makanan Republik Indonesia., ed.). Jakarta.
- Brachemi, S., & Bolle, G. (2014). Renal Biopsy Practice: What is the Gold Standard? *World Journal of Nephrology*, 3(4), 287–294.
- Brouwer, J. V. (2018). Ekstrak Bawang Putih Siung Tunggal terhadap Aktivitas Enzim Lipoprotein Lipase pada Tikus Hiperkolesterol. *Jurnal Ilmiah*

Kedokteran Wijaya Kusuma, 7(2), 126.

- Bunchorntavakul, C., & Reddy, K. (2013). Review article: herbal and dietary supplement hepatotoxicity. *Alimentary Pharmacology & Therapeutics*, 37(1), 3–17.
- Chasanah, I., Gofur, A., & Lestari, R. (2019). Efek Protektif Bawang Putih Tunggal Terhadap Vascular Cell Adhesion Molecules-1 (VCAM-1) Pada Mencit Diet Lemak Tinggi. *Jurnal Akademik Kimia*, 8(May), 92–97.
- Chinnala, K., Jayagar, P., Motta, G., Adusumilli, R., & Elsani, M. (2018). Evaluation of hepatoprotective activity of *Allium sativum* ethanolic extract in thioacetamide induced hepato-toxicity in albino Wistar rats. *American Journal of Research in Medical Sciences*, 3(1), 48.
- Dewi, A. K., Suarni, N. R., & Suaniti, N. (2013). Gambaran Mikroskopis Ginjal Tikus Putih (*Rattus sp*) Jantan Dewasa Setelah Pemberian Etanol Kronis.
- Engida, A., Kasim, N. ., Tsigie, Y. ., Ismadji, S., Huynh, L. H., & Ju, Y. H. (2013). Extraction, Identification and Quantitative HPLC Analysis of Flavonoids from Sarang semut (*Myrmecodia pendans*). *Ind.Crops Products*, Vol 41, Hal 92-396.
- Erguig, M., Yahyaoui, A., Fekhaoui, M., & Dakki, M. (2015). European Journal of Biotechnology and The use of garlic in aquaculture. *European Journal of Biotechnology and Bioscience*, 3(8), 28–33.
- Eroschenko, V. (2010). Atlas histology difiore dengan korelasi fungsional. Jakarta: EGC.
- Fadlilaturrahmah, F., Wathan, N., Firdaus, A. R., & Arishandi, S. (2020). Pengaruh Metode Ekstraksi Terhadap Aktivitas Antioksidan Dan Kadar Flavonoid Daun Kareho (*Callicarpa Longifolia Lam*). *Pharma Xplore : Jurnal Sains Dan Ilmu Farmasi*, 5(1), 23–33.
- Fahrimal, Y., R, R., & Aliza, D. (2016). 26. Gambaran Histopatologis Ginjal Tikus Putih (*Rattus novergicus*) Jantan Yang Diinfeksi Trypanosoma Evansi Dan Diberi Ekstrak Daun Sernai (*Wedelia biflora*) (Histopathology of Male Rat (*Rattus novergicus*) Kidney Infected with Trypanosoma evansi and Tre. *Jurnal Medika Veterinaria*, 8(1), 166–170.
- Farisi, A., Munawir, A., & Febianti, Z. (2015). Uji Toksisitas Akut Ekstrak Buah *Bruguiera gymnorhiza* pada Tikus (*Rattus norvegicus*).
- Fitriana, N., Rahayu Lestari, S., & Lukiaty, B. (2018). Senyawa Alami Bawang Putih Tunggal sebagai Inhibitor LpxC Bakteri *Pseudomonas aeruginosa* melalui Virtual Screening. *Mutiara Medika: Jurnal Kedokteran Dan Kesehatan*, 18(1).

- Frazier, K., Seely, J., Hard, G., Betton, G., Burnett, R., Nakatsuji, S., ... Bube, A. (2012). Proliferative and nonproliferative lesions of the rat and mouse urinary system. *Toxicologic Pathology*, 40(4 Suppl), 14S-86S.
- Gartner, L., & Hiatt, J. (2012). *Atlas berwarna histologi* (5th ed.). Tangerang: Binarupa Aksara.
- Gines, P., Kamath, P. S., & Arroyo, V. (2011). *Chronic Liver Failure: Mechanisms and Management* - Google Buku.
- Hidayat, M., Prahastuti, S., Dewi, E., Safitri, D., Farah, S., & Soemardji, A. (2017). Uji Toksisitas Subkronis Kombinasi Ekstrak Kedelai dan Jati Belanda terhadap Hematologi Tikus Wistar - MCUrepository.
- Isnindar, Wahyuni, S., & Setyowati, E. . (2011). Isolasi dan Identifikasi Senyawa Antioksidan Daun Kesemek (*diospyros kaki thumb.*) dengan Metode DPPH (2,2-difenik-1- pikrilhidrazil). *Majalah Obat Tradisional*, 16(3), 157–164.
- Januarti, I. B., Taufiq, H., & Sulistyarningsih. (2019). The Correlation Of Total Flavonoid And Total Phenolic With Antioxidant Activity Of Single Bulb Garlic (*Allium Sativum*) From Tawangmangu And Magetan. *Jurnal Farmasi Sains Dan Komunitas*, 16(2), 96–103.
- Januarti, Latifah, F., & Fatmawati, N. (2021). Efek Ekstrak Bawang Putih Tunggal (*Allium Sativum* Var. Solo) Terhadap Sel Leydig Dan Sel Sertoli Tikus. *Jurnal Farmasi Sains Dan Praktis (JFSP)*, 7(1), 1–6.
- Junquiera, L., & Carneiro. (2012). *Histologi dasar* (10th ed.; a Dharma, Ed.). Jakarta: EGC.
- Kumar, V., Abbas, A., & Fausto, N. (2009). Adaptasi, cedera dan kematian sel, dalam Robbins and Cotran: dasar patologi penyakit (Pendit, Ed.). Jakarta: EGC.
- Lifah, N, A., Januarti, I, B., & Latifah, F. (2018). Pengaruh Ekstrak Etanolik Umbi Bawang Lanang (*Allium sativum* Var.Solo Garlic) Terhadap Viabilitas dan Motilitas Sperma Tikus Jantan Galur Wistar. *SKRIPSI*.
- Meutia, M. (2018). *Zat Zat Yang Mempengaruhi Histopatologi Hepar*. Unimal Press.
- Moore, L., & Dalley, A. (2013). *Anatomi berbasis klinis* (5th ed.). Jakarta: Erlangga.
- Murniati, A., Latifah, F., & Januarti, I, B. (2019). Uji Toksisitas Akut Ekstrak Etanolik Umbi Bawang Lanang (*Allium sativum* L. var. solo Garlic) Dan Pengaruh Gambaran Histopatologi Organ Jantung Mencit Galur Swiss

Webster. *SKRIPSI*.

- Nugraha, A. P., Isdadiyanto, S., & Tana, S. (2018). Histopatologi Hepar Tikus Wistar (*Rattus norvegicus*) Jantan setelah Pemberian Teh Kombucha Konsentrasi 100% dengan Waktu Fermentasi yang Berbeda. *Buletin Anatomi Dan Fisiologi*, 3(1), 71. <https://doi.org/10.14710/baf.3.1.2018.71-78>
- Nurferawati, D., Januarti, I. B., & Latifah, F. (2018). Pengaruh Ekstrak Etanolik Umbi Bawang Lanang (*Allium sativum* Var. Solo garlic) Terhadap Mating Behaviour Pada Tikus Jantan Galur Wistar. *SKRIPSI*.
- Paulsen, F., & Waschke, J. (2012). *Sobotta atlas anatomi manusia anatomi umum dan sistem muskuloskeletal* (23rd ed.). Jakarta: EGC.
- Prasetyaning, U., Andari, D., & Agustini, S. (2017). Pengaruh Pemberian Minuman Berenergi Subakut Terhadap Gambaran Histologi Ginjal Tikus Putih Strain Wistar. *Saintika Medika*, 9(1), 46.
- Prayudo, A. N., Novian, O., Setyadi, ., & Antaresti, . (2015). Koefisien transfer massa kurkumin dari temulawak. *Widya Teknik*, 14(1), 26–31.
- Putri, P. M. (2018). Urgensi Etika Medis Dalam Penanganan Mencit Pada Penelitian Farmakologi. *Jurnal Kesehatan Madani Medika*, 9(2).
- Rachmawati, E., & Ulfa, E. U. (2018). Uji Toksisitas Subkronik Ekstrak Kayu Kuning (*Arcangelisia flava* Merr) terhadap Hepar dan Ginjal. *Global Medical and Health Communication*, 6(July 2017), 1–6.
- Riyandini, I, K., Latifah, F., & Januarti, I, B. (2019). Uji Toksisitas Akut Ekstrak Etanolik Umbi Bawang Lanang (*Allium sativum* L. var.solo Garlic) Dan Gambaran Histopatologi Organ Ginjal Mencit Galur Swiss. *SKRIPSI*.
- Sa'adah, H., Nurhasnawati, H., & Permatasari, V. (2017). Pengaruh Metode Ekstraksi Terhadap Kadar Flavonoid Ekstrak Etanol Umbi Bawang Dayak (*Eleutherine palmifolia*(L.)Merr) dengan Metode Spektrofotometri. *Jurnal Borneo Journal of Pharmascientech*, 01(01), 1–9.
- Sasta Handani, K., Sugih Utami, W., Hermansyah, B., Normasari, R., Kalimantan No, J., & Tegalboto, K. (2018). Gambaran Histopatologi Hati Tikus Wistar Pasca Pemberian Ekstrak Etanol Rimpang Bangle (*Zingiber cassumunar* Roxb.) pada Uji Toksisitas Akut. *Journal of Agromedicine and Medical Sciences*, 4(1).
- Siddique, A., J, I., & Sheikh, M. . (2015). Effects of Garlic (*Allium Sativum*) on the Weights of Liver in Albino Rats. *PJMHS*, Vol 9(3).

- Silitonga, M., Erlintan, S., & Silitonga, P. M. (2021). Pengaruh ekstrak etanol *Plectranthus amboinicus* Lour Spreng terhadap berat badan dan berat relatif organ tikus yang diinduksi kanker kulit dengan DMBA. *Jurnal Biosains*, 7(2), 59–65.
- Snell, R. (2012). *Anatomi Klinis Berdasarkan Sistem* (L. Sugiharto, Ed.). Jakarta: EGC.
- Suhendra, C. P., Widarta, I. W. R., & Wiadnyani, A. A. I. S. (2019). Pengaruh Konsentrasi Etanol Terhadap Aktivitas Antioksidan Ekstrak Rimpang Ilalang (*Imperata cylindrica* (L) Beauv.) Pada Ekstraksi Menggunakan Gelombang Ultrasonik. *Jurnal Ilmu Dan Teknologi Pangan (ITEPA)*, 8(1), 27–35.
- Suhita, N. R., Sudira, I., & Winaya, I. B. (2013). Histopatologi Ginjal Tikus Putih Akibat Pemberian Ekstrak Pegagan (*Centella asiatica*) Peroral. *Buletin Veteriner Udayana*, 5(1), 71–78.
- Susanty, S., & Bachmid, F. (2016). Perbandingan Metode Ekstraksi Maserasi Dan Refluks Terhadap Kadar Fenolik Dari Ekstrak Tongkol Jagung (*Zea mays* L.). *Jurnal Konversi*, 5(2), 87–92.
- Tetti, M. (2014). Ekstraksi, Pemisahan Senyawa, Dan Identifikasi Senyawa Aktif. *Jurnal Kesehatan*, 7(2).
- Wahyuningtyas, P., Sitasiwi, A. J., & Mardiyati, S. M. (2018). Hepatosomatic Index (HSI) Dan Diameter Hepatosit Mencit (*Mus musculus* L.) Setelah Paparan Ekstrak Air Biji Pepaya (*Carica papaya* L.).
- Waugh, A., & Grant, A. (2011). *Dasar-dasar anatomi dan fisiologi* (E. Nurachmah & R. Angriani, Eds.). Jakarta: Salemba Medika.
- Yang, L. (2016). Acute Kidney Injury in Asia. *Kidney Diseases*, 2(3), 95–102.
- Yuniarti, A. T., Januarti, I. B., & Latifah, F. (2019). Pengaruh Ekstrak Etanolik Umbi Bawang Lanang (*Allium sativum* L. Var. Solo Garlic) Terhadap Toksisitas Akut Dan Gambaran Histopatologi Organ Hati Pada Mencit Galur Swiss Webster. *SKRIPSI*.
- Yusuf, M. I., Wulaisfan, R., Haswika, H., & Wahyuni, W. (2018a). Uji Toksisitas Akut dan Gambaran Histopatologi Hepar Mencit yang Diberi Ekstrak Terpurifikasi Daun Galing (*Cayratia trifolia* L. Domin). *Pharmauho: Jurnal Farmasi, Sains, Dan Kesehatan*, 4(1), 12–15.
- Yusuf, M. I., Wulaisfan, R., Haswika, H., & Wahyuni, W. (2018b). Uji Toksisitas Akut dan Gambaran Histopatologi Hepar Mencit yang Diberi Ekstrak Terpurifikasi Daun Galing (*Cayratia trifolia* L. Domin). *Pharmauho: Jurnal Farmasi, Sains, Dan Kesehatan*, 4(1), 12–15.