PENGARUH PEMBERIAN EKSTRAK KULIT BAWANG MERAH TERHADAP HISTOMORFOMETRI JEJUNUM TIKUS WISTAR PADA UJI TOKSISITAS SUBKRONIS

SKRIPSI

Oleh

Risma Mayfa Anggraini
222010101062

KEMENTERIAN PENDIDIKAN TINGGI, SAINS, DAN TEKNOLOGI
UNIVERSITAS JEMBER
FAKULTAS KEDOKTERAN
PENDIDIKAN DOKTER
JEMBER
2026

PENGARUH PEMBERIAN EKSTRAK KULIT BAWANG MERAH TERHADAP HISTOMORFOMETRI JEJUNUM TIKUS WISTAR PADA UJI TOKSISITAS SUBKRONIS

diajukan untuk memenuhi sebagian persyaratan memperoleh gelar Sarjana pada program studi Pendidikan Dokter.

SKRIPSI

Oleh

Risma Mayfa Anggraini
222010101062

KEMENTERIAN PENDIDIKAN TINGGI, SAINS, DAN TEKNOLOGI
UNIVERSITAS JEMBER
FAKULTAS KEDOKTERAN
PENDIDIKAN DOKTER
JEMBER
2026

PERSEMBAHAN

Puji syukur penulis panjatkan kepada Allah SWT atas limpahan rahmat dan karunia-Nya sehingga penulis dapat menyelesaikan skripsi ini. Skripsi ini penulis persembahkan kepada:

1. Kedua orang tua penulis, Bapak Nurul Huda dan Ibu Solekah, yang telah memberikan doa restu, dukungan, serta kasih sayang yang tiada henti kepada penulis hingga saat ini;
2. Seluruh guru penulis sejak taman kanak-kanak hingga perguruan tinggi yang telah memberikan ilmu, nasihat, dan doanya kepada penulis;
3. Almamater tercinta, Fakultas Kedokteran Universitas Jember.

MOTTO

"Maka, sesungguhnya beserta kesulitan ada kemudahan. Sesungguhnya beserta kesulitan ada kemudahan."

(QS. Al-Insyirah 94: 5–6)

PERNYATAAN ORISINALITAS

Saya yang bertanda tangan di bawah ini :

Nama : Risma Mayfa Anggraini

NIM : 222010101062

Menyatakan dengan sesungguhnya bahwa skripsi yang berjudul *"Pengaruh Pemberian Ekstrak Kulit Bawang Merah Terhadap Histomorfometri Jejunum Tikus Wistar Pada Uji Toksisitas Subkronis"* adalah benar-benar hasil karya sendiri, kecuali jika dalam pengutipan substansi disebutkan sumbernya, dan belum pernah diajukan pada institusi manapun, serta bukan karya jiplakan. Saya bertanggung jawab atas keabsahan dan kebenaran isinya sesuai dengan sikap ilmiah yang harus dijunjung tinggi.

Demikian pernyataan ini saya buat dengan sebenarnya, tanpa adanya tekanan dan paksaan dari pihak manapun serta bersedia mendapat sanksi akademik jika ternyata di kemudian hari pernyataan ini tidak benar.

Jember, 17 Juli 2026

Yang menyatakan,

Risma Mayfa Anggraini

NIM 222010101062

HALAMAN PERSETUJUAN

Skripsi berjudul "*Pengaruh Pemberian Ekstrak Kulit Bawang Merah Terhadap Histomorfometri Jejunum Tikus Wistar Pada Uji Toksisitas Subkronis*" telah diuji dan disetujui oleh Fakultas Kedokteran Universitas Jember pada:

Hari : Jumat

Tanggal : 17 Juli 2026

Tempat : Fakultas Kedokteran Universitas Jember

Pembimbing — Tanda Tangan

1. Pembimbing Utama

   Nama : Dr. dr. Dina Helianti, M.Kes.

   NIP : 197411042000122001 (.....)

Penguji

1. Penguji Utama

   Nama : dr. Supangat, M.Kes., Ph.D., Sp.BA., FIAPS, FICPS

   NIP : 197304241999031002 (.....)

2. Penguji Anggota

   Nama : dr. Azham Purwandhono, M.Si., Sp.N.

   NIP : 198105182006041002 (.....)

ABSTRACT

Shallot peel (Allium cepa L.) contains quercetin, flavonoids, and phenolic compounds with antioxidant activity. However, repeated exposure to high doses of quercetin may produce prooxidant effects and potentially alter the intestinal mucosa. Therefore, the safety of shallot peel extract following repeated oral administration requires evaluation, particularly in the jejunum as a major site of absorption. This study aimed to evaluate the subchronic toxicity of shallot peel extract on the jejunal histomorphometry of Wistar rats based on villus height, crypt depth, and villus height-to-crypt depth ratio. This true experimental study used a post-test-only control group design involving 24 Wistar rats allocated into four groups. The control group received dimethyl sulfoxide, whereas the treatment groups received shallot peel extract orally at doses of 731, 1462, or 2924 mg/kg body weight for 28 consecutive days. High-performance liquid chromatography analysis showed that the extract contained approximately 130 mg of quercetin per gram of dry extract. On day 29, jejunal tissue was collected, processed, and stained with hematoxylin-eosin for histomorphometric examination. No significant difference in villus height was observed among the groups ($p = 0.989$). Significant differences were found in crypt depth ($p = 0.004$) and villus height-to-crypt depth ratio ($p = 0.014$). Crypt depth was significantly greater in the 1462 and 2924 mg/kg body weight groups than in the control group, whereas the 2924 mg/kg body weight group had a significantly lower villus height-to-crypt depth ratio than the control group. Although these parameters differed significantly, the changes were not considered sufficient to indicate toxicity within the scope of the evaluated histomorphometric parameters. In conclusion, subchronic administration of shallot peel extract for 28 days at doses up to 2924 mg/kg body weight did not show toxic effects on the jejunal histomorphometry of Wistar rats.

Keywords: shallot peel extract, quercetin, jejunal histomorphometry, subchronic toxicity, Wistar rats

RINGKASAN

Pengaruh Pemberian Ekstrak Kulit Bawang Merah Terhadap Histomorfometri Jejunum Tikus Wistar Pada Uji Toksisitas Subkronis; Risma Mayfa Anggraini 222010101062; 2026; 85 halaman; Program Studi Pendidikan Dokter Fakultas Kedokteran Universitas Jember.

Kulit bawang merah (*Allium cepa* L.) mengandung berbagai senyawa bioaktif, terutama kuersetin, flavonoid, dan senyawa fenolik yang memiliki aktivitas antioksidan. Namun, pada dosis tinggi atau setelah paparan berulang, kuersetin dapat menunjukkan aktivitas prooksidan yang berpotensi memicu stres oksidatif dan memengaruhi struktur jaringan. Oleh karena itu, pemanfaatan ekstrak kulit bawang merah sebagai bahan alami perlu disertai evaluasi keamanan setelah pemberian oral secara berulang. Jejunum merupakan salah satu bagian utama usus halus yang mengalami paparan terhadap senyawa yang diberikan secara oral dan berperan penting dalam proses absorpsi. Penelitian ini bertujuan untuk mengevaluasi potensi toksisitas subkronis ekstrak kulit bawang merah terhadap histomorfometri jejunum tikus Wistar berdasarkan tinggi vili, kedalaman kripta, dan rasio tinggi vili terhadap kedalaman kripta.

Penelitian ini merupakan penelitian eksperimental murni dengan rancangan *posttest-only control group design* menggunakan 24 ekor tikus Wistar yang dibagi menjadi empat kelompok. Analisis menggunakan *High-Performance Liquid Chromatography* menunjukkan bahwa ekstrak kulit bawang merah mengandung kuersetin sekitar 130 mg/g berat kering ekstrak. Kelompok kontrol diberi dimetil sulfoksida, sedangkan kelompok perlakuan diberi ekstrak kulit bawang merah secara oral selama 28 hari berturut-turut dengan dosis 731 mg/kgBB, 1462 mg/kgBB, dan 2924 mg/kgBB. Pada hari ke-29, jejunum diambil dan diproses menjadi preparat histologi dengan pewarnaan Hematoksilin-Eosin. Parameter histomorfometri yang diamati meliputi tinggi vili, kedalaman kripta, dan rasio tinggi vili terhadap kedalaman kripta.

Hasil penelitian menunjukkan bahwa tidak terdapat perbedaan bermakna pada tinggi vili jejunum antarkelompok ($p = 0,989$). Sebaliknya, terdapat perbedaan bermakna pada kedalaman kripta ($p = 0,004$) dan rasio tinggi vili terhadap kedalaman kripta ($p = 0,014$). Kelompok dosis 1462 mg/kgBB dan 2924 mg/kgBB memiliki kedalaman kripta yang secara bermakna lebih tinggi dibandingkan kelompok kontrol, sedangkan kelompok dosis 731 mg/kgBB tidak berbeda bermakna dari kelompok kontrol. Pada parameter rasio tinggi vili terhadap kedalaman kripta, kelompok dosis 2924 mg/kgBB memiliki rasio yang secara bermakna lebih rendah dibandingkan kelompok kontrol.

Meskipun terdapat perbedaan bermakna pada kedalaman kripta dan rasio tinggi vili terhadap kedalaman kripta, perubahan tersebut tidak diinterpretasikan sebagai efek toksik dalam lingkup parameter histomorfometri yang dievaluasi. Berdasarkan hasil penelitian, pemberian ekstrak kulit bawang merah secara subkronis selama 28 hari pada dosis 731 mg/kgBB, 1462 mg/kgBB, dan 2924 mg/kgBB tidak menunjukkan efek toksik terhadap jejunum tikus Wistar

berdasarkan tinggi vili, kedalaman kripta, dan rasio tinggi vili terhadap kedalaman kripta. Dengan demikian, ekstrak kulit bawang merah hingga dosis 2924 mg/kgBB tidak bersifat toksik terhadap histomorfometri jejunum tikus Wistar.

PRAKATA

Puji syukur kehadirat Allah SWT yang telah memberikan rahmat-Nya sehingga penulis dapat menyelesaikan skripsi yang berjudul "*Pengaruh Pemberian Ekstrak Kulit Bawang Merah Terhadap Histomorfometri Jejunum Tikus Wistar Pada Uji Toksisitas Subkronis*". Skripsi ini disusun dengan tujuan untuk memenuhi salah satu syarat menyelesaikan pendidikan strata satu (S1) pada Fakultas Kedokteran Universitas Jember.

Penyusunan skripsi ini tidak lepas dari dukungan dan bantuan berbagai pihak. Oleh karena itu, penulis menyampaikan ucapan terima kasih kepada:

1. dr. Ulfa Elfiah, M.Kes., Sp.BP-RE., Subsp.L.B.L.(K) selaku Dekan Fakultas Kedokteran Universitas Jember;
2. Dr. dr. Dina Helianti, M.Kes., selaku Dosen Pembimbing Utama yang telah memberikan bimbingan, arahan, dan nasihat selama proses penyusunan skripsi ini;
3. dr. Supangat, M.Kes., Ph.D., Sp.BA., FIAPS, FICPS, selaku Dosen Penguji Utama dan dr. Azham Purwandhono, M.Si., Sp.N., selaku Dosen Penguji Anggota yang telah memberikan saran dan masukan dalam penyusunan skripsi ini;
4. dr. Azham Purwandhono, M.Si., Sp.N., selaku Dosen Pembimbing Akademik yang senantiasa memberikan nasihat dan bimbingan selama penulis menempuh pendidikan;
5. Segenap dosen Fakultas Kedokteran Universitas Jember yang telah memberikan ilmu dan pengalaman kepada penulis selama masa pendidikan;
6. Seluruh staf Fakultas Kedokteran Universitas Jember yang telah membantu penulis dalam berbagai hal selama proses pendidikan dan penyusunan skripsi ini;
7. Kedua orang tua penulis, Bapak Nurul Huda dan Ibu Solekah, yang senantiasa memberikan doa, kasih sayang, dukungan, dan semangat tanpa henti kepada penulis hingga saat ini. Penulis juga menyampaikan terima

kasih kepada seluruh keluarga besar yang tidak dapat disebutkan satu per satu atas doa, perhatian, dan dukungan yang telah diberikan;

8. Seluruh rekan Kelompok Riset Histologi 2025, Layda Maharani, Rifka Rahmayanti Rafida, Gusti Ayu Indira Ananda, dan Pradipta Pawitradyaka Wardhono, yang telah bekerja keras, saling membantu, dan membersamai penulis dalam menyelesaikan penelitian ini;
9. Teman-teman penulis, yaitu Serinda, Arinda, Inge, Galuh, Alsa, Intan, dan Cika, yang selalu mendukung, membantu, dan menghibur penulis, terutama selama proses penyusunan skripsi ini;
10. Rekan-rekan sekaligus saudara di TBM VERTEX, khususnya VER-20, yang senantiasa menjadi keluarga bagi penulis hingga saat ini. Penulis juga menyampaikan terima kasih kepada seluruh anggota DIKLAT 2025, yaitu Jihan, Cika, Rayhan, dan Fardian, yang telah membersamai penulis dalam proses belajar, berkembang, dan menjadi pribadi yang lebih baik;
11. Teman-teman angkatan CEREBELLUM 2022 yang telah menyertai penulis berproses selama masa pendidikan di Fakultas Kedokteran Universitas Jember.
12. Semua pihak yang telah membantu penulis dalam penyusunan skripsi ini yang tidak dapat disebutkan satu per satu.

Penulis menyadari bahwa penyusunan skripsi ini masih jauh dari kata sempurna, Oleh karena itu, penulis menerima kritik dan saran dari semua pihak. Akhir kata, penulis berharap agar skripsi ini dapat bermanfaat.

Jember, Juli 2026

Penulis

DAFTAR ISI

HALAMAN JUDUL ..... **i**
HALAMAN SAMPUL ..... **i**
PERSEMBAHAN ..... **iii**
MOTTO ..... **iv**
PERNYATAAN ORISINALITAS ..... **v**
HALAMAN PERSETUJUAN ..... **vi**
ABSTRACT ..... **vii**
RINGKASAN ..... **viii**
PRAKATA ..... **x**
DAFTAR ISI ..... **xii**
DAFTAR TABEL ..... **xiv**
DAFTAR LAMPIRAN ..... **xvi**
DAFTAR ISTILAH DAN SINGKATAN ..... **xvii**
BAB 1. PENDAHULUAN **1**
1.1 Latar Belakang 1
1.2 Rumusan Masalah 2
1.3 Tujuan Penelitian 3
1.3.1. Tujuan Umum 3
1.3.2. Tujuan Khusus 3
1.4 Manfaat Penelitian 3
BAB 2. TINJAUAN TEORI **5**
2.1 Bawang Merah 5
2.2 Kulit Bawang Merah 6
2.3 Kuersetin 8
2.3.1. Struktur Kimia Kuersetin 8
2.3.2. Absorpsi dan Bioavailabilitas Kuersetin 9
2.3.3. Aktivitas Biologis Kuersetin 10
2.4 Antioksidan 11
2.5 Prooksidan 13
2.6 Radikal Bebas, ROS, dan Stres Oksidatif 14
2.7 Jejunum 16
2.7.1. Anatomi dan Histologi Jejunum 16
2.7.2. Fungsi Absorpsi dan Relevansi Jejunum terhadap Paparan Oral 18
2.8 Histomorfometri Jejunum 19
2.9 Uji Toksisitas 20
2.9.1. Uji Toksisitas Subkronis Oral 28 hari 21
2.9.2. Uji Toksisitas Subkronis Oral Guideline OECD 407 21
2.10 Kerangka Teori 23
2.11 Kerangka Konsep 25

2.12 Hipotesis Penelitian 25
BAB 3. METODOLOGI PENELITIAN 27
3.1 Jenis dan Rancangan Penelitian 27
3.2 Lokasi dan Waktu Penelitian 28
3.3 Unit Eksperimental 28
3.4 Jenis dan Sumber Data 29
3.5 Variabel Penelitian 29
3.5.1. Variabel Bebas 29
3.5.2. Variabel Terikat 29
3.5.3. Variabel Kontrol 29
3.6 Definisi Operasional Variabel dan Skala Pengukuran 30
3.7 Instrumen Penelitian 31
3.8 Prosedur Penelitian 32
3.8.1. Uji Kelayakan Etik 32
3.8.2. Identifikasi Kulit Bawang Merah 33
3.8.3. Pembuatan Simplisia Kulit Bawang Merah 33
3.8.4. Pembuatan Ekstrak Kulit Bawang Merah 33
3.8.5. Penentuan Dosis Ekstrak Kulit Bawang Merah 33
3.8.6. Perlakuan Hewan Coba 34
3.8.7. Pembuatan dan Pengamatan Preparat Histologi Jejunum 36
3.9 Analisis Data 36
3.10 Alur Penelitian 37
BAB 4. HASIL DAN PEMBAHASAN 38
4.1 Hasil Penelitian 38
4.1.1. Hasil Pengukuran Tinggi Vili Jejunum 38
4.1.2. Hasil Pengukuran Kedalaman Kripta Jejunum 39
4.1.3. Hasil Pengukuran Rasio Tinggi Vili terhadap Kedalaman Kripta Jejunum……. 40
4.2 Analisis Data 42
4.2.1. Analisis Data Tinggi Vili Jejunum 42
4.2.2. Analisis Data Kedalaman Kripta Jejunum 43
4.2.3. Analisis Data Rasio Tinggi Vili terhadap Kedalaman Kripta Jejunum……. 46
4.3 Pembahasan 48
BAB 5. KESIMPULAN DAN SARAN 57
5.1 Kesimpulan 57
5.2 Keterbatasan Penelitian 57
5.3 Saran 57
DAFTAR PUSTAKA 59
LAMPIRAN 68

DAFTAR TABEL

Tabel 3.1 Definisi Operasional 30
Tabel 3.2 Instrumen Penelitian 32
Tabel 4. 1 Hasil uji Shapiro-Wilk tinggi vili jejunum 43
Tabel 4. 2 Hasil Uji Levene tinggi vili jejunum 43
Tabel 4. 3 Hasil uji Welch ANOVA tinggi vili jejunum 43
Tabel 4. 4 Hasil uji Shapiro-Wilk kedalaman kripta jejunum 44
Tabel 4. 5 Hasil Uji Levene kedalaman kripta jejunum 44
Tabel 4. 6 Hasil uji Kruskal-Wallis kedalaman kripta jejunum 44
Tabel 4. 7 Hasil uji Mann-Whitney U kedalaman kripta jejunum 45
Tabel 4. 8 Hasil uji lanjut perbandingan berpasangan kedalaman kripta jejunum dengan koreksi Bonferroni 45
Tabel 4. 9 Hasil uji Shapiro-Wilk rasio tinggi vili terhadap kedalaman kripta jejunum 46
Tabel 4. 10 Hasil Uji Levene rasio tinggi vili terhadap kedalam kripta jejunum 46
Tabel 4. 11 Hasil uji Kruskal-Wallis rasio tinggi vili terhadap kedalaman kripta jejunum 47
Tabel 4. 12 Hasil uji Mann-Whitney U rasio tinggi vili terhadap kedalaman kripta jejunum 47
Tabel 4. 13 Hasil uji lanjut perbandingan berpasangan rasio tinggi vili terhadap kedalaman kripta jejunum dengan koreksi Bonferroni 48

DAFTAR GAMBAR

Gambar 2.1 Struktur Molekul Kuersetin 9
Gambar 2.2 Klasifikasi Antioksidan 12
Gambar 2.3 Klasifikasi Spesies Reaktif Beserta Contohnya 14
Gambar 2.4 Anatomi Saluran Pencernaan Bagian Usus 16
Gambar 2.5 Struktur Histologi Jejunum 17
Gambar 2.6 Parameter Histomorfometri Usus Halus 19
Gambar 2.7 Kerangka Teori 23
Gambar 2.8 Kerangka Konsep 25
Gambar 3.1 Skema Rancangan Penelitian 27
Gambar 3.2 Pengukuran Histomorfometri Jejunum 31
Gambar 3.3 Alur Penelitian 37
Gambar 4. 1 Hasil Pengukuran Tinggi Vili Jejunum 39
Gambar 4. 2 Hasil Pengukuran Kedalaman Kripta Jejunum 40
Gambar 4. 3 Gambaran histomorfometri jejunum 41
Gambar 4. 4 Hasil Pengukuran Rasio Tinggi Vili Terhadap Kedalaman Kripta Jejunum 41

DAFTAR LAMPIRAN

Lampiran 1 Lembar Persetujuan Etik Penelitian 68
Lampiran 2 Surat Keterangan Identifikasi Bawang Merah 68
Lampiran 3 Sertifikat Tes HPLC Kuersetin Ekstrak Kulit Bawang Merah 68
Lampiran 4 Prosedur Pembuatan Simplisia Kulit Bawang Merah 68
Lampiran 5 Prosedur Pembuatan Ekstrak Kulit Bawang Merah 68
Lampiran 6 Prosedur Pembuatan Sediaan Ekstrak Kulit Bawang Merah 68
Lampiran 7 Prosedur Randomisasi Kelompok Hewan Coba 68
Lampiran 8 Prosedur Terminasi dan Pengambilan Jejunum 68
Lampiran 9 Prosedur Pembuatan dan Pewarnaan Preparat Histologi Jejunum 68
Lampiran 10 Prosedur Pengukuran Tinggi Vili dan Kedalaman Kripta 68
Lampiran 11 Data Hasil Pengukuran Tinggi Vili Jejunum 68
Lampiran 12 Analisis Data Tinggi Vili Jejunum 68
Lampiran 13 Data Hasil Pengukuran Kedalaman Kripta Jejunum 68
Lampiran 14 Analisis Data Kedalaman Kripta Jejunum 68
Lampiran 15 Data Hasil Pegukuran Rasio Vili Terhadap Kripta Jejunum 68
Lampiran 16 Analisis Data Rasio Vili Terhadap Kripta Jejunum 68
Lampiran 17 Dokumentasi Penelitian 68

DAFTAR ISTILAH DAN SINGKATAN

Singkatan	Arti/Keterangan
BB	: Berat Badan
BNF	: *Buffered Neutral Formalin*
CD	: *Crypt Depth*
DMSO	: Dimetil Sulfoksida / *Dimethyl Sulfoxide*
EKBM	: Ekstrak Kulit Bawang Merah
GPx	: Glutathione Peroxidase
H&E / HE	: Hematoksilin-Eosin / *Hematoxylin-Eosin*
H_2O_2	: Hidrogen Peroksida / *Hydrogen Peroxide*
HPLC	: *High-Performance Liquid Chromatography*
LPH	: *Lactase Phlorizin Hydrolase*
NOAEL	: *No Observed Adverse Effect Level*
OECD	: *Organisation for Economic Co-operation and Development*
Rasio V/K	: Rasio Tinggi Vili terhadap Kedalaman Kripta
ROS	: *Reactive Oxygen Species*
VH	: *Villus Height*
VH/CD Ratio	: *Villus Height/Crypt Depth Ratio*
ZO	: *Zonula Occludens*

BAB 1. PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

Bawang merah (*Allium cepa* L.) merupakan salah satu tanaman hortikultura yang banyak dimanfaatkan oleh masyarakat Indonesia, baik sebagai bahan pangan maupun sebagai bahan obat tradisional (Jaya Edy *et al*., 2022). Tanaman ini mengandung berbagai senyawa bioaktif, seperti flavonoid (kuersetin), senyawa fenolik, dan organosulfur, yang berperan sebagai antioksidan dan antimikroba (Avianda Gusman *et al*., 2024). Selain itu, bagian kulit bawang merah yang selama ini dianggap sebagai limbah dilaporkan memiliki kandungan flavonoid 3–5 kali lebih tinggi dibandingkan bagian umbi, sehingga berpotensi sebagai sumber antioksidan alami (Bardos *et al*., 2018).

Salah satu flavonoid utama dalam kulit bawang merah adalah kuersetin yang dilaporkan memiliki efek bersifat *dose-dependent*, yaitu berperan sebagai antioksidan pada konsentrasi rendah, namun dapat bersifat prooksidan pada konsentrasi tinggi (Rajesh R & Dhanaraj, 2023; Vieira-Frez *et al*., 2020). Efek prooksidan ini dapat meningkatkan produksi *reactive oxygen species* (ROS) secara berlebihan, sehingga memicu terjadinya stres oksidatif. Kondisi tersebut dapat menyebabkan kerusakan komponen seluler, seperti lipid, protein, dan DNA yang berujung pada gangguan struktur dan fungsi jaringan (Gulcin, 2020; Pizzino et al., 2017).

Kuersetin umumnya masuk ke dalam tubuh melalui konsumsi bahan pangan yang mengandung senyawa tersebut, sehingga saluran pencernaan menjadi organ pertama yang terpapar. Absorpsi kuersetin terutama terjadi di usus halus, khususnya jejunum, yang memiliki luas permukaan dan aktivitas enzimatik tinggi (Di Tommaso *et al*., 2021). Karakteristik ini menyebabkan jejunum lebih rentan mengalami perubahan struktur dan fungsi akibat paparan senyawa secara berulang. Kerentanan tersebut berkaitan dengan peran jejunum sebagai bagian dari sistem barrier usus, yang tersusun atas lapisan mukus, sel epitel, dan *tight junction* yang mengatur permeabilitas usus (Di Tommaso *et al*., 2021).

Pada usus halus, khususnya jejunum, lapisan mukus relatif lebih tipis sehingga meningkatkan kemungkinan terjadinya interaksi antar zat dalam lumen usus, termasuk senyawa bioaktif dan zat yang berpotensi toksik, dengan epitel usus (Miyazaki *et al*., 2023). Dalam kondisi paparan berulang dan berlebihan, peningkatan ROS dapat memicu terjadinya stres oksidatif yang menyebabkan kerusakan sel epitel usus (enterosit) serta gangguan integritas *tight junction* (Wang *et al*., 2020). Kerusakan tersebut berdampak pada perubahan struktur mukosa usus, seperti pemendekan vili dan perubahan kedalaman kripta. Perubahan ini dapat diamati secara kuantitatif melalui analisis histomorfometri, yaitu tinggi vili, kedalaman kripta, dan rasio tinggi vili terhadap kedalaman kripta sebagai indikator kondisi mukosa dan kapasitas absorpsi usus (Segú *et al*., 2022; Seyyedin & Nazem, 2017; Wang *et al*., 2020).

Paparan senyawa bioaktif secara berulang, khususnya yang bersifat prooksidan, berpotensi menimbulkan efek toksik kumulatif, sehingga diperlukan evaluasi melalui uji toksisitas subkronis. Meskipun ekstrak kulit bawang merah memiliki potensi sebagai antioksidan alami, penelitian yang ada masih berfokus pada aktivitas farmakologisnya, sementara evaluasi mengenai potensi efek toksik terhadap struktur mukosa usus, khususnya melalui histomorfometri jejunum, masih terbatas. Oleh karena itu, penelitian ini dilakukan untuk menganalisis pengaruh pemberian ekstrak kulit bawang merah (*Allium cepa* L.) terhadap perubahan histomorfometri jejunum tikus Wistar (*Rattus norvegicus*) sebagai indikator kerusakan mukosa usus akibat stres oksidatif.

1.2 Rumusan Masalah

Berdasarkan latar belakang yang telah diuraikan, rumusan masalah dalam penelitian ini adalah apakah pemberian ekstrak kulit bawang merah (*Allium cepa* L.) berpengaruh terhadap histomorfometri jejunum tikus Wistar (*Rattus norvegicus*) pada uji toksisitas subkronis?

1.3 Tujuan Penelitian

1.3.1. Tujuan Umum

Tujuan umum penelitian ini adalah untuk mengetahui pengaruh pemberian ekstrak kulit bawang merah (*Allium cepa* L.) terhadap histomorfometri jejunum tikus Wistar (*Rattus norvegicus*) pada uji toksisitas subkronis.

1.3.2. Tujuan Khusus

Tujuan khusus penelitian ini adalah untuk menganalisis pengaruh pemberian ekstrak kulit bawang merah (*Allium cepa* L.) terhadap perubahan histomorfometri jejunum tikus Wistar (*Rattus norvegicus*) pada uji toksisitas subkronis, yang meliputi parameter:

1. Tinggi vili jejunum
2. Kedalaman kripta jejunum
3. Rasio tinggi vili terhadap kedalaman kripta

1.4 Manfaat Penelitian

Penelitian ini diharapkan dapat memberikan data ilmiah mengenai pengaruh pemberian ekstrak kulit bawang merah (*Allium cepa* L.) terhadap histomorfometri tikus Wistar (*Rattus norvegicus*) pada uji toksisitas subkronis. Penelitian ini memiliki manfaat secara teoritis dan praktis. Secara teoritis, penelitian ini diharapkan dapat menambah pengetahuan di bidang agromedis dan toksikologi bahan alam, khususnya terkait keamanan penggunaan ekstrak kulit bawang merah serta pengaruhnya terhadap mukosa jejunum berdasarkan pengukuran histomorfometri jejunum. Selain itu, hasil penelitian ini diharapkan dapat menjadi referensi dan data pendukung bagi penelitian selanjutnya yang berkaitan dengan pemanfaatan limbah bahan alam dan uji toksisitas subkronis. Secara praktis, penelitian ini diharapkan dapat menjadi bahan pertimbangan bagi masyarakat dan pemangku kebijakan dalam pemanfaatan bahan alami, khususnya penggunaan

ekstrak kulit bawang merah secara aman, sehingga dapat mencegah potensi masalah kesehatan akibat paparan senyawa bioaktif dalam jangka panjang.

BAB 2. TINJAUAN TEORI

2.1 Bawang Merah

Bawang merah dengan nama lain (*Allium cepa* L.) merupakan salah satu tanaman hortikultura yang banyak dikonsumsi oleh masyarakat, khususnya di wilayah Asia Tenggara. Di Indonesia, bawang merah secara luas digunakan sebagai bumbu penyedap masakan karena memiliki aroma dan cita rasa yang khas. Selain dimanfaatkan sebagai bahan pangan, bawang merah juga telah lama digunakan dalam pengobatan tradisional untuk membantu mengatasi berbagai gangguan kesehatan, seperti batuk, peradangan, dan diabetes (Jaya Edy *et al*., 2022; Sunniyyah Farah Tsaabitah, 2025).

Secara taksonomi, bawang merah dapat diklasifikasikan sebagai berikut:

Kingdom : *Plantae*
Divisio : *Spermatophyta*
Subdivisi : *Angiospermae*
Class : *Monocotyledonae*
Ordo : *Liliales*
Family : *Liliaceae*
Genus : *Allium*
Species : *Allium cepa* L. (K. Sarath *et al*., 2023)

Secara morfologi, bawang merah merupakan tanaman herba menahun dengan batang termodifikasi berupa umbi lapis yang tumbuh di bawah permukaan tanah dan memiliki sistem perakaran serabut. Bagian umbi tersusun atas pelepah daun berdaging dan berlapis-lapis. Bunga bawang merah tersusun dalam bentuk bunga majemuk yang muncul pada tangkai bunga tanpa daun, sedangkan buahnya berupa kapsul yang mengandung biji berendosperm (Chakraborty *et al*., 2022).

Bawang merah diketahui mengandung berbagai senyawa bioaktif, seperti flavonoid, polifenol, saponin, alkaloid, serta senyawa organosulfur. Salah satu flavonoid utama yang dominan terdapat pada bawang merah adalah kuersetin beserta turunannya seperti *quercetin glucosides* (Zhao *et al*., 2021). Selain itu,

bawang merah juga mengandung berbagai vitamin dan mineral, antara lain vitamin B1, vitamin B2, vitamin C, zat besi, fosfor, dan kalsium (Rusli *et al*., 2020).

Berbagai kandungan bioaktif tersebut diketahui memiliki aktivitas farmakologis, seperti antioksidan, antiinflamasi, imunomodulator, antibakteri, antivirus, antijamur, serta berpotensi sebagai antikanker (Sunniyyah Farah Tsaabitah, 2025; Zhao *et al*., 2021). Aktivitas biologis tersebut terutama berkaitan dengan kemampuan senyawa fenolik dan flavonoid dalam menangkap radikal bebas, menghambat stres oksidatif, serta memodulasi jalur inflamasi seluler. Selain itu, beberapa penelitian melaporkan bahwa senyawa bioaktif bawang merah juga mampu memberikan efek protektif terhadap sistem pencernaan melalui modulasi *gut microbiota*, perbaikan histomorfologi usus, serta penurunan inflamasi pada mukosa usus (Zhao *et al*., 2021). Oleh karena itu, bawang merah berpotensi dikembangkan sebagai sumber bahan alam dalam bidang farmasi dan kesehatan.

Salah satu varietas bawang merah yang banyak dibudidayakan oleh petani adalah varietas Biru Lancor (*Allium cepa* L. var. *aggregatum*). Varietas ini merupakan varietas bawang merah lokal unggul dari Probolinggo, Jawa Timur, yang dikenal memiliki karakteristik umbi yang khas. Biru Lancor memiliki kadar air yang relatif rendah sehingga tekstur umbinya lebih keras, serta memiliki rasa yang tajam dan aroma yang kuat sehingga banyak dimanfaatkan sebagai bahan baku olahan bawang goreng (Trismawati *et al*., 2018). Selain itu, varietas Biru Lancor juga memiliki beberapa keunggulan agronomis, seperti jumlah anakan yang banyak, yaitu sekitar 8–12 anakan, umur panen relatif singkat, daya simpan yang dapat mencapai beberapa bulan, serta produktivitas yang cukup tinggi. Keunggulan tersebut menjadikan Biru Lancor banyak diminati dan dikembangkan oleh masyarakat, khususnya di wilayah Probolinggo (Qomariah & Zainuddin, 2023). Oleh karena itu, varietas Biru Lancor dipilih sebagai bahan dalam penelitian ini.

2.2 Kulit Bawang Merah

Kulit bawang merah merupakan lapisan terluar dari umbi bawang merah yang umumnya terbuang selama proses pengolahan sehingga berakhir sebagai limbah. Meskipun sering dianggap tidak memiliki nilai guna, bagian ini diketahui

mengandung berbagai senyawa bioaktif dengan aktivitas biologis yang tinggi. Namun, pemanfaatan kulit bawang merah di masyarakat masih terbatas karena kurangnya informasi mengenai kandungan senyawa bioaktif serta manfaat biologisnya (Dalimunthe *et al*., 2024; Eliza Putri & Astika Winahyu, 2023).

Kulit bawang merah dilaporkan mengandung berbagai komponen bioaktif seperti flavonoid, polifenol, saponin, antosianin, serta senyawa organosulfur yang berkontribusi terhadap berbagai aktivitas farmakologis, antara lain sebagai antioksidan, antiinflamasi, antimikroba, imunomodulator, dan agen kemopreventif (Gorrepati *et al*., 2024; Joković *et al*., 2024; Kumar *et al*., 2022; Zhao *et al*., 2021). Kandungan senyawa fenolik dan flavonoid pada kulit bawang merah bahkan dilaporkan lebih tinggi dibandingkan bagian umbinya, sehingga berpotensi dikembangkan sebagai sumber bahan alam dalam bidang farmasi dan kesehatan (Joković *et al*., 2024; Zhao *et al*., 2021). Berbagai penelitian menunjukkan bahwa flavonoid utama yang dominan ditemukan pada bagian kulit bawang merah adalah kuersetin beserta turunannya, seperti *quercetin glucosides*. Selain itu, kulit bawang merah juga mengandung senyawa fenolik lain seperti kaempferol, isorhamnetin, asam protokatekuat, asam p-kumarat, catechin, epicatechin, dan antosianin yang turut berkontribusi terhadap aktivitas biologisnya (Bavaro *et al*., 2025; Gorrepati *et al*., 2024; Kumar *et al*., 2022).

Kandungan polifenol yang tinggi pada kulit bawang merah diketahui berperan dalam menangkal radikal bebas, menghambat stres oksidatif, serta melindungi sel dari kerusakan biomolekul akibat *reactive oxygen species* (ROS). Aktivitas tersebut berkaitan dengan kemampuan senyawa fenolik dalam mendonorkan elektron, menangkap radikal bebas, serta memodulasi sistem pertahanan antioksidan seluler (Gorrepati *et al*., 2024; Kumar *et al*., 2022). Selain memiliki aktivitas antioksidan, ekstrak kulit bawang merah juga dilaporkan memiliki aktivitas antimikroba terhadap berbagai bakteri dan jamur patogen serta mampu memodulasi respons inflamasi (Joković *et al*., 2024).

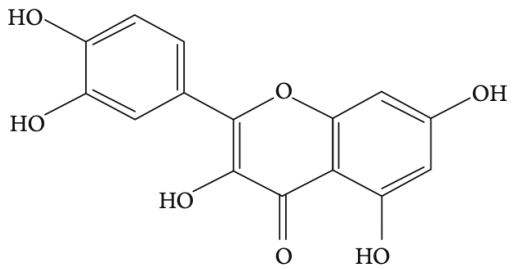
2.3 Kuersetin

Kuersetin merupakan senyawa polifenol alami yang termasuk dalam golongan flavonoid, khususnya flavonol. Senyawa ini banyak ditemukan pada berbagai buah dan sayuran, seperti apel, brokoli, anggur, tomat, teh, dan bawang merah (*Allium cepa* L.). Pada bawang merah, kuersetin merupakan salah satu flavonol dominan yang ditemukan dalam bentuk bebas maupun terkonjugasi, seperti quercetin-3-O-glukosida, quercetin-4′-O-glukosida, dan quercetin-3,4′-O-diglukosida (Kumar *et al*., 2022; Zhao *et al*., 2021).

Kuersetin diketahui memiliki berbagai aktivitas biologis yang luas, antara lain sebagai antioksidan, antiinflamasi, imunomodulator, antivirus, antiproliferatif, dan *metal-chelating* (Li *et al*., 2016). Kandungan kuersetin pada kulit bawang merah dilaporkan lebih tinggi dibandingkan bagian umbinya sehingga kulit bawang merah berpotensi menjadi sumber alami kuersetin dalam bidang farmasi dan nutraseutikal (Joković *et al*., 2024; Kumar *et al*., 2022).

2.3.1. Struktur Kimia Kuersetin

Kuersetin termasuk flavonoid golongan flavonol yang memiliki kerangka dasar *diphenylpropane* (C6-C3-C6), berupa dua cincin aromatik (A dan B) yang dihubungkan oleh cincin heterosiklik (C). Secara nomenklatur IUPAC, kuersetin dikenal sebagai 3,3′,4′,5,7-*pentahydroxyflavone* karena memiliki lima gugus hidroksil pada struktur kimianya (Li *et al*., 2016). Keberadaan gugus hidroksil tersebut berperan penting terhadap aktivitas biologis kuersetin, terutama sebagai antioksidan dan pengkelat ion logam transisi. Gugus hidroksil memungkinkan kuersetin mendonorkan elektron atau atom hidrogen untuk menstabilkan radikal bebas sehingga berperan dalam menghambat reaksi oksidatif berantai dan peroksidasi lipid (Li *et al*., 2016; Markowska *et al*., 2024).



Gambar 2.1 Struktur Molekul Kuersetin (Sumber: Yang *et al*., 2020)

Selain berperan sebagai penangkap radikal bebas, struktur flavonol pada kuersetin juga memungkinkan interaksi dengan ion logam transisi seperti Fe^{2+} dan Cu^{+} melalui mekanisme *metal-chelating*. Namun, pada kondisi tertentu interaksi tersebut dapat memicu reaksi redoks dan *redox cycling* yang meningkatkan pembentukan ROS, sehingga kuersetin dapat menunjukkan aktivitas prooksidan (Markowska *et al*., 2024).

2.3.2. Absorpsi dan Bioavailabilitas Kuersetin

Kuersetin dapat ditemukan dalam bentuk aglikon maupun glikosida. Pada bawang merah, kuersetin glikosida merupakan bentuk yang dominan ditemukan. Bentuk glikosida tertentu cenderung memiliki kelarutan dan bioavailabilitas yang lebih baik dibandingkan bentuk aglikon, sehingga dapat memengaruhi proses absorpsi kuersetin di saluran pencernaan (Bavaro *et al*., 2025; Dabeek & Marra, 2019; Zhao *et al*., 2021).

Kuersetin umumnya dikonsumsi dalam bentuk glikosida dan mengalami absorpsi terutama di usus halus. Proses absorpsi diawali dengan deglikosilasi oleh enzim pada *brush border*, terutama *lactase phlorizin hydrolase* (LPH), sehingga kuersetin dalam bentuk aglikon dapat diserap oleh enterosit. Absorpsi terutama berlangsung pada bagian proksimal usus halus, termasuk jejunum, yang memiliki luas permukaan absorpsi tinggi serta aktivitas enzimatik yang aktif (Dabeek & Marra, 2019; Uyanga *et al*., 2021).

Setelah masuk ke enterosit, kuersetin mengalami metabolisme fase II melalui proses glukuronidasi, sulfasi, dan metilasi yang dikatalisis oleh

enzim *UDP-glucuronosyl transferase* (UGT), *sulfotransferase* (SULT), dan *catechol-O-methyl transferase* (COMT). Selanjutnya, metabolit kuersetin dapat masuk ke sirkulasi sistemik dan didistribusikan ke berbagai jaringan tubuh (Uyanga *et al*., 2021; Zhao *et al*., 2021).

Meskipun absorpsi kuersetin terutama terjadi di usus halus, sebagian kuersetin yang tidak terserap dapat mencapai kolon dan mengalami metabolisme lanjutan oleh *gut microbiota* menjadi metabolit fenolik yang lebih sederhana. Proses tersebut turut berkontribusi terhadap aktivitas biologis kuersetin di dalam tubuh (Uyanga *et al*., 2021; Zhao *et al*., 2021).

2.3.3. Aktivitas Biologis Kuersetin

Kuersetin diketahui memiliki berbagai aktivitas biologis, antara lain sebagai antioksidan, antiinflamasi, imunomodulator, serta pengkelat ion logam. Aktivitas biologis tersebut bersifat kompleks dan dipengaruhi oleh konsentrasi, durasi paparan, bentuk senyawa, serta kondisi lingkungan redoks seluler. Pada konsentrasi rendah hingga sedang, kuersetin umumnya berperan sebagai antioksidan, sedangkan pada konsentrasi tinggi atau kondisi tertentu, kuersetin dapat menunjukkan aktivitas prooksidan yang berpotensi meningkatkan pembentukan ROS (Kumar *et al*., 2022; Li *et al*., 2016; Markowska *et al*., 2024; Xu *et al*., 2019).

Aktivitas antioksidan kuersetin berkaitan dengan struktur flavonol dan keberadaan gugus hidroksil pada cincin aromatiknya. Gugus hidroksil tersebut memungkinkan kuersetin mendonorkan elektron atau atom hidrogen untuk menstabilkan radikal bebas, sehingga berperan dalam menghambat reaksi oksidatif berantai dan peroksidasi lipid. Selain itu, kuersetin juga dilaporkan dapat menangkap berbagai ROS dan mengkelat ion logam transisi yang berperan dalam pembentukan ROS pada kondisi tertentu (Gulcin, 2025; Li *et al*., 2016). Selain bekerja secara langsung sebagai antioksidan, kuersetin juga dilaporkan dapat memengaruhi jalur biologis yang berkaitan dengan pertahanan antioksidan endogen dan respons inflamasi. Mekanisme tersebut dapat berkontribusi terhadap efek

protektif kuersetin pada kondisi yang melibatkan stres oksidatif dan inflamasi (Kumar *et al*., 2022; Li *et al*., 2016; Markowska *et al*., 2024).

Pada saluran cerna, kuersetin dilaporkan dapat membantu menjaga integritas barrier usus melalui peningkatan ekspresi protein *tight junction* seperti *occludin*, *claudin*, dan *zonula occludens* (ZO), sehingga membantu mempertahankan homeostasis mukosa usus dan menurunkan permeabilitas intestinal. Selain itu, kuersetin juga diketahui mampu memodulasi komposisi *gut microbiota* dengan meningkatkan populasi bakteri menguntungkan seperti *Lactobacillus* dan *Bifidobacterium* serta menurunkan bakteri patogen tertentu. Beberapa penelitian menunjukkan bahwa suplementasi kuersetin mampu memperbaiki histomorfometri usus, meningkatkan panjang vili, memperbaiki ketebalan mukosa, serta menurunkan inflamasi jaringan intestinal (Uyanga *et al*., 2021; Zhao *et al*., 2021)

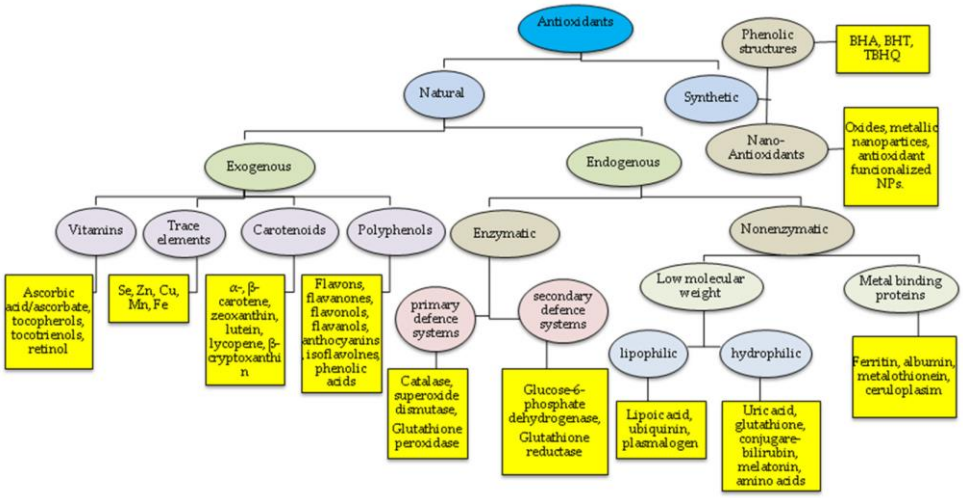
Meskipun memiliki efek protektif, kuersetin tidak selalu bersifat antioksidan. Pada konsentrasi tinggi atau pada lingkungan biologis yang kaya ion logam transisi, kuersetin dapat mengalami autooksidasi dan *redox cycling*. Proses tersebut menghasilkan radikal semikuinon dan *quinone-type products* yang bersifat reaktif, sehingga dapat meningkatkan pembentukan *superoxide anion* dan *hydrogen peroxide.* Peningkatan ROS yang berlebihan dapat melampaui kapasitas sistem antioksidan endogen dan menyebabkan stres oksidatif (Markowska *et al*., 2024; Xu *et al*., 2019).

2.4 Antioksidan

Antioksidan merupakan senyawa yang berperan dalam menghambat proses oksidasi dengan menetralkan radikal bebas atau ROS. Mekanisme kerja antioksidan dapat berlangsung melalui donor atau akseptor elektron, sehingga reaksi oksidatif berantai yang berpotensi merusak komponen seluler dapat dicegah. Dalam kondisi fisiologis, antioksidan berperan penting dalam menjaga keseimbangan antara oksidan dan antioksidan agar homeostasis redoks seluler tetap terpelihara. Apabila produksi ROS meningkat secara berlebihan atau kapasitas antioksidan menurun,

keseimbangan tersebut dapat terganggu dan memicu stres oksidatif yang berpotensi menyebabkan kerusakan lipid, protein, karbohidrat, dan DNA (Fadlilah & Lestari, 2023; Flieger *et al*., 2021; Gulcin, 2025).

Berdasarkan mekanisme kerjanya, antioksidan dapat dibedakan menjadi antioksidan enzimatik dan nonenzimatik. Antioksidan enzimatik meliputi *superoxide dismutase* (SOD), katalase, dan *glutathione peroxidase* (GPx), yang berperan mengubah ROS menjadi molekul yang lebih stabil. Sementara itu, antioksidan nonenzimatik meliputi vitamin C, vitamin E, glutation, ubikuinon, karotenoid, serta senyawa fenolik dan flavonoid yang dapat menangkap radikal bebas secara langsung (Fadlilah & Lestari, 2023; Mutiara Hati *et al*., 2024).



Gambar 2.2 Klasifikasi Antioksidan (Sumber: Flieger *et al*., 2021)

Antioksidan juga dapat diklasifikasikan berdasarkan sumbernya, yaitu antioksidan endogen dan eksogen. Antioksidan endogen diproduksi oleh tubuh sebagai bagian dari sistem pertahanan seluler, sedangkan antioksidan eksogen diperoleh dari luar tubuh, terutama melalui bahan pangan nabati yang mengandung senyawa bioaktif. Flavonoid merupakan salah satu kelompok antioksidan eksogen yang banyak ditemukan pada tanaman dan diketahui memiliki kemampuan dalam menangkap radikal bebas serta melindungi sel dari kerusakan oksidatif (Mutiara Hati *et al*., 2024; Xu *et al*., 2019).

2.5 Prooksidan

Prooksidan merupakan senyawa atau faktor yang dapat memicu, meningkatkan, atau mempertahankan proses oksidasi dalam sel sehingga meningkatkan pembentukan radikal bebas atau ROS. Berbeda dengan antioksidan yang berfungsi menghambat oksidasi, prooksidan dapat mempercepat reaksi oksidatif. Apabila peningkatan aktivitas prooksidan tidak diimbangi oleh sistem pertahanan antioksidan, maka ROS dapat terakumulasi dan menyebabkan ketidakseimbangan redoks seluler (Gulcin, 2025; Sotler *et al*., 2019).

Sumber prooksidan dapat berasal dari faktor endogen maupun eksogen. Faktor endogen meliputi aktivitas metabolisme mitokondria, reaksi enzimatik, inflamasi, dan peningkatan aktivitas metabolik, sedangkan faktor eksogen meliputi paparan polusi, radiasi, asap rokok, bahan kimia, maupun zat toksik tertentu. Salah satu mekanisme penting dalam aktivitas prooksidan melibatkan ion logam transisi, seperti Fe^{2+} dan Cu^{+}, yang dapat berperan sebagai katalis dalam reaksi Fenton dan Haber-Weiss. Reaksi tersebut menghasilkan radikal hidroksil (•OH), yaitu ROS yang sangat reaktif dan berpotensi merusak lipid, protein, serta DNA (Jomova *et al*., 2024; Leyane *et al*., 2022).

Pada kondisi tertentu, senyawa yang umumnya bersifat antioksidan juga dapat menunjukkan aktivitas prooksidan, misalnya pada konsentrasi tinggi, durasi paparan yang panjang, atau lingkungan yang kaya ion logam transisi. Fenomena ini dikenal sebagai *antioxidant paradox*. Flavonoid, termasuk kuersetin, dapat mengalami *redox cycling* melalui interaksi dengan ion logam sehingga meningkatkan pembentukan ROS. Oleh karena itu, suatu senyawa bioaktif dapat memberikan efek protektif maupun merugikan bergantung pada dosis, kondisi redoks seluler, dan kapasitas sistem antioksidan tubuh (Jomova *et al*., 2024; Rajesh R & Dhanaraj, 2023; Vieira-Frez *et al*., 2020).

Sifat *dose-dependen*t tersebut menjadikan pemahaman mengenai aktivitas prooksidan penting dalam penelitian toksisitas, khususnya pada senyawa bioaktif yang diberikan dalam dosis tinggi atau paparan jangka panjang, karena kondisi tersebut berpotensi menggeser aktivitas senyawa dari protektif menjadi merugikan

dan menimbulkan kerusakan biomolekul, seperti peroksidasi lipid, oksidasi protein, serta kerusakan DNA (Xu *et al*., 2019).

2.6 Radikal Bebas, ROS, dan Stres Oksidatif

Radikal bebas merupakan atom, molekul, atau ion yang memiliki satu atau lebih elektron tidak berpasangan pada orbital terluarnya, sehingga bersifat tidak stabil dan sangat reaktif. Untuk mencapai kestabilan, radikal bebas cenderung bereaksi dengan molekul lain melalui mekanisme penangkapan atau donasi elektron. Reaksi tersebut dapat berlangsung secara berantai dan berpotensi menimbulkan kerusakan komponen seluler apabila tidak dikendalikan oleh sistem pertahanan antioksidan tubuh (Mutiara Hati *et al*., 2024; Sies, 2015).

Dalam sistem biologis, radikal bebas termasuk dalam kelompok spesies reaktif. Spesies reaktif utama meliputi *reactive oxygen species* (ROS), *reactive nitrogen species* (RNS), dan *reactive sulfur species* (RSS). ROS terdiri atas senyawa radikal maupun nonradikal, seperti anion superoksida ($O_2^{\bullet-}$), radikal hidroksil (•OH), dan hidrogen peroksida (H_2O_2). Sementara itu, RNS meliputi *nitric oxide* (NO•) dan peroksinitrit ($ONOO^-$). Masing-masing spesies reaktif tersebut memiliki tingkat reaktivitas yang berbeda dan dapat berperan dalam proses fisiologis maupun patologis di dalam tubuh (Fadlilah & Lestari, 2023; Flieger *et al*., 2021).

Reactive Species	Form	Example
Reactive oxygen species (ROS)	Radical	$HO^{\bullet}$, $^1[O]_2$, $O_2^{\bullet-}$ $HOO^{\bullet}$, $ROO^{\bullet}$, $RO^{\bullet}$, $CO_2^{\bullet-}$, $CO_3^{\bullet-}$
	Non-radical	O_3, H_2O_2, HOCl, HOI, HOBr, ROOH, CO, ONOOH, $ONOO^-$, O_2NOO^-, $HOOCO_2^-$, (O_2 1Dg)
Reactive nitrogen species (RNS)	Radical	$NO^{\bullet}$, $NO_2^{\bullet}$, $NO_3^{\bullet}$
	Non-radical	ROONO, RO_2ONO, $CH_3C(O)OONO_2$, N_2O_4, N_2O_3, N_2O_5, HNO_2 NO_2Cl NO^-, NO^+
Reactive chlorine species	Radical	$Cl^{\bullet}$
	Non-radical	ClBr, Cl_2, ClO_2
Reactive sulfur species	Radical	$S^{\bullet}$
	Non-radical	H_2S, RSSR, RS(O)SR, RSOH, $RS(O)_2SR$, RSR′

Gambar 2.3 Klasifikasi Spesies Reaktif Beserta Contohnya (Sumber: Flieger *et al*., 2021)

ROS dapat terbentuk secara endogen maupun eksogen. Secara endogen, ROS dihasilkan sebagai produk samping metabolisme aerob, terutama melalui

rantai transpor elektron di mitokondria. Kebocoran elektron pada kompleks I dan III dapat menyebabkan reduksi parsial oksigen sehingga membentuk anion superoksida. ROS juga dapat terbentuk melalui aktivitas enzim seperti *xanthine oxidase*, *NADPH oxidase*, *myeloperoxidase*, dan *nitric oxide synthase*, serta melalui reaksi nonenzimatik seperti reaksi Fenton yang melibatkan hidrogen peroksida dan ion logam transisi. Sementara itu, sumber eksogen ROS dapat berasal dari paparan radiasi ultraviolet, polusi udara, asap rokok, bahan kimia, pestisida, dan obat-obatan (Andarina & Djauhari, 2017; Brand, 2016).

Dalam jumlah fisiologis, ROS memiliki peran penting dalam berbagai proses biologis, seperti regulasi transduksi sinyal, proliferasi sel, homeostasis redoks, serta mekanisme pertahanan imun terhadap mikroorganisme patogen. Namun, produksi ROS yang berlebihan atau penurunan kapasitas sistem antioksidan dapat menyebabkan ketidakseimbangan redoks. Kondisi ini dikenal sebagai stres oksidatif, yaitu keadaan ketika jumlah spesies reaktif melebihi kemampuan sistem antioksidan tubuh untuk menetralkannya (Gulcin, 2020; Pizzino *et al*., 2017).

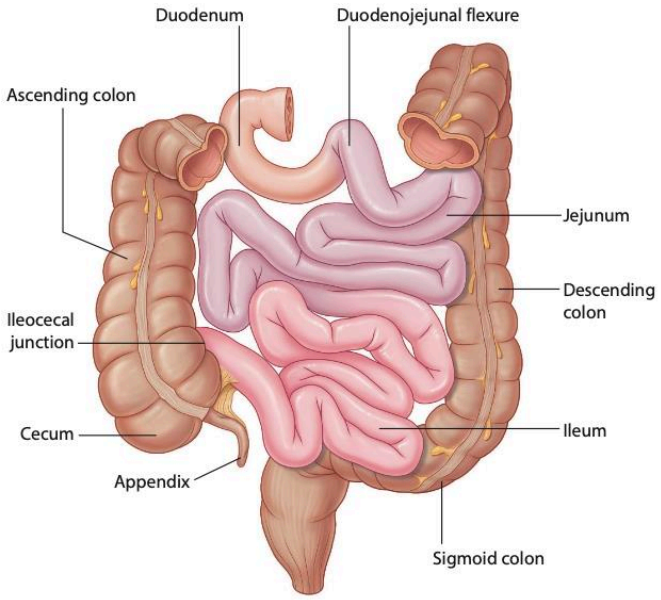
Stres oksidatif dapat menyebabkan kerusakan berbagai biomolekul penting dalam sel. Pada lipid, ROS dapat memicu peroksidasi lipid yang merusak membran sel dan menghasilkan produk oksidatif seperti *malondialdehyde* (MDA) dan *4-hydroxynonenal* (4-HNE). Pada protein, ROS dapat menyebabkan oksidasi asam amino, pembentukan protein karbonil, serta perubahan struktur protein yang mengganggu fungsi enzim dan protein struktural. Selain itu, ROS juga dapat menyebabkan kerusakan DNA melalui oksidasi basa nitrogen dan kerusakan rantai DNA, yang dapat mengganggu proliferasi sel dan memicu apoptosis apabila kerusakan tidak dapat diperbaiki (Pizzino *et al*., 2017; Xu *et al*., 2019).

Pada saluran cerna, stres oksidatif berperan penting dalam gangguan integritas barier usus. Akumulasi ROS dapat merusak enterosit, menurunkan jumlah sel goblet, mengganggu produksi mukus, serta menyebabkan disrupsi protein *tight junction*, seperti *occludin*, *claudin*, dan *zonula occludens* (ZO). Kerusakan tersebut dapat meningkatkan permeabilitas mukosa usus dan memicu respons inflamasi. Inflamasi yang berlangsung terus-menerus dapat memperberat

kerusakan jaringan dan mengganggu proses regenerasi epitel usus. Gangguan pada integritas epitel dan regenerasi mukosa tersebut berpotensi memengaruhi parameter histomorfometri, seperti tinggi vili, kedalaman kripta, dan rasio tinggi vili terhadap kedalaman kripta (Bhattacharyya *et al*., 2014; Di Tommaso *et al*., 2021; Wang *et al*., 2020; Segú *et al.,* 2022).

2.7 Jejunum

Jejunum merupakan salah satu bagian dari usus halus (*intestinum tenue*) yang berperan penting dalam proses pencernaan dan penyerapan nutrien. Secara anatomis, usus halus terbentang dari pilorus hingga *ileocecal junction* dan terbagi menjadi tiga bagian utama, yaitu duodenum, jejunum, dan ileum. Jejunum terletak di antara duodenum dan ileum, dengan panjang sekitar 2–2,5 meter dan umumnya berada di kuadran kiri atas abdomen (Drake *et al*., 2019; Standring, 2021).



Gambar 2.4 Anatomi Saluran Pencernaan Bagian Usus (Drake *et al*., 2021)

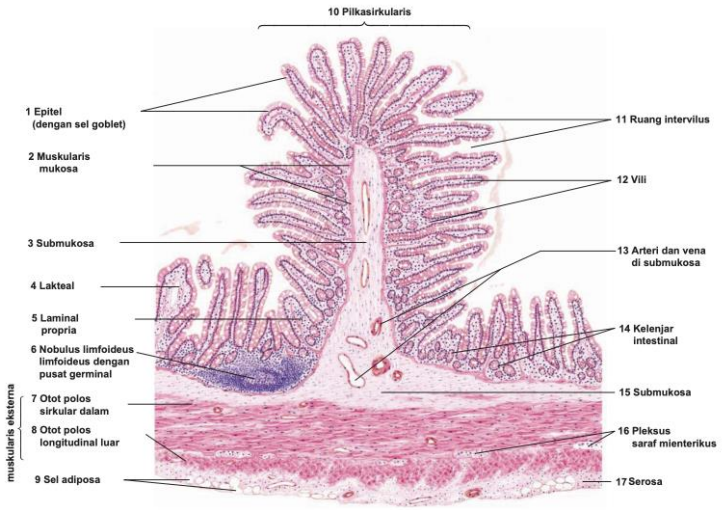
2.7.1. Anatomi dan Histologi Jejunum

Secara anatomis, jejunum dimulai dari *duodenojejunal junction* yang ditandai oleh ligamentum Treitz dan berlanjut hingga bagian proksimal ileum. Dibandingkan dengan ileum, jejunum memiliki diameter

lumen yang lebih besar, dinding yang lebih tebal, vaskularisasi yang lebih kaya, serta *vasa recta* yang lebih panjang. Karakteristik tersebut mendukung peran jejunum sebagai salah satu lokasi utama absorpsi dalam usus halus (Standring, 2021).

Dinding jejunum tersusun atas empat lapisan utama, yaitu mukosa, submukosa, muskularis eksterna, dan serosa. Lapisan mukosa mengalami modifikasi struktural berupa plika sirkularis, vili, dan mikrovili yang berfungsi meningkatkan luas permukaan absorpsi. Secara mikroskopis, vili jejunum dilapisi oleh epitel silindris sederhana yang didominasi oleh enterosit dan sel goblet. Enterosit berperan dalam proses absorpsi, sedangkan sel goblet menghasilkan mukus yang membantu melindungi permukaan mukosa usus (Mescher, 2021; Ross & Pawlina, 2020).

Di antara vili terdapat kripta Lieberkühn yang berperan dalam regenerasi epitel usus melalui proliferasi dan diferensiasi sel. Pada permukaan apikal enterosit terdapat mikrovili yang membentuk *brush border* dan mengandung berbagai enzim pencernaan, termasuk *lactase phlorizin hydrolase* (LPH). Enzim ini berperan dalam proses deglikosilasi senyawa flavonoid seperti kuersetin sebelum diserap oleh enterosit (Dabeek & Marra, 2019).



Gambar 2.5 Struktur Histologi Jejunum (Sumber: Eroschenko, 2008)

2.7.2. Fungsi Absorpsi dan Relevansi Jejunum terhadap Paparan Oral

Jejunum merupakan lokasi utama absorpsi berbagai hasil pencernaan, seperti karbohidrat, protein, lipid, vitamin, mineral, dan air. Selain nutrien, jejunum juga berperan dalam absorpsi senyawa bioaktif, obat-obatan, serta xenobiotik yang masuk melalui jalur oral. Efisiensi absorpsi tersebut didukung oleh luas permukaan mukosa yang tinggi akibat keberadaan plika sirkularis, vili, dan mikrovili, serta vaskularisasi mukosa yang kaya (Sherwood, 2016; Standring, 2021).

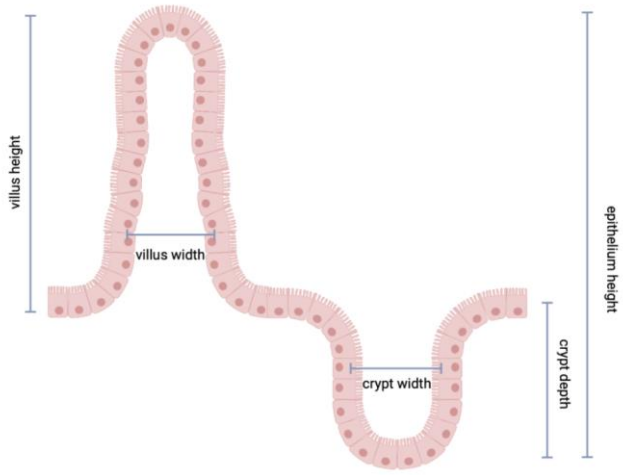
Pada pemberian senyawa bioaktif secara oral, jejunum menjadi salah satu bagian saluran cerna yang mengalami kontak langsung dengan senyawa tersebut. Kuersetin yang umumnya berada dalam bentuk glikosida memerlukan proses deglikosilasi oleh enzim pada *brush border*, seperti LPH, sebelum dapat diserap oleh enterosit dalam bentuk aglikon. Oleh karena itu, jejunum memiliki relevansi penting dalam penelitian yang berkaitan dengan paparan kuersetin maupun ekstrak yang mengandung kuersetin melalui jalur oral (Dabeek & Marra, 2019; Uyanga *et al*., 2021).

Tingginya aktivitas absorpsi dan metabolisme pada jejunum menyebabkan bagian ini memiliki kebutuhan energi yang besar dan aktivitas seluler yang intensif. Kondisi tersebut dapat berkontribusi terhadap pembentukan *reactive oxygen species* (ROS) sebagai produk samping metabolisme seluler. Paparan senyawa bioaktif atau zat yang berpotensi toksik melalui jalur oral secara berulang dapat memengaruhi keseimbangan redoks pada mukosa jejunum, terutama apabila tidak diimbangi oleh sistem antioksidan yang adekuat. Keadaan ini berpotensi mengganggu integritas epitel, proses regenerasi mukosa, serta struktur mukosa jejunum yang dapat diamati melalui parameter histomorfometri, seperti tinggi vili, kedalaman kripta, dan rasio tinggi vili terhadap kedalaman kripta (Di Tommaso *et al*., 2021; Wang *et al*., 2020; Segú *et al*., 2022).

2.8 Histomorfometri Jejunum

Histomorfometri merupakan metode kuantitatif yang digunakan untuk mengukur dan mengevaluasi perubahan struktur jaringan secara mikroskopis. Pada jejunum, analisis histomorfometri digunakan untuk menilai integritas mukosa usus serta mendeteksi perubahan morfologi akibat paparan senyawa tertentu, termasuk senyawa yang berpotensi menimbulkan stres oksidatif atau efek toksik (Erben *et al*., 2014; Segú *et al*., 2022).

Pengukuran histomorfometri jejunum umumnya berfokus pada struktur mukosa, terutama vili usus dan kripta Lieberkühn. Parameter yang sering digunakan meliputi tinggi vili (*villus height*), kedalaman kripta (*crypt depth*), serta rasio tinggi vili terhadap kedalaman kripta (*villus height/crypt depth ratio* atau *VH/CD ratio*). Ketiga parameter tersebut menggambarkan kapasitas absorpsi, aktivitas regenerasi epitel, dan integritas mukosa usus secara keseluruhan (Segú *et al*., 2022; Seyyedin & Nazem, 2017).



Gambar 2.6 Parameter Histomorfometri Usus Halus (Sumber: Segú *et al*., 2022)

Tinggi vili merupakan indikator luas permukaan absorpsi usus. Vili yang lebih panjang menunjukkan luas permukaan kontak dengan lumen yang lebih besar sehingga kapasitas absorpsi lebih baik. Sebaliknya, pemendekan atau atrofi vili dapat mengindikasikan adanya kerusakan mukosa akibat inflamasi, stres oksidatif, maupun paparan zat toksik. Kedalaman kripta mencerminkan aktivitas proliferasi dan regenerasi sel epitel usus. Peningkatan kedalaman kripta dapat terjadi sebagai

respons kompensatorik terhadap kerusakan mukosa, ketika proliferasi sel kripta meningkat untuk menggantikan enterosit yang mengalami kerusakan atau apoptosis. Namun, peningkatan yang berlebihan dapat menunjukkan adanya gangguan homeostasis mukosa usus (Laudadio *et al*., 2012; Seyyedin & Nazem, 2017).

Rasio tinggi vili terhadap kedalaman kripta merupakan parameter penting untuk menilai keseimbangan antara kapasitas absorpsi dan aktivitas regenerasi mukosa. Nilai VH/CD *ratio* yang tinggi menunjukkan struktur mukosa yang relatif baik, sedangkan penurunan rasio dapat mengindikasikan gangguan integritas mukosa akibat kerusakan vili atau peningkatan aktivitas proliferasi kripta. Oleh karena itu, parameter histomorfometri jejunum dapat digunakan sebagai indikator perubahan struktur mukosa usus akibat paparan senyawa bioaktif secara berulang pada penelitian eksperimental (Segú *et al*., 2022).

2.9 Uji Toksisitas

Uji toksisitas merupakan metode pengujian yang digunakan untuk mengevaluasi potensi efek toksik suatu zat terhadap sistem biologis serta menentukan hubungan antara dosis dan respons biologis yang ditimbulkan. Pengujian ini umumnya menggunakan hewan percobaan sebagai model biologis untuk menilai perubahan biokimia, fisiologis, maupun patologis akibat paparan suatu zat. Data yang diperoleh dari uji toksisitas dapat digunakan untuk mengidentifikasi organ target toksisitas, menentukan tingkat keamanan suatu bahan, serta memperkirakan potensi risiko terhadap manusia (BPOM, 2022).

Secara umum, uji toksisitas dibedakan menjadi uji toksisitas akut, subkronis, dan kronis berdasarkan lama paparan zat uji. Selain itu, terdapat pula uji toksisitas khusus, seperti uji teratogenisitas, mutagenisitas, sensitisasi, iritasi, dan toksisitas organ spesifik. Pada penelitian toksisitas, paparan berulang suatu senyawa penting untuk dievaluasi karena dapat menimbulkan efek kumulatif yang tidak selalu tampak pada pemberian dosis tunggal.

2.9.1. Uji Toksisitas Subkronis Oral 28 hari

Uji toksisitas subkronis oral merupakan pengujian yang dilakukan untuk mengevaluasi efek toksik akibat pemberian zat secara berulang melalui jalur oral dalam jangka waktu tertentu, umumnya selama 28 hari. Pengujian ini bertujuan untuk mendeteksi efek toksik yang mungkin tidak teridentifikasi pada uji toksisitas akut, terutama efek yang muncul akibat akumulasi paparan dan gangguan homeostasis biologis secara bertahap.

Dalam pelaksanaannya, sediaan uji diberikan setiap hari kepada beberapa kelompok hewan dengan variasi dosis tertentu untuk mengevaluasi hubungan dosis-respons. Selama periode pengujian, dilakukan observasi terhadap kondisi klinis hewan, perubahan perilaku, mortalitas, berat badan, serta konsumsi pakan dan air. Pada akhir perlakuan, dilakukan nekropsi dan evaluasi organ melalui pemeriksaan makroskopis, hematologi, biokimia klinis, serta histopatologi untuk mengidentifikasi adanya perubahan jaringan akibat paparan zat uji (BPOM, 2022).

Selain mengevaluasi potensi toksisitas, uji toksisitas subkronis juga dapat digunakan untuk menentukan *No Observed Adverse Effect Level* (NOAEL), yaitu dosis tertinggi yang tidak menimbulkan efek merugikan yang teramati. Parameter ini penting sebagai dasar penentuan keamanan suatu bahan serta pengembangan penelitian lanjutan.

2.9.2. Uji Toksisitas Subkronis Oral Guideline OECD 407

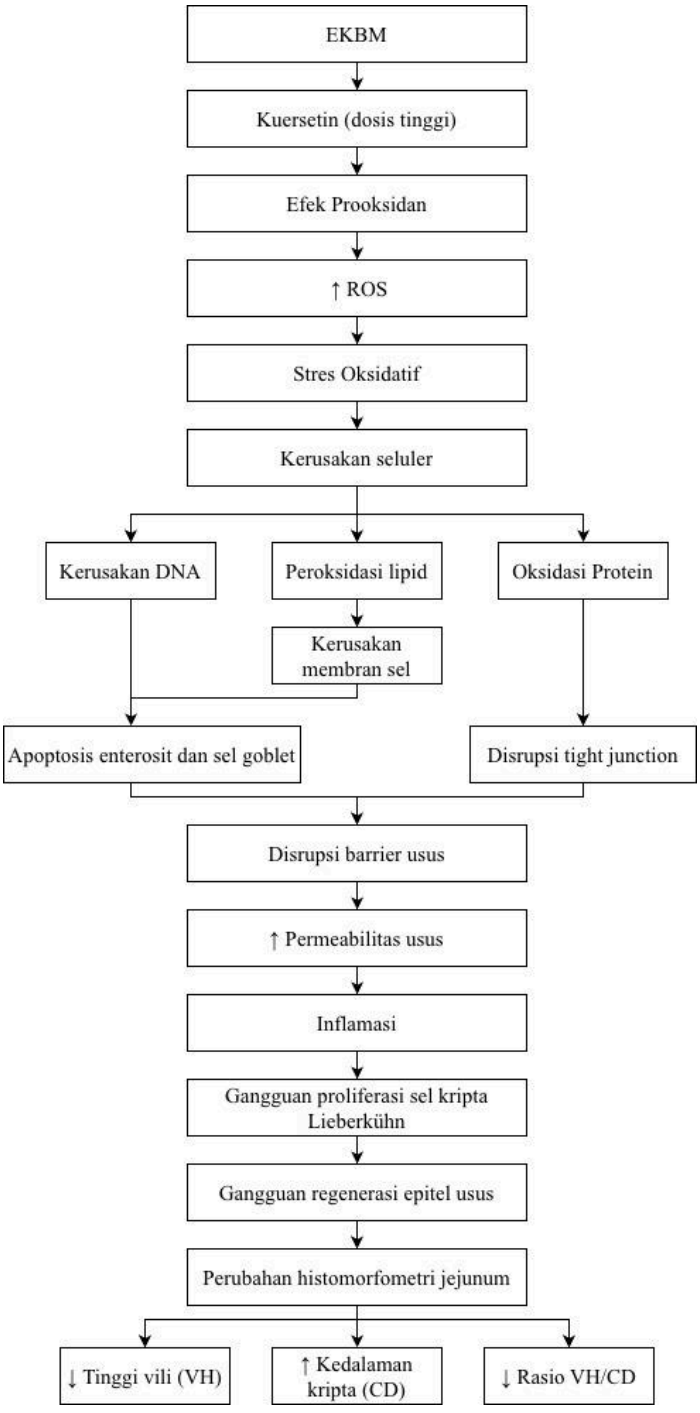
Secara internasional, uji toksisitas oral akibat pemberian berulang selama 28 hari mengacu pada *Organisation for Economic Co-operation and Development* (OECD) *Test Guideline* 407. Pedoman ini merupakan metode standar untuk mengevaluasi toksisitas akibat pemberian zat secara berulang melalui jalur oral selama 28 hari pada hewan pengerat (OECD, 2008).

OECD 407 mengatur desain penelitian yang mencakup kelompok kontrol dan beberapa kelompok perlakuan dengan variasi dosis tertentu. Setiap kelompok umumnya terdiri atas hewan jantan dan betina untuk menilai kemungkinan perbedaan respons biologis berdasarkan jenis

kelamin. Parameter yang diamati meliputi pengamatan klinis harian, perubahan berat badan, konsumsi pakan dan air, pemeriksaan hematologi, analisis biokimia klinis, serta evaluasi organ melalui pemeriksaan makropatologi dan histopatologi (OECD, 2008).

Pada paparan oral, saluran cerna menjadi salah satu sistem yang penting untuk dievaluasi karena mengalami kontak langsung dengan zat yang dikonsumsi. Jejunum sebagai bagian usus halus memiliki aktivitas absorpsi dan metabolisme yang tinggi, sehingga berpotensi mengalami perubahan akibat paparan senyawa bioaktif secara berulang. Gangguan integritas mukosa usus akibat stres oksidatif dan inflamasi dapat memengaruhi struktur vili, kedalaman kripta, serta fungsi absorpsi. Oleh karena itu, analisis histomorfometri jejunum dapat digunakan sebagai salah satu parameter untuk mengevaluasi perubahan struktur mukosa akibat paparan zat uji secara subkronis.

2.10 Kerangka Teori



Gambar 2.7 Kerangka Teori

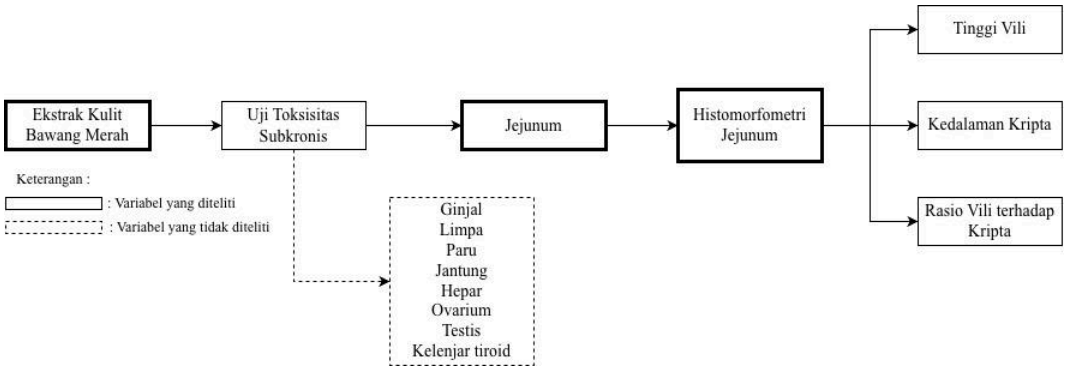
Ekstrak kulit bawang merah (EKBM) mengandung senyawa aktif kuersetin yang memiliki aktivitas biologis bersifat *dose-dependent*, yaitu dapat berperan sebagai antioksidan maupun prooksidan tergantung pada dosis yang diberikan.

Pada dosis tinggi, kuersetin cenderung bersifat prooksidan yang dapat meningkatkan produksi *reactive oxygen species* (ROS). Peningkatan ROS yang berlebihan menyebabkan terjadinya stres oksidatif, yaitu kondisi ketidakseimbangan antara oksidan dan antioksidan dalam tubuh, yang selanjutnya memicu kerusakan seluler pada mukosa usus.

Kerusakan seluler tersebut melibatkan berbagai komponen penting sel, yaitu kerusakan DNA, peroksidasi lipid, dan oksidasi protein. Kerusakan DNA memicu apoptosis sel epitel usus, termasuk enterosit dan sel goblet, sedangkan peroksidasi lipid menyebabkan kerusakan membran sel yang turut berkontribusi terhadap proses apoptosis tersebut. Apoptosis sel goblet juga berkontribusi terhadap penurunan produksi mukus, sehingga memperburuk integritas barrier usus. Sementara itu, oksidasi protein mengakibatkan gangguan pada protein struktural, termasuk protein penyusun *tight junction*, sehingga terjadi disrupsi *tight junction*. Kedua jalur ini secara bersama-sama berkontribusi terhadap kerusakan komponen barrier usus.

Kerusakan barrier usus ditandai dengan disrupsi integritas mukosa yang menyebabkan peningkatan permeabilitas usus. Kondisi ini memicu respons inflamasi yang semakin memperburuk kerusakan jaringan. Inflamasi yang berkelanjutan dapat mengganggu proliferasi sel kripta Lieberkühn, sehingga terjadi gangguan regenerasi epitel usus. Gangguan regenerasi epitel tersebut menyebabkan perubahan struktur mukosa usus, khususnya pada jejunum sebagai lokasi utama absorpsi. Perubahan ini dapat diamati melalui analisis histomorfometri jejunum, yang meliputi penurunan tinggi vili, peningkatan kedalaman kripta, serta rasio tinggi vili terhadap kedalaman kripta. Perubahan parameter tersebut mencerminkan penurunan kapasitas absorpsi usus sebagai akibat dari kerusakan mukosa yang dipicu oleh stres oksidatif.

2.11 Kerangka Konsep



Gambar 2.8 Kerangka Konsep

Kerangka konsep penelitian ini menggambarkan bahwa pemberian ekstrak kulit bawang merah (EKBM) melalui uji toksisitas subkronis sebagai variabel independen dapat memengaruhi berbagai organ, namun penelitian ini difokuskan pada jejunum sebagai organ target. Pemberian EKBM dalam dosis tertentu diduga dapat meningkatkan produksi *reactive oxygen species* (ROS) yang memicu terjadinya stres oksidatif dan menyebabkan kerusakan sel epitel usus, termasuk enterosit dan sel goblet, serta disrupsi tight junction yang berperan dalam menjaga integritas barrier usus. Kerusakan barrier usus tersebut mengganggu fungsi mukosa jejunum dan berpotensi memicu perubahan struktur jaringan. Perubahan ini selanjutnya diamati melalui analisis histomorfometri jejunum, yang meliputi tinggi vili, kedalaman kripta, dan rasio tinggi vili terhadap kedalaman kripta. Perubahan parameter tersebut digunakan sebagai indikator gangguan struktur mukosa jejunum yang berimplikasi terhadap penurunan fungsi absorpsi usus akibat stres oksidatif. Dengan demikian, penelitian ini bertujuan untuk menganalisis pengaruh pemberian ekstrak kulit bawang merah (EKBM) terhadap histomorfometri jejunum pada tikus Wistar (*Rattus norvegicus*) sebagai indikator perubahan struktur mukosa jejunum yang mencerminkan gangguan barrier usus akibat stres oksidatif.

2.12 Hipotesis Penelitian

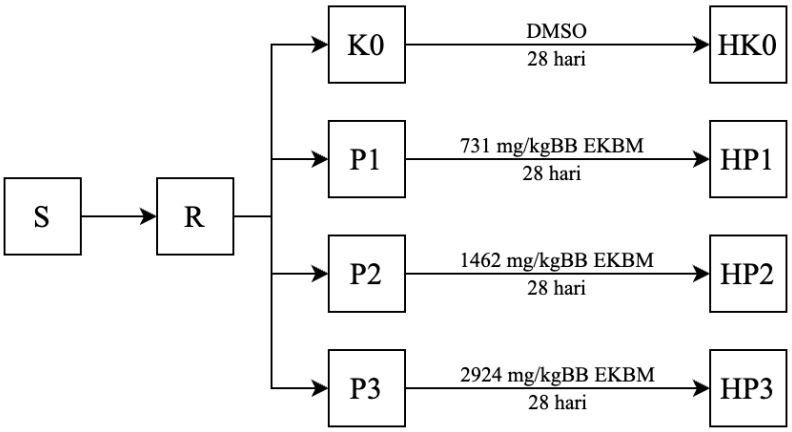
Adapun hipotesis penelitian sebagai berikut:

a. Pemberian ekstrak kulit bawang merah (*Allium cepa* L.) berpengaruh terhadap tinggi vili jejunum tikus Wistar (*Rattus norvegicus*) pada uji toksisitas subkronis.
b. Pemberian ekstrak kulit bawang merah (*Allium cepa* L.) berpengaruh terhadap kedalaman kripta jejunum tikus Wistar (*Rattus norvegicus*) pada uji toksisitas subkronis.
c. Pemberian ekstrak kulit bawang merah (*Allium cepa* L.) berpengaruh terhadap rasio tinggi vili terhadap kedalaman kripta jejunum tikus Wistar (*Rattus norvegicus*) pada uji toksisitas subkronis.

BAB 3. METODOLOGI PENELITIAN

3.1 Jenis dan Rancangan Penelitian

Penelitian ini merupakan penelitian eksperimental jenis *true experimental design* yang menggunakan tikus Wistar (*Rattus norvegicus*) jantan dan betina sebagai hewan coba. Rancangan penelitian yang digunakan adalah *posttest-only control group design*, yaitu pengukuran dilakukan setelah pemberian perlakuan tanpa dilakukan pengukuran awal. Skema rancangan penelitian digambarkan sebagai berikut.



Gambar 3.1 Skema Rancangan Penelitian

Keterangan:

S : Unit Eksperimen

R : Randomisasi

K0 : Kelompok kontrol dengan pemberian DMSO secara oral selama 28 hari

P1 : Kelompok perlakuan dengan pemberian ekstrak kulit bawang merah dosis 731 mg/kgBB selama 28 hari

P2 : Kelompok perlakuan dengan pemberian ekstrak kulit bawang merah dosis 1462 mg/kgBB selama 28 hari

P3 : Kelompok perlakuan dengan pemberian ekstrak kulit bawang merah dosis 2924 mg/kgBB selama 28 hari

HKO : Parameter histomorfometri jejunum pada kelompok kontrol

HP1 : Parameter histomorfometri jejunum pada kelompok P1

HP2 : Parameter histomorfometri jejunum pada kelompok P2

HP3 : Parameter histomorfometri jejunum pada kelompok P3

EKBM : Ekstrak Kulit Bawang Merah

DMSO : Dimetil Sulfoksida

3.2 Lokasi dan Waktu Penelitian

Penelitian ini dilaksanakan pada bulan Oktober 2025 hingga Mei 2026. Kegiatan penelitian dilakukan di beberapa tempat sebagai berikut:

a. Laboratorium Farmakologi Fakultas Kedokteran Universitas Jember untuk pembuatan ekstrak kulit bawang merah.
b. Laboratorium Kimia Fakultas Farmasi Universitas Jember untuk proses ekstraksi kulit bawang merah.
c. UPA PL2T CDAST Universitas Jember untuk analisis kadar kuersetin pada ekstrak kulit bawang merah.
d. Laboratorium Hewan Coba Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Jember untuk pemeliharaan dan perlakuan hewan coba.
e. Laboratorium Histologi Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Jember untuk pembuatan preparat histologi organ.
f. Laboratorium Histologi Fakultas Kedokteran Universitas Jember untuk pengamatan preparat histologi organ.
g. Laboratorium Botani Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Jember untuk identifikasi tanaman bawang merah.

3.3 Unit Eksperimental

Unit eksperimental pada penelitian ini dipilih berdasarkan kriteria inklusi sebagai berikut (OECD, 2008):

a. Tikus putih (*Rattus norvegicus*) galur Wistar, jantan dan betina;
b. Sehat;
c. Usia 8-10 minggu;
d. Variasi berat badan 150-250 gram;
e. Betina dalam kondisi nullipara dan tidak sedang hamil.

Besar unit eksperimen berdasarkan OECD *Guideline* 407 (2008) yang dimodifikasi dan disesuaikan dengan kondisi penelitian. Penelitian ini menggunakan minimal tiga kelompok perlakuan dan satu kelompok kontrol, dengan pembagian kelompok sebagai berikut:

a. Kelompok kontrol : 6 ekor (3 jantan dan 3 betina);
b. Kelompok perlakuan 1 : 6 ekor (3 jantan dan 3 betina);
c. Kelompok perlakuan 2 : 6 ekor (3 jantan dan 3 betina);
d. Kelompok perlakuan 3 : 6 ekor (3 jantan dan 3 betina).

3.4 Jenis dan Sumber Data

Penelitian ini menggunakan data kuantitatif yang diperoleh dari data primer. Data yang dikumpulkan berupa histomorfometri jejunum tikus Wistar, meliputi parameter tinggi vili, kedalaman kripta, dan rasio tinggi vili terhadap kedalaman kripta. Pengukuran dilakukan pada kelompok kontrol dan kelompok perlakuan yang diberi ekstrak kulit bawang merah.

3.5 Variabel Penelitian

3.5.1. Variabel Bebas

Variabel bebas pada penelitian ini adalah dosis ekstrak kulit bawang merah (*Allium cepa* L.) yang diberikan kepada hewan coba, dinyatakan dalam satuan mg/kgBB.

3.5.2. Variabel Terikat

Variabel terikat pada penelitian ini adalah histomorfometri jejunum tikus Wistar (*Rattus norvegicus*), yang meliputi parameter:

a) Tinggi vili
b) Kedalaman kripta
c) Rasio tinggi vili terhadap kedalaman kripta

3.5.3. Variabel Kontrol

Variabel kontrol pada penelitian ini adalah:

a) Pemeliharaan hewan coba;

b) Frekuensi dan cara pemberian perlakuan pada hewan coba;

c) Metode pembuatan ekstrak kulit bawang merah.

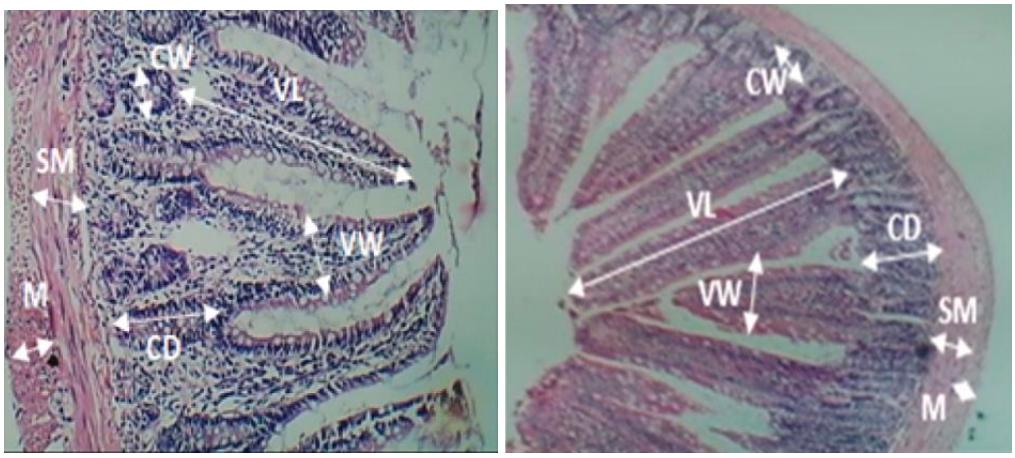
3.6 Definisi Operasional Variabel dan Skala Pengukuran

Definisi operasional variabel penelitian terdapat pada Tabel 3.1.

Tabel 3.1 Definisi Operasional

Variabel	Definisi Operasional	Cara Pengukuran	Skala Data
Ekstrak Kulit Bawang Merah (EKBM)	Ekstrak kulit bawang merah merupakan sediaan hasil ekstraksi kulit bawang merah (*Allium cepa* L.) yang diperoleh dari Pasar Tanjung, Kecamatan Kaliwates, Kabupaten Jember, dengan bahan baku berasal dari Probolinggo. Proses ekstraksi dilakukan menggunakan metode maserasi dengan pelarut etanol 96%. Kandungan kuersetin dalam ekstrak dianalisis menggunakan metode *High Performance Liquid Chromatography* (HPLC) untuk menentukan kadar kuersetin dan ekuivalensi dosis perlakuan.	Dosis ekstrak diukur dalam satuan mg/kgBB dan ditetapkan berdasarkan ekuivalensi kandungan kuersetin hasil HPLC. Didapatkan dosis P1 731 mg/kgBB, dosis P2 1462 mg/kgBB, dan dosis P3 2924 mg/kgBB.	Rasio
Histomorfometri Jejunum	Histomorfometri jejunum merupakan pengukuran kuantitatif terhadap struktur mukosa jejunum, meliputi tinggi vili, kedalaman kripta, dan rasio tinggi vili terhadap kedalaman kripta sebagai indikator untuk menilai kondisi struktur mukosa, fungsi absorpsi dan integritas mukosa jejunum.	Preparat histologi jejunum diamati menggunakan mikroskop cahaya, kemudian dilakukan pengukuran menggunakan OptiLab Viewer 4 pada lima lapang pandang yang berbeda. Struktur yang diukur adalah vili dan kripta yang layak ukur, yaitu tampak relatif utuh, jelas, tidak rusak,	Rasio

Variabel	Definisi Operasional	Cara Pengukuran	Skala Data
		tidak tertutup artefak, serta memiliki batas pengukuran yang dapat diidentifikasi. Parameter yang diukur meliputi: 1. Tinggi vili (µm) 2. Kedalaman kripta (µm) 3. Rasio tinggi vili terhadap kedalaman kripta	



Keterangan: Tinggi vili (*Villus length*/ VL), lebar vili (*Villus width*/ VW), lebar kripta (*Crypt width*/ CW), kedalaman kripta (*Crypt depth*/ CD), tunika submukosa (SM), dan tunika mukosa (M)

Gambar 3.2 Pengukuran Histomorfometri Jejunum (Sumber: Bibi *et al*., 2025)

3.7 Instrumen Penelitian

Instrumen yang digunakan dalam penelitian ini disajikan pada Tabel 3.2. Instrumen tersebut mencakup alat dan bahan yang digunakan pada setiap tahapan penelitian, mulai dari pembuatan simplisia, proses ekstraksi, aklimatisasi dan perawatan hewan coba, pemberian perlakuan, terminasi, pengambilan organ jejunum, hingga pembuatan dan pengamatan preparat histologi.

Tabel 3.2 Instrumen Penelitian

Prosedur	Alat	Bahan
Pembuatan simplisia kulit bawang merah	Baskom, gelas ukur, nampan/tampah, blender, saringan, toples, timbangan digital	Kulit bawang merah, larutan garam 2%, air mengalir
Ekstraksi kulit bawang merah	Timbangan digital, corong Buchner, erlenmeyer, kertas saring Whatman No.2, batang pengaduk, *oven*, *rotary evaporator*, gelas ukur, neraca analitik	Etanol 96%, DMSO, dan simplisia kulit bawang merah
Aklimatisasi dan perawatan hewan coba	Bak, botol minum, tempat makan, kawat penutup, label	Pakan pelet, air minum, serbuk kayu
Perlakuan hewan coba	Sonde oral, *spuit, handschoen*, gelas beker, tisu	Ekstrak kulit bawang merah, DMSO, *aquades*
Terminasi dan pengambilan jejunum pada hewan coba	*Handschoen*, papan fiksasi, jarum fiksasi, minor set bedah, kapas, pot organ	Ketamin-xylazin, NaCl 0,9%, buffered neutral formalin 10% (BNF 10%)
Pembuatan preparat histologi jejunum	*Embedding cassette*, *processing cassette*, *rotary microtome*, *object glass*, *cover glass*, *waterbath*, *hot plate*	Jejunum, alkohol konsentrasi bertingkat, parafin, aquades, Hematoksilin-Eosin (HE), *xylol*
Pengamatan preparat histologi jejunum	Mikroskop cahaya, Optilab, dan komputer dengan perangkat lunak OptiLab Viewer 4	Preparat histologi jejunum

3.8 Prosedur Penelitian

Prosedur penelitian ini meliputi tahapan uji kelayakan etik, pembuatan simplisia kulit bawang merah, proses ekstraksi, penentuan dosis, perlakuan hewan coba, pembuatan preparat histologi organ, serta pengamatan mikroskopis.

3.8.1. Uji Kelayakan Etik

Peneliti mengajukan permohonan uji kelayakan etik kepada Komisi Etik Fakultas Kedokteran Universitas Jember sebelum penelitian dilaksanakan. Tahapan ini dilakukan untuk memastikan bahwa penelitian berjalan sesuai etik, terutama terkait keamanan peneliti dan kesejahteraan hewan coba selama proses penelitian.

3.8.2. Identifikasi Kulit Bawang Merah

Kulit bawang merah yang digunakan dalam penelitian ini diperoleh dari Pasar Tanjung, Kecamatan Kaliwates, Kabupaten Jember. Sampel yang dipilih merupakan kulit bawang merah yang berasal dari Probolinggo, Jawa Timur. Identifikasi kulit bawang merah dilakukan di Laboratorium Botani, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Jember.

3.8.3. Pembuatan Simplisia Kulit Bawang Merah

Kulit bawang yang telah diperoleh kemudian dipilah dan direndam dalam larutan garam 2% untuk menghilangkan kotoran dan residu pestisida. Selanjutnya, kulit bawang merah dikeringkan selama 1-2 hari tanpa paparan sinar matahari langsung hingga mencapai kondisi kering. Kulit bawang merah yang telah kering kemudian dihaluskan menggunakan blender dan diayak hingga diperoleh serbuk simplisia yang halus.

3.8.4. Pembuatan Ekstrak Kulit Bawang Merah

Proses ekstraksi dilakukan di Laboratorium Farmakognosi dan Fitokimia Fakultas Farmasi Universitas Jember. Ekstraksi dilakukan menggunakan metode maserasi dengan pelarut etanol 96% dengan perbandingan simplisia terhadap pelarut sebesar 1:10. Proses perendam dilakukan selama 72 jam di tempat gelap dengan pengadukan dua kali setiap 24 jam. Filtrat yang diperoleh kemudian disaring menggunakan kertas saring Whatman No. 2, selanjutnya diuapkan dengan *rotary evaporator* pada suhu ± 50°C hingga diperoleh ekstrak dengan berat konstan yang menandakan pelarut telah menguap seluruhnya.

3.8.5. Penentuan Dosis Ekstrak Kulit Bawang Merah

Pada penelitian ini, kuersetin dipilih sebagai *marker compound* dari ekstrak kulit bawang merah karena merupakan senyawa bioaktif utama dalam kulit bawang merah. Penentuan dosis mengacu pada penelitian sebelumnya yang didapatkan adanya efek toksik pada pemberian kuersetin sebesar 190 mg/kgBB (Dibal *et al*., 2020). Karena penelitian ini menggunakan ekstrak, kadar kuersetin pada ekstrak

terlebih dahulu dianalisis menggunakan *High-Performance Liquid Chromatography* (HPLC). Berdasarkan hasil tersebut, dilakukan penyesuaian dosis dengan mempertimbangkan adanya senyawa lain dalam ekstrak yang dapat memengaruhi potensi toksisitas. Penetapan variasi dosis ini juga mengacu pada pedoman OECD Test Guideline 407 yang menekankan pentingnya penggunaan beberapa variasi dosis untuk mengevaluasi hubungan dosis-respon secara komprehensif. Berdasarkan hasil analisis, diperoleh tiga dosis ekuivalensi kuersetin, yaitu 95 mg/kgBB, 190 mg/kgBB, dan 380 mg/kgBB.

Kadar kuersetin pada ekstrak yang telah dianalisis dengan HPLC kemudian digunakan untuk menghitung dosis ekstrak ekuivalen dengan rumus berikut:

$$Dosis\ Ekstrak\ \left(\frac{mg}{kgBB}\right) = \frac{Dosis\ kuersetin\ target\ (\frac{mg}{kgBB})}{Kadar\ kuersetin\ dalam\ ekstrak\ (\frac{mg}{kgBB})}$$

Hasil analisis HPLC diperoleh kadar kuersetin dalam ekstrak kulit bawang merah sebesar 130 mg/g berat kering (0,13 mg/mg), sehingga dosis ekuivalen dihitung menjadi:

a. Dosis P1= 95 ÷ 0,13 = 731 mg ekstrak/kgBB
b. Dosis P2 = 190 ÷ 0,13 = 1462 mg ekstrak/kgBB
c. Dosis P3 = 380 ÷ 0,13 = 2924 mg ekstrak/kgBB

Perhitungan ini bertujuan untuk memastikan bahwa setiap hewan coba menerima dosis kuersetin yang ekuivalen dengan dosis toksik yang telah dilaporkan sebelumnya.

3.8.6. Perlakuan Hewan Coba

Perlakuan hewan coba meliputi tahap aklimatisasi, randomisasi, pemberian perlakuan, terminasi dan pengambilan organ, serta pembuatan preparat histologi jejunum.

a. Aklimatisasi Hewan Coba

   Hewan coba diaklimatisasi selama 7 hari di Rumah Hewan Coba, Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Jember pada suhu 22–25°C dengan siklus pencahayaan 12 jam terang dan 12 jam gelap. Setiap kandang berisi tiga ekor

tikus dengan jenis kelamin yang sama. Kandang dibersihkan setiap dua hari sekali dengan mengganti serbuk kayu. Pakan dan air minum diberikan secara *ad libitum*, serta kondisi kesehatan tikus diamati setiap hari. Setelah masa aklimatisasi, dilakukan penimbangan berat badan awal untuk menentukan dosis ekstrak kulit bawang merah. Penimbangan selanjutnya dilakukan secara berkala setiap minggu selama perlakuan.

b. Uji Toksisitas Subkronis 28 Hari dengan Metode OECD 407

Setelah aklimatisasi, tikus Wistar dibagi menjadi empat kelompok, yaitu tiga kelompok perlakuan dengan dosis P1 (731 mg/kgBB), P2 (1462 mg/kgBB), dan P3 (2924 mg/kgBB), serta satu kelompok kontrol. Setiap kelompok terdiri dari tiga tikus jantan dan tiga tikus betina. Ekstrak diberikan secara oral menggunakan sonde gastrik setiap hari selama 28 hari. Kelompok kontrol diberikan DMSO sebagai pelarut dengan volume yang sama dengan kelompok dosis tertinggi. Observasi dilakukan setiap hari meliputi kondisi fisik, perilaku, serta tanda-tanda toksisitas. Penimbangan berat badan dilakukan setiap minggu selama periode perlakuan. Pada akhir penelitian, dilakukan pengukuran histomorfometri jejunum untuk menilai efek subkronik ekstrak.

c. Terminasi dan Pengambilan Organ Jejunum

Setelah perlakuan selama 28 hari, tikus diterminasi pada hari ke-29 untuk pengambilan organ jejunum. Terminasi dilakukan menggunakan anestesi kombinasi ketamin dan xilazin perbandingan 10:1 dengan dosis 50mg/kgBB ketamin dan 5mg/kgBB xilazin yang diinjeksikan secara intraperitoneal. Setelah terminasi, dilakukan nekropsi dan pengambilan jejunum. Jejunum kemudian dimasukkan ke dalam pot organ dan difiksasi menggunakan *buffered neutral formalin* (BNF) 10% untuk mempertahankan struktur jaringan. Hewan coba yang telah diambil organnya kemudian dikremasi dan dikubur dalam tanah.

3.8.7. Pembuatan dan Pengamatan Preparat Histologi Jejunum

Preparat histologi jejunum dibuat menggunakan metode pewarnaan Hematoksilin-Eosin (H&E). Preparat diamati menggunakan mikroskop cahaya Olympus BX53 dengan perbesaran 100×, kemudian tampakan histologis didokumentasikan menggunakan kamera mikroskop digital OptiLab. Pengukuran parameter histomorfometri dilakukan pada lima lapang pandang yang tidak saling tumpang tindih oleh dua pengamat independen secara *double-blind* untuk meminimalkan bias. Parameter yang diamati meliputi tinggi vili, kedalaman kripta, dan rasio tinggi vili terhadap kedalaman kripta. Analisis dilakukan menggunakan perangkat lunak OptiLab Viewer 4 untuk memperoleh data kuantitatif yang akurat.

3.9 Analisis Data

Data penelitian berupa hasil pengukuran histomorfometri jejunum, meliputi tinggi vili, kedalaman kripta, dan rasio tinggi vili terhadap kedalaman kripta pada kelompok kontrol dan perlakuan. Data diperoleh dari hasil pengukuran preparat histologi jejunum tikus Wistar setelah pemberian ekstrak kulit bawang merah selama 28 hari.

Sebelum dilakukan analisis komparatif, data terlebih dahulu diuji asumsi statistik. Uji normalitas dilakukan menggunakan Shapiro-Wilk karena jumlah sampel kurang dari 50, dengan kriteria data dinyatakan berdistribusi normal apabila nilai $p > 0,05$. Selanjutnya, dilakukan uji homogenitas menggunakan Levene's test, dengan kriteria data dinyatakan homogen apabila nilai $p > 0,05$.

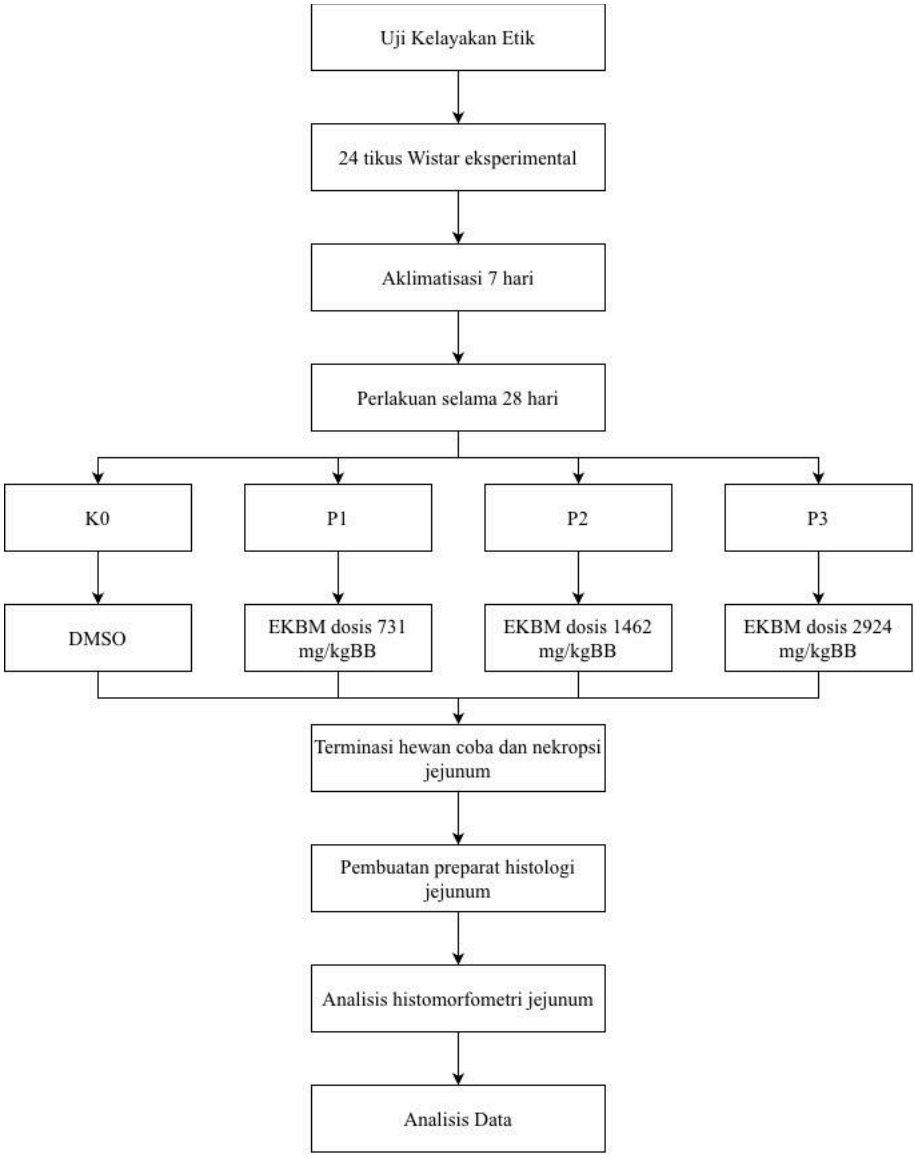
Apabila data berdistribusi normal dan homogen, analisis perbedaan antar kelompok dilakukan menggunakan uji *One-Way Analysis of Variance* (ANOVA). Apabila hasil uji One-Way ANOVA menunjukkan perbedaan yang bermakna secara statistik ($p < 0,05$), analisis dilanjutkan dengan uji lanjut atau post hoc Least Significant Difference (LSD) untuk mengetahui perbedaan spesifik antar kelompok.

Apabila data berdistribusi normal tetapi tidak homogen, analisis perbedaan antar kelompok dilakukan menggunakan Welch ANOVA. Apabila hasil Welch ANOVA menunjukkan perbedaan yang bermakna secara statistik ($p < 0,05$),

analisis dapat dilanjutkan dengan uji lanjut yang sesuai untuk data dengan varians tidak homogen.

Apabila data tidak berdistribusi normal, analisis perbedaan antar kelompok dilakukan menggunakan uji nonparametrik Kruskal-Wallis. Apabila hasil uji Kruskal-Wallis menunjukkan perbedaan yang bermakna secara statistik ($p < 0,05$), analisis dilanjutkan dengan uji Mann-Whitney U sebagai uji lanjut antar kelompok.

3.10 Alur Penelitian



Gambar 3.3 Alur Penelitian

BAB 4. HASIL DAN PEMBAHASAN

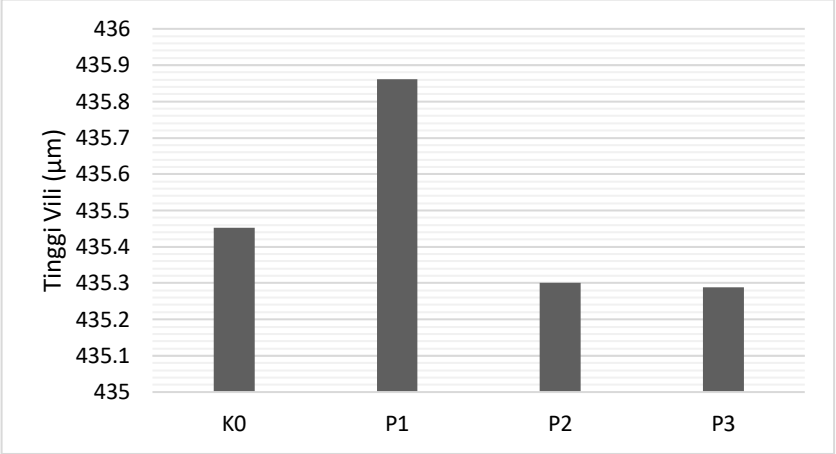
4.1 Hasil Penelitian

Penelitian ini menggunakan 24 ekor tikus Wistar yang terbagi menjadi empat kelompok, yaitu satu kelompok kontrol dan tiga kelompok perlakuan. Pada kelompok perlakuan 1 (P1) diberikan ekstrak kulit bawang merah dosis rendah 731 mg/kgBB, kelompok perlakuan 2 (P2) dengan dosis sedang 1462 mg/kgBB, dan kelompok perlakuan 3 (P3) dengan dosis tinggi 2924 mg/kgBB. Penentuan dosis tersebut didasarkan pada ekuivalensi kandungan kuersetin dalam ekstrak dengan perbandingan 1:8, sedangkan kelompok kontrol diberikan DMSO sebagai kontrol pembawa (*vehicle*) untuk menyamakan kondisi perlakuan antar kelompok. Pemberian ekstrak dilakukan secara oral selama 28 hari. Pada hari ke-29, tikus diterminasi dan dilakukan pengambilan organ jejunum, untuk diproses menjadi preparat histologi. Preparat kemudian diamati menggunakan mikroskop cahaya untuk dianalisis histomorfometri.

Pengamatan histomorfometri jejunum dilakukan untuk menilai perubahan struktur mukosa usus halus setelah pemberian ekstrak kulit bawang merah. Parameter yang diamati meliputi tinggi vili, kedalaman kripta, serta rasio tinggi vili terhadap kedalaman kripta. Pengukuran dilakukan pada vili dan kripta yang memenuhi kriteria kelayakan ukur pada setiap preparat dengan perbesaran 100x. Data hasil pengukuran kemudian dihitung nilai rerata per kelompok sebelum dianalisis lebih lanjut menggunakan IBM SPSS Statistics 25.

4.1.1. Hasil Pengukuran Tinggi Vili Jejunum

Pengukuran tinggi vili jejunum dilakukan pada 10 vili yang memenuhi kriteria kelayakan ukur pada setiap preparat melalui pengamatan pada lima lapang pandang. Vili yang diukur merupakan vili yang tampak relatif utuh, jelas, tidak rusak, tidak tertutup artefak, serta memiliki batas pengukuran yang dapat diidentifikasi. Tinggi vili diukur dari puncak vili hingga batas antara vili dan kripta. Hasil rerata tinggi vili jejunum pada masing-masing kelompok disajikan pada Gambar 4.1.

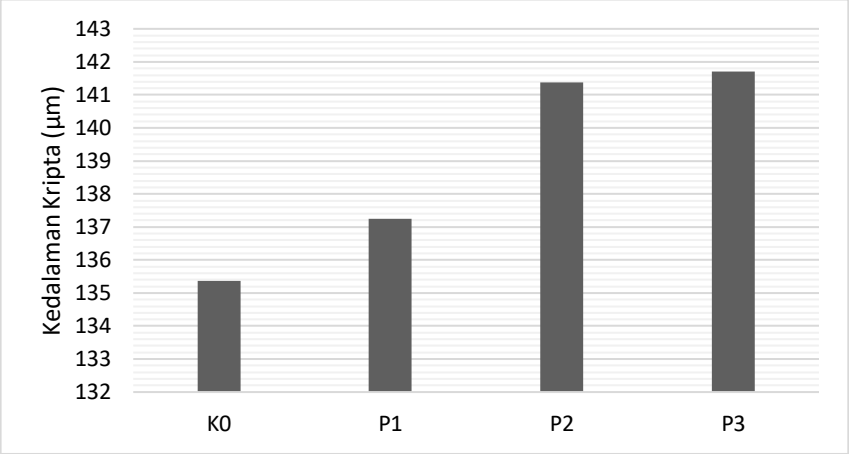


Gambar 4. 1 Hasil Pengukuran Tinggi Vili Jejunum

Berdasarkan hasil pengukuran, rerata tinggi vili jejunum antarkelompok menunjukkan nilai yang relatif serupa. Rerata tinggi vili terendah ditemukan pada kelompok P3 dengan dosis EKBM 2924 mg/kgBB, yaitu sebesar 435,288 µm, sedangkan rerata tertinggi ditemukan pada kelompok P1 dengan dosis EKBM 731 mg/kgBB, yaitu sebesar 435,862 µm. Perbedaan rerata tinggi vili antarkelompok tampak sangat kecil dan tidak menunjukkan pola perubahan yang jelas seiring peningkatan dosis.

4.1.2. Hasil Pengukuran Kedalaman Kripta Jejunum

Pengukuran kedalaman kripta jejunum dilakukan pada 10 kripta yang memenuhi kriteria kelayakan ukur pada setiap preparat melalui pengamatan pada lima lapang pandang. Kedalaman kripta diukur dari batas antara vili dan kripta hingga dasar kripta. Hasil rerata kedalaman kripta jejunum pada masing-masing kelompok disajikan pada Gambar 4.2.



Gambar 4. 2 Hasil Pengukuran Kedalaman Kripta Jejunum

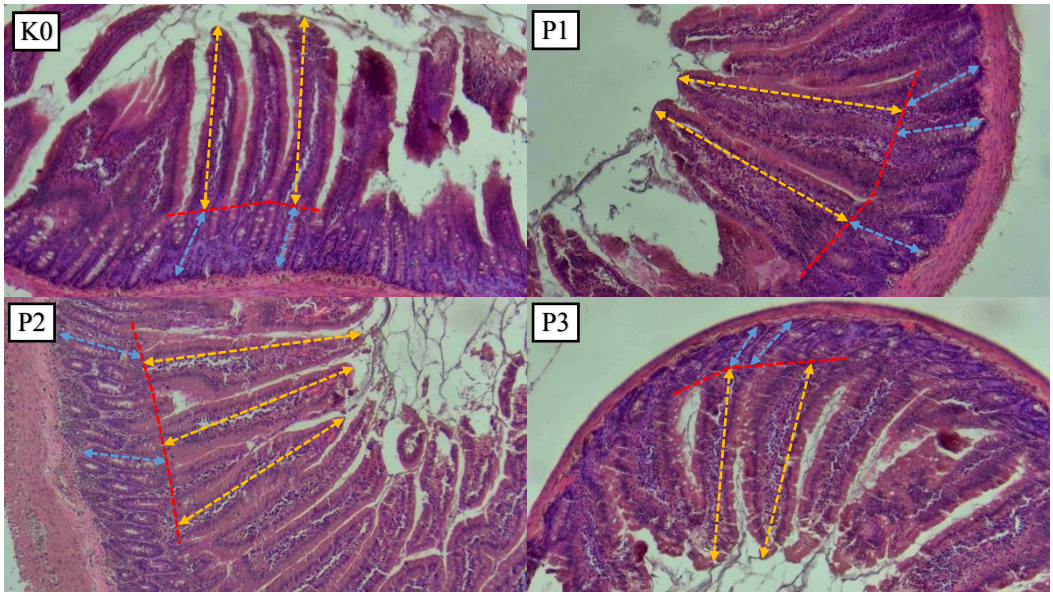
Data kedalaman kripta jejunum menunjukkan adanya variasi rerata antarkelompok. Secara deskriptif, kelompok perlakuan memiliki rerata kedalaman kripta yang lebih tinggi dibandingkan kelompok kontrol. Rerata kedalaman kripta jejunum terendah ditemukan pada kelompok kontrol (K0), yaitu sebesar 135,358 µm, sedangkan rerata tertinggi ditemukan pada kelompok P3 dengan dosis EKBM 2924 mg/kgBB, yaitu sebesar 141,705 µm. Perbedaan rerata tersebut menunjukkan adanya kecenderungan peningkatan kedalaman kripta pada kelompok perlakuan, terutama pada kelompok P2 dan P3.

4.1.3. Hasil Pengukuran Rasio Tinggi Vili terhadap Kedalaman Kripta Jejunum

Rasio tinggi vili terhadap kedalaman kripta dihitung pada setiap sampel hewan coba dengan membagi nilai akhir rata-rata tinggi vili dengan nilai akhir rata-rata kedalaman kripta pada sampel yang sama. Nilai akhir tersebut diperoleh dari rerata hasil pengukuran dua pengamat. Rasio dari masing-masing sampel kemudian digunakan untuk menghitung rerata rasio tiap kelompok dan dianalisis secara statistik. Rasio V/K tidak memiliki satuan karena tinggi vili dan kedalaman kripta sama-sama dinyatakan dalam mikrometer (µm). Rumus yang digunakan adalah sebagai berikut:

$$Rasio\ {}^{V}/_{K} = \frac{Rata - rata\ tinggi\ vili\ (V)}{Rata - rata\ kedalaman\ kripta\ (K)}$$

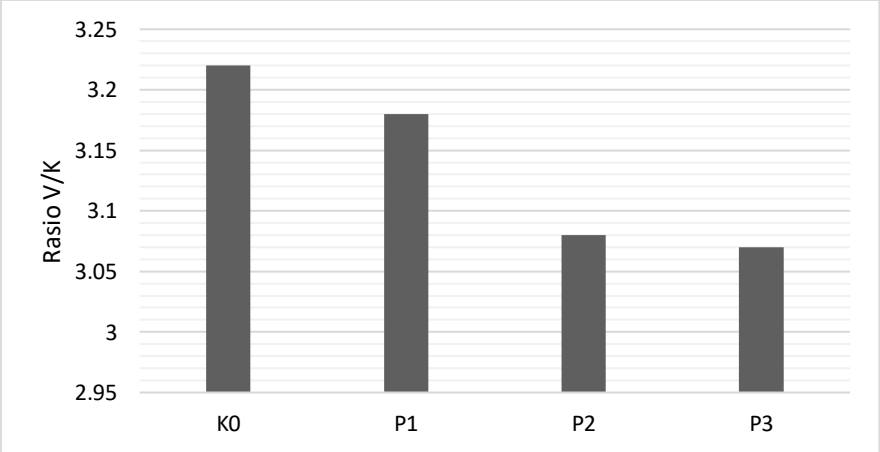
Gambaran histomorfometri jejunum pada masing-masing kelompok penelitian yang menunjukkan pengukuran tinggi vili dan kedalaman kripta disajikan pada Gambar 4.3.



Keterangan: Garis kuning: tinggi vili jejunum, dan garis biru: kedalaman kripta jejunum

Gambar 4. 3 Gambaran histomorfometri jejunum (H&E, 100X) kelompok kontrol (K0), kelompok P1 EKBM 731 mg/kgBB (P1), kelompok P2 EKBM 1462 mg/kgBB (P2), kelompok P3 EKBM 2924 mg/kgBB (P3) (Sumber: Pengamatan pribadi)

Hasil pengukuran rasio tinggi vili terhadap kedalaman kripta jejunum disajikan pada Gambar 4.4.



Gambar 4. 4 Hasil Pengukuran Rasio Tinggi Vili Terhadap Kedalaman Kripta Jejunum

Rasio tinggi vili terhadap kedalaman kripta digunakan sebagai salah satu indikator histomorfometri untuk menilai keseimbangan antara struktur absorptif dan regeneratif mukosa jejunum. Tinggi vili dapat mencerminkan kondisi struktur absorptif mukosa, sedangkan kedalaman kripta dapat menggambarkan respons proliferatif atau regeneratif epitel. Berdasarkan hasil pengukuran, nilai rasio antarkelompok menunjukkan kecenderungan penurunan seiring peningkatan dosis EKBM. Rerata rasio tertinggi ditemukan pada kelompok kontrol, yaitu sebesar 3,22, sedangkan rerata rasio terendah ditemukan pada kelompok P3 dengan dosis EKBM 2924 mg/kg BB, yaitu sebesar 3,07.

4.2 Analisis Data

Data histomorfometri jejunum yang dianalisis dalam penelitian ini meliputi tinggi vili, kedalaman kripta, serta rasio tinggi vili terhadap kedalaman kripta. Seluruh data diolah menggunakan perangkat lunak IBM SPSS Statistics 25. Analisis ini dilakukan untuk mengetahui ada atau tidaknya perbedaan bermakna antarkelompok setelah pemberian ekstrak kulit bawang merah pada dosis yang berbeda. Sebelum dilakukan uji perbedaan, data terlebih dahulu diuji normalitasnya menggunakan uji Shapiro-Wilk karena jumlah sampel pada setiap kelompok kurang dari 50. Selanjutnya, uji homogenitas dilakukan menggunakan uji Levene. Pemilihan uji statistik selanjutnya ditentukan berdasarkan hasil uji normalitas dan homogenitas data.

4.2.1. Analisis Data Tinggi Vili Jejunum

Data tinggi vili jejunum pada kelompok kontrol, P1, P2, dan P3 terlebih dahulu diuji normalitasnya menggunakan uji Shapiro-Wilk. Berdasarkan Tabel 4.1, seluruh kelompok menunjukkan nilai signifikansi lebih besar dari 0,05, sehingga data tinggi vili jejunum dinyatakan berdistribusi normal. Namun, hasil uji homogenitas pada Tabel 4.2 menunjukkan nilai signifikansi sebesar $p = 0,002$. Nilai tersebut lebih kecil dari 0,05, sehingga data tinggi vili jejunum dinyatakan tidak memiliki varians yang homogen.

Tabel 4. 1 Hasil uji Shapiro-Wilk tinggi vili jejunum

	Shapiro-Wilk		
Kelompok	***Statistic***	**df**	**Sig.**
Kontrol	0,935	6	0,616
P1	0,981	6	0,956
P2	0,897	6	0,358
P3	0,896	6	0,352

Tabel 4. 2 Hasil Uji Levene tinggi vili jejunum

Levene *Statistic*	**df1**	**df2**	**Sig.**
6,782	3	20	0,002

Karena data berdistribusi normal tetapi tidak memenuhi asumsi homogenitas varians, analisis perbedaan antarkelompok dilakukan menggunakan uji Welch ANOVA. Berdasarkan Tabel 4.3, hasil uji Welch ANOVA menunjukkan nilai signifikansi sebesar p = 0,989. Nilai tersebut lebih besar dari 0,05, sehingga dapat disimpulkan bahwa tidak terdapat perbedaan bermakna pada rerata tinggi vili jejunum antarkelompok.

Tabel 4. 3 Hasil uji Welch ANOVA tinggi vili jejunum

	Statistic	**df1**	**df2**	**Sig.**
Welch	0,039	3	9,606	0,989

Selanjutnya, karena hasil uji Welch ANOVA tidak menunjukkan perbedaan yang bermakna, maka secara statistik tidak diperlukan uji lanjutan. Secara deskriptif, rerata tinggi vili jejunum antarkelompok menunjukkan nilai yang relatif serupa, dengan variasi yang sangat kecil. Tidak adanya pola perubahan yang konsisten seiring peningkatan dosis menunjukkan bahwa pemberian EKBM pada dosis bertingkat selama 28 hari tidak berpengaruh bermakna terhadap tinggi vili jejunum tikus Wistar.

4.2.2. Analisis Data Kedalaman Kripta Jejunum

Data kedalaman kripta jejunum dari seluruh kelompok dianalisis terlebih dahulu menggunakan uji normalitas Shapiro-Wilk dan uji homogenitas Levene. Berdasarkan Tabel 4.4, kelompok P2 menunjukkan nilai signifikansi kurang dari 0,05, sehingga data kedalaman kripta pada kelompok tersebut dinyatakan tidak

berdistribusi normal. Sementara itu, kelompok kontrol, P1, dan P3 menunjukkan nilai signifikansi lebih besar dari 0,05, sehingga data pada ketiga kelompok tersebut dinyatakan berdistribusi normal.

Hasil uji homogenitas pada Tabel 4.5 menunjukkan nilai signifikansi sebesar p = 0,320. Nilai tersebut lebih besar dari 0,05, sehingga data kedalaman kripta jejunum dinyatakan memiliki varians yang homogen. Namun, karena tidak seluruh kelompok memenuhi asumsi normalitas, analisis perbedaan antarkelompok dilakukan menggunakan uji nonparametrik Kruskal-Wallis.

Tabel 4. 4 Hasil uji Shapiro-Wilk kedalaman kripta jejunum

	Shapiro-Wilk		
Kelompok	***Statistic***	**df**	**Sig.**
Kontrol	0,973	6	0,909
P1	0,981	6	0,957
P2	0,757	6	0,023
P3	0,937	6	0,683

Tabel 4. 5 Hasil Uji Levene kedalaman kripta jejunum

Levene *Statistic*	**df1**	**df2**	**Sig.**
1,245	3	20	0,320

Berdasarkan Tabel 4.6, hasil uji Kruskal-Wallis menunjukkan nilai signifikansi sebesar p = 0,004. Nilai tersebut lebih kecil dari 0,05, sehingga terdapat perbedaan bermakna kedalaman kripta jejunum antarkelompok. Oleh karena itu, analisis dilanjutkan dengan uji Mann-Whitney U sebagai uji lanjut untuk mengetahui pasangan kelompok yang menunjukkan perbedaan bermakna.

Tabel 4. 6 Hasil uji Kruskal-Wallis kedalaman kripta jejunum

Parameter	**Nilai**
Kruskal-Wallis H	13,333
df	3
Asymp. Sig.	0,004

Tabel 4. 7 Hasil uji Mann-Whitney U kedalaman kripta jejunum

Perbandingan Kelompok	Mann-Whitney U	Z	Asymp. Sig.
Kontrol - P1	8,000	-1,601	0,109
Kontrol - P2	2,000	-2,562	0,010
Kontrol - P3	0,000	-2,882	0,004
P1 - P2	6,000	-1,922	0,055
P1 - P3	4,000	-2,242	0,025
P2 - P3	18,000	0,000	1,000

Berdasarkan Tabel 4.7, hasil uji Mann-Whitney U sebagai uji lanjut awal menunjukkan adanya perbedaan bermakna antara kelompok kontrol dan P2 dengan nilai p = 0,010, kelompok kontrol dan P3 dengan nilai p = 0,004, serta kelompok P1 dan P3 dengan nilai p = 0,025 apabila menggunakan batas signifikansi p < 0,05. Namun, karena terdapat enam perbandingan antarkelompok, interpretasi hasil uji lanjut perlu mempertimbangkan koreksi terhadap perbandingan ganda untuk mengurangi risiko kesalahan tipe I atau hasil signifikan palsu. Oleh karena itu, dilakukan uji lanjut perbandingan berpasangan dengan koreksi Bonferroni.

Tabel 4. 8 Hasil uji lanjut perbandingan berpasangan kedalaman kripta jejunum dengan koreksi Bonferroni

Perbandingan Kelompok	Test Statistic	Std. Test Statistics	Sig.	Adj. Sig.
Kontrol - P1	-4,667	-1,143	0,253	1,000
Kontrol - P2	-12,000	-2,939	0,003	0,020
Kontrol - P3	-12,667	-3,103	0,002	0,012
P1 - P2	-7,333	-1,796	0,072	0,435
P1 - P3	-8,000	-1,960	0,050	0,300
P2 - P3	-0,667	-0,163	0,870	1,000

Keterangan: Adj. Sig. merupakan nilai signifikansi yang telah disesuaikan menggunakan koreksi Bonferroni. Perbedaan dinyatakan bermakna apabila Adj. Sig. < 0,05.

Berdasarkan Tabel 4.8, hasil uji lanjut perbandingan berpasangan dengan koreksi Bonferroni menunjukkan adanya perbedaan bermakna antara kelompok kontrol dan P2 dengan nilai Adj. Sig. = 0,020, serta antara kelompok kontrol dan P3 dengan nilai Adj. Sig. = 0,012. Sementara itu, tidak terdapat perbedaan bermakna antara kelompok kontrol dan P1, P1 dan P2, P1 dan P3, serta P2 dan P3 karena nilai Adj. Sig. masing-masing lebih besar dari 0,05. Dengan demikian,

interpretasi akhir berdasarkan koreksi Bonferroni menunjukkan bahwa pemberian EKBM dosis sedang 1462 mg/kgBB dan dosis tinggi 2924 mg/kgBB berpengaruh bermakna terhadap peningkatan kedalaman kripta jejunum dibandingkan kelompok kontrol.

4.2.3. Analisis Data Rasio Tinggi Vili terhadap Kedalaman Kripta Jejunum

Data rasio tinggi vili terhadap kedalaman kripta jejunum dianalisis terlebih dahulu menggunakan uji normalitas Shapiro-Wilk dan uji homogenitas Levene. Berdasarkan Tabel 4.9, kelompok P2 menunjukkan nilai signifikansi kurang dari 0,05, sehingga data rasio pada kelompok tersebut dinyatakan tidak berdistribusi normal. Sementara itu, kelompok kontrol, P1, dan P3 menunjukkan nilai signifikansi lebih besar dari 0,05, sehingga data pada ketiga kelompok tersebut dinyatakan berdistribusi normal.

Hasil uji homogenitas pada Tabel 4.10 menunjukkan nilai signifikansi sebesar p = 0,066. Nilai tersebut lebih besar dari 0,05, sehingga data rasio tinggi vili terhadap kedalaman kripta jejunum dinyatakan memiliki varians yang homogen. Namun, karena tidak seluruh kelompok memenuhi asumsi normalitas, analisis perbedaan antarkelompok dilakukan menggunakan uji nonparametrik Kruskal-Wallis.

Tabel 4. 9 Hasil uji Shapiro-Wilk rasio tinggi vili terhadap kedalaman kripta jejunum

	Shapiro-Wilk		
Kelompok	***Statistic***	**df**	**Sig.**
Kontrol	0,952	6	0,755
P1	0,954	6	0,775
P2	0,784	6	0,042
P3	0,832	6	0,111

Tabel 4. 10 Hasil Uji Levene rasio tinggi vili terhadap kedalam kripta jejunum

Levene *Statistic*	**df1**	**df2**	**Sig.**
2,800	3	20	0,066

Tabel 4. 11 Hasil uji Kruskal-Wallis rasio tinggi vili terhadap kedalaman kripta jejunum

Parameter	Nilai
Kruskal-Wallis H	10,680
df	3
Asymp. Sig.	0,014

Berdasarkan Tabel 4.11, hasil uji Kruskal-Wallis menunjukkan nilai signifikansi sebesar p = 0,014. Nilai tersebut lebih kecil dari 0,05, sehingga terdapat perbedaan bermakna rasio tinggi vili terhadap kedalaman kripta jejunum antarkelompok. Oleh karena itu, analisis dilanjutkan dengan uji Mann-Whitney U sebagai uji lanjut awal untuk mengetahui pasangan kelompok yang menunjukkan perbedaan bermakna.

Tabel 4. 12 Hasil uji Mann-Whitney U rasio tinggi vili terhadap kedalaman kripta jejunum

Perbandingan Kelompok	Mann-Whitney U	Z	Asymp. Sig.
Kontrol - P1	10,500	-1,203	0,229
Kontrol - P2	2,500	-2,491	0,013
Kontrol - P3	3,500	-2,330	0,020
P1 - P2	4,000	-2,246	0,025
P1 - P3	7,500	-1,687	0,092
P2 - P3	13,000	-0,803	0,422

Berdasarkan Tabel 4.12, hasil uji Mann-Whitney U sebagai uji lanjut awal menunjukkan adanya perbedaan bermakna antara kelompok kontrol dan P2 dengan nilai p = 0,013, kelompok kontrol dan P3 dengan nilai p = 0,020, serta kelompok P1 dan P2 dengan nilai p = 0,025 apabila menggunakan batas signifikansi p < 0,05. Sementara itu, tidak terdapat perbedaan bermakna antara kelompok kontrol dan P1, P1 dan P3, serta P2 dan P3 karena nilai signifikansi masing-masing lebih besar dari 0,05. Namun, karena terdapat enam perbandingan antarkelompok, interpretasi hasil uji lanjut perlu mempertimbangkan koreksi terhadap perbandingan ganda untuk mengurangi risiko kesalahan tipe I atau hasil signifikan palsu. Oleh karena itu, dilakukan uji lanjut perbandingan berpasangan dengan koreksi Bonferroni.

Tabel 4. 13 Hasil uji lanjut perbandingan berpasangan rasio tinggi vili terhadap kedalaman kripta jejunum dengan koreksi Bonferroni

Perbandingan Kelompok	Test Statistic	Std. Test Statistics	Sig.	Adj. Sig.
Kontrol - P1	0,917	0,225	0,822	1,000
Kontrol - P2	7,833	1,921	0,055	0,328
Kontrol - P3	11,250	2,759	0,006	0,035
P1 - P2	6,917	1,696	0,090	0,539
P1 - P3	10,333	2,534	0,011	0,068
P2 - P3	3,417	0,838	0,402	1,000

Keterangan: Adj. Sig. merupakan nilai signifikansi yang telah disesuaikan menggunakan koreksi Bonferroni. Perbedaan dinyatakan bermakna apabila Adj. Sig. < 0,05.

Berdasarkan Tabel 4.13, hasil uji lanjut perbandingan berpasangan dengan koreksi Bonferroni menunjukkan adanya perbedaan bermakna antara kelompok kontrol dan P3 dengan nilai Adj. Sig. = 0,035. Sementara itu, tidak terdapat perbedaan bermakna antara kelompok kontrol dan P1, kontrol dan P2, P1 dan P2, P1 dan P3, serta P2 dan P3 karena nilai Adj. Sig. masing-masing lebih besar dari 0,05. Dengan demikian, interpretasi akhir berdasarkan koreksi Bonferroni menunjukkan bahwa pemberian EKBM dosis tinggi 2924 mg/kg BB berpengaruh bermakna terhadap rasio tinggi vili terhadap kedalaman kripta jejunum dibandingkan kelompok kontrol.

4.3 Pembahasan

Kulit bawang merah (*Allium cepa* L.) merupakan bahan alami yang mengandung senyawa bioaktif seperti flavonoid, fenolik, dan kuersetin yang memiliki aktivitas antioksidan dan antiinflamasi. Senyawa tersebut berpotensi memengaruhi homeostasis mukosa saluran pencernaan melalui perlindungan terhadap stres oksidatif dan modulasi lingkungan mikro usus. Mukosa usus berperan penting dalam menjaga keseimbangan antara fungsi absorpsi, proteksi, dan regenerasi epitel melalui integritas sel epitel, *tight junction*, serta interaksi dengan sistem imun lokal (Di Tommaso *et al*., 2021). Namun, efek biologis kuersetin dapat dipengaruhi oleh dosis, lama paparan, bentuk senyawa, dan organ yang diamati. Pada dosis tinggi atau paparan berulang, senyawa berbasis kuersetin dilaporkan dapat menimbulkan respons biologis yang bervariasi pada organ

tertentu. Oleh karena itu, penelitian ini dilakukan untuk menilai ada atau tidaknya perubahan histomorfometri jejunum tikus Wistar setelah pemberian ekstrak kulit bawang merah dalam dosis bertingkat selama 28 hari, meliputi tinggi vili, kedalaman kripta, dan rasio tinggi vili terhadap kedalaman kripta.

Berdasarkan hasil penelitian ini, pemberian EKBM 731 mg/kgBB, EKBM 1462 mg/kgBB, dan EKBM 2924 mg/kgBB selama 28 hari tidak berpengaruh signifikan terhadap tinggi vili jejunum tikus Wistar (Welch ANOVA, $p = 0,989$). Hasil ini menunjukkan bahwa pemberian EKBM belum menyebabkan perubahan bermakna pada struktur vili jejunum. Penelitian mengenai uji toksisitas ekstrak kulit bawang merah berbasis marker kuersetin terhadap tinggi vili jejunum masih terbatas. Oleh karena itu, pembahasan ini dibandingkan dengan beberapa penelitian lain yang mengevaluasi keamanan kuersetin, turunan kuersetin, maupun bahan alam yang mengandung kuersetin terhadap jaringan atau organ pencernaan dan organ lain.

Beberapa penelitian toksisitas kuersetin murni maupun turunannya mendukung bahwa senyawa berbasis kuersetin relatif aman terhadap struktur jaringan pada dosis dan lama pemberian tertentu, meskipun parameter yang dinilai tidak sepenuhnya sama dengan penelitian ini. Ruiz *et al*. (2009) melaporkan bahwa pemberian kuersetin dosis tinggi hingga 3000 mg/kgBB pada mencit selama 28 hari tidak menimbulkan perubahan histopatologi yang signifikan pada organ jantung, hepar, limpa, ginjal, paru-paru, otak, dan pankreas. Cunningham *et al*. (2022) juga menunjukkan bahwa pemberian kuersetin dalam diet dengan dosis 62, 125, dan 250 mg/kg diet, atau setara dengan pemberian kuersetin dosis sekitar 12,5, 25, dan 50 mg/kgBB/hari, selama 98 hari pada mencit tidak menimbulkan efek bermakna terhadap histopatologi organ hati, ginjal, limpa, jantung, dan kolon. Hasil serupa dilaporkan oleh Kapoor *et al*. (2021), bahwa pemberian senyawa turunan kuersetin berupa *isoquercitrin-γ-cyclodextrin inclusion complex* selama 90 hari pada tikus Sprague-Dawley hingga dosis tinggi 3338,55 mg/kgBB/hari pada tikus jantan dan 2177,33 mg/kgBB/hari pada tikus betina tidak menimbulkan temuan patologis atau histopatologis bermakna pada organ pencernaan, meliputi lambung, pankreas, duodenum, jejunum, ileum, sekum, kolon, dan rektum. Namun, penelitian tersebut

hanya menilai lesi histopatologi umum dan tidak secara khusus mengukur tinggi vili maupun kedalaman kripta.

Pada penelitian menggunakan bahan alam dengan kandungan kuersetin, Alrefaei & Attia (2023) melaporkan bahwa pemberian Steviana pada tikus jantan normal dengan dosis 5 mg/kgBB selama 28 hari tidak menyebabkan perubahan signifikan pada panjang vili duodenum, jejunum, maupun ileum, tetapi meningkatkan kedalaman kripta pada ketiga segmen tersebut. Meskipun Steviana mengandung komponen bioaktif seperti flavonoid dan kuersetin, dosis pada penelitian tersebut tidak ditentukan berdasarkan kadar kuersetin, sehingga lebih tepat digunakan sebagai pembanding bahan alam kaya senyawa bioaktif, bukan sebagai bukti langsung efek kuersetin.

Tidak bermaknanya tinggi vili jejunum pada penelitian ini dapat dipahami karena tinggi vili merupakan gambaran stabilitas struktur absorptif mukosa yang dipengaruhi oleh keseimbangan *turnover* epitel. Epitel usus halus merupakan jaringan yang mengalami pembaruan cepat, yaitu sekitar 3–5 hari, melalui proses pembentukan sel epitel baru, migrasi menuju vili, diferensiasi menjadi sel matang, hingga pelepasan sel di permukaan atau ujung vili sebagai bagian dari *homeostatic renewal* (Fink & Wrana, 2023). Pada kondisi jaringan yang tidak diinduksi jejas berat, pemberian EKBM selama 28 hari kemungkinan belum menimbulkan gangguan yang cukup kuat untuk mengubah arsitektur vili secara nyata. Hal ini diperkuat oleh Wang *et al*. (2025), yang menjelaskan bahwa panjang vili dipertahankan oleh keseimbangan antara proliferasi, migrasi, apoptosis, dan pelepasan sel epitel; bahkan peningkatan proliferasi tidak selalu langsung menyebabkan perubahan panjang vili apabila mekanisme *turnover* masih terkontrol. Dengan demikian, stabilnya tinggi vili pada penelitian ini menunjukkan bahwa struktur absorptif jejunum masih relatif terpelihara dan mukosa kemungkinan masih berada dalam kondisi homeostasis setelah pemberian EKBM.

Berbeda dengan tinggi vili, hasil uji Kruskal-Wallis menunjukkan nilai p = 0,004, sehingga terdapat perbedaan bermakna kedalaman kripta jejunum antarkelompok. Uji lanjut dengan koreksi Bonferroni menunjukkan perbedaan bermakna antara kelompok kontrol dengan EKBM 1462 mg/kgBB (Adj. Sig. =

0,020) dan EKBM 2924 mg/kgBB (Adj. Sig. = 0,012), sedangkan EKBM 731 mg/kgBB tidak berbeda signifikan dibandingkan kontrol. Temuan ini menunjukkan bahwa perubahan morfologis pada kripta mulai tampak pada dosis sedang dan tinggi. Dengan demikian, kedalaman kripta tampaknya menjadi parameter yang lebih responsif terhadap pemberian EKBM dibandingkan tinggi vili.

Penelitian mengenai pengaruh ekstrak kulit bawang merah berbasis marker kuersetin terhadap kedalaman kripta jejunum masih terbatas. Oleh karena itu, hasil penelitian ini dibandingkan dengan beberapa penelitian lain yang mengevaluasi bahan alam kaya senyawa fenolik, kuersetin, maupun turunan kuersetin terhadap morfologi usus. Temuan ini memiliki pola yang serupa dengan Alrefaei & Attia (2023), yang melaporkan bahwa pemberian Steviana 5 mg/kgBB selama 28 hari pada tikus jantan normal meningkatkan kedalaman kripta duodenum, jejunum, dan ileum, tetapi tidak menyebabkan perubahan bermakna pada tinggi vili. Kesamaan pola tersebut menunjukkan bahwa bahan alam kaya senyawa bioaktif dapat memberikan respons yang lebih nyata pada kompartemen kripta dibandingkan vili. Namun, penelitian tersebut tidak menggunakan kuersetin murni dan tidak menstandarkan bahan uji berdasarkan kadar kuersetin, sehingga relevansinya lebih tepat ditempatkan sebagai pembanding respons bahan alam terhadap mukosa usus.

Hasil penelitian ini juga dapat dibandingkan dengan Omar *et al*. (2020), yang melaporkan bahwa pemberian *phenolic-rich onion extract* dari *Allium cepa* pada ayam broiler sehat selama 35 hari memperbaiki beberapa parameter morfometri usus, termasuk tinggi dan lebar vili, kedalaman kripta, ketebalan mukosa, serta jumlah sel goblet pada duodenum, jejunum, dan ileum. Temuan tersebut menunjukkan bahwa senyawa fenolik dari bawang berpotensi memengaruhi struktur mukosa usus. Abdel-Latif *et al*. (2021) juga melaporkan bahwa suplementasi kuersetin 200 ppm, 400 ppm, dan 800 ppm dalam pakan ayam broiler selama lima minggu memengaruhi morfometri usus, termasuk tinggi vili, lebar vili, kedalaman kripta, dan rasio vili/kripta. Pada penelitian tersebut, kelompok Q200 menunjukkan nilai rasio vili/kripta tertinggi, sedangkan kelompok Q800 menunjukkan kedalaman kripta terbesar dengan rasio vili/kripta yang lebih rendah dibandingkan kelompok Q200 dan Q400. Pola ini menunjukkan bahwa

peningkatan dosis kuersetin tidak selalu diikuti oleh peningkatan rasio vili/kripta secara linear. Meskipun penelitian tersebut menggunakan ayam broiler, hasilnya tetap relevan sebagai pembanding karena menunjukkan bahwa kuersetin dapat memengaruhi kompartemen mukosa usus.

Secara estimatif, dosis kuersetin 200–800 ppm pada penelitian Abdel-Latif *et al*. (2021) diperkirakan setara dengan sekitar 26–106 mg/kgBB/hari pada tikus. Sementara itu, dosis ekuivalen kuersetin dalam penelitian ini adalah 95, 190, dan 380 mg/kgBB/hari. Dengan demikian, paparan ekuivalen kuersetin pada penelitian ini berada pada rentang yang lebih tinggi dibandingkan penelitian Abdel-Latif *et al.* (2021). Namun, perbandingan tersebut tidak dapat disetarakan secara langsung karena terdapat perbedaan spesies hewan, bentuk bahan uji, rute pemberian, durasi perlakuan, serta matriks senyawa. Pada penelitian Abdel-Latif *et al.* (2021), kuersetin diberikan sebagai suplementasi dalam pakan, sedangkan pada penelitian ini kuersetin berada dalam ekstrak kulit bawang merah bersama senyawa bioaktif lain. Oleh karena itu, dosis ekuivalen kuersetin dalam EKBM lebih tepat dipahami sebagai kadar marker dalam ekstrak, bukan sebagai dosis kuersetin murni yang sepenuhnya setara. Hal ini karena kuersetin dalam bahan alam dapat hadir dalam berbagai bentuk, termasuk aglikon maupun glikosida, serta berada dalam matriks senyawa lain yang dapat memengaruhi respons biologisnya (Dabeek & Marra, 2019; Terao, 2023). Dengan demikian, hasil penelitian yang menggunakan kuersetin murni tetap relevan sebagai pembanding, tetapi tidak dapat dijadikan dasar penyetaraan efek secara mutlak dengan EKBM.

Selain kuersetin, penelitian pada senyawa turunannya juga dapat digunakan sebagai pembanding. Li *et al*. (2022) melaporkan bahwa suplementasi rutin, yaitu glikosida kuersetin, pada ayam petelur tua dengan dosis 500 mg/kg dan 1000 mg/kg pakan selama delapan minggu memperbaiki beberapa parameter morfologi usus, terutama pada jejunum. Pemberian rutin 500 mg/kg meningkatkan tinggi vili jejunum secara signifikan, sedangkan dosis 500 mg/kg dan 1000 mg/kg meningkatkan rasio vili terhadap kedalaman kripta jejunum. Namun, kedalaman kripta jejunum serta parameter morfometri pada ileum tidak mengalami perubahan signifikan. Temuan tersebut menunjukkan bahwa respons morfologi usus terhadap

senyawa flavonoid turunan kuersetin dapat berbeda antarsegmen usus dan tidak selalu bersifat linear terhadap peningkatan dosis. Dengan demikian, signifikannya kedalaman kripta pada penelitian ini tidak harus dipandang sebagai hasil yang bertentangan, tetapi menunjukkan bahwa EKBM kemungkinan memberikan respons yang lebih dominan pada kompartemen regeneratif jejunum tikus Wistar.

Peningkatan kedalaman kripta pada penelitian ini dapat diinterpretasikan sebagai respons adaptif-regeneratif mukosa jejunum. Kripta merupakan kompartemen aktif dalam pembaruan epitel usus karena menjadi tempat keberadaan sel punca intestinal dan sel progenitor atau *transit-amplifying cells* yang berperan dalam pembentukan sel epitel baru. Sel-sel tersebut kemudian bergerak ke arah vili, mengalami diferensiasi menjadi sel epitel matang, dan akhirnya dilepaskan ke lumen setelah beberapa hari sebagai bagian dari *turnover* epitel normal (Gehart & Clevers, 2019). Oleh karena itu, kedalaman kripta lebih sensitif menggambarkan perubahan aktivitas pembaruan epitel dibandingkan tinggi vili, karena kripta merupakan titik awal produksi dan regenerasi sel mukosa. Hal ini diperkuat oleh Parker *et al*. (2017), yang menunjukkan bahwa proliferasi sel di dalam kripta merupakan pendorong utama migrasi sel epitel sepanjang vili. Dengan demikian, peningkatan kedalaman kripta pada penelitian ini dapat dipahami sebagai peningkatan aktivitas regeneratif atau kompensasi mukosa untuk mempertahankan integritas epitel.

Pada parameter rasio tinggi vili terhadap kedalaman kripta, hasil uji Kruskal-Wallis menunjukkan nilai p = 0,014, sehingga terdapat perbedaan bermakna rasio V/K antarkelompok. Uji lanjut dengan koreksi Bonferroni menunjukkan bahwa perbedaan bermakna tersebut secara spesifik terjadi antara kelompok kontrol dan kelompok EKBM dosis tinggi 2924 mg/kgBB (Adj. Sig. = 0,035), dengan rerata rasio menurun dari 3,22 pada kelompok kontrol menjadi 3,07 pada kelompok EKBM dosis tinggi. Sementara itu, perbedaan antara kelompok kontrol dan EKBM 1462 mg/kgBB belum mencapai signifikansi setelah koreksi Bonferroni karena nilai Adj. Sig. lebih besar dari 0,05. Pola tersebut menunjukkan bahwa perubahan rasio V/K terutama tampak pada dosis tertinggi, sejalan dengan peningkatan kedalaman kripta yang juga lebih nyata pada kelompok tersebut.

Temuan ini secara logis konsisten dengan hasil kedalaman kripta yang telah dibahas sebelumnya. Karena tinggi vili tidak berubah bermakna pada seluruh kelompok, sementara kedalaman kripta meningkat secara bertahap seiring dosis, penurunan rasio V/K pada dosis tinggi pada dasarnya merupakan konsekuensi dari pertambahan kedalaman kripta yang sudah cukup besar untuk mengubah proporsi unit kripta-vili secara keseluruhan. Dengan kata lain, rasio V/K pada penelitian ini bukan menunjukkan fenomena independen yang terpisah dari kedalaman kripta, melainkan penanda kumulatif dari respons proliferatif kripta yang pada dosis sedang masih dapat diakomodasi tanpa mengubah keseimbangan rasio secara bermakna, tetapi pada dosis tinggi sudah cukup untuk menggeser keseimbangan tersebut secara statistik.

Secara umum, arah hasil penelitian ini tampak berbeda dengan Abdel-Latif *et al*. (2021) dan Li *et al.* (2022) yang melaporkan peningkatan rasio vili/kripta setelah pemberian kuersetin atau turunannya. Pada penelitian tersebut, peningkatan rasio terutama berkaitan dengan peningkatan tinggi vili yang menyertai perubahan kedalaman kripta. Namun, perbedaan ini perlu ditempatkan secara hati-hati karena respons rasio vili/kripta terhadap kuersetin tidak selalu bersifat linear. Pada Abdel-Latif *et al*. (2021), kelompok Q200 menunjukkan rasio vili/kripta tertinggi, sedangkan kelompok Q800 menunjukkan kedalaman kripta terbesar dengan rasio vili/kripta yang cenderung lebih rendah dibandingkan kelompok perlakuan lain. Pola tersebut menunjukkan bahwa peningkatan dosis kuersetin tidak selalu diikuti oleh peningkatan rasio vili/kripta secara proporsional. Temuan ini dapat dibandingkan dengan penelitian ini, yaitu penurunan rasio V/K pada kelompok EKBM dosis tinggi 2924 mg/kg BB yang terutama berkaitan dengan peningkatan kedalaman kripta tanpa disertai penurunan tinggi vili yang bermakna. Dengan demikian, penurunan rasio V/K pada dosis tertinggi EKBM dalam penelitian ini lebih tepat dipahami sebagai bagian dari variasi respons morfometri terhadap dosis tinggi, bukan sebagai anomali yang berdiri sendiri.

Perbandingan lain dapat dilihat dari Fiesel *et al*. (2014), yang melaporkan bahwa pemberian produk tanaman kaya polifenol dari grape atau hop pada babi sapih tidak mengubah rasio tinggi vili terhadap kedalaman kripta pada duodenum

dan jejunum dibandingkan kontrol, meskipun tetap menunjukkan perubahan biologis lain seperti komposisi mikrobiota dan penurunan ekspresi beberapa gen proinflamasi. Perbandingan ini menegaskan bahwa respons rasio V/K terhadap senyawa polifenol maupun flavonoid bersifat heterogen dan sangat bergantung pada jenis senyawa, dosis, spesies, serta segmen usus yang diamati; sebagian penelitian menunjukkan peningkatan rasio yang didorong perbaikan struktur vili, sebagian lain tidak menunjukkan perubahan rasio sama sekali, sementara penelitian ini menunjukkan penurunan rasio yang terutama berkaitan dengan respons pada kompartemen kripta pada dosis tinggi.

Secara biologis, rasio tinggi vili terhadap kedalaman kripta merupakan parameter morfometri yang menggambarkan keseimbangan antara kompartemen absorptif dan regeneratif mukosa usus. La *et al*. (2024) menjelaskan bahwa rasio tinggi vili terhadap kedalaman kripta digunakan sebagai parameter kuantitatif untuk menilai morfologi usus, karena vili dan kripta merupakan struktur penting dalam fungsi absorpsi serta pemeliharaan jaringan usus. Kwon *et al*. (2020) juga menjelaskan bahwa unit kripta-vili berperan penting dalam mempertahankan homeostasis epitel usus; vili memperluas permukaan absorpsi, sedangkan kripta menjadi tempat pembaruan epitel melalui aktivitas sel punca dan sel progenitor. Dengan demikian, bermaknanya penurunan rasio V/K pada dosis tinggi dalam penelitian ini menunjukkan bahwa keseimbangan tersebut mulai bergeser ke arah kompartemen regeneratif, meskipun pergeseran ini belum disertai gangguan pada kompartemen absorptif itu sendiri.

Pada kondisi kerusakan mukosa yang lebih berat, perubahan rasio biasanya terlihat lebih jelas melalui pemendekan atau penumpulan vili (*villous blunting*), atrofi vili, kripta yang tidak teratur, atau hilangnya kripta (Erben *et al*., 2014). Pada penelitian ini, meskipun rasio V/K menurun bermakna pada dosis tinggi, penurunan tersebut terutama berkaitan dengan peningkatan kedalaman kripta tanpa disertai penurunan tinggi vili yang bermakna maupun gambaran *villous blunting* atau atrofi vili, sehingga pola perubahan yang teramati tidak sesuai dengan gambaran kerusakan mukosa berat sebagaimana dijelaskan Erben *et al*. (2014). Dengan demikian, signifikannya penurunan rasio V/K pada dosis tinggi lebih tepat

dipahami sebagai penanda dini pergeseran aktivitas regeneratif mukosa, bukan sebagai bukti gangguan struktural absorptif yang nyata.

Secara keseluruhan, hasil histomorfometri jejunum menunjukkan bahwa pemberian EKBM selama 28 hari menimbulkan perubahan yang terutama ditemukan pada kompartemen kripta, sedangkan tinggi vili tidak menunjukkan perbedaan bermakna pada seluruh dosis yang diuji. Kedalaman kripta pada kelompok EKBM dosis 1462 mg/kgBB dan 2924 mg/kgBB secara bermakna lebih tinggi dibandingkan kelompok kontrol. Pada dosis 2924 mg/kgBB, perubahan tersebut juga disertai rasio tinggi vili terhadap kedalaman kripta yang secara bermakna lebih rendah dibandingkan kelompok kontrol. Meskipun demikian, perbedaan pada kedalaman kripta dan rasio V/K tidak disertai perubahan bermakna pada tinggi vili, sehingga tidak menunjukkan gangguan menyeluruh pada unit kripta-vili berdasarkan parameter histomorfometri yang diamati. Dengan demikian, pemberian EKBM pada dosis 731, 1462, dan 2924 mg/kgBB selama 28 hari tidak menunjukkan efek toksik terhadap jejunum tikus Wistar berdasarkan tinggi vili, kedalaman kripta, dan rasio tinggi vili terhadap kedalaman kripta. Perubahan yang ditemukan dapat mencerminkan respons morfometrik lokal pada mukosa jejunum, tetapi mekanisme adaptasi atau regenerasi belum dapat dipastikan karena penelitian ini tidak menilai proliferasi sel, apoptosis, inflamasi, stres oksidatif, maupun fungsi barier usus. Oleh karena itu, pemeriksaan parameter tersebut masih diperlukan pada penelitian selanjutnya untuk menjelaskan makna biologis perubahan kedalaman kripta dan rasio V/K secara lebih mendalam.

BAB 5. KESIMPULAN DAN SARAN

5.1 Kesimpulan

Berdasarkan penelitian yang telah dilakukan, dapat disimpulkan bahwa:

a. Pemberian ekstrak kulit bawang merah (*Allium cepa* L.) dosis 731 mg/kgBB, 1462 mg/kgBB, dan 2924 mg/kgBB tidak berpengaruh terhadap tinggi vili jejunum tikus Wistar (*Rattus norvegicus*) pada uji toksisitas subkronis.
b. Pemberian ekstrak kulit bawang merah (*Allium cepa* L.) dosis 731 mg/kgBB tidak berpengaruh terhadap perubahan kedalaman kripta jejunum. Sebaliknya, pada dosis 1462 mg/kgBB dan 2924 mg/kgBB berpengaruh terhadap kedalaman kripta jejunum tikus Wistar (*Rattus norvegicus*) pada uji toksisitas subkronis.
c. Pemberian ekstrak kulit bawang merah (*Allium cepa* L.) dosis 731 mg/kgBB dan 1462 mg/kgBB tidak berpengaruh terhadap rasio tinggi vili terhadap kedalaman kripta jejunum. Sebaliknya, pemberian dosis 2924 mg/kgBB berpengaruh terhadap rasio tinggi vili terhadap kedalaman kripta jejunum tikus Wistar (*Rattus norvegicus*) pada uji toksisitas subkronis.

5.2 Keterbatasan Penelitian

Pada penelitian ini, pengukuran histomorfometri jejunum, yaitu tinggi vili dan kedalaman kripta, hanya dilakukan pada struktur yang memenuhi kriteria kelayakan ukur untuk menjaga validitas data. Hal ini disebabkan oleh faktor teknis, seperti orientasi jaringan dan kualitas preparat histologi, yang dapat memengaruhi ketepatan pengukuran.

5.3 Saran

Saran yang dapat diberikan untuk penelitian selanjutnya adalah sebagai berikut:

a. Disarankan untuk menambahkan parameter histopatologi lain, seperti jumlah sel goblet, ketebalan mukosa, infiltrasi sel radang, edema, deskuamasi epitel,

dan nekrosis agar gambaran perubahan jaringan jejunum dapat dianalisis secara lebih menyeluruh.

b. Perlu dilakukan pemeriksaan biomarker stres oksidatif dan inflamasi, seperti MDA, SOD, GPx, TNF-α, atau IL-6, untuk memperkuat penjelasan mengenai mekanisme perubahan histomorfometri jejunum akibat pemberian ekstrak kulit bawang merah.
c. Disarankan untuk menambah jumlah sampel hewan coba sesuai dengan kriteria ideal pedoman OECD 407, sehingga dapat meningkatkan kekuatan statistik penelitian dan hasil yang diperoleh lebih representatif.
d. Perlu dilakukan penelitian dengan durasi pemberian yang lebih panjang untuk mengevaluasi apakah perubahan histomorfometri jejunum bersifat adaptif, protektif, atau dapat berkembang menjadi perubahan patologis dalam jangka panjang.
e. Disarankan untuk melakukan standarisasi bahan baku dan ekstrak kulit bawang merah, terutama terhadap identitas simplisia, metode ekstraksi kulit bawang, kadar air, kadar kuersetin sebagai senyawa penanda, stabilitas, serta cemaran, sehingga mutu ekstrak konsisten dan hasil evaluasi toksisitas dapat direproduksi.

DAFTAR PUSTAKA

Abdel-Latif, M. A., Elbestawy, A. R., El-Far, A. H., Noreldin, A. E., Emam, M., Baty, R. S., Albadrani, G. M., Abdel-Daim, M. M., & El-Hamid, H. S. A. (2021). Quercetin dietary supplementation advances growth performance, gut microbiota, and intestinal mrna expressiogenes in broiler chickens. *Animals*, *11*(8). https://doi.org/10.3390/ani11082302

Alrefaei, A. F., & Attia, K. A. (2023). Digestive enzyme activities, oxidative status and intestinal histomorphometry of rats supplemented with steviana, a natural sweetener. *Pakistan Journal of Biological Sciences*, *26*(12), 593–599. https://doi.org/10.3923/pjbs.2023.593.599

Andarina, R., & Djauhari, T. (2017). Antioksidan dalam dermatologi. *JKK*, *4*(1), 39–48.

Avianda Gusman, T., Dwi Cahyani, M., & Nurudin, A. (2024). PELATIHAN PENGOLAHAN LIMBAH KULIT BAWANG MERAH MENJADI PRODUK MINUMAN SIRUP HERBAL DALAM MENGHAMBAT TIMBULNYA BAKTERI STAPHYOLOCCUS AUREUS PADA KULIT WAJAH MANUSIA. In *Jurnal Widya Laksana* (Vol. 13, Number 1).

Bardos, J., Dalimunthe, A., & Harahap, U. (2018). Aktivitas Hepatoprotektor Ekstrak Etanol Kulit Bawang Merah (Allium cepa L. Corium) Terhadap Mencit Jantan Yang Diinduksi Parasetamol. *Talenta Conference Series: Tropical Medicine (TM)*, *1*(3), 001–006. https://doi.org/10.32734/tm.v1i3.252

Bavaro, A. R., D'Antuono, I., Bruno, A., Ramires, F. A., Linsalata, V., Bleve, G., Cardinali, A., & Garbetta, A. (2025). Valorization of Onion-Processing Waste: Digestive Fate, Bioavailability, and Cellular Antioxidant Properties of Red and Yellow Peels Polyphenols. *Antioxidants*, *15*(1), 7. https://doi.org/10.3390/antiox15010007

Bhattacharyya, A., Chattopadhyay, R., Mitra, S., & Crowe, S. E. (2014). Essential Factor in the Pathogenesis of Gastrointestinal Mucosal Diseases. *Physiol Rev*, *94*, 329–354. https://doi.org/10.1152/physrev.00040.2012.-Reactive

Bibi, Z., Bukhari, D. A., Sarwar, M. Q., Arifullah, Younas, S., Manzoor, T., & Rehman, A. (2025). Gut health improvement by locally isolated probiotics and histomorphometric analysis in Wistar rats. *Current Research in Biotechnology*, *9*. https://doi.org/10.1016/j.crbiot.2024.100271

BPOM. (2022). *Uji Toksisitas Praklinik secara In Vivo*.

Brand, M. D. (2016). Mitochondrial generation of superoxide and hydrogen peroxide as the source of mitochondrial redox signaling. In *Free Radical Biology and Medicine* (Vol. 100, pp. 14–31). Elsevier Inc. https://doi.org/10.1016/j.freeradbiomed.2016.04.001

Chakraborty, A. J., Uddin, T. M., Matin Zidan, B. M. R., Mitra, S., Das, R., Nainu, F., Dhama, K., Roy, A., Hossain, M. J., Khusro, A., & Emran, T. Bin. (2022). Allium cepa: A Treasure of Bioactive Phytochemicals with Prospective Health Benefits. In *Evidence-based Complementary and Alternative Medicine* (Vol. 2022). Hindawi Limited. https://doi.org/10.1155/2022/4586318

Cunningham, P., Patton, E., VanderVeen, B. N., Unger, C., Aladhami, A., Enos, R. T., Madero, S., Chatzistamou, I., Fan, D., Murphy, E. A., & Velázquez, K. T. (2022). Sub-chronic oral toxicity screening of quercetin in mice. *BMC Complementary Medicine and Therapies*, *22*(1). https://doi.org/10.1186/s12906-022-03758-z

Dabeek, W. M., & Marra, M. V. (2019). Dietary quercetin and kaempferol: Bioavailability and potential cardiovascular-related bioactivity in humans. In *Nutrients* (Vol. 11, Number 10). MDPI AG. https://doi.org/10.3390/nu11102288

Dalimunthe, N. F., M. Thoriq Al Fath, Taslim, S. Ginting, M. H., Farah Nurul Alifia, & Berta, G. A. (2024). Penentuan Kadar Flavonoid dan Kandungan Fitokimia Ekstrak Kulit Bawang Merah (Allium cepa L) dengan Berbantukan Microwave sebagai Potensi Bahan Aktif Tabir Surya. *Jurnal Teknik Kimia USU*, *13*(2), 131–137. https://doi.org/10.32734/jtk.v13i2.16318

Di Tommaso, N., Gasbarrini, A., & Ponziani, F. R. (2021). Intestinal barrier in human health and disease. In *International Journal of Environmental*

Research and Public Health (Vol. 18, Number 23). MDPI. https://doi.org/10.3390/ijerph182312836

Dibal, N. I., Garba, S. H., & Jacks, T. W. (2020). Repeated 28-day oral dose toxicity of onion skin quercetin in mice. *Comparative Clinical Pathology*, *29*(6), 1219–1227. https://doi.org/10.1007/s00580-020-03174-0

Drake, R. L., Vogl, A. W., & Mitchell, A. W. M. (2019). *Gray's Anatomy for Students* (4th ed.). Elsevier.

Drake, R. L., Vogl, A. W., & Mitchell, A. W. M. (2021). *GRAY'S ATLAS OF ANATOMY, THIRD EDITION INTERNATIONAL EDITION* (3rd ed.). Elsevier.

Eliza Putri, D., & Astika Winahyu, D. (2023). PENETAPAN KADAR FLAVONOID DAN ALKALOID EKSTRAK KULIT BAWANG MERAH (Allium cepa L.) MENGGUNAKAN METODE REFLUKS DAN SOKLETASI Abstrak: Determination Of Flavonoid And Alkaloid Concentration Of Peel Extracts Red Onion (Allium Cepa L.) Use Reflux And Socletation Methods. In *Jurnal Ilmu Kedokteran dan Kesehatan* (Vol. 10, Number 3). http://ejurnalmalahayati.ac.id/index.php/kesehatan

Erben, U., Loddenkemper, C., Doerfel, K., Spieckermann, S., Haller, D., Heimesaat, M. M., Zeitz, M., Siegmund, B., & Kühl, A. A. (2014). Original Article A guide to histomorphological evaluation of intestinal inflammation in mouse models. In *Int J Clin Exp Pathol* (Vol. 7, Number 8). www.ijcep.com/

Eroschenko, V. P. (2008). *Di Fiore's Atlas of Histology with Functional Correlations* (11th ed.). Lippincott Williams & Wilkins.

Fadlilah, A. R., & Lestari, K. (2023). *REVIEW: PERAN ANTIOKSIDAN DALAM IMUNITAS TUBUH*.

Fiesel, A., Gessner, D. K., Most, E., & Eder, K. (2014). Effects of dietary polyphenol-rich plant products from grape or hop on pro-inflammatory gene expression in the intestine, nutrient digestibility and faecal microbiota of weaned pigs. *BMC Veterinary Research*, *10*(1). https://doi.org/10.1186/s12917-014-0196-5

Fink, M., & Wrana, J. L. (2023). Regulation of homeostasis and regeneration in the adult intestinal epithelium by the TGF-β superfamily. In *Developmental Dynamics* (Vol. 252, Number 4, pp. 445–462). John Wiley and Sons Inc. https://doi.org/10.1002/dvdy.500

Flieger, J., Flieger, W., Baj, J., & Maciejewski, R. (2021). Antioxidants: Classification, natural sources, activity/capacity measurements, and usefulness for the synthesis of nanoparticles. In *Materials* (Vol. 14, Number 15). MDPI AG. https://doi.org/10.3390/ma14154135

Gehart, H., & Clevers, H. (2019). Tales from the crypt: new insights into intestinal stem cells. In *Nature Reviews Gastroenterology and Hepatology* (Vol. 16, Number 1, pp. 19–34). Nature Publishing Group. https://doi.org/10.1038/s41575-018-0081-y

Gorrepati, K., Kumar, A., Ahammed Shabeer, T. P., Khan, Z., Satpute, P., Anandhan, S., Arunachalam, T., Yalamalle, V. R., Mahajan, V., & Singh, M. (2024). Characterization and evaluation of antioxidant potential of onion peel extract of eight differentially pigmented short-day onion (Allium cepa L.) varieties. *Frontiers in Sustainable Food Systems*, *8*. https://doi.org/10.3389/fsufs.2024.1469635

Gulcin, İ. (2020). Antioxidants and antioxidant methods: an updated overview. In *Archives of Toxicology* (Vol. 94, Number 3, pp. 651–715). Springer. https://doi.org/10.1007/s00204-020-02689-3

Gulcin, İ. (2025). Antioxidants: a comprehensive review. In *Archives of Toxicology* (Vol. 99, Number 5, pp. 1893–1997). Springer Science and Business Media Deutschland GmbH. https://doi.org/10.1007/s00204-025-03997-2

Jaya Edy, H., Jayanti, M., & Parwanto, E. (2022). Pemanfaatan Bawang Merah (Allium cepa L) Sebagai Antibakteri di Indonesia Utilization of Shallot (Allium cepa L) as Antibacterial in Indonesia. In *Pharmacy Medical Journal* (Vol. 5, Number 1).

Joković, N., Matejić, J., Zvezdanović, J., Stojanović-Radić, Z., Stanković, N., Mihajilov-Krstev, T., & Bernstein, N. (2024). Onion Peel as a Potential Source of Antioxidants and Antimicrobial Agents. *Agronomy*, *14*(3). https://doi.org/10.3390/agronomy14030453

Jomova, K., Alomar, S. Y., Alwasel, S. H., Nepovimova, E., Kuca, K., & Valko, M. (2024). Several lines of antioxidant defense against oxidative stress: antioxidant enzymes, nanomaterials with multiple enzyme-mimicking activities, and low-molecular-weight antioxidants. In *Archives of Toxicology* (Vol. 98, Number 5, pp. 1323–1367). Springer Science and Business Media Deutschland GmbH. https://doi.org/10.1007/s00204-024-03696-4

K. Sarath, D. Perera, & A. D. Theeshya Dulmini. (2023). *Phytochemical Aspects of Onions - Allium cepa L.* (Vol. 40, pp. 45–49). https://doi.org/10.1155/2022/4586318

Kapoor, M. P., Moriwaki, M., Timm, D., Yamagata, H., Maruyama, G., Nisihara, Y., Nakazawa, T., Takata, S., & Nakamura, D. (2021). 13-Weeks subchronic toxicity of isoquercitrin-γ-cyclodextrin (IQC-γCD) molecular inclusion complex in Sprague-Dawley rats. *Food and Chemical Toxicology*, *152*. https://doi.org/10.1016/j.fct.2021.112217

Kumar, M., Barbhai, M. D., Hasan, M., Punia, S., Dhumal, S., Radha, Rais, N., Chandran, D., Pandiselvam, R., Kothakota, A., Tomar, M., Satankar, V., Senapathy, M., Anitha, T., Dey, A., Sayed, A. A. S., Gadallah, F. M., Amarowicz, R., & Mekhemar, M. (2022). Onion (Allium cepa L.) peels: A review on bioactive compounds and biomedical activities. In *Biomedicine and Pharmacotherapy* (Vol. 146). Elsevier Masson s.r.l. https://doi.org/10.1016/j.biopha.2021.112498

Kwon, O., Han, T. S., & Son, M. Y. (2020). Intestinal Morphogenesis in Development, Regeneration, and Disease: The Potential Utility of Intestinal Organoids for Studying Compartmentalization of the Crypt-Villus Structure. In *Frontiers in Cell and Developmental Biology* (Vol. 8). Frontiers Media S.A. https://doi.org/10.3389/fcell.2020.593969

La, J., Raghunathan, K., Silvester, J. A., & Thiagarajah, J. R. (2024). ViCE: An automated and quantitative program to assess intestinal tissue morphology. *Journal of Pathology Informatics*, *15*. https://doi.org/10.1016/j.jpi.2024.100397

Laudadio, V., Passantino, L., Perillo, A., Lopresti, G., Passantino, A., Khan, R. U., & Tufarelli, V. (2012). Productive performance and histological features of intestinal mucosa of broiler chickens fed different dietary protein levels. *Poultry Science*, *91*(1), 265–270. https://doi.org/10.3382/ps.2011-01675

Leyane, T. S., Jere, S. W., & Houreld, N. N. (2022). Oxidative Stress in Ageing and Chronic Degenerative Pathologies: Molecular Mechanisms Involved in Counteracting Oxidative Stress and Chronic Inflammation. In *International Journal of Molecular Sciences* (Vol. 23, Number 13). MDPI. https://doi.org/10.3390/ijms23137273

Li, H., Gu, Y., Jin, R., He, Q., & Zhou, Y. (2022). Effects of Dietary Rutin Supplementation on the Intestinal Morphology, Antioxidant Capacity, Immunity, and Microbiota of Aged Laying Hens. *Antioxidants*, *11*(9). https://doi.org/10.3390/antiox11091843

Li, Y., Yao, J., Han, C., Yang, J., Chaudhry, M. T., Wang, S., Liu, H., & Yin, Y. (2016). Quercetin, inflammation and immunity. In *Nutrients* (Vol. 8, Number 3). MDPI AG. https://doi.org/10.3390/nu8030167

Markowska, J., Kasprzak-Drozd, K., Niziński, P., Dragan, M., Kondracka, A., Gondek, E., Oniszczuk, T., & Oniszczuk, A. (2024). Quercetin: A Promising Candidate for the Management of Metabolic Dysfunction-Associated Steatotic Liver Disease (MASLD). In *Molecules* (Vol. 29, Number 22). Multidisciplinary Digital Publishing Institute (MDPI). https://doi.org/10.3390/molecules29225245

Mescher, A. L. (2021). *Junqueira's Basic Histology: Text & Atlas* (16th ed.). McGraw Hill.

Miyazaki, K., Sasaki, A., & Mizuuchi, H. (2023). Advances in the Evaluation of Gastrointestinal Absorption Considering the Mucus Layer. In *Pharmaceutics* (Vol. 15, Number 12). Multidisciplinary Digital Publishing Institute (MDPI). https://doi.org/10.3390/pharmaceutics15122714

Mutiara Hati, N., Triyandi, R., Muhammad Fitra Wardhana, S., & Andrifianie, F. (2024). *Penelusuran Potensi Antioksidan dalam Beragam Ekstrak Daun Tanaman Obat di Indonesia* (Vol. 14).

OECD. (2008). *OECD/OCDE 407 OECD GUIDELINES FOR THE TESTING OF CHEMICALS Repeated Dose 28-Day Oral Toxicity Study in Rodents INTRODUCTION*.

Omar, A. E., Al-Khalaifah, H. S., Mohamed, W. A. M., Gharib, H. S. A., Osman, A., Al-Gabri, N. A., & Amer, S. A. (2020). Effects of Phenolic-Rich Onion (Allium cepa L.) Extract on the Growth Performance, Behavior, Intestinal Histology, Amino Acid Digestibility, Antioxidant Activity, and the Immune Status of Broiler Chickens. *Frontiers in Veterinary Science*, *7*. https://doi.org/10.3389/fvets.2020.582612

Parker, A., Maclaren, O. J., Fletcher, A. G., Muraro, D., Kreuzaler, P. A., Byrne, H. M., Maini, P. K., Watson, A. J. M., & Pin, C. (2017). Cell proliferation within small intestinal crypts is the principal driving force for cell migration on villi. *FASEB Journal*, *31*(2), 636–649. https://doi.org/10.1096/fj.201601002

Pizzino, G., Irrera, N., Cucinotta, M., Pallio, G., Mannino, F., Arcoraci, V., Squadrito, F., Altavilla, D., & Bitto, A. (2017). Oxidative Stress: Harms and Benefits for Human Health. In *Oxidative Medicine and Cellular Longevity* (Vol. 2017). Hindawi Limited. https://doi.org/10.1155/2017/8416763

Qomariah, S., & Zainuddin, A. (2023). *Preferensi Petani dalam Memilih Varietas Bawang Merah di Kabupaten Probolinggo: Sebuah Analisis Multiatribut Fishbein*. https://doi.org/10.46821/benchmark.v3i2.350

Rajesh R, U., & Dhanaraj, S. (2023). A critical review on quercetin bioflavonoid and its derivatives: Scope, synthesis, and biological applications with future prospects. In *Arabian Journal of Chemistry* (Vol. 16, Number 8). Elsevier B.V. https://doi.org/10.1016/j.arabjc.2023.104881

Ross, M. H., & Pawlina, W. (2020). *Histology: A Text and Atlas: With Correlated Cell and Molecular Biology* (8th ed.). Wolters Kluwer.

Ruiz, M. J., Fernández, M., Picó, Y., Mañes, J., Asensi, M., Carda, C., Asensio, G., & Estrela, J. M. (2009). Dietary administration of high doses of pterostilbene and quercetin to mice is not toxic. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, *57*(8), 3180–3186. https://doi.org/10.1021/jf803579e

Rusli, Z., Herlina, N., Sari, B. L., & Ulfa, S. H. (2020). Optimisasi Metode Microwave-Assisted Extraction Terhadap Kadar Kuersetin dari Limbah

Kulit Bawang Merah (Allium cepa L.). *FITOFARMAKA: Jurnal Ilmiah Farmasi*, *10*(2), 122–131. https://doi.org/10.33751/jf.v10i2.2154

Segú, H., Jalševac, F., Pinent, M., Ardévol, A., Terra, X., & Blay, M. T. (2022). Intestinal Morphometric Changes Induced by a Western-Style Diet in Wistar Rats and GSPE Counter-Regulatory Effect. *Nutrients*, *14*(13). https://doi.org/10.3390/nu14132608

Seyyedin, S., & Nazem, M. N. (2017). Histomorphometric study of the effect of methionine on small intestine parameters in rat: An applied histologic study. *Folia Morphologica (Poland)*, *76*(4), 620–629. https://doi.org/10.5603/FM.a2017.0044

Sherwood, L. (2016). *Human Physiology: From Cells to Systems* (9th ed.). Cengage Learning.

Sies, H. (2015). Oxidative stress: A concept in redox biology and medicine. In *Redox Biology* (Vol. 4, pp. 180–183). Elsevier B.V. https://doi.org/10.1016/j.redox.2015.01.002

Sotler, R., Poljšak, B., Dahmane, R., Jukić, T., Pavan Jukić, D., Rotim, C., Trebše, P., & Starc, A. (2019). PROOXIDANT ACTIVITIES OF ANTIOXIDANTS AND THEIR IMPACT ON HEALTH. In *Acta clinica Croatica* (Vol. 58, Number 4, pp. 726–736). NLM (Medline). https://doi.org/10.20471/acc.2019.58.04.20

Standring, S. (2021). *Gray's Anatomy: The Anatomical Basis of Clinical Practice* (42nd ed.). Elsavier.

Sunniyyah Farah Tsaabitah. (2025). Potensi Bawang Merah (Allium Cepa L. Var. Aggregatum) sebagai Imunomodulator dan Agen Antikanker. *VitaMedica : Jurnal Rumpun Kesehatan Umum*, *3*(3), 314–326. https://doi.org/10.62027/vitamedica.v3i3.456

Trismawati, Basit, A., & Nuriyanti, R. (2018). *Jurnal Pengabdian Kepada Masyarakat (Abdimas) IKIP Siliwangi CAMILAN BAWANG KHAS PROBOLINGGO DALAM MENGHADAPI PERSAINGAN PASAR NASIONAL*. http://duniaplant.blogspot.com/2015/08/pengertian-definisi-bawang-merah-

Uyanga, V. A., Amevor, F. K., Liu, M., Cui, Z., Zhao, X., & Lin, H. (2021). Potential implications of Citrulline and Quercetin on gut functioning of Monogastric animals and humans: A comprehensive review. In *Nutrients* (Vol. 13, Number 11). MDPI. https://doi.org/10.3390/nu13113782

Vieira-Frez, F. C., Sehaber-Sierakowski, C. C., Perles, J. V. C. M., Bossolani, G. D. P., Verri, W. A., Nascimento, R. C. do, Guarnier, F. A., Bordini, H. P., Blegniski, F. P., Martins, H. A., de Souza, S. R. G., Lima, F. G. da M., Lima, M. M., Silva, B. T., Iwanaga, C. C., & Zanoni, J. N. (2020). Anti- and pro-oxidant effects of quercetin stabilized by microencapsulation on interstitial cells of Cajal, nitrergic neurons and M2-like macrophages in the jejunum of diabetic rats. *NeuroToxicology*, *77*, 193–204. https://doi.org/10.1016/j.neuro.2020.01.011

Wang, X., Li, S., Liu, Y., Kuang, X., Chen, J., Yu, P., Zhao, L., Zhang, Z., Huang, M., Liu, L., Zhang, M., Wang, Y., Ji, W., Li, J., Zhang, L., & Chen, Y. G. (2025). Positional BMP signaling orchestrates villus length in the small intestine. *Nature Communications* , *16*(1). https://doi.org/10.1038/s41467-025-60643-2

Wang, Y., Chen, Y., Zhang, X., Lu, Y., & Chen, H. (2020). New insights in intestinal oxidative stress damage and the health intervention effects of nutrients: A review. In *Journal of Functional Foods* (Vol. 75). Elsevier Ltd. https://doi.org/10.1016/j.jff.2020.104248

Xu, D., Hu, M. J., Wang, Y. Q., & Cui, Y. L. (2019). Antioxidant activities of quercetin and its complexes for medicinal application. In *Molecules* (Vol. 24, Number 6). MDPI AG. https://doi.org/10.3390/molecules24061123

Yang, D., Wang, T., Long, M., & Li, P. (2020). Quercetin: Its Main Pharmacological Activity and Potential Application in Clinical Medicine. In *Oxidative Medicine and Cellular Longevity* (Vol. 2020). Hindawi Limited. https://doi.org/10.1155/2020/8825387

Zhao, X. X., Lin, F. J., Li, H., Li, H. Bin, Wu, D. T., Geng, F., Ma, W., Wang, Y., Miao, B. H., & Gan, R. Y. (2021). Recent Advances in Bioactive Compounds, Health Functions, and Safety Concerns of Onion (Allium cepa L.). In *Frontiers in Nutrition* (Vol. 8). Frontiers Media S.A. https://doi.org/10.3389/fnut.2021.669805

LAMPIRAN

Lampiran 1 Lembar Persetujuan Etik Penelitian

Lampiran 2 Surat Keterangan Identifikasi Bawang Merah

Lampiran 3 Sertifikat Tes HPLC Kuersetin Ekstrak Kulit Bawang Merah

Lampiran 4 Prosedur Pembuatan Simplisia Kulit Bawang Merah

Lampiran 5 Prosedur Pembuatan Ekstrak Kulit Bawang Merah

Lampiran 6 Prosedur Pembuatan Sediaan Ekstrak Kulit Bawang Merah

Lampiran 7 Prosedur Randomisasi Kelompok Hewan Coba

Lampiran 8 Prosedur Terminasi dan Pengambilan Jejunum

Lampiran 9 Prosedur Pembuatan dan Pewarnaan Preparat Histologi Jejunum

Lampiran 10 Prosedur Pengukuran Tinggi Vili dan Kedalaman Kripta

Lampiran 11 Data Hasil Pengukuran Tinggi Vili Jejunum

Lampiran 12 Analisis Data Tinggi Vili Jejunum

Lampiran 13 Data Hasil Pengukuran Kedalaman Kripta Jejunum

Lampiran 14 Analisis Data Kedalaman Kripta Jejunum

Lampiran 15 Data Hasil Pegukuran Rasio Vili Terhadap Kripta Jejunum

Lampiran 16 Analisis Data Rasio Vili Terhadap Kripta Jejunum

Lampiran 17 Dokumentasi Penelitian