



**EKSTRAK METANOL BIJI ASAM JAWA (*Tamarindus indica*)  
MENCEGAH KERUSAKAN HISTOPATOLOGI GINJAL  
TIKUS YANG DIINDUKSI ALUMINIUM  
KLORIDA ( $AlCl_3$ )**

**SKRIPSI**

Oleh

**Anang Dwi Atmoko  
162010101077**

**FAKULTAS KEDOKTERAN  
UNIVERSITAS JEMBER  
2020**



**EKSTRAK METANOL BIJI ASAM JAWA (*Tamarindus indica*)  
MENCEGAH KERUSAKAN HISTOPATOLOGI GINJAL  
TIKUS YANG DIINDUKSI ALUMINIUM  
KLORIDA ( $AlCl_3$ )**

**SKRIPSI**

diajukan guna melengkapi tugas akhir dan memenuhi salah satu syarat  
untuk menyelesaikan Program Studi Pendidikan Dokter (S1)  
dan mendapat gelar Sarjana Kedokteran

Oleh

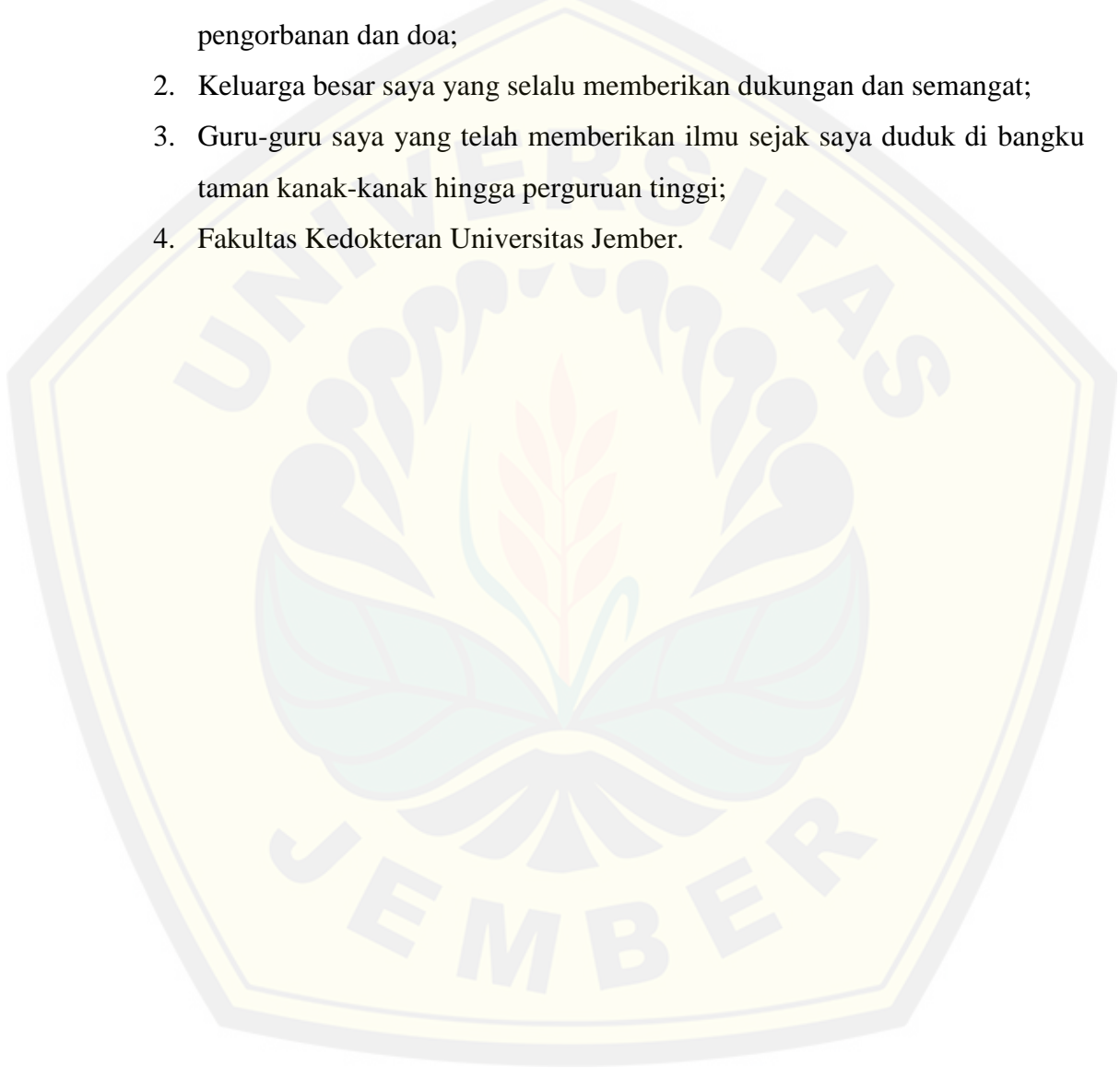
**Anang Dwi Atmoko**  
**162010101077**

**FAKULTAS KEDOKTERAN**  
**UNIVERSITAS JEMBER**  
**2020**

## PERSEMBAHAN

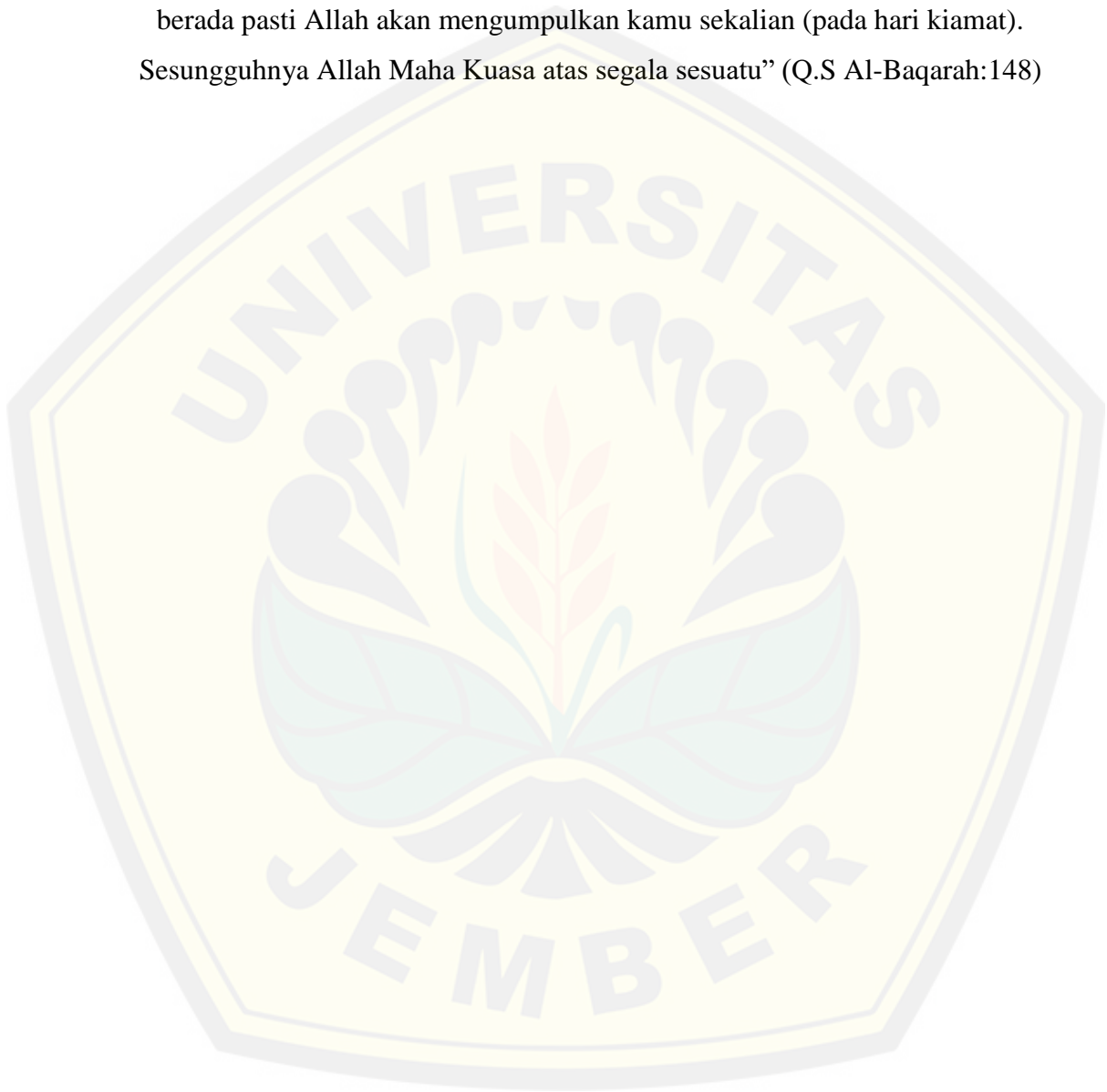
Skripsi yang saya tulis, saya persembahkan untuk:

1. Kedua orang tua saya alm. Bapak Kaderi dan Ibu Siti Nurwati yang senantiasa memberikan dukungan semangat, motivasi, kasih sayang, pengorbanan dan doa;
2. Keluarga besar saya yang selalu memberikan dukungan dan semangat;
3. Guru-guru saya yang telah memberikan ilmu sejak saya duduk di bangku taman kanak-kanak hingga perguruan tinggi;
4. Fakultas Kedokteran Universitas Jember.



**MOTO**

“Dan bagi tiap-tiap umat ada kiblatnya (sendiri) yang menghadap kepadanya. Maka berlomba-lombalah kamu (dalam berbuat) kebaikan. Dimana saja kamu berada pasti Allah akan mengumpulkan kamu sekalian (pada hari kiamat). Sesungguhnya Allah Maha Kuasa atas segala sesuatu” (Q.S Al-Baqarah:148)



**PERNYATAAN**

Saya yang bertanda tangan dibawah ini:

nama : Anang Dwi Atmoko

NIM : 162010101077

menyatakan dengan sesungguhnya bahwa karya tulis yang berjudul “Ekstrak Metanol Biji Asam Jawa (*Tamarindus indica*) Mencegah Kerusakan Histopatologi Ginjal Tikus yang Diinduksi Aluminium Klorida ( $AlCl_3$ )” adalah hasil karya saya sendiri, kecuali kutipan yang sudah saya sebutkan beserta sumbernya, belum pernah diajukan pada institusi mana pun, dan bukan karya jiplakan.

Saya bertanggung jawab atas keabsahan dan kebenaran isi karya tulis saya sesuai dengan sikap ilmiah yang harus dijunjung tinggi. Demikian pernyataan ini saya buat, tanpa ada tekanan dan paksaan dari pihak mana pun serta bersedia mendapat sanksi akademik jika dikemudian hari pernyataan ini tidak benar.

Jember, 30 Maret 2020

Yang menyatakan,

Anang Dwi Atmoko

NIM 162010101077

**SKRIPSI**

**EKSTRAK METANOL BIJI ASAM JAWA (*Tamarindus indica*)  
MENCEGAH KERUSAKAN HISTOPATOLOGI GINJAL  
TIKUS YANG DIINDUKSI ALUMINIUM  
KLORIDA ( $AlCl_3$ )**

Oleh

Anang Dwi Atmoko  
162010101077

Pembimbing:

Dosen Pembimbing Utama : dr. Al Munawir, M.Kes., Ph.D.

Dosen Pembimbing Anggota : dr. Ika Rahmawati Sutejo, M.Biotech.

**PENGESAHAN**

Skripsi dengan judul “Ekstrak Metanol Biji Asam Jawa (*Tamarindus indica*) Mencegah Kerusakan Histopatologi Ginjal Tikus yang Diinduksi Aluminium Klorida ( $AlCl_3$ )” karya dari Anang Dwi Atmoko telah diuji dan disahkan pada:

hari, tanggal : Senin, 30 Maret 2020

tempat : Fakultas Kedokteran Universitas Jember

**Tim Penguji**

**Ketua**

**Anggota I**

Dr. dr. Dina Helianti, M.Kes.  
NIP 197411042000122001

dr. Erfan Efendi, Sp.An  
NIP 196803181999031001

**Anggota II**

**Anggota III**

dr. Al Munawir, M.Kes., Ph.D.  
NIP 196909011999031003

dr. Ika Rahmawati Sutejo, M.Biotech.  
NIP 198404192009122003

**Mengesahkan  
Dekan**

dr. Supangat, M.Kes., Ph.D., Sp.BA  
NIP 197304241999031002

## RINGKASAN

**Ekstrak Metanol Biji Asam Jawa (*Tamarindus indica*) Mencegah Kerusakan Histopatologi Ginjal Tikus yang Diinduksi Aluminium Klorida (AlCl<sub>3</sub>);**  
Anang Dwi Atmoko; 162010101077; 2020; 94 halaman; Fakultas Kedokteran Universitas Jember.

Aluminium ditemukan pertama kali oleh Hans Christian Oersted pada tahun 1825 dan merupakan logam paling melimpah nomor tiga di alam. Keberhasilan memisahkan aluminium dari bijinya membuat aluminium menjadi logam paling banyak dimanfaatkan, akan tetapi aluminium memberi dampak buruk bagi tubuh manusia oleh karena memiliki sifat bioakumulatif dalam jaringan mamalia seperti tulang, otak, hati, dan ginjal. Tubuh manusia dapat terpapar aluminium melalui makanan, minuman, obat, dan debu di udara. Aluminium masuk dalam tubuh manusia sekitar 1-20 mg per hari melalui makanan. Komite ahli Organisasi Pangan dan Pertanian milik Persatuan Bangsa-Bangsa (2011) menetapkan batas aman konsumsi aluminium sebesar 7 mg/kg berat badan perminggu. Gabungan Komite ahli FAO dan WHO menetapkan besar asupan aluminium yang masih dapat ditoleransi adalah 1 mg/kg per minggu. Ginjal rentan mengalami kerusakan oleh paparan zat berbahaya yang masuk melewatinya. Aluminium dalam darah dapat terakumulasi pada sel tubulus ginjal dan dapat menyebabkan kerusakan pada sel tubulus (degenerasi dan nekrosis sel tubulus) melalui mekanisme stres oksidatif. Biji asam jawa (*Tamarindus indica*) memiliki kandungan senyawa polifenol yang berfungsi sebagai agen antioksidan. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui apakah ekstrak metanol biji asam jawa (*Tamarindus indica*) dapat mencegah kerusakan histopatologi ginjal tikus yang diinduksi aluminium klorida (AlCl<sub>3</sub>) dinilai dari parameter degenerasi dan nekrosis sel.

Jenis penelitian yang digunakan adalah *true experimental* dengan rancangan penelitian *posttest only control group design*. Hewan coba yang digunakan adalah tikus wistar jantan sejumlah 30 ekor terbagi dalam 5 kelompok,



yaitu 2 kelompok kontrol dan 3 kelompok perlakuan. Kelompok kontrol diberi larutan campuran aquabides-saline 1 mL per oral. Kelompok kontrol negatif diberi larutan aluminium dosis 300 mg/kgBB per oral. Kelompok perlakuan diberi larutan aluminium dosis 300 mg/kgBB per oral dan larutan ekstrak dengan dosis 25, 50, 100 mg/kgBB per oral. Perlakuan diberikan dalam waktu 10 minggu. Data penelitian didapatkan melalui pengamatan histopatologi ginjal tikus menggunakan metode *scoring*, dengan fokus pengamatan berupa gambaran degenerasi sel tubulus dan nekrosis sel tubulus.

Hasil pengamatan menunjukkan seluruh kelompok penelitian mengalami degenerasi tubulus di seluruh lapang pandang, sedangkan untuk parameter nekrosis didapatkan skor yang bervariasi antarkelompok. Analisis data menggunakan uji *Kruskal Wallis* mendapatkan nilai  $p=1$  ( $p>0,05$ ) untuk parameter degenerasi tubulus dan nilai  $p=0,001$  ( $p<0,05$ ) untuk parameter nekrosis sel tubulus. Uji *Post Hoc* menggunakan *Mann Whitney* terhadap parameter nekrosis sel tubulus didapatkan nilai  $p$  bervariasi. Analisis *Post Hoc* antara kelompok K dengan kelompok K(-), kelompok K(-) dengan kelompok P2, kelompok K(-) dengan kelompok P3, kelompok P1 dengan kelompok P3 menunjukkan nilai  $p<0,05$ . Hal ini menunjukkan bahwa induksi berhasil pada kelompok perlakuan P2 dan P3 yang ditunjukkan oleh berkurangnya gambaran nekrosis sel tubulus pada kelompok tersebut.

Berdasarkan penelitian yang telah dilakukan dapat disimpulkan berdasarkan parameter nekrosis sel pemberian ekstrak metanol biji asam jawa (*Tamarindus indica*) mencegah kerusakan histopatologi ginjal, sedangkan berdasarkan parameter degenerasi sel pemberian ekstrak metanol biji asam jawa (*Tamarindus indica*) tidak mencegah kerusakan histopatologi ginjal tikus yang diinduksi aluminium klorida ( $AlCl_3$ ).

## PRAKATA

Puji syukur kehadiran Allah SWT. atas segala rahmat dan berkah-Nya sehingga saya dapat menyelesaikan skripsi dengan judul “Ekstrak Metanol Biji Asam Jawa (*Tamarindus indica*) Mencegah Kerusakan Histopatologi Ginjal Tikus yang Diinduksi Aluminium Klorida ( $AlCl_3$ )”. Skripsi ini disusun untuk memenuhi syarat menyelesaikan pendidikan strata 1 (S1) di Fakultas Kedokteran Universitas Jember.

Penulisan skripsi ini tidak terlepas dari bantuan berbagai pihak yang terlibat. Penulis menyampaikan terima kasih kepada:

1. dr. Supangat, M.Kes., Ph.D., Sp.BA selaku dekan Fakultas Kedokteran Universitas Jember;
2. dr. Al Munawir, M.Kes., Ph.D. selaku dosen pembimbing utama dan dr. Ika Rahmawati Sutejo, M.Biotech. selaku dosen pembimbing anggota yang telah memberikan waktu, tenaga, pikiran dan masukan dalam penulisan skripsi ini;
3. Dr. dr. Dina Helianti, M.Kes. selaku dosen penguji utama dan dr. Erfan Efendi, Sp.An selaku dosen penguji anggota yang telah memberikan kritik dan saran demi kebermanfaatan penulisan skripsi ini;
4. Dr. dr. M. Ihwan Narwanto, M.Sc. yang telah memberi kesempatan untuk bergabung dan terlibat dalam proyek penelitian;
5. orang tua saya, alm. Bapak Kaderi dan Ibu Siti Nurwati yang telah memberikan dukungan semangat, motivasi, kasih sayang, dan doa;
6. guru-guru saya sejak taman kanak-kanak hingga perguruan tinggi yang telah memberikan saya ilmu;
7. analis laboratorium biokimia Nurul Istinaroh, A.Md., S. P., analis laboratorium farmakologi Lilik Maslian, A.Md., dan analis laboratorium histopatologi Sumadi, A.Md. yang telah terlibat dalam penelitian dan penyusunan skripsi ini;
8. anggota kelompok penelitian M. Iqbal Fauzi, Indah Pratiwi, dan Nur A'mala Dewi yang senantiasa menemani proses pengerjaan skripsi ini;

9. keluarga mundu saya, Prasadha Putra Hendharta, Ihdhar Nur Sidqi, Aldi Nawaf Nurul Amin, I Made Putra Wira Negara, dan Erdiansyah Adhami yang telah menjadi keluarga kedua saya;
10. keluarga besar angkatan 2016 Fakultas Kedokteran Universitas Jember;
11. almamater Fakultas Kedokteran Universitas Jember;
12. semua pihak yang tidak bisa saya sebutkan satu per satu.

Penulis menerima segala bentuk kritik dan saran dari berbagai pihak demi perbaikan skripsi ini. Semoga skripsi ini dapat memberikan manfaat bagi pembaca.

Jember, 30 Maret 2020

Penulis

**DAFTAR ISI**

	Halaman
<b>HALAMAN SAMPUL</b> .....	<b>i</b>
<b>HALAMAN JUDUL</b> .....	<b>ii</b>
<b>HALAMAN PERSEMBAHAN</b> .....	<b>iii</b>
<b>HALAMAN MOTO</b> .....	<b>iv</b>
<b>HALAMAN PERNYATAAN</b> .....	<b>v</b>
<b>HALAMAN PEMBIMBING</b> .....	<b>vi</b>
<b>HALAMAN PENGESAHAN</b> .....	<b>vii</b>
<b>RINGKASAN</b> .....	<b>viii</b>
<b>PRAKATA</b> .....	<b>x</b>
<b>DAFTAR ISI</b> .....	<b>xii</b>
<b>DAFTAR SINGKATAN</b> .....	<b>xv</b>
<b>DAFTAR TABEL</b> .....	<b>xvi</b>
<b>DAFTAR GAMBAR</b> .....	<b>xvii</b>
<b>DAFTAR LAMPIRAN</b> .....	<b>xviii</b>
<b>BAB 1. PENDAHULUAN</b> .....	<b>1</b>
<b>1.1 Latar Belakang</b> .....	<b>1</b>
<b>1.2 Rumusan Masalah</b> .....	<b>3</b>
<b>1.3 Tujuan Penelitian</b> .....	<b>3</b>
<b>1.4 Manfaat Penelitian</b> .....	<b>3</b>
<b>BAB 2. TINJAUAN PUSTAKA</b> .....	<b>5</b>
<b>2.1 Ginjal</b> .....	<b>5</b>
2.1.1 Anatomi Ginjal Tikus .....	<b>5</b>
2.1.2 Histologi Ginjal Tikus .....	<b>5</b>
<b>2.2 Aluminium</b> .....	<b>7</b>
2.2.1 Definisi Aluminium.....	<b>7</b>
2.2.2 Paparan Aluminium pada Manusia.....	<b>7</b>
2.2.3 Batas Aman Aluminium pada Manusia.....	<b>8</b>
2.2.4 Aluminium yang Berbahaya .....	<b>8</b>

2.2.5 Patogenesis Kerusakan oleh Aluminium .....	9
<b>2.3 Radikal Bebas dan Stres Oksidatif.....</b>	<b>11</b>
<b>2.4 Antioksidan.....</b>	<b>12</b>
2.4.1 Definisi dan Fungsi.....	12
2.4.2 Asam Jawa ( <i>Tamarindus indica</i> ).....	13
2.4.3 Biji Asam Jawa ( <i>Tamarindus indica</i> ).....	14
2.4.4 Mekanisme Nefroprotektif Biji Asam Jawa ( <i>Tamarindus indica</i> ).....	15
<b>2.5 Kerangka Konsep.....</b>	<b>16</b>
<b>2.6 Hipotesis Penelitian .....</b>	<b>17</b>
<b>BAB 3. METODE PENELITIAN .....</b>	<b>18</b>
<b>3.1 Jenis Penelitian .....</b>	<b>18</b>
<b>3.2 Rancangan Penelitian.....</b>	<b>18</b>
<b>3.3 Waktu dan Tempat Penelitian .....</b>	<b>19</b>
<b>3.4 Unit Replikasi .....</b>	<b>19</b>
3.4.1 Replikasi .....	20
3.4.2 Teknik Pengambilan Sampel .....	20
<b>3.5 Variabel Penelitian .....</b>	<b>21</b>
3.5.1 Variabel Bebas.....	21
3.5.2 Variabel Terikat.....	21
<b>3.6 Definisi Operasional .....</b>	<b>21</b>
<b>3.7 Instrumen Penelitian .....</b>	<b>22</b>
3.7.1 Alat.....	22
3.7.2 Bahan .....	23
<b>3.8 Alur Penelitian .....</b>	<b>24</b>
<b>3.9 Prosedur Penelitian.....</b>	<b>25</b>
3.9.1 Pemilihan Sampel .....	25
3.9.2 Ekstrak Biji <i>Tamarindus indica</i> .....	25
3.9.3 Persiapan Sampel.....	25
3.9.4 Pembuatan Larutan .....	26
3.9.5 Perlakuan .....	27

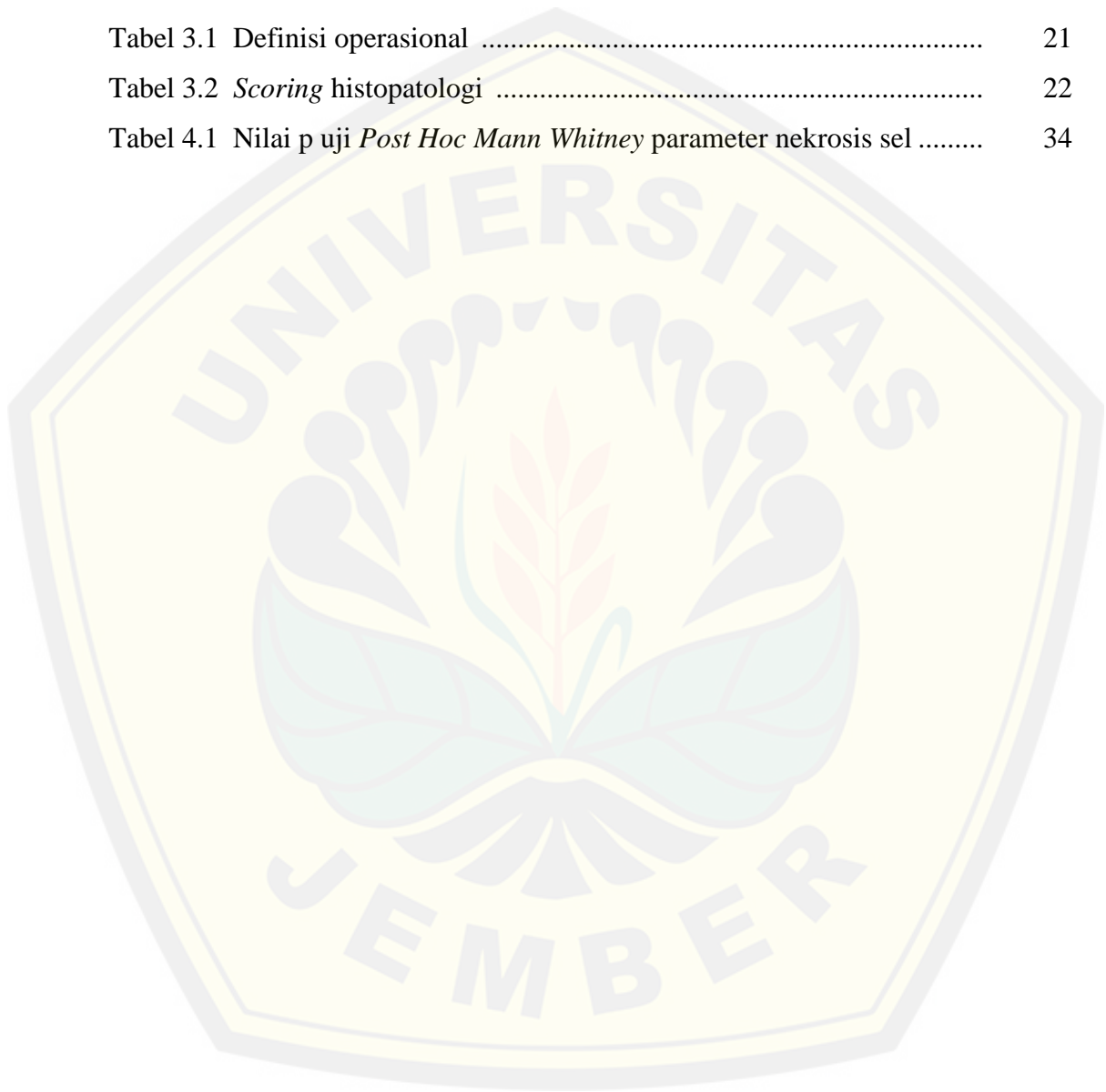
3.9.6 Terminasi dan Pengambilan Ginjal .....	27
3.9.7 Pembuatan Preparat Histopatologi .....	28
3.9.8 Pengamatan Preparat Histopatologi.....	29
<b>3.10 Uji Kelayakan Etik .....</b>	<b>29</b>
<b>3.11 Analisis Data .....</b>	<b>29</b>
<b>BAB 4. HASIL DAN PEMBAHASAN.....</b>	<b>30</b>
4.1 Hasil Penelitian .....	30
4.2 Analisis Data .....	33
4.3 Pembahasan .....	35
<b>BAB 5. PENUTUP .....</b>	<b>38</b>
5.1 Kesimpulan .....	38
5.2 Saran.....	38
<b>DAFTAR PUSTAKA.....</b>	<b>39</b>

**DAFTAR SINGKATAN**

$\text{Al}^{3+}$	: aluminium
$\text{AlCl}_3$	: aluminium klorida
$\text{Al}(\text{H}_2\text{O})^{3+}$	: aluminium heksahidrat
$\text{Al}(\text{OH})^3$	: aluminium hidroksida
ATP	: <i>adenosine triphosphate</i>
BNF	: <i>buffer normal saline</i>
CAT	: katalase
DNA	: <i>deoxyribonucleic acid</i>
FAO	: <i>food and agriculture organization</i>
$\text{Fe}^{2+}$	: ferro
GPx	: <i>glutathione peroxidase</i>
GRdx	: <i>glutathione reductase</i>
GSH	: <i>glutathione</i>
GSSG	: glutation teroksidasi
GST	: <i>glutathione s transferase</i>
HPLC-MS	: <i>high performance liquid chromatography-mass spectrometry</i>
$\text{H}_2\text{O}$	: air
$\text{H}_2\text{O}_2$	: hidrogen peroksida
NaCl	: natrium klorida
$\text{O}_2$	: oksigen
$\text{O}^{2-}$	: radikal superoksida
$^1\text{O}_2$	: singlet oksigen
$\text{OH}^\cdot$	: radikal hidroksil
RNA	: <i>ribonucleic acid</i>
ROS	: <i>reactive oxygen species</i>
RSD	: rumah sakit daerah
SOD	: superoksida dismutase
WHO	: <i>world health organization</i>

**DAFTAR TABEL**

	Halaman
Tabel 2.1 Sumber radikal bebas.....	12
Tabel 3.1 Definisi operasional .....	21
Tabel 3.2 <i>Scoring</i> histopatologi .....	22
Tabel 4.1 Nilai p uji <i>Post Hoc Mann Whitney</i> parameter nekrosis sel .....	34





**DAFTAR GAMBAR**

	Halaman
Gambar 2.1 Anatomi ginjal tikus.....	5
Gambar 2.2 Korteks ginjal tikus .....	6
Gambar 2.3 Medula ginjal tikus.....	7
Gambar 2.4 Daun dan buah asam jawa.....	14
Gambar 3.1 Skema rancangan penelitian.....	18
Gambar 4.1 Grafik hasil <i>scoring</i> .....	31
Gambar 4.2 Gambaran histopatologi dengan pewarnaan HE dan perbesaran 400x .....	33

DAFTAR LAMPIRAN

	Halaman
Lampiran A. Surat Tugas Penelitian .....	44
Lampiran B. Etik Payung .....	45
Lampiran C. Keterangan Persetujuan Etik Penelitian.....	46
Lampiran D. Protokol Pembuatan Preparat .....	49
Lampiran E. Protokol Pembacaan Preparat .....	54
Lampiran F. Data Penelitian .....	56
Lampiran G. Dokumentasi Penelitian.....	58
Lampiran H. Tabel Dosis Aluminium dan Ekstrak.....	61
Lampiran I. Analisis Data <i>Kruskal Wallis</i> dan <i>Post Hoc Mann Whitney</i> .....	65
Lampiran J. Rekomendasi Bebas Plagiasi .....	71
Lampiran K. Identifikasi Tumbuhan.....	72
Lampiran L. Foto Preparat Sampel Penelitian .....	73

## BAB 1. PENDAHULUAN

### 1.1 Latar Belakang

Aluminium ditemukan pertama kali oleh Hans Christian Oersted pada tahun 1825 dan diakui secara pasti pada tahun 1827 oleh F. Wohler. Aluminium merupakan logam paling melimpah nomor tiga di alam, sekitar 8% dari permukaan bumi mengandung aluminium (Dolara, 2014). Campuran aluminium dengan tembaga, magnesium, silikon, dan unsur lainnya dapat membentuk sifat-sifat yang menguntungkan. Keberhasilan memisahkan aluminium dari bijinya membuat aluminium menjadi logam yang paling banyak dimanfaatkan.

Pemanfaatan aluminium yang beragam membuat sumber paparan aluminium pada manusia juga beragam. Tubuh manusia dapat terpapar oleh aluminium melalui makanan, minuman, obat, dan debu di udara (Vignal *et al.*, 2016). Paparan aluminium yang berlebihan dapat menimbulkan efek tidak baik terhadap tubuh. Data dari Sistem Pengumpulan Data Nasional Badan Pusat Pengendalian Racun Amerika pada tahun 2010-2017 menunjukkan sebanyak 277 kasus keracunan aluminium ringan, 53 kasus keracunan aluminium sedang, 8 kasus keracunan aluminium berat, 2 kasus kematian akibat aluminium, serta 140 kasus keracunan aluminium fosfida ringan, 56 kasus keracunan aluminium fosfida sedang, 7 kasus keracunan aluminium fosfida berat, 16 kasus kematian akibat aluminium fosfida, sedangkan kasus di Indonesia belum terdata dengan baik. Contoh penggunaan aluminium yang dapat membahayakan adalah penambahan aluminium ke dalam air minum untuk tujuan pemurnian (Dera, 2016; Vignal *et al.*, 2016). Aluminium diakumulasikan dalam jaringan mamalia seperti tulang, otak, hati, dan ginjal oleh karena aluminium bersifat bioakumulatif (Kahtani *et al.*, 2014).

Ginjal merupakan salah satu organ yang berisiko tinggi terdampak oleh paparan aluminium dalam tubuh manusia. Ginjal merupakan organ dengan vaskularisasi majemuk yang berfungsi untuk mengatur komposisi cairan tubuh dalam kondisi stabil dan membuang sampah melalui proses ekskresi (Samawy, 2012). Ginjal rentan mengalami kerusakan oleh paparan zat berbahaya yang

masuk melewatinya. Aluminium dalam darah dapat terakumulasi pada sel-sel tubulus ginjal. Akumulasi aluminium di ginjal memicu degenerasi sel tubulus ginjal dan bersifat nefrotoksik (Dera, 2016; Kahtani *et al.*, 2014). Mekanisme nefrotoksik aluminium dipicu melalui stres oksidatif yang menyebabkan kerusakan pada lipid seluler, protein, dan DNA (Dera, 2016).

Stres oksidatif terjadi akibat ketidakseimbangan antara jumlah molekul antioksidan dan radikal bebas dalam tubuh. Antioksidan terbagi dalam dua jenis berdasarkan asalnya, yaitu antioksidan endogen dan antioksidan eksogen. Antioksidan eksogen diperlukan untuk melawan senyawa radikal bebas yang berjumlah besar di dalam tubuh (Khaira, 2010).

Salah satu bahan alam yang dapat dimanfaatkan sebagai sumber antioksidan adalah biji asam jawa (*Tamarindus indica*). Ekstrak metanol biji *Tamarindus indica* memiliki kandungan senyawa polifenol dan potensi antioksidan lebih tinggi dibanding ekstrak metanol bagian lain dari tanaman *Tamarindus indica* (Razali *et al.*, 2015). Biji *Tamarindus indica* memiliki kandungan senyawa polifenol lebih tinggi dibanding biji tanaman lain (Chunglok *et al.*, 2014). Penelitian oleh Razali *et al.*, (2015) menjelaskan bahwa senyawa polifenol dalam ekstrak metanol biji *Tamarindus indica* mampu melindungi sel HepG2 hepar manusia terhadap peroksidasi lipid melalui mekanisme sebagai agen pereduksi; penangkap radikal bebas; dan meningkatkan aktivitas enzim antioksidan. Ekstrak metanol biji *Tamarindus indica* mengandung senyawa procyanidin B2, myricetin dan *caffeic acid* yang memiliki potensi anti-inflamasi dan antioksidan (Narwanto, 2018).

Berdasarkan latar belakang tersebut, peneliti tertarik untuk mengetahui lebih lanjut efek pemberian ekstrak metanol biji *Tamarindus indica* dalam mencegah kerusakan histopatologi ginjal tikus yang diinduksi aluminium klorida dinilai dari parameter degenerasi dan nekrosis sel tubulus. Metanol sebagai pelarut mampu menghasilkan rendemen (jumlah hasil ekstraksi) lebih tinggi dibanding pelarut jenis lain. Kuantitas senyawa polifenol golongan flavonoid sebagai antioksidan hasil dari ekstraksi metanol lebih tinggi dibanding pelarut jenis lain (Suryani *et al.*, 2015)

## 1.2 Rumusan Masalah

Apakah pemberian ekstrak metanol biji *Tamarindus indica* dapat mencegah kerusakan histopatologi ginjal tikus yang diinduksi dengan aluminium klorida dinilai dari parameter degenerasi dan nekrosis sel tubulus?

## 1.3 Tujuan Penelitian

### 1.3.1 Tujuan Umum

Tujuan umum dari penelitian adalah untuk mengetahui apakah ekstrak metanol biji *Tamarindus indica* dapat mencegah kerusakan histopatologi ginjal tikus yang diinduksi aluminium klorida dinilai dari parameter degenerasi dan nekrosis sel tubulus.

### 1.3.2 Tujuan Khusus

- a. Untuk mengetahui apakah aluminium dosis 300 mg/kgBB menyebabkan kerusakan sel tubulus ginjal
- b. Untuk mengetahui apakah ekstrak metanol biji *Tamarindus indica* dosis 25 mg/kgBB mencegah kerusakan sel tubulus ginjal
- c. Untuk mengetahui apakah ekstrak metanol biji *Tamarindus indica* dosis 50 mg/kgBB mencegah kerusakan sel tubulus ginjal
- d. Untuk mengetahui apakah ekstrak metanol biji *Tamarindus indica* dosis 100 mg/kgBB mencegah kerusakan sel tubulus ginjal

## 1.4 Manfaat Penelitian

Manfaat yang diharapkan dari penelitian ini meliputi:

- a. Menambah wawasan dan pengetahuan penulis mengenai ekstrak metanol biji *Tamarindus indica* dalam mencegah kerusakan histopatologi ginjal tikus yang diinduksi aluminium klorida.
- b. Memberi informasi tentang bahaya paparan aluminium terhadap tubuh, sehingga masyarakat dapat lebih berhati-hati dalam mengaplikasikan dan menggunakan aluminium.

- c. Menguatkan dan mendukung tujuan Fakultas Kedokteran Universitas Jember sebagai pusat agromedis di Asia Tenggara tahun 2025.
- d. Penelitian ini dapat dijadikan sebagai salah satu bahan evaluasi dan tambahan informasi sehingga diharapkan dapat dikembangkan oleh pemerintah.

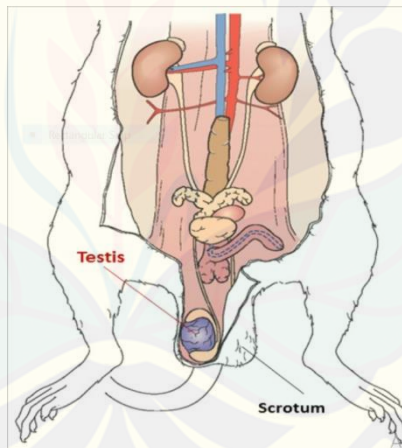


## BAB 2. TINJAUAN PUSTAKA

### 2.1 Ginjal

#### 2.1.1 Anatomi Ginjal Tikus

Ginjal tikus berbentuk seperti kacang berwarna coklat kemerahan dan dilapisi oleh kapsul jaringan ikat tipis yang kuat (Ucla, 2019). Ginjal tikus terletak di retroperitoneal dengan letak ginjal kanan lebih tinggi dari pada ginjal kiri (lihat Gambar 2.1). Ginjal kanan memiliki rata-rata berat sekitar 1,1 g sedangkan ginjal kiri memiliki rata-rata berat sekitar 0,96 g. Ukuran rata-rata panjang; lebar; dan tebal ginjal kanan secara berurutan 1,28 cm; 0,88 cm; dan 0,81 cm. Ukuran rata-rata panjang; lebar; dan tebal ginjal kiri secara berurutan 1,23 cm; 0,85 cm; dan 0,79 cm (Samawy, 2012).



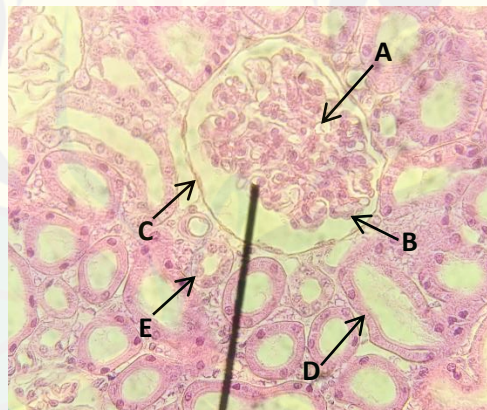
Gambar 2.1 Anatomi ginjal tikus (Sumber: Ucla, 2019)

#### 2.1.2 Histologi Ginjal Tikus

Secara histologi ginjal tikus terdiri dari dua bagian, yaitu korteks di bagian luar yang berwarna gelap kecoklatan dan medula di bagian dalam. Unit dasar di dalam ginjal tikus adalah nefron. Masing-masing nefron dapat dibagi menjadi bagian berbeda dalam korteks maupun medula. Bagian-bagian nefron meliputi glomerulus, kapsula bowman, tubulus kontortus proksimal, lengkung henle, serta tubulus kontortus distal. Glomerulus, kapsula bowman, tubulus kontortus

proksimal, dan tubulus kontortus distal merupakan bagian korteks lihat pada Gambar 2.2 (Samawy, 2012).

Glomerulus dan kapsula bowman membentuk struktur bernama korpuskulum renalis yang memiliki bentuk bulat dan *irregular*. Kapsula bowman terdiri dari dua lapisan yaitu lapisan parietal yang memiliki epitel selapis pipih dan lapisan viseral yang mengelilingi kapiler di glomerulus. Tubulus kontortus proksimal berepitel selapis kuboid eosinofilik dengan *brush border* dan berlumen sempit berhubungan langsung dengan lapisan parietal kapsula bowman pada kutub urinarius korpuskulum renalis. Tubulus kontortus distal memiliki epitel selapis kuboid berinti bulat besar tanpa *brush border*. Perbedaan antara sel tubulus kontortus proksimal dan distal adalah sel epitel tubulus kontortus distal berwarna lebih pucat dan tidak memiliki *brush border* (Samawy, 2012)

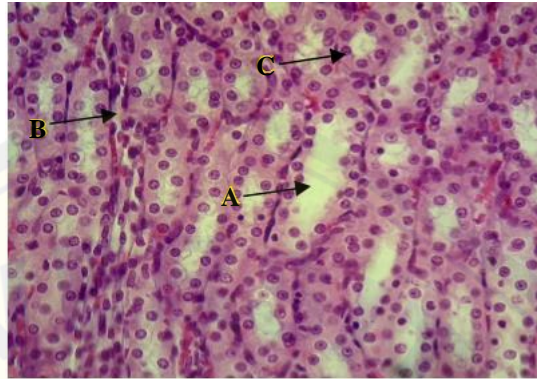


Gambar 2.2 Korteks ginjal tikus terdiri dari (A) glomerulus, (B) lapisan viseral, (C) lapisan parietal, (D) tubulus kontortus distal, (E) tubulus kontortus proksimal (Sumber: Laboratorium Histologi Fakultas Kedokteran Universitas Jember)

Bagian medula ginjal terdiri dari tubulus kolektifus serta lengkung henle tebal-tipis (lihat Gambar 2.3). Lengkung henle merupakan struktur yang berbentuk U terdiri dari henle tebal *descending* yang memiliki sel menyerupai tubulus kontortus proksimal, henle tebal *ascending* yang memiliki sel menyerupai tubulus kontortus distal, serta henle tipis *descending-ascending* bersel epitel selapis pipih. Tubulus kolektifus bukan merupakan bagian dari nefron. Tubulus



kolektivus berepitel kuboid, memiliki inti bulat dan sitoplasma basofilik (Samawy, 2012).



Gambar 2.3 Medula ginjal tikus terdiri dari (A) tubulus kolektivus (B) lengkung henle tipis (C) lengkung henle tebal (Sumber: Samawy, 2012)

## 2.2 Aluminium

### 2.2.1 Definisi Aluminium

Aluminium ditemukan pertama kali oleh Hans Christian Oersted pada tahun 1825 dan diakui secara pasti pada tahun 1827 oleh F. Wohler. Aluminium ditemukan di berbagai tempat, dan merupakan elemen dasar terbanyak nomor tiga di kerak bumi (Keith *et al.*, 2008). Secara alamiah aluminium dilepaskan ke alam melalui aktivitas vulkanik dan proses pelapukan batu. Aktivitas pertambangan oleh manusia turut membantu pelepasan aluminium ke alam (Aguilar *et al.*, 2008).

### 2.2.2 Paparan Aluminium pada Manusia

Paparan utama aluminium pada tubuh manusia melalui makanan, minuman, obat, dan debu di udara (Vignal *et al.*, 2016). Kandungan aluminium dalam makanan sangat beragam, dipengaruhi oleh beberapa faktor seperti tanah tempat tanaman pangan tumbuh hingga proses produksi makanan tersebut. Komposisi tanah yang mengandung aluminium memiliki pengaruh signifikan terhadap kandungan aluminium dalam tanaman pangan. Hujan asam menurunkan derajat keasaman tanah, sebagai konsekuensi kelarutan aluminium bertambah dan akan meningkatkan kandungan aluminium dalam air, tanaman serta hewan yang

memakan tanaman dan meminum air tersebut (Vignal *et al.*, 2016). Pemanfaatan aluminium yang beragam membuat sumber paparan aluminium pada manusia juga beragam, sehingga memperbesar kemungkinan paparan aluminium pada manusia.

Aluminium masuk ke dalam tubuh manusia sekitar 1-20 mg per hari melalui makanan (Exley, 2013). Survei yang dilakukan oleh Departemen Pertanian Amerika Serikat (1987-1988) didapatkan estimasi asupan harian aluminium sebesar 0,10 mg Al/kg/hari untuk bayi usia 6-11 bulan; 0,30-0,35 mg Al/kg/hari untuk anak usia 2-6 tahun; 0,11 mg Al/kg/hari untuk anak usia 10 tahun; 0,15-0,18 mg Al/kg/hari untuk anak usia 14-16 tahun; 0,10-0,12 mg Al/kg/hari untuk orang dewasa (Keith *et al.*, 2008). Kandungan aluminium dalam dosis harian antasida dan bufer analgesik diperkirakan antara 840-5000 mg dan 130-370 mg per hari (Aguilar *et al.*, 2008). Konsentrasi aluminium terlarut dalam air yang tidak diolah dengan derajat keasaman mendekati 7 berkisar antara 1-50 µg per liter, akan tetapi terjadi peningkatan hingga 1000 µg per liter dalam air dengan derajat keasaman rendah atau asam (Vignal *et al.*, 2016).

### 2.2.3 Batas Aman Aluminium pada Manusia

Komite ahli Organisasi Pangan dan Pertanian milik Persatuan Bangsa-Bangsa (2011) telah menetapkan batas aman konsumsi aluminium sebesar 7 mg/kg berat badan per minggu (Dolara, 2014). Gabungan Komite ahli FAO dan WHO menetapkan besar asupan aluminium yang masih dapat ditoleransi adalah 1 mg/kg per minggu (Aguilar *et al.*, 2008). Di Amerika Serikat, tingkat risiko minimal asupan aluminium sejumlah 2 mg/kg per hari dengan paparan melalui oral telah diumumkan (Keith *et al.*, 2008).

### 2.2.4 Aluminium yang Berbahaya

Aluminium dapat masuk ke dalam tubuh manusia melalui rute oral maupun inhalasi (Keith *et al.*, 2008). Penggunaan peralatan yang berbahan dasar aluminium, seperti peralatan dapur, tidak secara langsung dapat membahayakan manusia hanya dengan melalui kontak kulit. Hal ini dikarenakan terdapatnya lapisan pelindung di permukaan peralatan dapur. Kelarutan lapisan pelindung

akan meningkat dalam kondisi asam. Proses pelarutan aluminium bergantung pada suhu, derajat keasaman, dan keberadaan zat pengompleks. Keberadaan zat pengompleks, seperti asam organik dalam makanan, akan memperbesar proses pelarutan aluminium (Juhaiman, 2010). Aluminium dalam bentuk serbuk atau debu halus juga dapat membahayakan apabila terhirup oleh manusia. Efek pada saluran pernapasan berkaitan dengan inhalasi partikel debu halus aluminium. Fibrosis paru merupakan efek pernapasan yang sering dilaporkan pada pekerja akibat terpapar debu halus aluminium. Kelainan pada kulit akibat paparan atau kontak dengan aluminium melalui penggunaan kosmetik belum dilaporkan, kecuali pada orang dengan hipersensitivitas (Keith *et al.*, 2008).

#### 2.2.5 Patogenesis Kerusakan oleh Aluminium

Aluminium dapat diserap secara oral maupun inhalasi, akan tetapi tidak dapat melalui penyerapan kulit. Aluminium masuk ke dalam saluran pencernaan melalui makanan, minuman, maupun obat-obatan. Bioavailabilitas aluminium tergantung pada bentuk ketika aluminium diserap dan adanya zat pengompleks seperti asam sitrat yang dapat meningkatkan penyerapan, maupun zat yang menghambat penyerapan seperti fosfat, silikon, polifenol. Di dalam lambung, aluminium berbentuk monomolekuler heksahidrat  $\text{Al}(\text{H}_2\text{O})_6^{3+}$  atau disingkat ion  $\text{Al}^{3+}$  yang merupakan aluminium bebas. Kondisi lambung yang memiliki derajat keasaman asam (derajat keasaman=1-3) akan melarutkan sebagian besar aluminium. Setelah masuk ke dalam usus, aluminium akan berikatan dengan ion hidroksida membentuk aluminium hidroksida ( $\text{Al}(\text{OH})_3$ ). Hal ini dikarenakan terjadi peningkatan derajat keasaman dan pada derajat keasaman yang mendekati normal, aluminium hidroksida diendapkan untuk selanjutnya diekskresikan melalui feses (Aguilar *et al.*, 2008). Penyerapan aluminium terbesar terjadi pada duodenum proksimal sekitar 0,1-0,6% (Exley, 2013). Setelah proses penyerapan, aluminium akan dimetabolisme dalam hepar.

Reaksi metabolisme aluminium di hepar terdiri dari dua fase. Fase pertama adalah reaksi hidrosilasi dikatalisis oleh kelas enzim yang disebut mono-oksigenase atau sitokrom P450 dengan hasil berupa aluminium reaktif. Fase

kedua adalah reaksi konjugasi antara aluminium reaktif dengan glutathion yang dibantu oleh enzim glutathion S transferase (GST) dengan hasil berupa metabolit nontoksik. Sebagai *metal binding protein*, glutathion ikut terlibat dalam respon seluler, transportasi, dan ekskresi dari logam. Tujuan dari proses metabolisme adalah untuk meningkatkan polaritas atau kelarutan aluminium di dalam air, sehingga proses ekskresi dari dalam tubuh dapat meningkat. Pada kondisi GSH yang tidak mencukupi, aluminium tidak dimetabolisme di fase kedua sehingga tetap berada dalam bentuk reaktif (Murray *et al.*, 2014).

Plasma protein, dalam hal ini transferin, memiliki peranan penting dalam proses distribusi aluminium di dalam darah. Jumlah aluminium yang berikatan dengan transferin bergantung pada konsentrasi aluminium, afinitas aluminium terhadap *binding site*, dan konsentrasi plasma protein (Baynes dan Hodgson, 2004). Aluminium akan berkompetisi dengan besi untuk bisa berikatan dengan transferin pada *binding site*. Sifat transferin yang nonselektif memungkinkan aluminium berikatan dengan transferin. Aluminium akan didistribusikan oleh transferin ke berbagai organ seperti ginjal, hepar, tulang, dan otak (Kahtani *et al.*, 2014).

Aluminium yang telah diabsorpsi melalui sistem pencernaan akan diekskresikan oleh ginjal melalui urin. Di ginjal, aluminium akan disaring melalui jutaan nefron. Nefron memiliki fungsi mengonsentrasikan sampah metabolik sehingga terjadi peningkatan paparan di dalam tubulus. Proses penyaringan ini menyebabkan akumulasi aluminium di tubulus proksimal (Leblanc, 2014). Kompleks transferin-aluminium (Tf-Al) berikatan dengan *transferrin receptor* (TfR1) yang terdapat di permukaan sel. Kompleks TfR1-Tf-Al mengalami proses endositosis dan vesikel endositik berfusi membentuk endosom tahap awal yang akan berkembang menjadi endosom tahap akhir. Bagian dalam endosom tahap akhir akan mengalami penurunan derajat keasaman, yang menyebabkan pelepasan ikatan aluminium dengan kompleks TfR1-Tf, sehingga aluminium berubah menjadi reaktif kembali (Murray *et al.*, 2014).

Akumulasi aluminium reaktif akan menyerang ikatan sulfida molekul penting protein enzim, sehingga aktivitas enzim antioksidan seperti *superoksida*

*dismutase* (SOD), katalase (CAT), *glutathione peroxidase* (GPx) akan mengalami penurunan (Dera, 2016; Endrinaldi, 2010). Penurunan aktivitas SOD menyebabkan gangguan dismutase superoksida, yang berakibat terjadinya peningkatan jumlah superperoksida ( $O_2^-$ ). Penurunan aktivitas CAT akan menyebabkan akumulasi  $H_2O_2$  akibat tidak diubahnya  $H_2O_2$  menjadi  $H_2O$  dan  $O_2$ . Enzim GPx memiliki fungsi membentuk glutathion teroksidasi (GSSG) dari reaksi pengubahan  $H_2O_2$  dan  $OH^-$  menjadi GSSG dan  $2H_2O$  (Kumar *et al.*, 2015). Peningkatan pembentukan radikal bebas menyebabkan terjadinya stres oksidatif melalui peroksidasi lipid (Newairy *et al.*, 2009; Dera, 2016).

Aluminium dapat menyebabkan degenerasi pada sel tubulus oleh karena pembentukan ROS yang menimbulkan stres oksidatif melalui mekanisme peroksidasi lipid yang merusak membran sel. Peroksidasi lipid yang terjadi pada membran sel menyebabkan hilangnya fluiditas membran, perubahan potensial membran, peningkatan permeabilitas membran, dan perubahan fungsi reseptor (Dera, 2016). Kerusakan yang terjadi di sel tubulus dapat teramati sebagai gambaran berupa nekrosis, degenerasi sel, terbentuknya *tubular cast*, dilatasi sel tubulus, dan akumulasi debris dalam lumen (Kocoglu *et al.*, 2009).

### 2.3 Radikal Bebas dan Stres Oksidatif

Radikal bebas merupakan molekul yang memiliki satu atau lebih elektron tidak berpasangan pada orbit terluarnya sehingga relatif tidak stabil. Molekul yang bersifat reaktif akan mengambil elektron dari molekul lain untuk dijadikan pasangan elektronnya sehingga dapat mencapai kestabilan (Ardhie, 2011). Aktivitas radikal bebas akan berakibat destruktif pada molekul sel yang elektronnya diambil. Pengambilan elektron akan menimbulkan reaksi berkelanjutan yang berdampak pada jumlah radikal bebas yang semakin banyak. Radikal bebas merusak molekul makro pembentuk sel seperti protein, karbohidrat (polisakarida), lemak dan *deoxyribonucleic acid* (DNA) (Khaira, 2010).

Radikal bebas berasal dari sistem biologis tubuh maupun lingkungan, dapat dilihat pada Tabel 2.1 (Ardhie, 2011). Aktivitas respirasi di mitokondria dan reaksi inflamasi akan menghasilkan oksidan. Proses metabolisme dalam tubuh

selain menghasilkan energi juga menghasilkan radikal bebas (Astuti, 2008). 3-5% dari 30 mol konsumsi oksigen harian orang dewasa diubah menjadi oksigen singlet,  $H_2O_2$ ,  $O_2^-$ , perhidroil, dan  $OH^-$  (Murray *et al.*, 2014).

Tabel 2.1 Sumber radikal bebas

Sumber Eksogen	Sumber Endogen
Polutan lingkungan Asap rokok Obat-obatan Radiasi ionisasi Sinar ultraviolet Pestisida	Respon normal dari rantai peristiwa biokimia dalam tubuh (mitokondria, membran plasma, retikulum endoplasma, peroksisom)

(Sumber: Astuti, 2008; Ayala *et al.*, 2014)

Stres oksidatif terjadi akibat ketidakseimbangan antara radikal bebas dan antioksidan. Ketidakseimbangan ini timbul oleh karena kurangnya antioksidan dan berlebihnya produksi radikal bebas. Berlebihnya jumlah radikal bebas membuat kontrol protektif oleh antioksidan tidak bekerja dengan efektif, sehingga terjadi kerusakan oksidatif. Kondisi ini akan berdampak berupa kerusakan oksidatif dari tingkat sel hingga organ tubuh, sehingga menyebabkan percepatan penuaan dan munculnya penyakit (Ardhie, 2011).

## 2.4 Antioksidan

### 2.4.1 Definisi dan Fungsi

Antioksidan merupakan senyawa yang dapat menghambat atau menunda oksidasi dari molekul lain. Antioksidan dapat melindungi tubuh manusia dari efek radikal bebas dan *reactive oxygen species* (Gülcin *et al.*, 2010). Antioksidan berperan sebagai penangkap radikal bebas, dengan memberikan elektron ke radikal bebas sehingga dapat menstabilkan radikal bebas (Razali *et al.*, 2015). Antioksidan dapat digolongkan ke dalam antioksidan endogen maupun eksogen (Astuti, 2008).

Antioksidan endogen dalam sistem biologis tubuh berupa antioksidan enzim seperti *superoksida dismutase* (SOD), katalase (CAT), *glutathione peroksidase* (GPx) (Ardhie, 2011). Ketika terjadi proses stres oksidatif oleh

karena jumlah ROS yang berlebihan, antioksidan endogen tidak mampu menghambat proses oksidasi oleh ROS. Dalam hal ini dibutuhkan bantuan antioksidan eksogen yang diperoleh dari asupan makanan dan minuman yang dikonsumsi setiap hari (Astuti, 2008).

#### 2.4.2 Asam Jawa (*Tamarindus indica*)

Asam Jawa, tanaman yang memiliki nama latin *Tamarindus indica*, merupakan tanaman dengan tinggi yang dapat mencapai 20-30 m; tebal batang hingga 1,5-2 m dan keliling hingga 8 m (Bhadoriya *et al.*, 2011). Kulit batang berwarna abu-kecoklatan, kasar dan pecah-pecah. *Tamarindus indica* memiliki akar tunggang. Daun tanaman memiliki panjang 7-12 cm, bersifat majemuk dengan total 8-18 anak daun (lihat Gambar 2.5). Bunga tanaman *Tamarindus indica* kecil berwarna kuning, dengan jumlah mahkota 5 dalam 1 tangkai sepanjang 3-5 cm. Polong buah *Tamarindus indica* memiliki panjang 5-10 cm dengan lebar 2 cm, melengkung atau lurus dengan ujung membulat, berwarna abu-abu muda atau coklat dan sedikit bersisik. Daging buah *Tamarindus indica* tebal dan berwarna kecoklatan. Dalam 1 polong buah *Tamarindus indica* terdapat 1-12 biji yang keras, mengkilat, dan berwarna merah kecoklatan. Tanaman ini banyak tumbuh di daerah tropis termasuk Indonesia (El-Siddig *et al.*, 2006). *Tamarindus indica* dapat dimanfaatkan sebagai bahan baku pembuatan makanan, bahan peralatan rumah tangga, hingga bahan pembuatan obat. Bagian dari tanaman *Tamarindus indica* yang dapat dimanfaatkan meliputi daun, kulit, batang, daging buah, dan biji. Taksonomi *Tamarindus indica* berdasarkan surat keterangan identifikasi tumbuhan seperti tertera dalam Lampiran K:

Kingdom	: Plantae
Divisio	: Magnoliophyta
Classis	: Magnolipsida
Sub Classis	: Rosidae
Ordo	: Fabales
Familia	: Caesalpiniaceae

Genus : *Tamarindus*  
Species : *Tamarindus indica* L.



Gambar 2.4 Daun dan buah asam jawa (Sumber: Bhadoriya *et al.*, 2011)

#### 2.4.3 Biji Asam Jawa (*Tamarindus indica*)

Biji *Tamarindus indica* memiliki fungsi sebagai agen antioksidan, agen antiinflamasi, dan agen antirematik. Ekstrak biji *Tamarindus indica* direkomendasikan sebagai agen untuk terapi gigitan ular, diare kronis, diabetes, disentri, penyakit mata, ulser, antivirus, agen antiinflamasi, dan agen antirematik (Hemshekhar *et al.*, 2011). Penelitian oleh Sundaram *et al.*, 2014 menunjukkan pemberian ekstrak biji *Tamarindus indica* mampu mengurangi perkembangan ROS endogen, meningkatkan kadar GSH, menurunkan terjadinya peroksidasi lipid, meningkatkan aktivitas enzim antioksidan (SOD, CAT, GST, GPx, GRdx) pada hati tikus yang diinduksi artritis. Biji *Tamarindus indica* memiliki kandungan senyawa polifenol lebih tinggi dibanding biji tanaman lainnya (Chunglok *et al.*, 2014). Polifenol dapat diklasifikasikan ke dalam beberapa grup yang berbeda tergantung banyaknya cincin fenol yang dikandung. Empat golongan utama polifenol meliputi asam fenolik, flavonoid, stilben, dan lignin (Pandey dan Rizvi, 2009). Ekstrak metanol biji *Tamarindus indica* memiliki kandungan senyawa polifenol dan potensi aktivitas antioksidan lebih tinggi dibanding ekstrak metanol bagian lain dari tanaman *Tamarindus indica*.

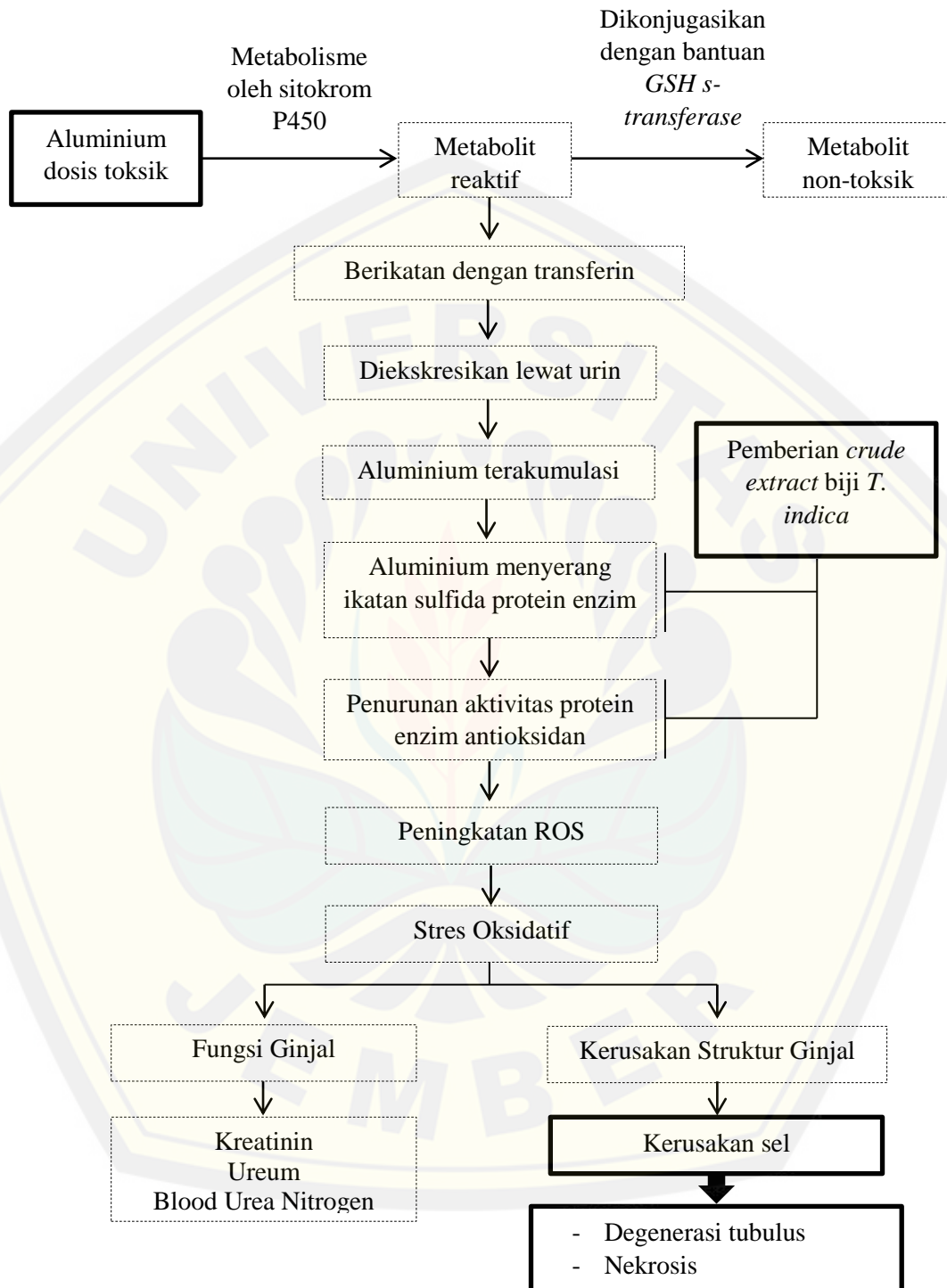


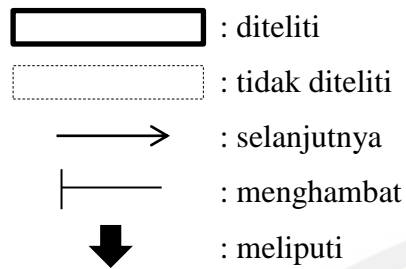
Kandungan senyawa polifenol dalam biji *Tamarindus indica* antara lain procyanidin B2, myricetin, dan *caffeic acid* (Razali *et al.*, 2015; Narwanto, 2018). Procyanidin dan myricetin termasuk ke dalam antioksidan golongan flavonoid yang tersusun atas 2 cincin aromatik dan diikat oleh 3 atom karbon, sedangkan *caffeic acid* termasuk antioksidan golongan asam fenolik (Pandey dan Rizvi, 2009). Urutan potensi antioksidan senyawa polifenol biji *Tamarindus indica* dari yang paling tinggi adalah myricetin, kemudian procyanidin B2, dan yang terakhir *caffeic acid* (Narwanto, 2018).

#### 2.4.4 Mekanisme Nefroprotektif Biji Asam Jawa (*Tamarindus indica*)

Ekstrak metanol biji *Tamarindus indica* memiliki kandungan procyanidin B2, myricetin, dan *caffeic acid* yang memiliki potensi sebagai antioksidan dan antiinflamasi (Narwanto, 2018). *Caffeic acid* mampu menginduksi aktivitas enzim antioksidan seperti SOD, CAT, dan GPx; mampu menghambat pembentukan ROS; serta berfungsi sebagai antioksidan poten (Son dan Lewis, 2002; Yang *et al.*, 2013). SOD berperan dalam proses dismutase  $O_2^-$  sehingga tidak terjadi peningkatan jumlah  $O_2^-$  sebagai ROS. CAT berperan dalam mengatalisis pengubahan  $H_2O_2$  menjadi  $H_2O$  dan  $O_2$ . GPx memiliki fungsi membentuk GSSG dari pengubahan  $H_2O_2$  dan  $OH^-$  menjadi GSSG dan  $2H_2O$ , sehingga tidak terjadi peningkatan jumlah  $H_2O_2$  dan  $OH^-$  sebagai ROS (Kumar *et al.*, 2015). Procyanidin B2 memiliki potensi untuk menghambat pembentukan spesies reaktif seperti radikal hidroksil dari  $H_2O_2$  dan ion  $Fe^{2+}$  (Sakano *et al.*, 2005). Myricetin memiliki potensi dalam menangkap radikal bebas, mengurangi oksigen molekuler, dan mengurangi ROS (Chobot, 2011). Penghambatan dalam pembentukan radikal bebas akan menghambat terjadinya stres oksidatif, sehingga kerusakan ginjal tidak akan terjadi (Newairy *et al.*, 2009).

## 2.5 Kerangka Konsep





Aluminium masuk ke dalam tubuh selanjutnya akan dimetabolisme dalam hepar melalui dua fase. Fase pertama dimetabolisme oleh sitokrom P450 dengan hasil berupa aluminium reaktif. Fase kedua dimetabolisme melalui konjugasi dengan glutathion, dengan bantuan enzim *glutathion s-transferase* menghasilkan metabolit nontoksik. Aluminium yang masuk dalam dosis toksik, membuat sebagian bentuk reaktif tidak dikonjugasikan oleh glutathion. Bentuk reaktif aluminium akan berikatan dengan transferin untuk diedarkan ke seluruh tubuh. Aluminium diekskresikan melalui urin, sehingga sel tubulus proksimal akan terpapar dan aluminium terakumulasi di sel tubulus proksimal. Aluminium akan melepaskan ikatan dengan transferin di dalam sel tubulus, sehingga aluminium berubah menjadi bentuk reaktif. Akumulasi aluminium reaktif akan menyerang ikatan sulfida protein enzim antioksidan, sehingga terjadi penurunan aktivitas enzim antioksidan. Penurunan aktivitas enzim antioksidan akan berdampak terhadap peningkatan ROS, yang dapat memicu terjadinya stres oksidatif. Stres oksidatif yang terjadi melalui mekanisme peroksidasi lipid dapat menimbulkan kerusakan sel tubulus dan penurunan fungsi ginjal. Pemberian *crude extract* biji *Tamarindus indica* dapat menginduksi aktivitas enzim antioksidan, menghambat pembentukan ROS, menangkap radikal bebas sehingga tidak terjadi kerusakan struktur sel dan tidak mempengaruhi fungsi ginjal.

## 2.6 Hipotesis Penelitian

Hipotesis penelitian ini adalah pemberian ekstrak metanol biji *Tamarindus indica* mencegah kerusakan histopatologi ginjal tikus yang diinduksi oleh aluminium klorida ( $AlCl_3$ ) dinilai dari parameter degenerasi dan nekrosis sel.

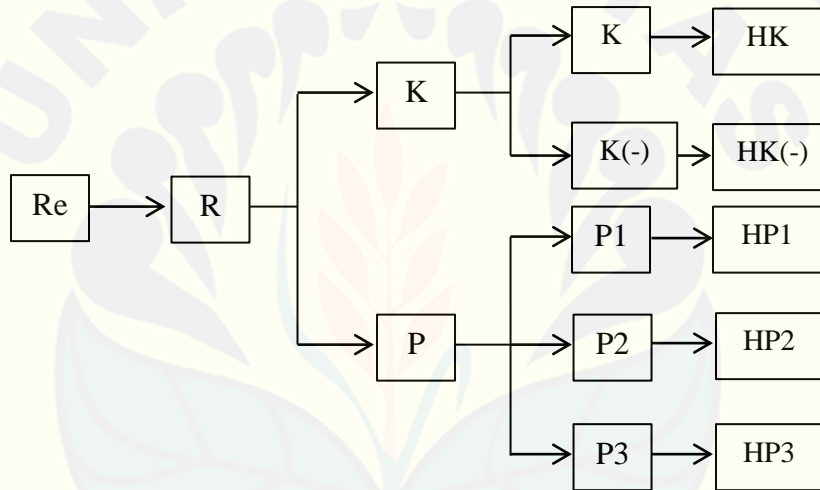
### BAB 3. METODE PENELITIAN

#### 3.1 Jenis Penelitian

Penelitian yang dilakukan termasuk kedalam penelitian eksperimental, yaitu *true experimental*.

#### 3.2 Rancangan Penelitian

Rancangan penelitian yang digunakan adalah *posttest only control group design*. Secara skematis rancangan penelitian ditunjukkan pada Gambar 3.1.



Gambar 3.1 Skema rancangan penelitian

Keterangan:

Re : Replikan

R : Randomisasi

K : Kelompok kontrol

P : Kelompok perlakuan

K : Kelompok kontrol, tikus diberi larutan campuran aquabides dan saline (NaCl 0,9%) 1 mL selama 10 minggu

- K(-) : Kelompok kontrol negatif, tikus diberi larutan  $AlCl_3$  dosis 300 mg/kgBB selama 10 minggu
- P1 : Kelompok perlakuan 1, tikus diberi larutan  $AlCl_3$  dosis 300 mg/kgBB dan larutan ekstrak biji *Tamarindus indica* dosis 25 mg/kgBB selama 10 minggu
- P2 : Kelompok perlakuan 2, tikus diberi larutan  $AlCl_3$  dosis 300 mg/kgBB dan larutan ekstrak biji *Tamarindus indica* dosis 50 mg/kgBB selama 10 minggu
- P3 : Kelompok perlakuan 3, tikus diberi larutan  $AlCl_3$  dosis 300 mg/kgBB dan larutan ekstrak biji *Tamarindus indica* dosis 100 mg/kgBB selama 10 minggu
- HK : Hasil kelompok kontrol
- HP : Hasil kelompok perlakuan

### 3.3 Waktu dan Tempat Penelitian

Penelitian ini dilaksanakan di beberapa tempat. Pemeliharaan dan perawatan tikus dilaksanakan di Laboratorium Rumah Tikus Fakultas Kedokteran Universitas Jember. Pembuatan larutan ekstrak biji *Tamarindus indica*, larutan  $AlCl_3$ , dan larutan campuran aquabides-saline (NaCl 0,9%) dilaksanakan di Laboratorium Biokimia Fakultas Kedokteran Universitas Jember. Pembuatan sediaan histopatologi dilaksanakan di RSD dr. Soebandi, Jember. Proses *scoring* gambaran histopatologi dilaksanakan di Laboratorium Patologi Anatomi Fakultas Kedokteran Universitas Jember. Waktu penelitian dimulai pada bulan Desember 2018-Februari 2019 dilanjutkan bulan Februari–Maret 2020.

### 3.4 Unit Replikasi

Unit replikasi dalam penelitian ini adalah tikus *Rattus norvegicus* strain wistar jantan yang berusia 2-3 bulan dengan berat badan  $\pm$  200 gram, sehat (bergerak dengan aktif) (Peraturan Kepala Badan Pengawas Obat dan Makanan Nomer 7, 2014).

### 3.4.1 Replikasi

Dalam penelitian ini terdapat 5 kelompok penelitian. Perkiraan jumlah replikasi dalam penelitian mengacu pada rumus Federer.

$$\begin{aligned}(r-1)(t-1) &\geq 15 \\(r-1)(5-1) &\geq 15 \\(r-1)4 &\geq 15 \\4r - 4 &\geq 15 \\4r &\geq 15 + 4 \\4r &\geq 19 \\r &\geq 4,75 \rightarrow \text{dibulatkan } 5\end{aligned}$$

Keterangan:

t : jumlah kelompok

r : replikasi

Berdasarkan perhitungan dengan menggunakan rumus Federer, didapatkan besar replikasi untuk masing-masing kelompok  $\geq 4,75$  dan diambil pembulatan 5. Koreksi perlu dilakukan dengan tujuan mengantisipasi hilangnya sampel, dengan besar koreksi sebesar 10% dari total sampel masing-masing kelompok. Jumlah kelompok dalam penelitian ini sebanyak 5 kelompok, oleh karena itu besar sampel total yang dibutuhkan sebesar 30 ekor tikus.

### 3.4.2 Teknik Pengambilan Sampel

Dalam penelitian ini teknik pengambilan sampel yang digunakan adalah *simple random sampling*, yaitu setiap anggota populasi yang telah memenuhi kriteria yang ditetapkan memiliki kesempatan yang sama untuk dipilih sebagai sampel penelitian.

### 3.5 Variabel Penelitian

#### 3.5.1 Variabel Bebas

Variabel bebas dalam penelitian ini berupa larutan  $AlCl_3$  dan larutan ekstrak biji *Tamarindus indica* yang diberikan dalam dosis bertingkat secara oral.

#### 3.5.2 Variabel Terikat

Variabel terikat dalam penelitian ini berupa gambaran histopatologi ginjal tikus yang diamati secara mikroskopik. Kerusakan yang timbul dalam gambaran histopatologi akan dilakukan proses *scoring* dan dibandingkan skor antarkelompok.

### 3.6 Definisi Operasional

Definisi operasional dalam penelitian ini dapat dilihat pada Tabel 3.1

Tabel 3.1 Definisi operasional

Variabel	Definisi Operasional	Hasil Ukur	Skala Pengukuran
Larutan $AlCl_3$	Aluminium yang digunakan dalam penelitian berupa serbuk $AlCl_3$ . Serbuk aluminium dilarutkan menggunakan larutan aquabides dengan konsentrasi 50 mg aluminium dalam 1 mL aquabides, dan diberikan secara oral pada sampel.	Dosis yang diberikan yaitu 300 mg/kgBB	Rasio
Larutan ekstrak biji <i>Tamarindus indica</i>	Ekstrak biji <i>Tamarindus indica</i> diperoleh dengan merendam serbuk biji <i>Tamarindus indica</i> dalam larutan metanol selama 72 jam, lalu disaring dan dievaporasi dalam <i>water bath</i> untuk mendapatkan residu ekstrak. Ekstrak biji <i>Tamarindus indica</i>	Dosis yang diberikan: 1. 25 mg/kBB 2. 50 mg/kgBB 3. 100 mg/kgBB	Rasio

Lanjutan tabel 3.1 halaman sebelumnya

Gambaran histopatologi ginjal tikus	<p>dilarutkan dalam larutan saline (NaCl 0,9%) dan diberikan secara oral pada sampel.</p> <p>Gambaran histopatologi ginjal adalah gambaran patologis struktur ginjal yang dapat diamati dengan menggunakan mikroskop. Struktur ginjal tikus akan diamati menggunakan mikroskop perbesaran 400x, dilakukan proses <i>scoring</i> kerusakan di 5 lapang pandang dan dibandingkan antarkelompok. <i>Scoring</i> kerusakan ginjal mengacu kepada skor menurut Kocoglu <i>et al.</i>, (2009) yang dapat dilihat pada Tabel 3.2.</p>	Skor	Ordinal
-------------------------------------	--	------	---------

Tabel 3.2 *Scoring* histopatologi

Skor	Kriteria kerusakan
0	Tidak terjadi kerusakan sel tubulus ginjal (degenerasi tubulus, nekrosis, <i>tubular casts</i> , dilatasi tubulus, dan akumulasi sel-sel debris dalam lumen)
1	Bila ditemukan kerusakan 0-10%
2	Bila ditemukan kerusakan 11-25%
3	Bila ditemukan kerusakan 26-45%
4	Bila ditemukan kerusakan 46-75%
5	Bila ditemukan kerusakan 76-100%

(Sumber: Kocoglu *et al.*, 2009)

### 3.7 Instrumen Penelitian

#### 3.7.1 Alat

Alat yang digunakan dalam penelitian ini berupa:

- Pemeliharaan sampel: kandang, tempat makan, dan tempat minum.



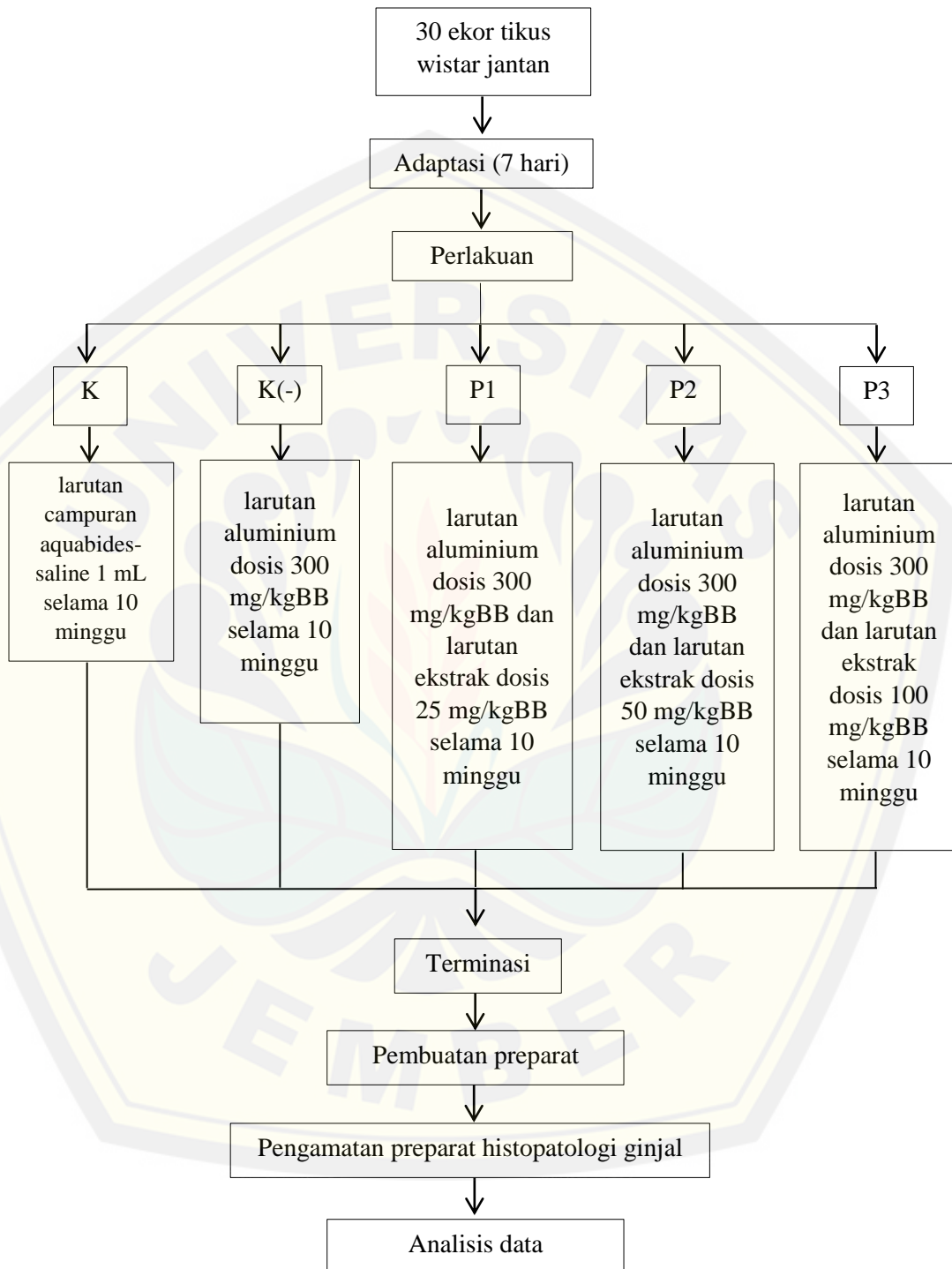
- b. Pembuatan larutan  $AlCl_3$ : neraca ohaus, labu erlenmeyer, sendok, pengaduk, pipet, lemari asam, sarung tangan, dan masker.
- c. Pemberian larutan  $AlCl_3$ : sarung tangan, masker, spuit, dan sonde.
- d. Pembuatan larutan ekstrak biji *Tamarindus indica*: neraca ohaus, *beaker glass*, *magnetic stirrer*, *stirrer*, gelas ukur, sendok, sarung tangan, dan masker.
- e. Pemberian larutan ekstrak biji *Tamarindus indica*: sarung tangan, masker, spuit, dan sonde.
- f. Pembuatan larutan kontrol: *beaker glass*, spuit, sarung tangan, dan masker.
- g. Pemberian larutan kontrol: sarung tangan, masker, spuit, dan sonde.
- h. Terminasi dan pengambilan ginjal: sarung tangan, masker, *minor set*, papan parafin dan toples kecil.
- i. Pemeriksaan histopatologi: mikroskop dan kamera.

### 3.7.2 Bahan

Bahan yang digunakan dalam penelitian ini berupa:

- a. Pemeliharaan sampel: pakan tikus, air minum, dan serbuk kayu.
- b. Pembuatan larutan  $AlCl_3$ : serbuk  $AlCl_3$  dan aquabides.
- c. Pembuatan larutan ekstrak biji *Tamarindus indica*: ekstrak biji asam jawa dan larutan saline (NaCl 0,9%).
- d. Pembuatan larutan kontrol: aquabides dan larutan saline (NaCl 0,9%).
- e. Terminasi dan pengambilan ginjal: eter, *buffer* normal formalin 10%, NaCl 0,9%.
- f. Pembuatan preparat histopatologi: *buffer* normal formalin (BNF) 10%, alkohol, xylol, parafin, hematoxylin, eosin.

### 3.8 Alur Penelitian



### 3.9 Prosedur Penelitian

#### 3.9.1 Pemilihan Sampel

Sampel dipilih berdasarkan kriteria yang telah ditetapkan oleh peneliti. Setelah didapatkan sejumlah 30 ekor, sampel akan mengalami proses randomisasi untuk dibagi ke dalam 5 kelompok yang masing-masing kelompok terdiri atas 6 ekor.

#### 3.9.2 Ekstraksi Biji *Tamarindus indica*

Ekstraksi biji *Tamarindus indica* dengan menggunakan teknik maserasi, yaitu biji *Tamarindus indica* kering dihaluskan untuk dibuat serbuk biji. Serbuk biji *Tamarindus indica* sebanyak 100 g direndam dalam larutan metanol (500 mL) selama 72 jam pada suhu ruangan dan dilakukan pengadukan secara periodik. Setelah itu larutan disaring dan dievaporasi dalam *water bath* untuk mendapatkan residu ekstrak (Bandawane *et al.*, 2013).

#### 3.9.3 Persiapan Sampel

Sebelum diberikan perlakuan, tikus diadaptasi untuk menyesuaikan dengan kondisi lingkungan kandang. Proses adaptasi berlangsung selama 7 hari (Peraturan Kepala Badan Pengawas Obat dan Makanan Nomer 7, 2014). Selama proses adaptasi, tikus diberikan pakan dan minum secara *ad libitum* (Kahtani *et al.*, 2010). Kandang dibersihkan dan serbuk kayu diganti setiap 1 minggu sekali. Setelah proses adaptasi selesai, berat badan tikus ditimbang untuk menentukan dosis pemberian larutan aluminium dan ekstrak biji *Tamarindus indica* pada minggu pertama. Proses penimbangan berat badan dilakukan setiap minggu dengan tujuan penyesuaian dosis pemberian larutan aluminium dan larutan ekstrak. Evaluasi kondisi kesehatan tikus dilakukan setiap hari sebelum proses pemberian larutan.

### 3.9.4 Pembuatan Larutan

#### a. Larutan Aluminium

Larutan aluminium didapatkan dengan mencampurkan serbuk  $\text{AlCl}_3$  dengan aquabides, hingga didapatkan konsentrasi 50 mg  $\text{AlCl}_3$  dalam tiap 1 mL aquabides (Baydar *et al.*, 2003). Akan tetapi terjadi sedikit perbedaan konsentrasi aluminium akibat terdapatnya penambahan volume total campuran oleh volume serbuk  $\text{AlCl}_3$ . Pemilihan aquabides sebagai pelarut dikarenakan aquabides merupakan pelarut yang paling baik dibanding cairan yang lain, aquabides dapat melarutkan berbagai macam jenis partikel halus yang bermuatan racun (Khotimah *et al.*, 2017). Pembuatan *stock* larutan aluminium dilakukan setiap 1 minggu sekali. Penimbangan berat badan tikus bertujuan untuk menghitung jumlah total serbuk aluminium yang dibutuhkan selama 1 minggu perlakuan. Serbuk  $\text{AlCl}_3$  ditimbang sesuai dengan jumlah total serbuk yang dibutuhkan selama 1 minggu. Serbuk dimasukkan ke dalam labu Erlenmeyer, ditambahkan dengan aquabides sesuai kebutuhan melalui dinding labu Erlenmeyer, diaduk sampai homogen dan rangkaian proses dilakukan di lemari asam. Larutan aluminium yang tersisa disimpan dalam labu Erlenmeyer, ditutup dengan menggunakan aluminium foil, dan diletakkan di tempat yang terhindar dari cahaya matahari.

#### b. Larutan Ekstrak Biji *Tamarindus indica*

Pembuatan larutan ekstrak biji *Tamarindus indica* dilakukan setiap hari. Ekstrak biji *Tamarindus indica* ditimbang sesuai dengan perhitungan jumlah dosis yang dibutuhkan. Ekstrak dicampurkan dengan larutan saline (NaCl 0,9%) hingga konsentrasi 50 mg ekstrak dalam 1 mL saline (Gilani *et al.*, 2006). Campuran dihomogenkan dengan menggunakan *magnetic stirrer*.

#### c. Larutan Campuran Aquabides-Saline (NaCl 0,9%)

Larutan campuran aquabides-saline dibuat dengan mencampurkan aquabides 3 mL dengan larutan saline 3 mL. Aquabides dan larutan saline diambil dengan menggunakan spuit dari dalam wadah. Penggunaan aquabides dan larutan saline oleh karena kedua bahan tersebut digunakan sebagai pelarut dalam

pembuatan larutan aluminium dan larutan ekstrak biji *Tamarindus indica* sebagai larutan uji (Peraturan Kepala Badan Pengawas Obat dan Makanan Nomer 7, 2014). Pemberian larutan campuran aquabides-saline bertujuan untuk menyamakan perlakuan dengan kelompok lain.

### 3.9.5 Perlakuan

Pemberian larutan aluminium, larutan ekstrak, dan larutan campuran aquabides-saline (NaCl 0,9%) dilakukan secara oral setiap hari selama 10 minggu. Larutan aluminium diberikan terlebih dahulu sebelum larutan ekstrak diberikan, dengan jarak pemberian selama 1 jam. Pengambilan dan pemberian larutan dilakukan dengan menggunakan sonde sesuai dosis yang sudah ditetapkan. Tikus dipegang dengan menggunakan tangan yang tidak dominan, leher tikus difiksasi dengan menggunakan jari telunjuk dan jari tengah (Peraturan Kepala Badan Pengawas Obat dan Makanan Nomer 7, 2014). Sonde dimasukkan secara perlahan melalui sudut mulut, sampai ke esofagus belakang tikus.

Kelompok K : tikus diberikan larutan campuran aquabides dan saline (NaCl 0,9%) sebanyak 1 mL setiap hari.

Kelompok K(-) : tikus diberikan larutan aluminium dengan dosis 300 mg/kgBB.

Kelompok P1 : tikus diberikan larutan aluminium dengan dosis 300 mg/kgBB dan larutan ekstrak dengan dosis 25 mg/kgBB.

Kelompok P2 : tikus diberikan larutan aluminium dengan dosis 300 mg/kgBB dan larutan ekstrak dengan dosis 50 mg/kgBB.

Kelompok P3 : tikus diberikan larutan aluminium dengan dosis 300 mg/kgBB dan larutan ekstrak dengan dosis 100 mg/kgBB.

### 3.9.6 Terminasi dan Pengambilan Ginjal

Pada saat perlakuan memenuhi waktu yang telah ditetapkan yaitu 10 minggu, tikus diterminasi. Proses awal terminasi, tikus dimasukkan ke dalam toples berisi eter. Setelah tikus hilang kesadaran dan memasuki stage 3 anestesi (ditandai dengan pernapasan abdominal yang teratur, pupil mata meiosis, refleksi

mata terhadap cahaya menghilang, dan tidak ada gerakan serta semua otot relaksasi), dislokasi servikal dilakukan pada leher tikus. Anestesi dilakukan agar tikus tidak mengalami kesakitan saat dilakukan teknik mengorbankan hewan coba, termasuk metode dislokasi servikal (Peraturan Kepala Badan Pengawas Obat dan Makanan Nomer 7, 2014; Siregar, 2018). Diseminasi abdominal dilakukan untuk mengambil ginjal tikus. Semua perlakuan dilakukan secara hati-hati untuk menjaga agar ginjal tidak mengalami kerusakan.

Wadah berisi larutan *buffer* normal formalin 10% dipersiapkan dengan volume larutan *buffer* normal formalin 10% minimal 5 kali volume total ginjal. Ginjal dicuci dengan menggunakan NaCl 0,9% sebelum dimasukkan ke dalam wadah. Ginjal yang sudah diambil dimasukkan ke dalam wadah yang sudah dipersiapkan, dan setiap wadah diberi label sesuai dengan kelompok perlakuan.

### 3.9.7 Pembuatan Preparat Histopatologi (Sumber: Nasar *et al.*, 2008)

#### a. Penanganan organ setelah pengambilan

- 1) Wadah disiapkan sebagai tempat penyimpanan organ, dengan ukuran yang lebih besar dari ukuran organ.
- 2) Wadah penyimpanan organ diisi *buffer* normal formalin 10% dengan minimal volume adalah 5x ukuran volume organ.
- 3) Organ dimasukkan ke dalam wadah (kurang dari 30 menit) setelah organ diambil.
- 4) Setiap wadah organ diberikan label sebagai identitas agar tidak tertukar antara satu kelompok dengan kelompok lainnya.

#### b. Tahap pembuatan preparat

- 1) Fiksasi
- 2) Dehidrasi
- 3) *Clearing*
- 4) Impregnasi
- 5) Pembuatan blok parafin
- 6) Pemotongan
- 7) Pewarnaan Hematoxilin Eosin

### 3.9.8 Pengamatan Preparat Histopatologi

Preparat histopatologi diamati dengan perbesaran 400x menggunakan metode *blinding* (Burkhardt *et al.*, 2011). Pengamatan dengan metode *blinding* dilakukan oleh seorang ahli patologi anatomi.

### 3.10 Uji Kelayakan Etik

Penelitian ini menggunakan tikus *Rattus norvegicus* jantan galur wistar sebagai hewan uji penelitian. Uji kelayakan etik dilakukan oleh Komisi Etik Fakultas Kedokteran Universitas Jember sebelum dimulainya penelitian. Uji kelayakan etik bertujuan untuk menjaga keamanan peneliti dan hewan coba serta melindungi hewan coba.

### 3.11 Analisis Data

Data yang didapatkan berupa skor kerusakan histopatologi ginjal yang merupakan data ordinal, sehingga analisis data menggunakan uji *Kruskal Wallis*. Analisis data dengan uji *Kruskal Wallis* yang mendapatkan  $p < 0,05$ , uji dilanjutkan dengan uji *Post Hoc Mann Whitney* dengan tujuan untuk menentukan kelompok mana yang berbeda. Nilai  $p < 0,05$  berarti perbedaan antarkelompok dapat dinilai bermakna dan signifikan.

## BAB 5. PENUTUP

### 5.1 Kesimpulan

Berdasarkan parameter nekrosis sel ekstrak metanol biji *Tamarindus indica* mencegah kerusakan histopatologi ginjal tikus yang diinduksi aluminium klorida, sedangkan berdasarkan parameter degenerasi sel ekstrak metanol biji *Tamarindus indica* tidak mencegah kerusakan histopatologi ginjal tikus yang diinduksi aluminium klorida.

### 5.2 Saran

Penelitian ini memiliki beberapa kelemahan, oleh karena itu terdapat beberapa saran:

- a. Penggunaan metanol teknis sebagai pelarut dalam proses ekstraksi diganti dengan metanol proanalisis yang lebih aman
- b. Perlu dilakukan penelitian dengan penambahan dosis ekstrak yang lebih besar
- c. Perlu dilakukan penilaian fungsi ginjal sebelum tikus diterminasi, untuk memastikan bahwa kerusakan histopatologi disebabkan oleh aluminium
- d. Perlu dilakukan penelitian untuk mengevaluasi agen pengkelasi yang dapat membantu ekskresi aluminium yang terakumulasi



## DAFTAR PUSTAKA

- Aguilar, F., H. Autrup, S. Barlow, L. Castle, R. Crebelli, W. Dekant, K.-H. Engel, N. Gontard, D. Gott, S. Grilli, R. Gurtler, J.-C. Larsen, C. Leclercq, J.-C. Leblanc, F.-X. Malcata, W. Mennes, M.-R. Milana, I. Pratt, I. Rietjens, P. Tobback, dan F. Toldra. 2008. Scientific Opinion of the Panel on Food Additives, Flavourings, Processing Aids and Food Contact Materials (AFC). *The EFSA Journal*. 754: 1-34.
- Al-Ani, I. M., S. Ismail, K. M. Maung, P. Oothuman, S. M. A. Al-Mahmood. 2017. Histological study on the protective effects of tamarind seed extract on cobra venom in mice. *Asian Journal of Pharmaceutical and Clinical Research*. 10(10): 301-305.
- Amalina, H. A., Muhartono, dan Fiana. 2013. The influence effect kidney histopathology of mangosteen rind (*Garcinia mangostana* L.) 40% ethanol extract on rifampicin in male rat. ISSN 2337-3776.
- Ardhie, A. M. 2011. Radikal bebas dan peran antioksidan dalam mencegah penuaan. *Medicinus*. 24 (1): 4-8.
- Astuti, S. 2008. Isoflavon kedelai dan potensinya sebagai penangkap radikal bebas. *Jurnal Teknologi Industri dan Hasil Pertanian*. 13(2): 126–136.
- Ayala, A., M. F. Muñoz, dan S. Argüelles. 2014. Lipid peroxidation: production, metabolism, and signaling mechanisms of malondialdehyde and 4-hydroxy-2-nonenal. *Oxidative Medicine and Cellular Longevity*. 2014: 1–31.
- Bandawane, D., M. Hivarale, A. Mali, dan N. Mhetre. 2013. Evaluation of anti-inflammatory and analgesic activity of tamarind (*Tamarindus indica* L.) seeds. *International Journal of Pharmacy Pharmaceutical Sciences*. 5 (4): 623-629.
- Baydar, T., A. Papp, A. Aydin, L. Nagymajtenyi, H. Schulz, A. Isimer, dan G. Sahin. 2003. Accumulation of aluminum in rat brain. *Biological Trace Element Research*. 92: 231-244.
- Baynes, R. E., dan E. Hodgson. 2004. *Absorption and Distribution of Toxicants. Dalam A Textbook of Modern Toxicology*. Hodgson, E. Edisi Ketiga. Kanada: John Wiley & Sons, Inc. Publication. hal.77–78.
- Bhadoriya, S.S., A. Ganeshpurkar, J. Narwaria, G. Rai, dan A. P. Jain. 2011. *Tamarindus indica*: extent of explore potential. *Pharmacogn Rev*. 5(9): 73-81.
- Burkhardt, J. E., K. Pandher, P. F. Solter, S. P. Troth, R. W. Boyce, J. S. Zabta, dan D. Ennulat. 2011. Recommendations for the evaluation of pathology data

- in nonclinical safety biomarker qualification studies. *Toxicologic Pathology*. 39: 1129-1137.
- Chobot, V., dan F. Hadacek. 2011. Exploration of pro-oxidant and antioxidant activities of the flavonoid myricetin. *Research Article*. 16(6): 242-247.
- Chunglok, W., T. Utaipan, N. Somchit, M. Lertcanawanichakul, dan Y. Sudjaroen. 2014. Antioxidant and antiproliferative activities of non-edible parts of selected tropical fruits. *Sains Malaysiana*. 43 (5): 689-696.
- Dera, H. S. A. 2016. Protective effect of resveratrol against aluminum chloride induced nephrotoxicity in rats. *Saudi Medical Journal*. 37(4): 369-378.
- Dolara, P. 2014. Occurrence, exposure, effects, recommended intake and possible dietary use of selected trace compounds (aluminium, bismuth, cobalt, gold, lithium, nickel, silver). *International Journal of Food Sciences and Nutrition*. 65(8): 911-924.
- El-Siddig, K., H. P. M. Gunasena, B. A. Prasad, D. K. N. G. Pushpakumara, K. V. R. Ramana, P. Vijayanand, dan J. T. Williams. 2006. *Tamarind Tamarindus indica L.* Southampton: Southampton Centre for Underutilised Crops.
- Endrinaldi. 2010. Logam-logam berat pencemar lingkungan dan efek terhadap manusia. *Jurnal Kesehatan Masyarakat*. 4(1): 42-46.
- Exley, C. 2013. Human exposure to aluminium. *Environmental Science Processes & Impacts*. 15(10):1807-1816.
- Gilani, A. H., S. Yaesh, Q. Jamal, dan A. Khan. 2006. Studies on hepatoprotective, antispasmodic and calcium antagonist activities of the aqueous-methanol extract of achillea millefolium. *Phytotherapy Research*. 546-551.
- Gülçin, I., Z. Huyut, M. Elmastaş, dan H. Y. Aboul-Enein. 2010. Radical scavenging and antioxidant activity of tannic acid. *Arabian Journal of Chemistry*. 3: 43-53.
- Hemshkhar, M., K. Kempaju, dan K. S. Girish. 2011. Tamarind (*Tamarindus indica*) seeds: an overview on remedial qualities. *Nuts and Seed in Health and Disease Prevention*. 1107-1114.
- Juhaiman, L. A. A. 2010. Estimating aluminium leaching from aluminium cook wares in different meat ekstrak and milk. *Journal of Saudi Chemical Society*. 14: 131-137.

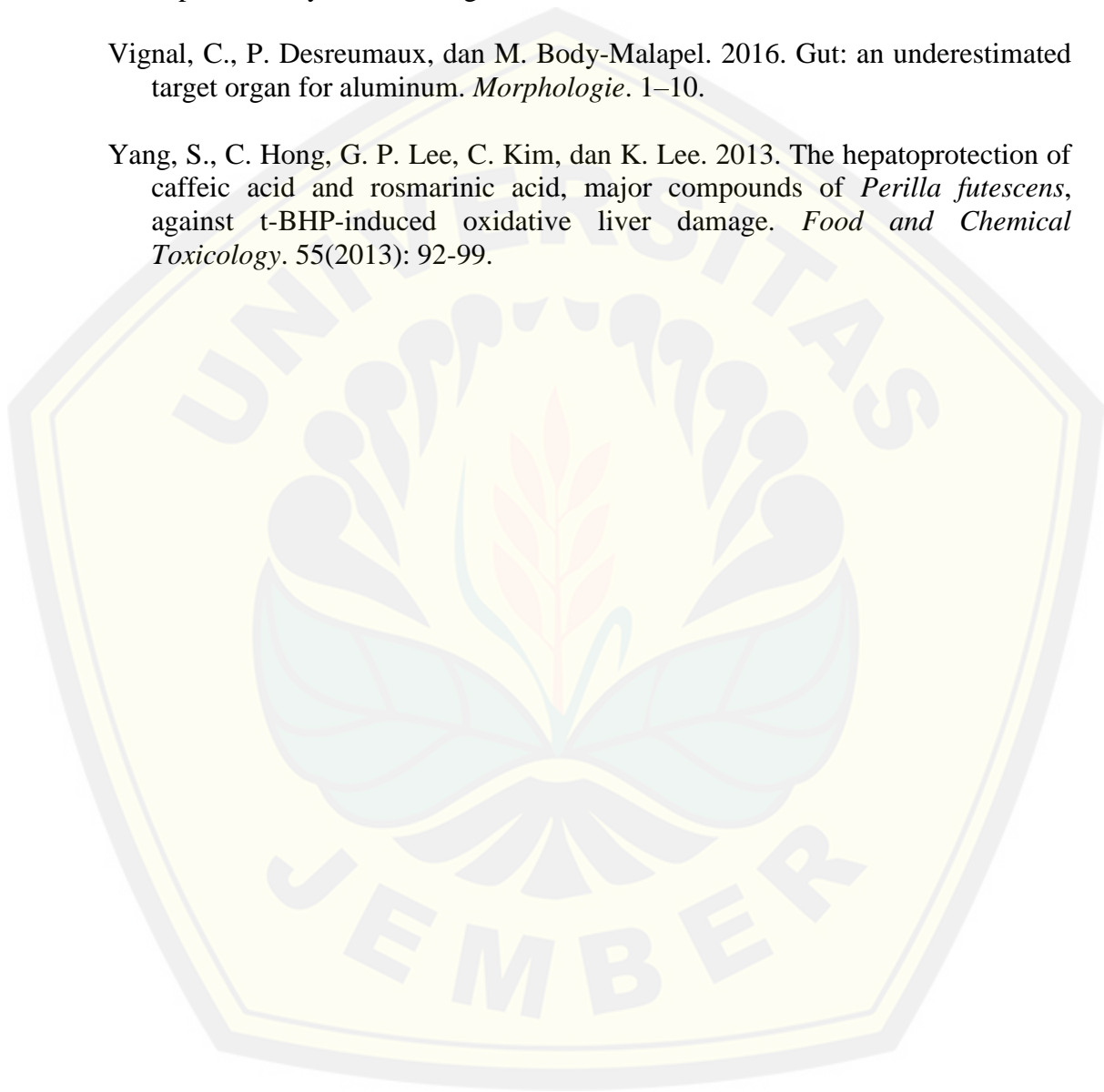
- Kahtani, M. A. A. 2010. Renal damage mediated by oxidative stress in mice treated with aluminium chloride: protective effects of taurin. *Journal of Biological Sciences*. 10 (7): 584-595.
- Kahtani, M. A. A., A. M. Abdel-Moneim, dan W. M. El-Sayed. 2014. The influence of taurine pretreatment on aluminum chloride induced nephrotoxicity in swiss albino mice. *Histology and Histopathology*. 29: 45–55.
- Keith, S., D. Jones, Z. Rosemond, L. Ingerman, dan L. Chappel. 2008. *Toxicological Profile for Aluminum*. Georgia: ATSDR.
- Khaira, K. 2010. Menangkal radikal bebas dengan antioksidan. *Jurnal Saintek*. II (2): 183-187.
- Khotimah, H., E. W. Anggraeni, dan A. Setyaningsih. 2017. Karakteristik hasil pengolahan air menggunakan alat destilasi. *Jurnal Chemurgy*. 1(2).
- Kocoglu, H., H. Ozturk, F. Yilmaz, dan N. Gulcu. 2009. Effect of dexmedetomidine on ischemia-reperfusion injury in rat kidney: a histopathologic study. *Renal Failure*. 31(1): 70–74.
- Kumar, V., A. K. Abbas, dan J. C. Aster. 2015. *Robbins and Cotran Pathologic Basis of Disease*. Ninth Edition. Philadelphia: Elsevier.
- Leblanc, G. A. 2014. *Elimination of Toxicants*. Dalam *A Textbook of Modern Toxicology*. Hodgson, E. Edisi Ketiga. Kanada: John Wiley & Sons, Inc. Publication. hal. 205–207.
- Murray, R. K., D. A. Bender, K. M. Botham, P. J. Kennelly, V. W. Rodwell, dan P. A. Weil. 2014. *Harper's Illustrated Biochemistry*. Edisi 29. The McGraw-Hill Companies, Inc. Terjemahan oleh L. R. Manurung dan L. I. Mandera. 2014. *Biokimia Harper*. Edisi 29. Jakarta: EGC.
- Narwanto, M.I., M. Rahayu, S. Soeharto, Nurdiana, dan M.A. Widodo. 2018. Identifikasi dan uji in silico potensi anti inflamasi dan antioksidan senyawa polifenol ekstrak metanol biji *Tamarindus indica*. *Journal of Agromedicine and Medical Science*. 4 (1): 13-17.
- Nasar, I. M., S. Endardjo, D. R. Handjari, A. N. Kurniawan, A. Mudigdo, B. M. Dewayani, E. S. R. Hardjolukito, N. D. Lubis, N. Yazid, R. Bandaso, dan T. Soemarno. 2008. *Pedoman Penanganan Bahan Pemeriksaan untuk Histopatologi*. Perhimpunan Dokter Spesialis Patologi Indonesia (IAPI).

- Newairy, A. A., A. F. Salama, H. M. Hussien, dan M. I. Yousef. 2009. Propolis alleviates aluminium-induced lipid peroxidation and biochemical parameters in male rats. *Food and Chemical Toxicology*. 47: 1093–1098.
- Pandey, K. B., dan S. I. Rizvi. 2009. Plant polyphenols as dietary antioxidants in human health and disease. *Oxidative Medicine and Cellular Longevity*. 2(5): 270-278.
- Peraturan Kepala Badan Pengawas Obat dan Makanan Republik Indonesia Nomer 7 Tahun 2014. *Pedoman Uji Toksisitas Nonklinik secara In Vivo*. Jakarta: Badan Pengawas Obat dan Makanan.
- Razali, N., S. M. Junit, A. Ariffin, N. S. F. Ramli, dan A. A. Aziz. 2015. Polyphenols from the extract and fraction of *Tamarind indica* seeds protected HepG2 cells against oxidative stress. *Complementary and Alternative Medicine*. 15: 438.
- Sakano, K., M. Mizutani, M. Murata, S. Oikawa, Y. Hiraku, dan S. Kawanishi. 2005. Procyanidin B2 has anti- and pro-oxidant effect on metal-mediated DNA damage. *Free Radical Biology and Medicine*. 39(2005): 1041-1049.
- Samawy, E. R. M. A. 2012. Morphological and histological study of the kidneys on the albino rats. *Al-Anbar Journal of Veterinary Sciences*. 5(2): 115–119.
- Son, P., dan B. A. Lewis. 2002. Free radical scavenging and antioxidative activity of caffeic acid amide and ester analogues: structure–activity relationship. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. 50: 468-472.
- Sugiyono. 2018. *Metode Penelitian Kuantitatif, Kualitatif, dan R&D*. Edisi 28. Bandung: Alfabeta.
- Sundaram, M. S., M. Hemshekhar, R. M. Thushara, M. S. Santosh, S. K. N. Kumar, M. Paul, S. Devaraja, K. Kemparaju, K. S. Rangappa, dan K. S. Girish. 2014. Tamarind seed extract mitigates the liver oxidative stress in arthritic rats. *The Royal Society of Chemistry*.
- Suryani, N. C., D. G. M. Permana, dan A. A. G. N. Anom Jambe. 2015. Pengaruh Jenis Pelarut Terhadap Kandungan Total Flavonoid dan Aktivitas Antioksidan Ekstrak Daun Matoa (*Pometia pinnata*). *Skripsi*. Denpasar: Fakultas Teknologi Pertanian Universitas Udayana.
- Ucla Lab School. 2019. Rat Dissection Lab. <https://ls23l.score.ucla.edu/TUTORIAL/?RATLAB>. [Diakses pada 9 September 2019]

Vargas-Olvera, C. Y., D. J. Sanches-Gonzales, J. D. Solano, F. A. Aguilar-Alonso, F. Montalvo-Munoz, C. M. Martinez-Martinez, O. M. Medina-Campos, M. E. Ibarra-Rubio. 2012. Characterization of N-diethylnitrosamine-initiated and Ferric Nitritriacetate-promoted renal cell carcinoma experimental model and effect of a tamarind seed extract against acute nephrotoxicity and carcinogenesis. *Mol Cell Biochem.* 369:105–117.

Vignal, C., P. Desreumaux, dan M. Body-Malapel. 2016. Gut: an underestimated target organ for aluminum. *Morphologie.* 1–10.

Yang, S., C. Hong, G. P. Lee, C. Kim, dan K. Lee. 2013. The hepatoprotection of caffeic acid and rosmarinic acid, major compounds of *Perilla frutescens*, against t-BHP-induced oxidative liver damage. *Food and Chemical Toxicology.* 55(2013): 92-99.



## Lampiran A. Surat Tugas Penelitian



KEMENTERIAN RISET, TEKNOLOGI, DAN PENDIDIKAN TINGGI  
**UNIVERSITAS JEMBER**  
**FAKULTAS KEDOKTERAN**  
 Jl Kalimantan 37 Kampus Bumi Tegal Boto Telp/Fax (0331) 337877 Jember 68121  
 Email : fk@unej.ac.id Website : http://www.fk.unej.ac.id

**SURAT TUGAS**

Nomor : 256 /UN25.1.1/PT/2019

Dalam rangka pelaksanaan kegiatan Penelitian yang dilakukan oleh Dosen dan mahasiswa Fakultas Kedokteran Universitas Jember, sebagaimana tersebut di bawah ini:

No.	Nama	NIP / NIM
1.	dr. Muhammad Ihwan Narwanto, M.Sc	198002182005011001
2.	Muhammad Iqbal Fauzi	162010101040
3.	Anang Dwi Atmoko	162010101077
4.	Indah Pratiwi	162010101127
5.	Nur A'mala Dewi	162010101128

Judul Penelitian : Efek Ekstrak Metanol Biji *Tamarindus indica* Untuk Pencegahan  
 Terbentuknya *Senile Plaques*, *Neurofibrillary Tangles* dan Perbaikan  
 Memori Kerja Spasial pada Tikus Model Alzheimer

Pelaksanaan : Desember 2018 – Februari 2019

Dengan ini menugaskan kepada dosen dan mahasiswa yang tercantum diatas untuk melaksanakan tugas penelitian tersebut secara penuh tanggung jawab.

Jember, 22 JAN 2019



Dr. Saiful Bahri, M.Kes., Ph.D., Sp.BA

NIP. 19730424 199903 1 002

## Lampiran B. Etik Payung

**KEMENTERIAN RISET, TEKNOLOGI, DAN PENDIDIKAN TINGGI  
UNIVERSITAS JEMBER  
KOMISI ETIK PENELITIAN**

Jl. Kalimantan 37 Kampus Bumi Tegal Boto Telp/Fax (0331) 337877 Jember  
68121 – Email : [fk\\_unej@telkom.net](mailto:fk_unej@telkom.net)

---

**KETERANGAN PERSETUJUAN ETIK**  
*ETHICAL APPROVAL*  
Nomor : 1.151 /H25.1.11/KE/2017

Komisi Etik, Fakultas Kedokteran Universitas Jember dalam upaya melindungi hak asasi dan kesejahteraan subyek penelitian kedokteran, telah mengkaji dengan teliti protokol berjudul :

*The Ethics Committee of the Faculty of Medicine, Jember University, With regards of the protection of human rights and welfare in medical research, has carefully reviewed the proposal entitled :*

**EFEK EKSTRAK METANOL BIJI *Tamarindus indica* UNTUK PENCEGAHAN TERBENTUKNYA *SENILE PLAQUES*, *NEUROFIBRILLARY TANGLES* DAN PERBAIKAN MEMORI KERJA SPASIAL PADA TIKUS MODEL ALZHEIMER (KAJIAN ANTI INFLAMASI, ANTI EXCITOTOXICITY DAN ANTIOKSIDAN)**

Nama Peneliti Utama : dr. M. Ihwan Narwanto, M.Sc  
*Name of the principal investigator*

NIP : 198002182005011001

Nama Institusi : Fakultas Kedokteran Universitas Jember  
*Name of institution*

Dan telah menyetujui protokol tersebut diatas.  
*And approved the above mentioned proposal.*

Jember, 16 Agustus 2017  
Ketua Komisi Etik Penelitian  
  
dr. Rini Riyanti, Sp.PK

## Lampiran C. Keterangan Persetujuan Etik Penelitian

 KEMENTERIAN RISET, TEKNOLOGI DAN PENDIDIKAN TINGGI  
UNIVERSITAS JEMBER  
KOMITE ETIK PENELITIAN  
Jl. Kalimantan 37 Kampus Bumi Tegal Boto Telp/Fax (0331) 337877 Jember  
68121 – Email : fk\_unej@telkom.net

---

**KETERANGAN PERSETUJUAN ETIK**  
*ETHICAL APPROVA*  
Nomor : 1.376 /H25.1.11/KE/2020

Komisi Etik, Fakultas Kedokteran Universitas Jember dalam upaya melindungi hak asasi dan kesejahteraan subyek penelitian kedokteran, telah mengkaji dengan teliti protokol berjudul :

*The Ethics Committee of the Faculty of Medicine, Jember University, With regards of the protection of human rights and welfare in medical research, has carefully reviewed the proposal entitled :*

**EFEKTIFITAS EKSTRAK METANOL BIJI ASAM JAWA (*Tamarindus indica*) DALAM MEMPERBAIKI GAMBARAN HISTOPATOLOGI GINJAL TIKUS WISTAR JANTAN YANG DIINDUKSI ALUMINIUM KLORIDA (AlCl<sub>3</sub>)**

Nama Peneliti Utama : Anang Dwi Atmoko.  
*Name of the principal investigator*

NIM : 162010101077

Nama Institusi : Fakultas Kedokteran Universitas Jember  
*Name of institution*

Dan telah menyetujui protokol tersebut diatas.  
*And approved the above mentioned proposal.*

Jember, 29 Januari 2020  
Ketua Komisi Etik Penelitian  
  
dr. Rini Kiyanti, Sp.PK  



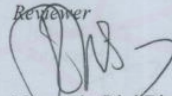

**Tanggapan Anggota Komisi Etik**

(Diisi oleh Anggota Komisi Etik, berisi tanggapan sesuai dengan butir-butir isian diatas dan telaah terhadap Protokol maupun dokumen kelengkapan lainnya)

Review Proposal :

- Penggunaan hewan coba pada penelitian harus memperhatikan prinsip 3R dan 5F.
- Mohon dilengkapi dengan SOP :
  - SOP perawatan hewan coba
  - SOP penyondaran
- Mohon diperhatikan pembuangan limbah medis.
- Mohon diperhatikan tata cara pemusnahan hewan coba.

Jember,  
Revisi



Nama : dr. Rini Riyanti, Sp.PK

**Tanggapan Anggota Komisi Etik**

(Diisi oleh Anggota Komisi Etik, berisi tanggapan sesuai dengan butir-butir isian diatas dan telaah terhadap Protokol maupun dokumen kelengkapan lainnya)

- Prinsip 3R & 5F.
- pemurnahan hewan coba.



Mengetahui  
Ketua Komisi Etik Penelitian

dr. Rini Riyanti, Sp.PK

Jember,  
Reviewer

dr Muhamad Hasan, M.Kes., Sp.OT

## Lampiran D. Protokol Pembuatan Preparat

**PROSEDUR PEMBUATAN PREPARAT HISTOPATOLOGI****I. Penanganan Jaringan**

1. Wadah disiapkan dengan ukuran sesuai jaringan yang akan disimpan. Jaringan tidak dipaksakan masuk ke wadah berukuran lebih kecil dari jaringan, sehingga terjadi penekukan yang dapat merusak bentuk jaringan.
2. Wadah diisi *buffer* normal formalin (BNF) 10% dengan volume minimal 5x jaringan.
3. Jaringan dimasukkan sesegera mungkin ke wadah berisi formalin (kurang dari 30 menit).
4. Jaringan yang berukuran besar diberikan irisan sejajar berjarak sekitar 0,5–1 cm supaya seluruh bagian jaringan terpapar formalin.
5. Wadah diberi label identitas dan jenis jaringan yang diambil supaya tidak tertukar.

**II. Tahap Pembuatan Preparat**

## 1. Fiksasi

Fiksasi menggunakan larutan *buffer* normal formalin (BNF) 10% dengan komposisi sebagai berikut:

- |   |          |
|---|----------|
| a. Larutan formaldehida 40%             | : 100 cc |
| b. Akuades                              | : 900 cc |
| c. Natrium dihidrogen fosfat monohidrat | : 4,0 g  |
| d. Disodium hidrogen fosfat anhidrat    | : 6,5 g  |

Cara fiksasi yang benar ialah sebagai berikut:

- a. Fiksatif berupa larutan *buffer* normal formalin (BNF) 10%.
- b. Volume fiksatif minimal 5x volume spesimen.
- c. Jaringan besar dibuat sayatan sejajar dengan pisau tajam berjarak 0,5–1 cm supaya fiksatif merata pada seluruh bagian jaringan luar dan dalam.

- d. Jaringan yang siap diproses adalah yang sudah terfiksasi dengan sempurna, yaitu sudah keras konsistensinya dan tidak berwarna kemerahan lagi (putih atau coklat).
- e. Jaringan difiksasi selama 6–36 jam.

## 2. Dehidrasi

Dehidrasi berfungsi untuk menarik air dari jaringan dengan dehidran alkohol bertahap, sehingga air tergantikan oleh alkohol. Tahapan dehidrasi sebagai berikut:

- a. Alkohol 70% : ½ jam
- b. Alkohol 95% : ½ jam
- c. Alkohol 100% : ½ jam
- d. Alkohol 100% : 1 jam
- e. Alkohol 100% : 1 jam
- f. Alkohol 100% : 1 jam
- g. Alkohol 100%/xylol : ½ jam

## 3. Clearing

Setelah proses dehidrasi, kemudian dilanjutkan proses *clearing* dengan xylol untuk menarik alkohol keluar dan memungkinkan parafin masuk ke dalam jaringan. Tahapan *clearing* sebagai berikut:

- a. Xylol : 1 jam
- b. Xylol : 2 jam

## 4. Impregnasi

Jaringan direndam dalam parafin cair, sehingga seluruh ruang jaringan yang semula berisi xylol diganti oleh parafin bertitik lebur paling tinggi 60°C. Tahapan impregnasi sebagai berikut:

- a. Parafin : 2 ½ jam
- b. Parafin : 4 jam

Inkubasi jaringan dilakukan di dalam inkubator/oven dengan suhu 55°–57°C (jam 18.00–06.00).

#### 5. Pembuatan Blok Parafin (*Embedded Block*)

Dalam pembuatan blok parafin, perlu diperhatikan orientasi jaringan dengan benar sehingga diperoleh potongan/sediaan yang representatif. Jaringan ditanam di parafin dan disimpan pada suhu 20°–25°C. Jangan lupa memeriksa apakah nomor pada blok parafin masih jelas sebelum dipotong. Sebelum dilakukan pemotongan, blok parafin didinginkan pada lempeng pendingin/es batu/lemari es.

#### 6. Pemotongan

Pemotongan menggunakan mikrotom dilakukan dengan pisau yang tajam/*disposable*.

#### 7. Deparafinisasi

Pita parafin dimekarkan dengan cara beragam, antara lain menggunakan penangas air atau ditempelkan langsung pada kaca benda yang telah dibasahi air kemudian diletakkan pada lempeng penghangat dengan suhu 60°C.

#### 8. Rehidrasi

Rehidrasi diperlukan karena pewarnaan yang digunakan adalah berbasis air.

#### 9. Pewarnaan

Hematoxylin → diferensiasi air kran → eosin → dehidrasi → *clearing* → *mounting*.

Sumber: Nasar, I. M., S. Endarjo, D. R. Handjari, A. N. Kurniawan, A. Mudigdo, B. M. Dewayani, E. S. R. Hardjolukito, N. D. Lubis, N. Yazid, R. Bandaso, dan T. Soemarno. 2008. *Pedoman Penanganan Bahan Pemeriksaan untuk Histopatologi*. Perhimpunan Dokter Spesialis Patologi Indonesia (IAPI).

**PROSEDUR PEWARNAAN HEMATOKSILIN DAN EOSIN (HE)**

**Pengertian** : Suatu teknik pewarnaan menggunakan hematoksilin dan eosin untuk mewarnai jaringan.

**Prinsip** : Inti yang bersifat asam akan menarik zat/ larutan yang bersifat basa sehingga akan berwarna biru. Sitoplasma bersifat basa akan menarik zat /larutan yang bersifat asam sehingga berwarna merah.

**Prosedur** :

**I. Tata Laksana**

Persiapan:

- a. Alat dan bahan yang diperlukan dipersiapkan
- b. Jaringan dikeluarkan dari blok parafin
- c. Jaringan dipotong dengan alat mikrotom dengan ketebalan antara 4–6  $\mu\text{m}$
- d. 1 *slice* potongan jaringan diambil, dimasukkan ke dalam *waterbath* (30°–40°C), untuk menghilangkan kerutan pada potongan dan mencairkan parafin
- e. Potongan jaringan ditempelkan dengan hati-hati pada *object glass*
- f. Albumin ditetaskan 1–2 tetes di atas potongan jaringan, lalu rapikan potongan (menghilangkan kerutan) dengan menggunakan pinset secara hati-hati, jangan sampai sobek
- g. Setelah itu, *object glass* yang telah ditemplei jaringan dipanaskan dengan oven pada suhu 30°–40°C

Pewarnaan:

- a. Proses deparafinisasi dalam xylol
- b. Hidrasi dalam larutan alkohol dengan gradasi yang menurun dari 100%-95%-90%-80%-70%
- c. Inkubasi dalam larutan hematoksilin selama 15 menit
- d. Bilas dengan air mengalir dalam waktu yang singkat
- e. Celup dalam campuran asam-alkohol secara cepat 3–10 celup cek diferensiasi warna di bawah mikroskop

- f. Bilas dengan air mengalir secara singkat
- g. Celup sebanyak 3–5 kali dalam larutan lithium karbonat hingga potongan bewarna biru cerah
- h. Cuci dengan air mengalir selama 10–20 menit. Bila pencucian tidak maksimal jaringan sulit terwarna oleh eosin
- i. Inkubasi dalam eosin selama 15 detik hingga 2 menit
- j. Dehidrasi dalam alkohol dengan konsentrasi yang meningkat secara perlahan, masing-masing selama 2 menit
- k. Inkubasi dalam xylol 2x2 menit
- l. Tutup dengan kaca penutup

## II. Alat dan Bahan

Alat:

- a. Rak pengecatan
- b. Pipet pastour
- c. Tisu
- d. *Object glass*
- e. *Cover glass*
- f. *Oven/incubator*

Bahan:

- a. Xylol
- b. Alkohol
- c. Hematoksilin
- d. HCl 0,5%
- e. Lithium karbonat 0,5%
- f. Eosin
- g. Akuades

## III. Faktor Penyulit

Bahan untuk pengecatan jelek/kadaluwarsa

## IV. Tenaga

Petugas patologi anatomi dan teknisi patologi anatomi

Sumber: Jusuf, A. A. 2009. Histoteknik dasar. Jakarta: Universitas Indonesia.

## Lampiran E. Protokol Pembacaan Preparat

**PROSEDUR PEMBACAAN PREPARAT HISTOPATOLOGI**

**Pengertian** : Pembacaan preparat histopatologi untuk menilai dan membandingkan sel yang normal dengan sel yang mengalami kerusakan akibat perlakuan yang diberikan.

**Tujuan** : Sebagai acuan penerapan langkah-langkah untuk melakukan pembacaan preparat histopatologi

**Prosedur** :

**I. Tata Laksana**

Pembacaan preparat histopatologi dilakukan secara *blinding* yaitu pembaca preparat tidak mengetahui kelompok perlakuan preparat yang dibaca. Pengamatan *blinding* dilakukan oleh satu orang ahli patologi anatomi.

Prosedur:

1. Preparat dibaca dibawah mikroskop cahaya
2. Preparat dibaca dengan perbesaran 400x. Pembacaan dilakukan dalam lima lapang pandang yang dipilih dengan metode zig-zag
3. Lapang pandang yang sudah terbaca difoto menggunakan kamera
4. Peneliti mengacak foto preparat sehingga tidak urut dalam satu kelompok perlakuan dan diberi nama berdasarkan urutan angka
5. Menjelaskan kepada pengamat jenis kerusakan yang diamati dan bagaimana cara menilai derajat kerusakan
6. Pengamat menilai foto sesuai dengan penilaian yang telah diberikan

**II. Alat dan Bahan**

Alat:

- a. Mikroskop cahaya
- b. Kamera
- c. Laptop

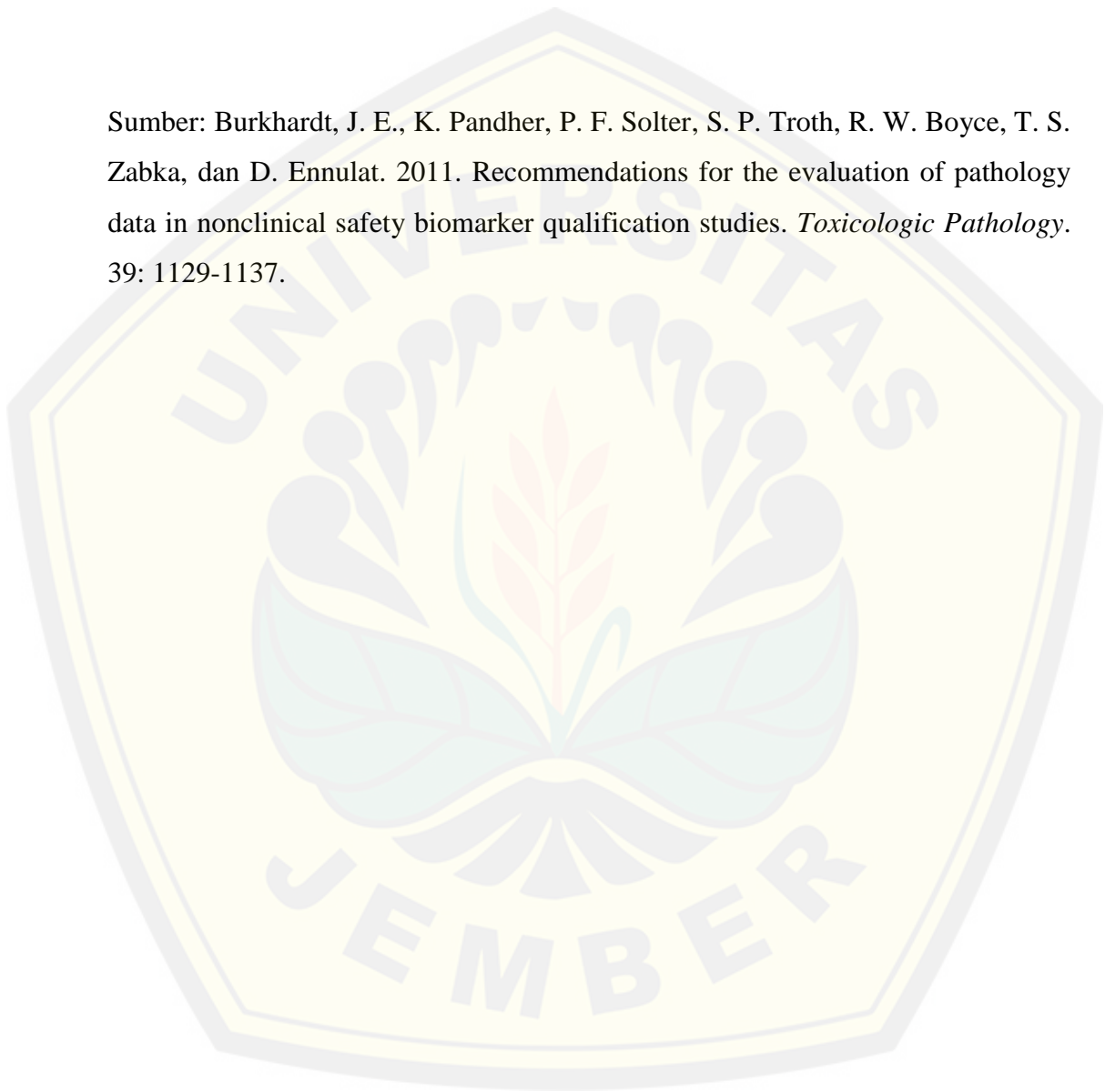
Bahan: Preparat histopatologi



### III. Tenaga

- a. Mahasiswa fakultas kedokteran
- b. Dosen (dokter) pengampu matakuliah patologi anatomi
- c. Dokter spesialis patologi anatomi

Sumber: Burkhardt, J. E., K. Pandher, P. F. Solter, S. P. Troth, R. W. Boyce, T. S. Zabka, dan D. Ennulat. 2011. Recommendations for the evaluation of pathology data in nonclinical safety biomarker qualification studies. *Toxicologic Pathology*. 39: 1129-1137.



## Lampiran F. Data Penelitian


## 1. Skor Degenerasi Sel




<u>Kelompok</u>	LP 1	LP 2	LP 3	LP 4	LP 5	Modus
K 1	5	5	5	5	5	5
K 2	5	5	5	5	5	5
K 3	5	5	5	5	5	5
K 4	5	5	5	5	5	5
K 5	5	5	5	5	5	5
K(-) 1	5	5	5	5	5	5
K(-) 2	5	5	5	5	5	5
K(-) 3	5	5	5	5	5	5
K(-) 4	5	5	5	5	5	5
K(-) 5	5	5	5	5	5	5
P1 1	5	5	5	5	5	5
P1 2	5	5	5	5	5	5
P1 3	5	5	5	5	5	5
P1 4	5	5	5	5	5	5
P1 5	5	5	5	5	5	5
P2 1	5	5	5	5	5	5
P2 2	5	5	5	5	5	5
P2 3	5	5	5	5	5	5
P2 4	5	5	5	5	5	5
P2 5	5	5	5	5	5	5
P3 1	5	5	5	5	5	5
P3 2	5	5	5	5	5	5
P3 3	5	5	5	5	5	5
P3 4	5	5	5	5	5	5
P3 5	5	5	5	5	5	5

## 2. Skor Nekrosis Sel

Kelompok	LP 1	LP 2	LP 3	LP 4	LP 5	Modus
K 1	1	1	2	1	2	1
K 2	1	1	1	1	2	1
K 3	1	2	1	2	2	2
K 4	2	2	2	1	3	2
K 5	2	2	2	2	2	2
K(-) 1	3	4	3	4	4	4
K(-) 2	4	4	4	2	4	4
K(-) 3	4	4	3	3	4	4
K(-) 4	3	3	2	2	3	3
K(-) 5	2	2	3	3	3	3
P1 1	3	3	4	3	3	3
P1 2	3	4	4	4	3	4
P1 3	3	2	3	4	3	3
P1 4	2	3	3	3	4	3
P1 5	4	4	3	4	4	4
P2 1	2	1	1	2	2	2
P2 2	2	3	3	2	3	3
P2 3	3	2	3	2	3	3
P2 4	1	2	2	2	3	2
P2 5	2	2	2	3	3	2
P3 1	3	2	2	2	3	2
P3 2	2	2	2	2	3	2
P3 3	2	2	1	2	3	2
P3 4	1	1	2	2	1	1
P3 5	1	2	2	1	1	1

## Lampiran G. Dokumentasi Penelitian

No.	Kegiatan	Dokumentasi
1.	Proses Ekstraksi	
2.	Pembuatan Larutan Aluminium	 
3.	Pembuatan Larutan Ekstrak	

<p>4.</p>	<p>Penyondean</p>	
<p>5.</p>	<p>Penggantian Sekam</p>	
<p>6.</p>	<p>Pemberian Pakan dan Minum</p>	

7.	Terminasi	
8.	Pengamatan Preparat	



Lampiran H. Tabel Dosis Aluminium dan Ekstrak

		K 1	K 2	K 3	K 4	K 5
Minggu 1	BB (g)	200	196	218	207	198
	Vol (mL)	1	1	1	1	1
Minggu 2	BB (g)	191	195	204	192	179
	Vol (mL)	1	1	1	1	1
Minggu 3	BB (g)	196	189	212	199	189
	Vol (mL)	1	1	1	1	1
Minggu 4	BB (g)	200	196	218	207	198
	Vol (mL)	1	1	1	1	1
Minggu 5	BB (g)	194	196	204	205	195
	Vol (mL)	1	1	1	1	1
Minggu 6	BB (g)	218	238	212	206	198
	Vol (mL)	1	1	1	1	1
Minggu 7	BB (g)	210	232	205	214	202
	Vol (mL)	1	1	1	1	1
Minggu 8	BB (g)	217	240	215	196	217
	Vol (mL)	1	1	1	1	1
Minggu 9	BB (g)	210	216	208	204	208
	Vol (mL)	1	1	1	1	1
Minggu 10	BB (g)	216	212	217	199	216
	Vol (mL)	1	1	1	1	1

		K(-) 1	K(-) 2	K(-) 3	K(-) 4	K(-) 5
Minggu 1	BB (g)	167	240	192	199	188
	Vol (mL)	1	1,4	1,2	1	1,1
Minggu 2	BB (g)	175	255	191	208	184
	Vol (mL)	1	1,5	1,1	1,2	1,1
Minggu 3	BB (g)	178	267	199	198	174
	Vol (mL)	1,1	1,6	1,2	1,1	1
Minggu 4	BB (g)	188	257	203	190	186
	Vol (mL)	1,1	1,5	1,2	1,1	1,1
Minggu 5	BB (g)	194	257	207	107	184
	Vol (mL)	1,2	1,5	1,2	1,2	1,1
Minggu 6	BB (g)	201	271	209	192	185
	Vol (mL)	1,2	1,6	1,3	1,2	1,1
Minggu 7	BB (g)	203	274	194	208	140
	Vol (mL)	1,2	1,6	1,2	1,2	0,8
Minggu 8	BB (g)	213	282	217	214	159
	Vol (mL)	1,3	1,7	1,3	1,3	1
Minggu 9	BB (g)	218	285	204	198	155
	Vol (mL)	1,3	1,7	1,2	1,2	0,9
Minggu 10	BB (g)	213	272	212	220	158
	Vol (mL)	1,3	1,6	1,3	1,3	0,9

		P1 1	P1 2	P1 3	P1 4	P1 5
Minggu 1	BB (g)	216	202	208	225	198
	Vol AlCl <sub>3</sub>	1,4	1,2	1,2	1,4	1,2
	Vol ekstrak	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1
Minggu 2	BB (g)	207	199	196	220	209
	Vol AlCl <sub>3</sub>	1,2	1,2	1,2	1,3	1,2
	Vol ekstrak	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1
Minggu 3	BB (g)	193	178	204	245	192
	Vol AlCl <sub>3</sub>	1,2	1,1	1,2	1,5	1,2
	Vol ekstrak	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1
Minggu 4	BB (g)	212	208	200	257	206
	Vol AlCl <sub>3</sub>	1,2	1,2	1,2	1,5	1,2
	Vol ekstrak	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1
Minggu 5	BB (g)	202	194	212	261	198
	Vol AlCl <sub>3</sub>	1,2	1,2	1,3	1,6	1,2
	Vol ekstrak	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1
Minggu 6	BB (g)	195	199	199	277	205
	Vol AlCl <sub>3</sub>	1,2	1,2	1,2	1,7	1,2
	Vol ekstrak	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1
Minggu 7	BB (g)	219	207	220	280	180
	Vol AlCl <sub>3</sub>	1,3	1,2	1,3	1,7	1,3
	Vol ekstrak	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1
Minggu 8	BB (g)	235	204	200	278	211
	Vol AlCl <sub>3</sub>	1,4	1,2	1,2	1,7	1,3
	Vol ekstrak	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1
Minggu 9	BB (g)	228	212	208	284	217
	Vol AlCl <sub>3</sub>	1,3	1,3	1,2	1,7	1,3
	Vol ekstrak	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1
Minggu 10	BB (g)	234	217	223	280	226
	Vol AlCl <sub>3</sub>	1,4	1,3	1,3	1,7	1,4
	Vol ekstrak	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1



		P2 1	P2 2	P2 3	P2 4	P2 5
Minggu 1	BB (g)	195	193	211	183	182
	Vol AlCl <sub>3</sub>	1,2	1,2	1,3	1	1,3
	Vol ekstrak	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2
Minggu 2	BB (g)	188	170	205	195	201
	Vol AlCl <sub>3</sub>	1,1	1	1,2	1,2	1,2
	Vol ekstrak	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2
Minggu 3	BB (g)	172	168	224	194	211
	Vol AlCl <sub>3</sub>	1	1	1,3	1,2	1,3
	Vol ekstrak	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2
Minggu 4	BB (g)	178	175	218	206	207
	Vol AlCl <sub>3</sub>	1	1	1,3	1,2	1,2
	Vol ekstrak	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2
Minggu 5	BB (g)	157	195	230	205	207
	Vol AlCl <sub>3</sub>	0,9	1,2	1,4	1,2	1,2
	Vol ekstrak	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2
Minggu 6	BB (g)	185	196	222	205	203
	Vol AlCl <sub>3</sub>	1,1	1,2	1,3	1,2	1,2
	Vol ekstrak	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2
Minggu 7	BB (g)	183	201	222	205	215
	Vol AlCl <sub>3</sub>	1,1	1,2	1,3	1,2	1,3
	Vol ekstrak	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2
Minggu 8	BB (g)	171	208	254	217	221
	Vol AlCl <sub>3</sub>	1	1,2	1,5	1,3	1,3
	Vol ekstrak	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2
Minggu 9	BB (g)	186	207	222	219	218
	Vol AlCl <sub>3</sub>	1,1	1,2	1,3	1,3	1,3
	Vol ekstrak	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2
Minggu 10	BB (g)	197	186	213	219	216
	Vol AlCl <sub>3</sub>	1,2	1,1	1,3	1,3	1,3
	Vol ekstrak	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2

		P3 1	P3 2	P3 3	P3 4	P3 5
Minggu 1	BB (g)	208	196	188	199	209
	Vol AlCl <sub>3</sub>	1,4	1,2	1,1	1,2	1,4
	Vol ekstrak	0,5	0,4	0,4	0,4	0,5
Minggu 2	BB (g)	196	200	191	202	205
	Vol AlCl <sub>3</sub>	1,2	1,2	1,1	1,2	1,2
	Vol ekstrak	0,4	0,4	0,4	0,4	0,4
Minggu 3	BB (g)	202	203	191	189	200
	Vol AlCl <sub>3</sub>	1,2	1,2	1,1	1	1,2
	Vol ekstrak	0,4	0,4	0,4	0,4	0,4
Minggu 4	BB (g)	199	217	188	200	217
	Vol AlCl <sub>3</sub>	1,2	1,3	1,1	1,2	1,3
	Vol ekstrak	0,4	0,4	0,4	0,4	0,4
Minggu 5	BB (g)	202	179	200	203	209
	Vol AlCl <sub>3</sub>	1,2	1,1	1,2	1,2	1,3
	Vol ekstrak	0,4	0,4	0,4	0,4	0,4
Minggu 6	BB (g)	213	178	206	218	216
	Vol AlCl <sub>3</sub>	1,3	1,1	1,2	1,3	1,3
	Vol ekstrak	0,4	0,4	0,4	0,4	0,4
Minggu 7	BB (g)	230	188	205	234	227
	Vol AlCl <sub>3</sub>	1,4	1,1	1,2	1,4	1,4
	Vol ekstrak	0,4	0,4	0,4	0,5	0,5
Minggu 8	BB (g)	242	198	203	241	233
	Vol AlCl <sub>3</sub>	1,5	1,2	1,2	1,4	1,4
	Vol ekstrak	0,5	0,4	0,4	0,5	0,5
Minggu 9	BB (g)	249	232	211	241	241
	Vol AlCl <sub>3</sub>	1,5	1,4	1,3	1,4	1,4
	Vol ekstrak	0,5	0,5	0,4	0,5	0,5
Minggu 10	BB (g)	244	228	199	241	241
	Vol AlCl <sub>3</sub>	1,5	1,4	1,2	1,4	1,4
	Vol ekstrak	0,5	0,5	0,4	0,5	0,5

Keterangan:

Vol : satuan mL

Lampiran I. Analisis Data *Kruskal Wallis* dan *Post Hoc Mann Whitney*

Analisis *Kruskal Wallis* parameter degenerasi sel tubulus:

**Ranks**

	Kelompok	N	Mean Rank
Skor	Kontrol 1	5	13.00
	Kontrol 2	5	13.00
	Perlakuan 1	5	13.00
	Perlakuan 2	5	13.00
	Perlakuan 3	5	13.00
	Total		25

**Test Statistics<sup>a,b</sup>**

	Skor
Kruskal-Wallis H	.000
df	4
Asymp. Sig.	1.000

a. Kruskal Wallis Test

b. Grouping Variable: Kelompok

Analisis *Kruskal Wallis* parameter nekrosis sel tubulus:

**Ranks**

	Kelompok	N	Mean Rank
Skor	Kontrol 1	5	6.40
	Kontrol 2	5	20.60
	Perlakuan 1	5	19.40
	Perlakuan 2	5	12.20
	Perlakuan 3	5	6.40
	Total		25

**Test Statistics<sup>a,b</sup>**

	Skor
Kruskal-Wallis H	18.695
df	4
Asymp. Sig.	.001

a. Kruskal Wallis Test

b. Grouping Variable: Kelompok

Uji *Post Hoc* Mann Whitney Kelompok K dengan K(-) :

Ranks				
	Kelompok	N	Mean Rank	Sum of Ranks
Skor	Kontrol 1	5	3.00	15.00
	Kontrol 2	5	8.00	40.00
	Total	10		

Test Statistics <sup>a</sup>	
	Skor
Mann-Whitney U	.000
Wilcoxon W	15.000
Z	-2.694
Asymp. Sig. (2-tailed)	.007
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	.008 <sup>b</sup>

a. Grouping Variable: Kelompok

b. Not corrected for ties.

Uji *Post Hoc* Mann Whitney Kelompok K dengan P1 :

Ranks				
	Kelompok	N	Mean Rank	Sum of Ranks
Skor	Kontrol 1	5	3.00	15.00
	Perlakuan 1	5	8.00	40.00
	Total	10		

Test Statistics <sup>a</sup>	
	Skor
Mann-Whitney U	.000
Wilcoxon W	15.000
Z	-2.694
Asymp. Sig. (2-tailed)	.007
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	.008 <sup>b</sup>

a. Grouping Variable: Kelompok

b. Not corrected for ties.

Uji *Post Hoc* Mann Whitney Kelompok K dengan P2 :

Ranks				
	Kelompok	N	Mean Rank	Sum of Ranks
Skor	Kontrol 1	5	3.90	19.50
	Perlakuan 2	5	7.10	35.50
	Total	10		

#### Test Statistics<sup>a</sup>

	Skor
Mann-Whitney U	4.500
Wilcoxon W	19.500
Z	-1.897
Asymp. Sig. (2-tailed)	.058
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	.095 <sup>b</sup>

a. Grouping Variable: Kelompok

b. Not corrected for ties.

Uji *Post Hoc* Mann Whitney Kelompok K dengan P3 :

Ranks				
	Kelompok	N	Mean Rank	Sum of Ranks
Skor	Kontrol 1	5	5.50	27.50
	Perlakuan 3	5	5.50	27.50
	Total	10		

#### Test Statistics<sup>a</sup>

	Skor
Mann-Whitney U	12.500
Wilcoxon W	27.500
Z	.000
Asymp. Sig. (2-tailed)	1.000
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	1.000 <sup>b</sup>

a. Grouping Variable: Kelompok

b. Not corrected for ties.

Uji *Post Hoc* Mann Whitney Kelompok K(-) dengan P1 :

**Ranks**

	Kelompok	N	Mean Rank	Sum of Ranks
Skor	Kontrol 2	5	6.00	30.00
	Perlakuan 1	5	5.00	25.00
	Total	10		

**Test Statistics<sup>a</sup>**

	Skor
Mann-Whitney U	10.000
Wilcoxon W	25.000
Z	-.600
Asymp. Sig. (2-tailed)	.549
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	.690 <sup>b</sup>

a. Grouping Variable: Kelompok

b. Not corrected for ties.

Uji *Post Hoc* Mann Whitney Kelompok K(-) dengan P2 :

**Ranks**

	Kelompok	N	Mean Rank	Sum of Ranks
Skor	Kontrol 2	5	7.60	38.00
	Perlakuan 2	5	3.40	17.00
	Total	10		

**Test Statistics<sup>a</sup>**

	Skor
Mann-Whitney U	2.000
Wilcoxon W	17.000
Z	-2.324
Asymp. Sig. (2-tailed)	.020
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	.032 <sup>b</sup>

a. Grouping Variable: Kelompok

b. Not corrected for ties.

Uji *Post Hoc* Mann Whitney Kelompok K(-) dengan P3 :

Ranks				
	Kelompok	N	Mean Rank	Sum of Ranks
Skor	Kontrol 2	5	8.00	40.00
	Perlakuan 3	5	3.00	15.00
	Total	10		

#### Test Statistics<sup>a</sup>

	Skor
Mann-Whitney U	.000
Wilcoxon W	15.000
Z	-2.694
Asymp. Sig. (2-tailed)	.007
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	.008 <sup>b</sup>

a. Grouping Variable: Kelompok

b. Not corrected for ties.

Uji *Post Hoc* Mann Whitney Kelompok P1 dengan P2 :

Ranks				
	Kelompok	N	Mean Rank	Sum of Ranks
Skor	Perlakuan 1	5	7.40	37.00
	Perlakuan 2	5	3.60	18.00
	Total	10		

#### Test Statistics<sup>a</sup>

	Skor
Mann-Whitney U	3.000
Wilcoxon W	18.000
Z	-2.154
Asymp. Sig. (2-tailed)	.031
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	.056 <sup>b</sup>

a. Grouping Variable: Kelompok

b. Not corrected for ties.

Uji *Post Hoc* Mann Whitney Kelompok P1 dengan P3 :

Ranks				
	Kelompok	N	Mean Rank	Sum of Ranks
Skor	Perlakuan 1	5	8.00	40.00
	Perlakuan 3	5	3.00	15.00
	Total	10		

#### Test Statistics<sup>a</sup>

	Skor
Mann-Whitney U	.000
Wilcoxon W	15.000
Z	-2.694
Asymp. Sig. (2-tailed)	.007
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	.008 <sup>b</sup>

a. Grouping Variable: Kelompok

b. Not corrected for ties.

Uji *Post Hoc* Mann Whitney Kelompok P2 dengan P3 :

Ranks				
	Kelompok	N	Mean Rank	Sum of Ranks
Skor	Perlakuan 2	5	7.10	35.50
	Perlakuan 3	5	3.90	19.50
	Total	10		

#### Test Statistics<sup>a</sup>

	Skor
Mann-Whitney U	4.500
Wilcoxon W	19.500
Z	-1.897
Asymp. Sig. (2-tailed)	.058
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	.095 <sup>b</sup>

a. Grouping Variable: Kelompok

b. Not corrected for ties.



## Lampiran J. Rekomendasi Bebas Plagiasi



KEMENTERIAN PENDIDIKAN DAN KEBUDAYAAN  
UNIVERSITAS JEMBER  
FAKULTAS KEDOKTERAN

Alamat : Jalan Kalimantan 37 Kampus Bumi Tegal Boto, Kotak Pos Jember 68121  
Telp/Fax. (0331) 337877, 324446, \*Faksimili (0331) 337877  
E mail : [fk@unej.ac.id](mailto:fk@unej.ac.id)/[Laman://www.fk.unej.ac.id](http://www.fk.unej.ac.id)

**SURAT REKOMENDASI BEBAS PLAGIASI**

Nomor **19059** /UN25.1.11/PT/2020

Komisi Bimbingan KTI dan Publikasi, Fakultas Kedokteran Universitas Jember dalam upaya peningkatan kualitas dan originalitas karya tulis ilmiah mahasiswa berupa skripsi, telah melakukan pemeriksaan plagiasi atas skripsi mahasiswa Fakultas Kedokteran Universitas Jember di bawah ini:

Nama : **Anang Dwi Atmoko**

NIM. : 162010101077

Angkatan : 2016

Judul Skripsi : **Ekstrak Metanol Biji Asam Jawa (*Tamarindus Indica*) Memperbaiki Gambaran Histopatologi Ginjal Tikus yang Diinduksi Aluminium Klorida (AlCl<sub>3</sub>)**

Bersama ini kami merekomendasikan dan menyatakan "**Bebas Plagiasi**"

Demikian surat rekomendasi ini, atas perhatian saudara kami mengucapkan terima kasih.

Mengetahui,  
Wakil Dekan I




**Dr. Ancah Caesarina Novi M. Ph.D**  
NIP. 19820309 200812 2 002


**23 MAR 2020**

Komisi Bimbingan KTI & Publikasi  
Ketua,

**Dr. dr. Yunita Armiyanti, M.Kes**  
NIP. 19740604 200112 2 002

## Lampiran K. Keterangan Identifikasi Tumbuhan

 **LEMBAGA ILMU PENGETAHUAN INDONESIA**  
*(INDONESIAN INSTITUTE OF SCIENCES)*  
**UPT BALAI KONSERVASI TUMBUHAN**  
**KEBUN RAYA PURWODADI**  
Jl. Raya Surabaya - Malang Km. 65 Purwodadi - Pasuruan 67163  
Telp. (+62 343) 615033, Faks. (+62 341) 4266046  
website : <http://www.krpurwodadi.lipi.go.id>



**SURAT KETERANGAN IDENTIFIKASI TUMBUHAN**  
No: 0476/IPH.06/HM/VII/2017

Kepala Balai Konservasi Tumbuhan Kebun Raya Purwodadi LIPI dengan ini menerangkan bahwa material tumbuhan yang dibawa oleh:

Nama : Muhammad Iliwan Narwanto, dr., M.Sc.  
NIM : 157070100111007  
Instansi : Universitas Brawijaya Fakultas Kedokteran.  
Tanggal material diterima : 18 Juli 2017

Telah diidentifikasi/determinasi berdasarkan koleksi herbarium dan koleksi kebun serta referensi ilmiah, dengan hasil sebagai berikut:

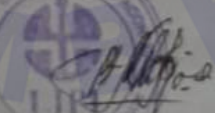
Kingdom : Plantae  
Division : Magnoliophyta  
Class : Magnoliopsida  
Subclass : Rosidae  
Ordo : Fabales  
Family : Caesalpiniaceae  
Genus : Tamarindus  
Species : *Tamarindus indica* L.

Referensi:

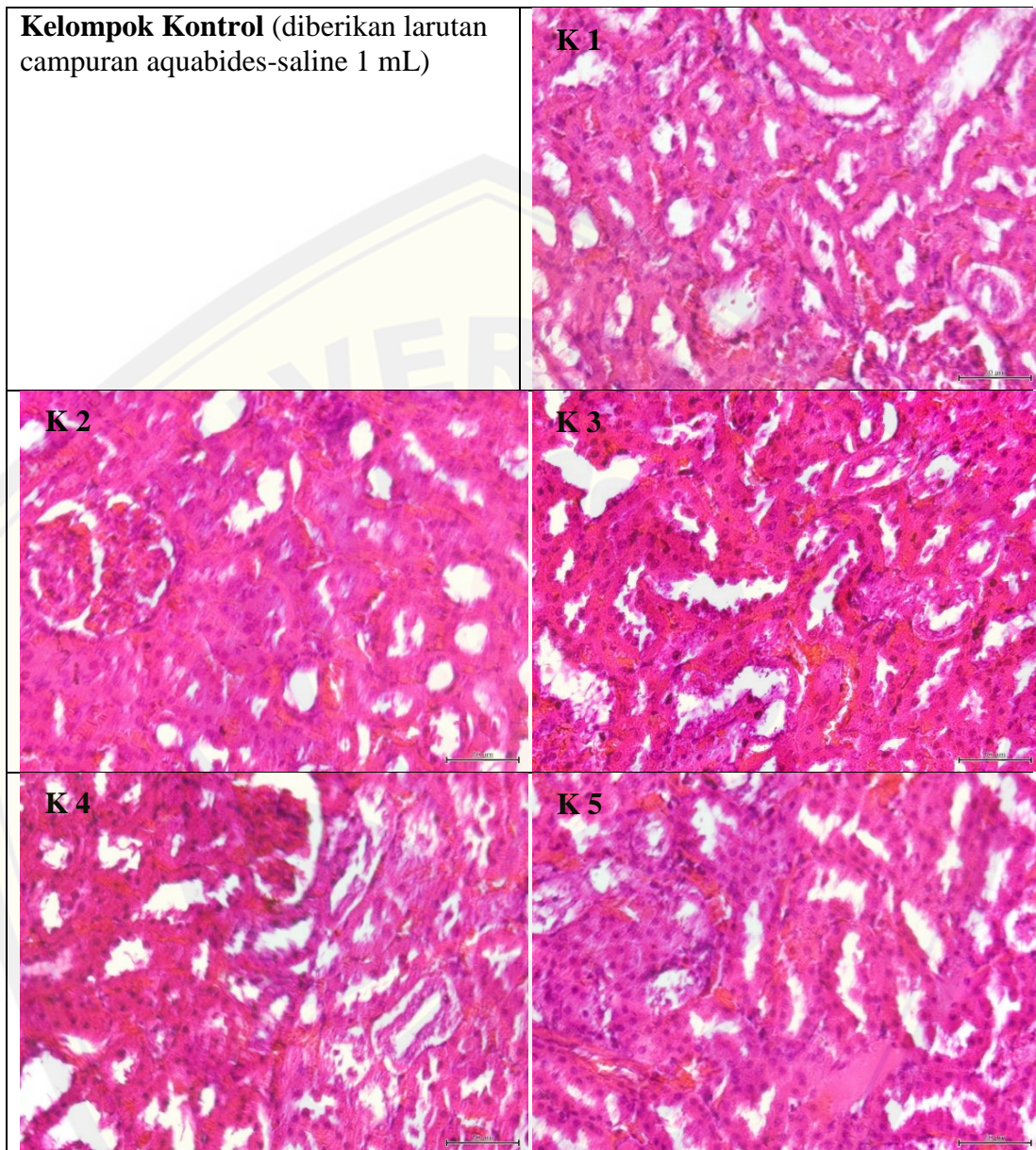
1. Backer CA & Bakhuizen van den Brink RC. 1963. Flora of Java Vol. I. NVP No ordhoff, Groningen, The Netherlands. Hal. 529
2. E.W.M.Verheij dan R.E. Coronel, tahun 1992 editor PROSEA ( Plants Resources of South-East Asia ) No 2; Hal 298
3. Cronquist A. 1981. An Integrated System of Classification of Flowering Plants. Columbia University Press, New York, USA. Hal. XV

Demikian surat keterangan ini dibuat untuk dapat dipergunakan sebagaimana mestinya.

Purwodadi, 26 Juli 2017  
An. Kepala  
Plh Kepala Seksi Eksplorasi dan Koleksi Tumbuhan

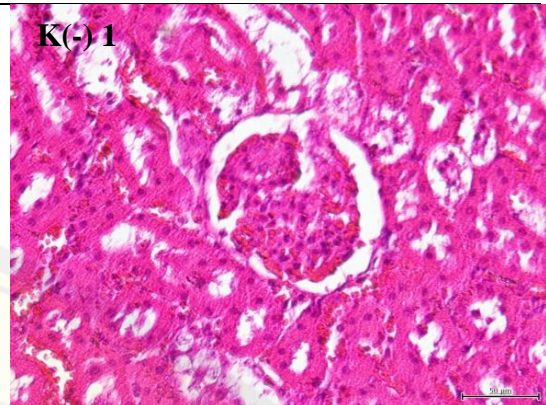
  
Bambang Watojo Sedjati SP.

## Lampiran L. Foto Preparat Sampel Penelitian

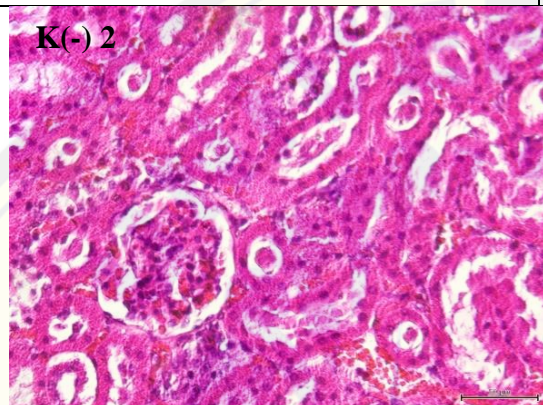


**Kelompok Kontrol Negatif** (diberikan larutan  $AlCl_3$  dosis 300 mg/kgBB)

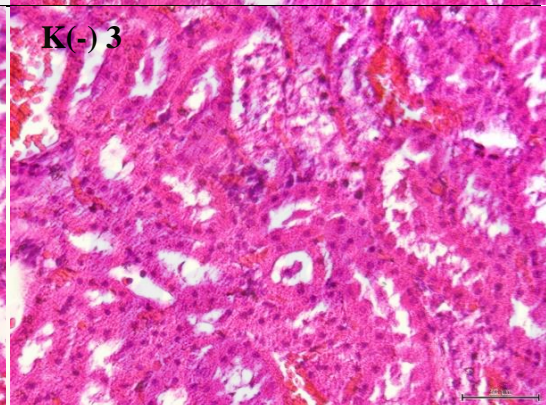
**K(-) 1**



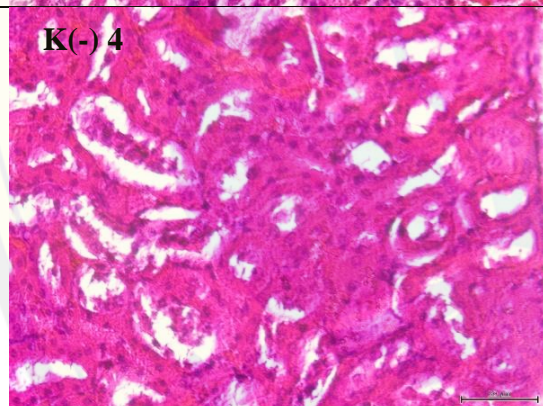
**K(-) 2**



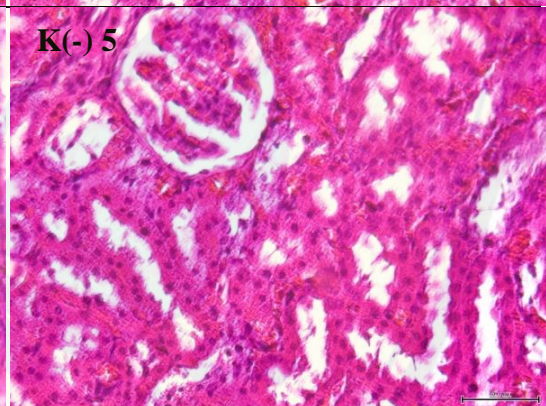
**K(-) 3**



**K(-) 4**

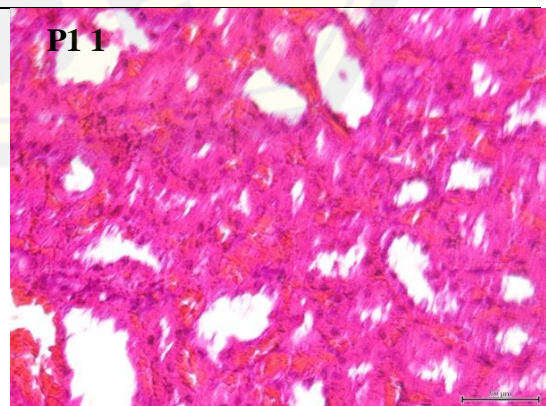


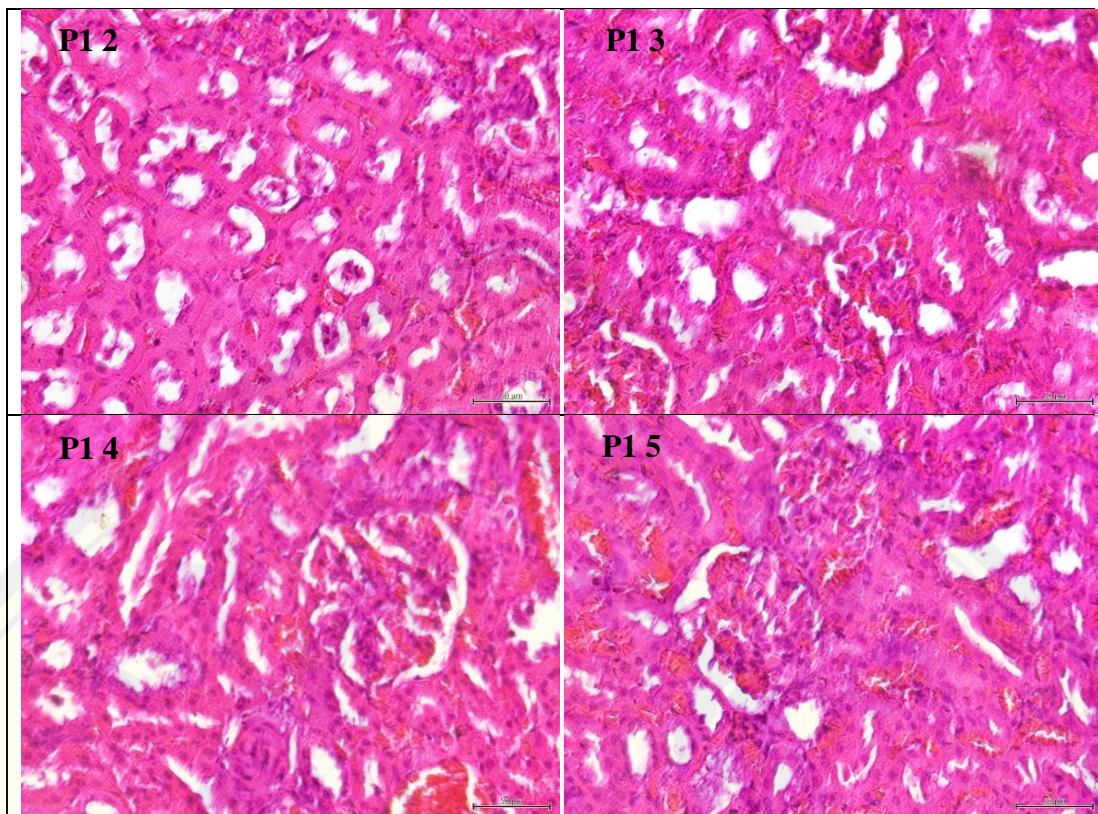
**K(-) 5**



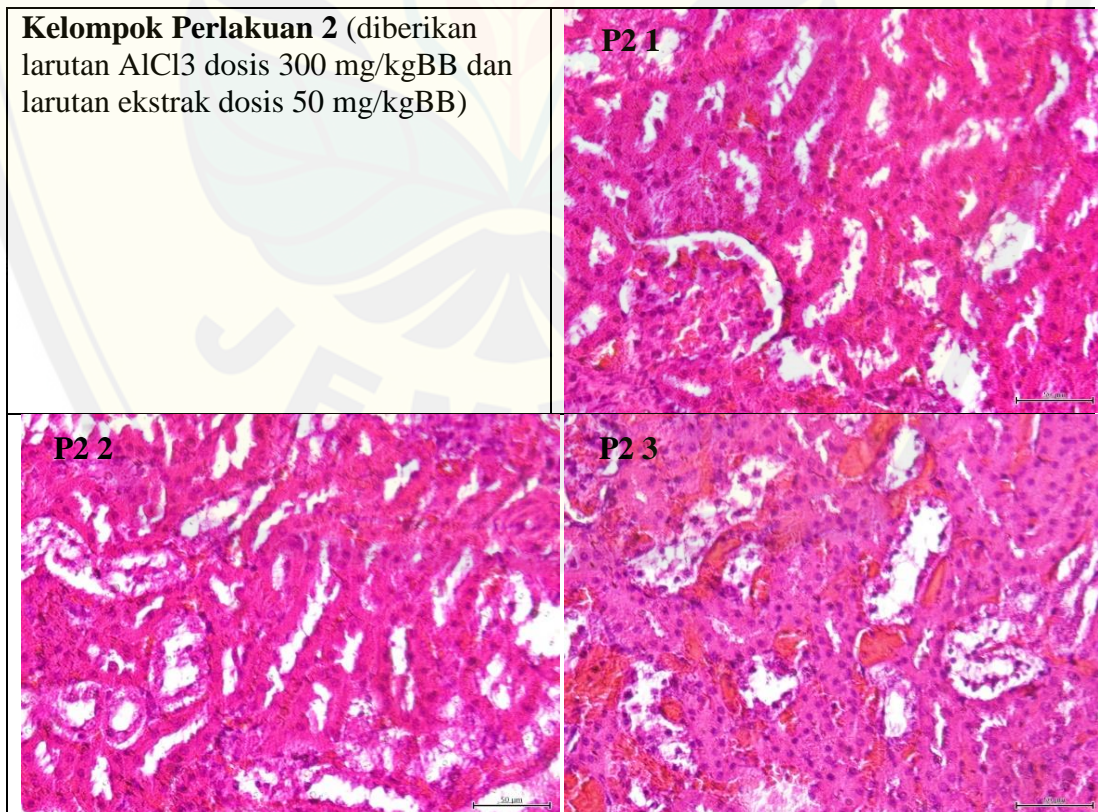
**Kelompok Perlakuan 1** (diberikan larutan  $AlCl_3$  dosis 300 mg/kgBB dan larutan ekstrak dosis 25 mg/kgBB)

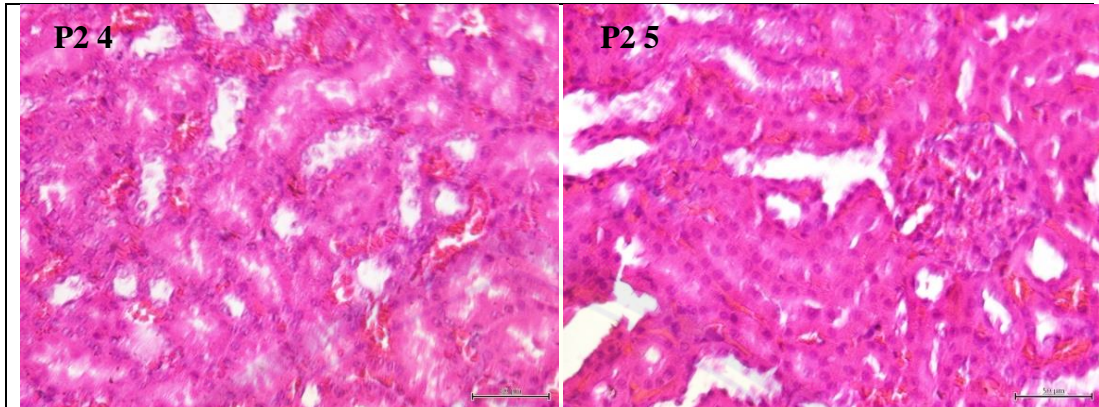
**P1 1**





**Kelompok Perlakuan 2** (diberikan larutan  $AlCl_3$  dosis 300 mg/kgBB dan larutan ekstrak dosis 50 mg/kgBB)





**Kelompok Perlakuan 3** (diberikan larutan AlCl<sub>3</sub> dosis 300 mg/kgBB dan larutan ekstrak 100 mg/kgBB)

