



**PENGARUH EKSTRAK ETANOL KULIT BAWANG MERAH
TERHADAP GAMBARAN HISTOPATOLOGI GINJAL
TIKUS *WISTAR* JANTAN YANG DIINDUKSI
ASAM MEFENAMAT**

SKRIPSI

Oleh

**Titis Putri Wulandari
NIM 162010101050**

**FAKULTAS KEDOKTERAN
UNIVERSITAS JEMBER
2019**



**PENGARUH EKSTRAK ETANOL KULIT BAWANG MERAH
TERHADAP GAMBARAN HISTOPATOLOGI GINJAL
TIKUS *WISTAR* JANTAN YANG DIINDUKSI
ASAM MEFENAMAT**

SKRIPSI

Diajukan guna melengkapi tugas akhir dan memenuhi salah satu syarat untuk menyelesaikan Pendidikan Dokter (S1) dan mencapai gelar Sarjana Kedokteran

Oleh

**Titis Putri Wulandari
NIM 162010101050**

**FAKULTAS KEDOKTERAN
UNIVERSITAS JEMBER
2019**

PERSEMBAHAN

Skripsi ini saya persembahkan untuk:

1. Allah SWT., dengan segala rahmat karunia dan ridho-Nya saya dapat menyelesaikan skripsi ini dengan lancar dan tepat waktu serta junjungan hidup saya Rasulullah SAW. yang menjadi panutan hidup saya dalam berperilaku setiap harinya;
2. Ibu tercinta Nasiah, Ayah tersayang Muhammad Wasyik, dan Kakak Indra Pradana serta seluruh keluarga besar saya karena telah mendukung dan mendoakan saya dalam penyelesaian skripsi ini;
3. Guru-guru saya sejak taman kanak-kanak sampai perguruan tinggi;
4. Almamater Fakultas Kedokteran Universitas Jember karena telah mendidik dan memberikan ilmu yang tak terhitung kepada saya dalam penyelesaian skripsi ini.

MOTTO

“Success is not final; failure is not fatal: it is the courage to continue that counts.”

— Winston S. Churchill



PERNYATAAN

Saya yang bertanda tangan di bawah ini:

Nama : Titis Putri Wulandari

NIM : 162010101050

Menyatakan dengan sesungguhnya bahwa karya ilmiah yang berjudul “Pengaruh Ekstrak Etanol Kulit Bawang Merah terhadap Gambaran Histopatologi Ginjal Tikus Jantan Galur *Wistar* Jantan yang Diinduksi Asam Mefenamat” adalah benar-benar hasil karya sendiri, kecuali kutipan yang sudah saya sebutkan sumbernya, belum pernah diajukan pada institusi mana pun, dan bukan karya jiplakan. Saya bertanggung jawab atas keabsahan dan kebenaran isinya sesuai dengan sikap ilmiah yang harus dijunjung tinggi.

Demikian pernyataan ini saya buat dengan sebenarnya, tanpa ada tekanan dan paksaan dari pihak mana pun serta bersedia mendapat sanksi akademik jika ternyata dikemudian hari pernyataan ini tidak benar.

Jember, 20 Februari 2020
yang menyatakan,

Titis Putri Wulandari
NIM 162010101050

SKRIPSI

**PENGARUH EKSTRAK ETANOL KULIT BAWANG MERAH
TERHADAP GAMBARAN HISTOPATOLOGI GINJAL
TIKUS *WISTAR* JANTAN YANG DIINDUKSI
ASAM MEFENAMAT**

Oleh

Titis Putri Wulandari
NIM 162010101050

Pembimbing

Dosen Pembimbing Utama	: Dr. dr. Dina Helianti, M.Kes.
Dosen Pembimbing Anggota	: dr. Rena Normasari, M. Biomed.

PENGESAHAN

Skripsi berjudul “Pengaruh Ekstrak Etanol Kulit Bawang Merah terhadap Gambaran Histopatologi Ginjal Tikus *Wistar* Jantan yang Diinduksi Asam Mefenamat” karya Titis Putri Wulandari telah diuji dan disahkan pada:

hari, tanggal :

tempat : Fakultas Kedokteran Universitas Jember

Tim Penguji:

Ketua,

Anggota I

dr. Cicih Komariah, Sp. M
NIP. 197409282005012001

dr. Ida Srisurani Wiji Astuti, M. Kes
NIP. 198209012008122001

Anggota II

Anggota III

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

dr. Rena Normasari, M. Biomed
NIP. 198305122008122002

Mengesahkan
Dekan,

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

NIP 197304241999031002

RINGKASAN

PENGARUH EKSTRAK ETANOL KULIT BAWANG MERAH TERHADAP GAMBARAN HISTOPATOLOGI GINJAL TIKUS *WISTAR* JANTAN YANG DIINDUKSI ASAM MEFENAMAT; Titis Putri Wulandari; 162010101050; 53 halaman; Fakultas Kedokteran Universitas Jember

Non Steroid Anti Inflammation Drugs atau obat Antiinflamasi Nonsteroid (AINS) merupakan salah satu obat yang sering digunakan dalam mengatasi nyeri. Lebih dari 70 juta obat AINS di resepkan setiap tahunnya dan jika ditambahkan dengan obat AINS yang dibeli secara bebas, total 30 miliar obat AINS dikonsumsi pertahun di Amerika Serikat (Wiegand, 2015). Food and Drugs Association (FDA) menyebutkan dosis aman untuk konsumsi asam mefenamat adalah tidak lebih dari 2000 mg/hari bagi orang dewasa dan anak diatas 14 tahun. Kurangnya pengetahuan masyarakat tentang penggunaan obat yang benar dapat berakibat pada efek samping yang ditimbulkan. Pemberian asam mefenamat dalam dosis berlebih dapat menyebabkan gangguan pada beberapa organ, salah satunya ginjal.

Asam mefenamat bekerja dengan cara menghambat enzim cyclooxygenase-1 dan 2 (COX-1 dan COX-2) sehingga dapat menurunkan produksi prostaglandin (PGE2) dan prostasiklin (PGI2). Fungsi utama prostaglandin pada ginjal adalah sebagai agen vasodilator. Sedangkan prostasiklin juga memiliki efek menstimulasi pengeluaran natrium pada ginjal. Ketika sintesis keduanya dihambat oleh pemberian asam mefenamat maka tidak hanya menyebabkan vasokonstriksi ginjal, namun juga terjadi penurunan ekskresi natrium pada ginjal (Landefeld et al., 2016).

Bawang merah (*Allium cepa var ascalonicum*) merupakan jenis tanaman umbi-umbian yang digunakan sebagai makanan serta memiliki beberapa nutrisi yang dapat digunakan untuk menyembuhkan serta mencegah beberapa penyakit. Bawang merah saat ini menjadi tanaman obat dan produk hortikultura terbesar kedua setelah tomat (Arshad et al., 2017). Skerget (2009) telah melaporkan bahwa jumlah senyawa fenolik dan kuersetin yang terdapat dalam kulit lebih tinggi 3-5 kali dari umbinya. Flavonoid sebagai anti-inflamasi bekerja dengan meningkatkan produksi prostaglandin dan mediator proinflamasi. Aktivitas flavonoid yang telah disebutkan sebelumnya diharapkan dapat menurunkan jumlah infiltrasi sel radang pada ginjal. Flavonoid dari ekstrak *Rubus* yang diberikan secara oral pada tikus *wistar* jantan terbukti berefek pada aktivitas diuretik dan natriuretik serta membantu produksi prostaglandin (de Souza et al., 2017).

Tujuan dari penelitian ini adalah mengetahui pengaruh pemberian ekstrak etanol kulit bawang merah terhadap gambaran histopatologi ginjal tikus *wistar* jantan yang diinduksi asam mefenamat. Jenis penelitian ini adalah *true experimental*. Variabel pada penelitian ini adalah dosis ekstrak etanol kulit bawang merah dan skoring histopatologi ginjal tikus. Data yang diperoleh diolah

secara statistik menggunakan uji *Kruskal Wallis* dan dilanjutkan dengan uji *Mann Whitney* pada SPSS 26.

Hasil uji statistik *Kruskal Wallis* terdapat perbedaan bermakna diantara kelompok penelitian dengan $p < 0,05$ (0,000). Selanjutnya untuk mengetahui kelompok mana yang memiliki perbedaan dilakukan uji *Mann Whitney*, hasil uji menunjukkan adanya perbedaan bermakna pada kelompok kontrol (K0) dan kelompok kontrol positif (K1) dengan signifikansi $p < 0,05$ (0,000) yang berarti terjadi kerusakan pada ginjal utamanya sel tubulus pada kelompok kontrol positif setelah pemberian asam mefenamat dosis 100 mg/kgBB/hari secara intraperitoneal selama satu minggu. Kemudian perbandingan antara kelompok kontrol positif (K1) dengan kelompok perlakuan (P) menunjukkan perbedaan yang bermakna pula dengan signifikansi $p < 0,05$ (0,000) yang berarti proses penyembuhan yang dibantu dengan pemberian ekstrak kulit bawang merah 600 mg/kgBB terbukti lebih efektif dibandingkan dengan kelompok yang dibiarkan mengalami penyembuhan secara fisiologis. Namun pada kelompok kontrol (K0) dan kelompok perlakuan (P) menunjukkan perbedaan yang bermakna dengan signifikansi $p < 0,05$ (0,000) sehingga dapat dikatakan bahwa dosis ekstrak kulit bawang merah 600 mg/kgBB memperlihatkan efek percepatan proses penyembuhan jaringan ginjal yang mengalami peradangan namun masih belum mendekati normal.

PRAKATA

Puji syukur ke hadirat Allah Subahanahu wa Ta'ala karena atas limpahan rahmat dan karunia-Nya, penulis dapat menyelesaikan skripsi yang berjudul “Pengaruh Ekstrak Etanol Kulit Bawang Merah terhadap Gambaran Histopatologi Ginjal Tikus Putih Jantan Galur *Wistar* Jantan yang Diinduksi Asam Mefenamat”. Skripsi ini disusun guna memenuhi salah satu syarat menyelesaikan pendidikan strata satu (S1) pada Jurusan Pendidikan Dokter Fakultas Kedokteran Universitas Jember.

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

1. Kedua orang tua saya Ayah Muhammad Wasyik dan Ibu Nasiah beserta kakak saya Indra Pradana yang telah memberikan doa dan dukungan sehingga skripsi ini dapat terselesaikan dengan baik;
2. dr. Supangat, M.Kes., Ph.D., Sp.BA. selaku Dekan Fakultas Kedokteran Universitas Jember atas kesempatan dan fasilitas yang diberikan selama menempuh studi Pendidikan Dokter di Fakultas Kedokteran Universitas Jember;
3. Dr. dr. Hairrudin, M.Kes. selaku dosen pembimbing akademik yang senantiasa memberikan arahan dan nasehat kepada saya selama menjadi mahasiswa;
4. Dr. dr. Dina Helianti, M.Kes. selaku dosen pembimbing utama dan dr. Rena Normasari, M.Biomed. selaku dosen pembimbing anggota yang telah meluangkan waktu dan pikiran untuk membimbing saya selama penulisan skripsi ini;
5. dr. Cicih Komariah, Sp.M selaku dosen penguji I dan dr. Ida Srisurani Wiji Astuti, M.Kes selaku dosen penguji II yang telah memberikan saran dan masukan sehingga naskah skripsi ini dapat terselesaikan dengan baik;
6. Guru-guru saya di jenjang SD, SMP, dan SMA, serta dosen-dosen di Fakultas Kedokteran Universitas Jember yang telah memberikan ilmu terbaiknya selama ini;

7. Sahabat saya Astuti Setyawardani dan Awalya Rahma Putri yang selalu membantu dalam keadaan apapun;
8. Sahabat saya semenjak SMA Intan Maya Ade Pratita dan Dewi Agustiningsih yang selalu memberi semangat dan dukungan dari jarak jauh;
9. Sahabat saya selama preklinik Astuti Setyawardani, Erdiansyah Adhami dan Muhammad Fikri yang selalu menemani dan menghibur;
10. Kelompok penelitian bawang merah Awalya, Prasadha, Bagas, dan Rafi yang selalu memberikan dukungan dan bantuan selama penelitian;
11. Rekan-rekan sejawat Ligamen, mahasiswa Fakultas Kedokteran Universitas Jember angkatan 2016;
12. Semua pihak yang tidak dapat penulis sebutkan satu persatu.

Penulis menyadari bahwa skripsi ini jauh dari sempurna. Oleh karena itu penulis menerima segala kritik dan saran dari semua pihak demi kesempurnaan skripsi ini. Akhirnya penulis berharap skripsi ini dapat bermanfaat bagi banyak kalangan.

Jember, Februari 2020

Penulis

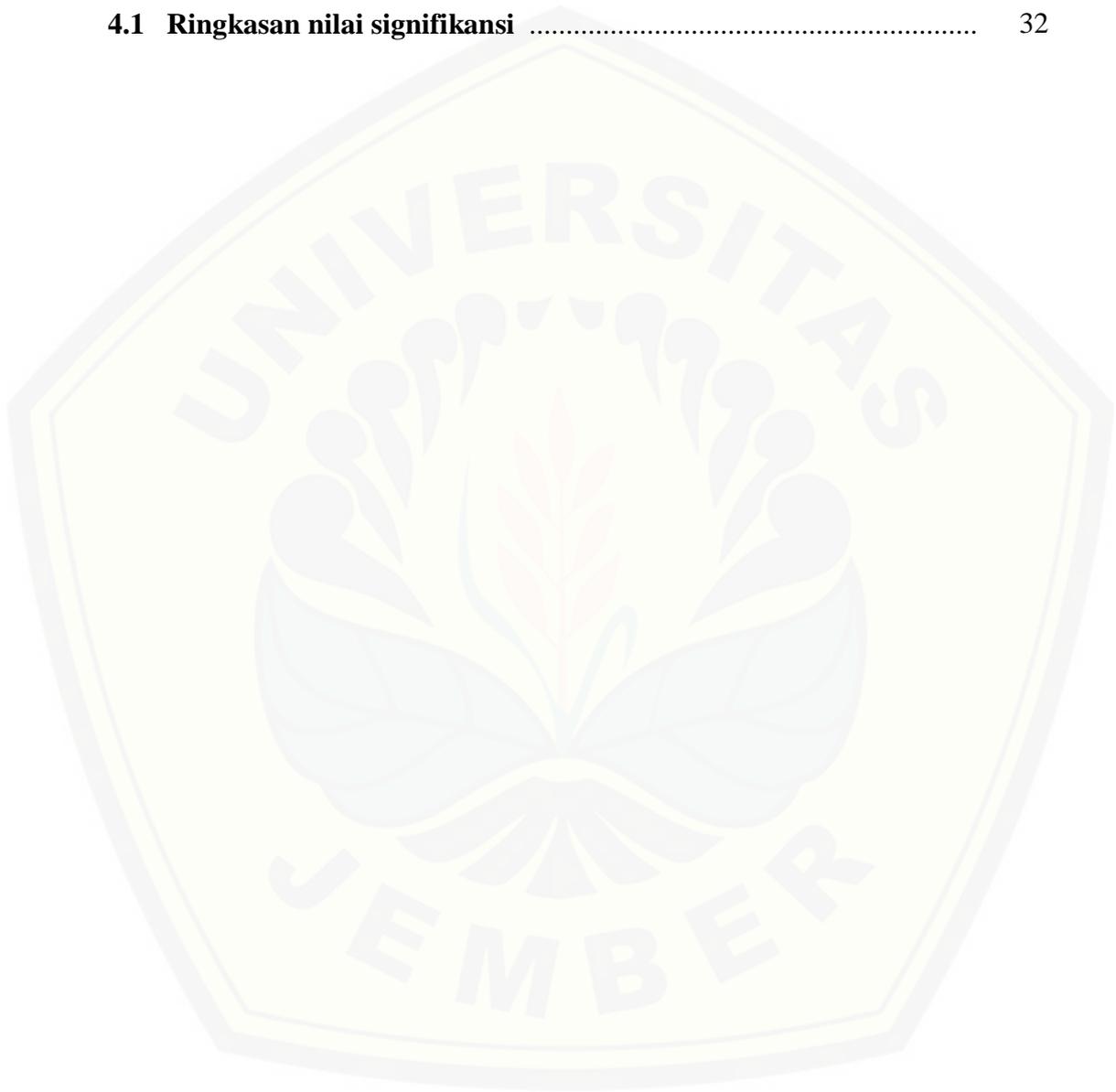
DAFTAR ISI

	Halaman
HALAMAN JUDUL	i
HALAMAN PERSEMBAHAN	ii
HALAMAN MOTTO	iii
HALAMAN PERNYATAAN	iv
HALAMAN PEMBIMBINGAN	v
HALAMAN PENGESAHAN	vi
RINGKASAN	vii
HALAMAN PRAKATA	ix
DAFTAR ISI	xi
DAFTAR TABEL	xiii
DAFTAR GAMBAR	xiv
DAFTAR LAMPIRAN	xv
BAB 1. PENDAHULUAN	2
1.1 Latar Belakang	2
1.2 Rumusan Masalah	3
1.3 Tujuan Penelitian	3
1.4 Manfaat Penelitian	3
BAB 2. TINJAUAN PUSTAKA	4
2.1 Bawang Merah	4
2.1.1 Efek Farmakologi Kulit Bawang Merah	4
2.1.2 Deskripsi Bawang Merah.....	5
2.2 Ginjal	7
2.2.1 Anatomi Ginjal.....	7
2.2.2 Histologi Ginjal.....	9
2.2.3 Fisiologi Ginjal.....	14
2.3 Asam Mefenamat	15
2.3.1 Farmakokinetik dan Farmakodinamik	15
2.3.2 Efek Asam Mefenamat terhadap Ginjal	15
2.4 Kerangka Konseptual	17

2.5	Hipotesis Penelitian.....	18
BAB 3.	METODE PENELITIAN	19
3.1	Jenis Penelitian	19
3.2	Rancangan Penelitian	20
3.3	Tempat dan Waktu Penelitian	22
3.4	Populasi dan Sampel Penelitian	21
3.5	Jenis dan Sumber Data	22
3.6	Variabel Penelitian	22
3.7	Definisi Operasional	22
3.8	Instrumen Penelitian	23
3.9	Prosedur Penelitian	24
3.9.1	Uji Kelayakan Etik	24
3.9.2	Ekstrak Kulit Bawang Merah	24
3.9.3	Perlakuan Hewan Coba	25
3.9.4	Pengambilan Jaringan dan Pembuatan Sediaan Histopatologi.....	25
3.10	Analisis Data	26
3.11	Alur Penelitian	27
BAB 4.	HASIL DAN PEMBAHASAN	28
4.1	Hasil Pengamatan Mikroskopik Ginjal Tikus.....	28
4.2	Analisis Statistik.....	32
4.3	Pengaruh Pemberian Ekstrak Eanol Kulit Bawang Merah terhadap Histopatologi Ginjal Tikus	33
BAB 5.	PENUTUP	35
4.1	Kesimpulan	35
4.2	Saran	35
	DAFTAR PUSTAKA	36
	LAMPIRAN	39

DAFTAR TABEL

	Halaman
3.1 Sistem skoring histopatologi ginjal.....	22
3.2 Instrumen penelitian	23
4.1 Ringkasan nilai signifikansi	32

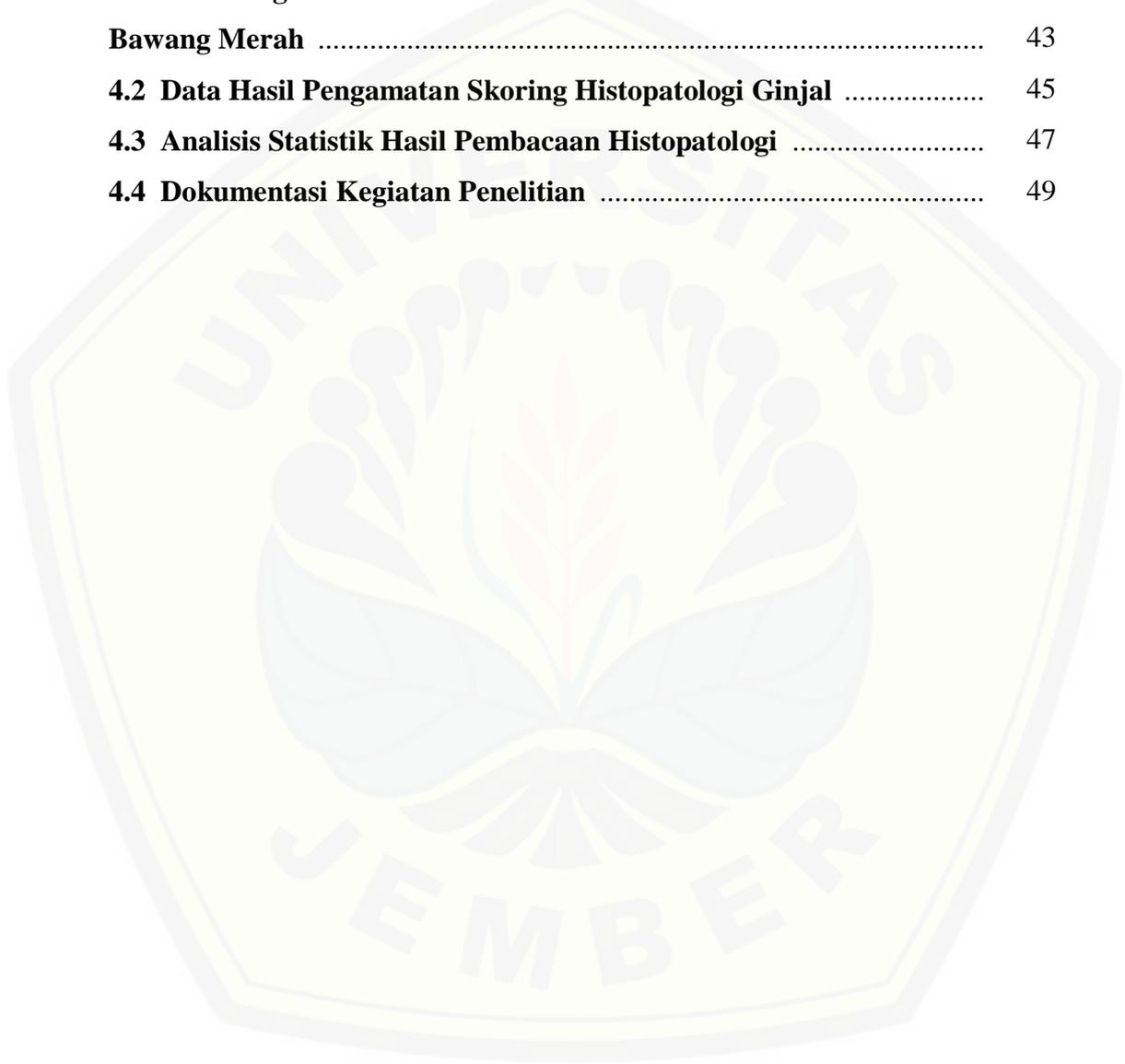


DAFTAR GAMBAR

	Halaman
2.1 Struktur bawang merah	6
2.2 Ginjal potongan longitudinal	7
2.3 Vaskularisasi ginjal	8
2.4 Histologi ginjal bagian korpus renalis	9
2.5 Sel mesangium	10
2.6 Tubulus kontortus proksimal	11
2.7 Tubulus kontortus distal	12
2.8 Aparatus jukstaglomerular	13
2.9 Kerusakan ginjal	14
2.10 Struktur kimia asam mefenamat	15
2.11 Kerangka konsep	17
3.1 Rancangan penelitian	19
3.2 Skema alur penelitian	27
4.1 Gambar mikroskopik ginjal K0 (100x)	29
4.2 Gambar mikroskopik ginjal K0 (400x)	29
4.3 Gambar mikroskopik ginjal K1 (100x)	30
4.4 Gambar mikroskopik ginjal K1 (400x)	30
4.5 Gambar mikroskopik ginjal P (100x)	31
4.6 Gambar mikroskopik ginjal P (400x)	31

DAFTAR LAMPIRAN

	Halaman
3.1 Prosedur Pembedahan Hewan Uji	39
3.2 Metode Baku Histologis Pemeriksaan Jaringan	41
4.1 Perhitungan Dosis Asam Mefenamat dan Ekstrak Etanol Kulit Bawang Merah	43
4.2 Data Hasil Pengamatan Skoring Histopatologi Ginjal	45
4.3 Analisis Statistik Hasil Pembacaan Histopatologi	47
4.4 Dokumentasi Kegiatan Penelitian	49



BAB 1. PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

Non Steroid Anti Inflammation Drugs atau obat Antiinflamasi Nonsteroid (AINS) merupakan salah satu obat yang sering digunakan dalam mengatasi nyeri. Lebih dari 70 juta obat AINS di resepkan setiap tahunnya dan jika ditambahkan dengan obat AINS yang dibeli secara bebas, total 30 miliar obat AINS dikonsumsi pertahun di Amerika Serikat (Wiegand, 2015). Data penggunaan obat AINS di Indonesia berdasarkan Riskesdas 2013, provinsi tertinggi dalam penggunaan obat AINS adalah Jawa Timur sebesar 92%. Salah satu jenis AINS yang sangat dikenal masyarakat adalah asam mefenamat. Hasil analisis menunjukkan sebagian besar obat antiinflamasi digunakan untuk mengatasi keluhan nyeri, pegal dan rematik.

Food and Drugs Association (FDA) menyebutkan dosis aman untuk konsumsi asam mefenamat adalah tidak lebih dari 2000 mg/hari bagi orang dewasa dan anak diatas 14 tahun. Kurangnya pengetahuan masyarakat tentang penggunaan obat yang benar dapat berakibat pada efek samping yang ditimbulkan. Pemberian asam mefenamat dalam dosis berlebih dapat menyebabkan gangguan pada beberapa organ, salah satunya ginjal. Wilson (2017) melaporkan terjadi peningkatan kejadian gangguan penyakit pada ginjal, salah satunya adalah gagal ginjal akut sebesar 5,6% yang disebabkan oleh penggunaan obat AINS yang berlebihan di Australia.

Asam mefenamat bekerja dengan cara menghambat enzim *cyclooxygenase-1* dan 2 (COX-1 dan COX-2) sehingga dapat menurunkan produksi prostaglandin (PGE2) dan prostasiklin (PGI2). Fungsi utama prostaglandin pada ginjal adalah sebagai agen vasodilator. Sedangkan prostasiklin juga memiliki efek menstimulasi pengeluaran natrium pada ginjal. Ketika sintesis keduanya dihambat oleh pemberian asam mefenamat maka tidak hanya menyebabkan vasokonstriksi ginjal, namun juga terjadi penurunan ekskresi natrium pada ginjal (Landefeld *et al.*, 2016). Kelainan ginjal lainnya yang dapat terjadi akibat ketidakseimbangan hemodinamik tersebut antara lain peradangan

pada tubulus (tubulitis), nefritis interstitial akut dan degenerasi tubulus (Somchit *et al.*, 2014).

Bawang merah (*Allium cepa var ascalonicum*) merupakan jenis tanaman umbi-umbian yang digunakan sebagai makanan serta memiliki beberapa nutrisi yang dapat digunakan untuk menyembuhkan serta mencegah beberapa penyakit. Bawang merah saat ini menjadi tanaman obat dan produk hortikultura terbesar kedua setelah tomat (Arshad *et al.*, 2017). Namun demikian, penggunaan bawang merah selama ini hanya sebatas pada bagian umbinya dan tidak mengikutsertakan bagian kulit. Akibatnya, kulit bawang merah seringkali dibuang dan berakhir sebagai limbah.

Berdasarkan penelitian sebelumnya, telah dilaporkan bahwa kulit bawang merah mengandung senyawa flavonoid golongan flavonol (Rahayu *et al.*, 2015). Jenis flavonoid yang paling banyak terdapat dalam bawang merah adalah kuersetin bentuk bebas dan terikat dengan glikosida. Skerget (2009) telah melaporkan bahwa jumlah senyawa fenolik dan kuersetin yang terdapat dalam kulit lebih tinggi 3-5 kali dari umbinya. Flavonoid sebagai anti-inflamasi bekerja dengan meningkatkan produksi prostaglandin dan mediator proinflamasi. Aktivitas flavonoid yang telah disebutkan sebelumnya diharapkan dapat menurunkan jumlah infiltrasi sel radang pada ginjal. Flavonoid dari ekstrak *Rubus* yang diberikan secara oral pada tikus *wistar* jantan terbukti berefek pada aktivitas diuretik dan natriuretik serta membantu produksi prostaglandin (de Souza *et al.*, 2017). Dalimunthe (2018) melaporkan ekstrak etanol kulit bawang merah memiliki efek hepatoprotektor dengan menurunkan luas perdarahan dan degenerasi hidropik pada jaringan parenkim hati. Berdasarkan uraian diatas peneliti ingin membuktikan bahwa ekstrak etanol kulit bawang merah dapat memperbaiki kondisi kerusakan pada ginjal yang dilihat melalui gambaran histopatologi ginjal tikus putih jantan galur *wistar* yang diinduksi asam mefenamat.

1.2 Rumusan Masalah

Rumusan masalah dalam penelitian ini yaitu bagaimana efek ekstrak etanol kulit bawang merah terhadap perbaikan gambaran histopatologi ginjal tikus *wistar* jantan setelah diinduksi asam mefenamat?

1.3 Tujuan Penelitian

Tujuan dalam penelitian ini yaitu menguji efek ekstrak etanol kulit bawang merah terhadap perbaikan gambaran histopatologi ginjal tikus *wistar* jantan setelah diinduksi asam mefenamat.

1.4 Manfaat Penelitian

Manfaat penelitian ini yaitu sebagai berikut:

- a. Bagi peneliti, meningkatkan kemampuan dalam penulisan karya ilmiah dan membuktikan adanya pengaruh ekstrak etanol kulit bawang merah terhadap gambaran histopatologi ginjal tikus *wistar* yang diinduksi asam mefenamat.
- b. Bagi masyarakat, sebagai tambahan pengetahuan mengenai efek yang terdapat dalam kulit bawang merah khususnya terhadap ginjal.
- c. Bagi peneliti selanjutnya, menambah referensi untuk pengembangan penelitian lebih lanjut tentang penentuan dosis efektif ekstrak etanol kulit bawang merah terhadap ginjal.

BAB 2. TINJAUAN PUSTAKA

2.1 Bawang Merah

2.1.1 Efek Farmakologi Kulit Bawang Merah

Bawang merah (*Allium cepa var ascalonicum*) merupakan salah satu komoditi hortikultura yang termasuk dalam jenis sayuran rempah yang digunakan sebagai makanan serta memiliki beberapa nutrisi yang dapat digunakan untuk menyembuhkan serta mencegah beberapa penyakit. Salah satu bagian dari bawang merah yang memiliki manfaat sebagai obat adalah bagian kulitnya. Kulit bawang merah mengandung senyawa flavonoid golongan flavonol. Flavonoid adalah kelompok dengan berat molekul rendah berbasis inti 2-fenil-kromon yang merupakan biosintesis dari turunan asam asetat / fenilalanin dengan menggunakan jalur asam shikimat. Peran flavonoid dalam bidang kesehatan adalah sebagai anti bakteri, anti oksidan, anti inflamasi, dan anti diabetes (Panche *et al.*, 2016). Hingga tahun 2011 ditemukan lebih dari 9000 flavonoid telah digunakan untuk suplemen kesehatan (Wang *et al.*, 2016). Flavonoid dibagi menjadi beberapa subkelompok berdasarkan substitusi karbon pada gugus sentral (C). Subkelompok tersebut adalah: flavon, flavonols, flavanone, flavanol/katekin, antosianin dan kalkon (Panche *et al.*, 2016).

Flavonol merupakan flavonoid dengan gugus keton. Flavonol umumnya terdapat dalam bentuk glikosida dalam bentuk umum seperti kaemferol, kuersetin dan mirisetin. Kadar flavonoid yang tinggi dalam kulit bawang merah berperan sebagai antioksidan, anti-inflmasi, peningkatan imun, dan antikanker. Flavonoid memiliki efek anti-inflamasi pada kaki tikus yang diinduksi karagenan (Ghosh *et al.*, 2019). Pada penelitian oleh Elberry *et al.* (2014), ekstrak methanol kulit bawang merah terbukti memperbaiki kondisi hiperplasia pada tikus *wistar* model APH (*atypical prostatic hyperplasia*).

Berdasarkan penelitian sebelumnya yang dilakukan oleh Rahayu (2015), hasil uji skrining fitokimia ekstrak kulit bawang merah fraksi air menunjukkan terdapat kandungan penting lainnya seperti polifenol, saponin, terpenoid, dan

alkaloid. Jenis flavonoid yang paling banyak terdapat dalam bawang merah adalah kuersetin bentuk bebas dan terikat dengan glikosida. Skerget (2009) telah melaporkan bahwa jumlah senyawa fenolik dan kuersetin yang terdapat dalam kulit bawang merah lebih tinggi 3-5 kali dari umbinya. Mekanisme flavoid dapat mengatasi inflamasi adalah dengan menetralsir efek toksik dengan cara mendonorkan ion hydrogen sehingga ion-ion menjadi stabil. Keadaan ion yang stabil menyebabkan penurunan keadaan stress oksidatif dalam jaringan, yang selanjutnya berdampak pada pengurangan kerusakan sel, termasuk inflamasi yang sedang terjadi (Tandi *et al.*, 2017).

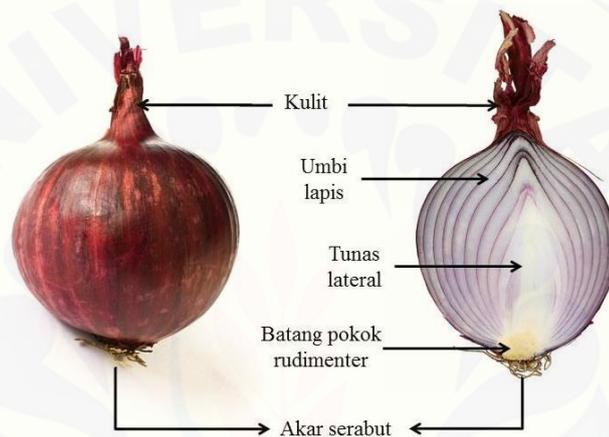
Flavonoid sebagai anti-inflamasi pada ginjal bekerja dengan meningkatkan produksi prostaglandin dan mediator proinflamasi. Flavonoid dari ekstrak *Rubus* yang diberikan secara oral pada tikus *wistar* jantan terbukti berefek pada aktivitas diuretik dan natriuretik serta membantu produksi prostaglandin (de Souza *et al.*, 2017). Aktivitas flavonoid yang telah disebutkan sebelumnya dapat menurunkan jumlah infiltrasi sel radang pada ginjal dengan mekanisme vasodilatasi dan perbaikan perfusi pada ginjal.

2.1.2 Deskripsi Bawang Merah

Tanaman bawang merah diduga berasal dari Asia Barat, yang kemudian berkembang ke Mesir dan Turki (Wibowo, 2009). Tanaman ini memiliki klasifikasi sebagai berikut (Tjitrosoepomo, 2010):

Kingdom : *Plantae*
Divisi : *Spermatophyta*
Subdivisi : *Angiospermae*
Kelas : *Monocotyledonae*
Ordo : *Liliales*
Famili : *Liliaceae*
Genus : *Allium*
Spesies : *Allium cepa var ascalanicum*

Morfologi bawang merah dibedakan menjadi beberapa bagian yaitu akar, batang, daun, bunga, buah, dan biji. Tanaman ini mampu tumbuh mencapai 15 – 50 centimeter, membentuk rumpun dan termasuk tanaman semusim. Akarnya berupa akar serabut yang pendek dan tertanam hanya sekitar 2 – 5 mm di dalam tanah, sehingga bawang merah tidak tahan terhadap kekeringan. Daun bawang merah berwarna hijau muda dan memiliki bentuk bulat kecil memanjang, serta berlubang seperti pipa. Bagian bawah daunnya melebar seperti kelopak dan membengkak sementara bagian ujungnya meruncing (Wibowo, 2009).



Gambar 2.1 Struktur bawang merah.

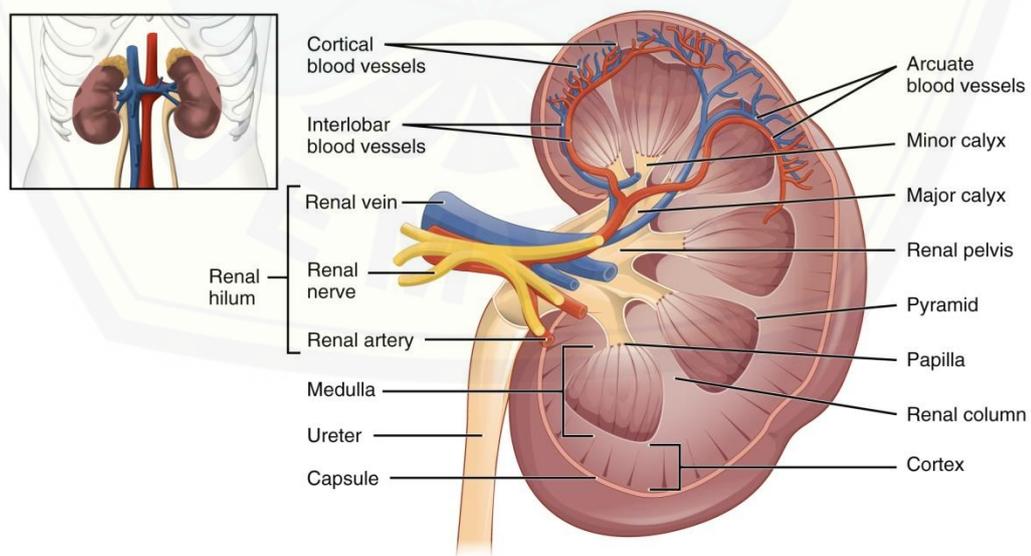
Kelopak yang menipis dan kering akan membungkus lapisan kelopak daun yang membengkak di dalamnya dan terlihat mengembung, membentuk umbi yang merupakan umbi lapis. Bagian ini berisi cadangan makanan untuk persediaan bagi tunas yang akan menjadi tanaman baru, sejak mulai bertunas hingga keluar akar. Warna kulit umbi bermacam-macam, ada yang merah muda, merah tua, atau kekuningan, tergantung pada spesiesnya. Pada pangkal umbi terdapat batang semu (*rudimenter*) yang berasal dari modifikasi daun bawang merah. Dari bagian ini akan tumbuh akar-akar serabut yang tidak terlalu panjang. Pada bagian bunga bawang merah terdiri atas angka bunga dan tandan bunga. Tiap kuntum bunga memiliki bunga berwarna putih dengan ukuran tangkai kurang dari 2 cm (Wibowo, 2009).

2.2 Ginjal

2.2.1 Anatomi Ginjal

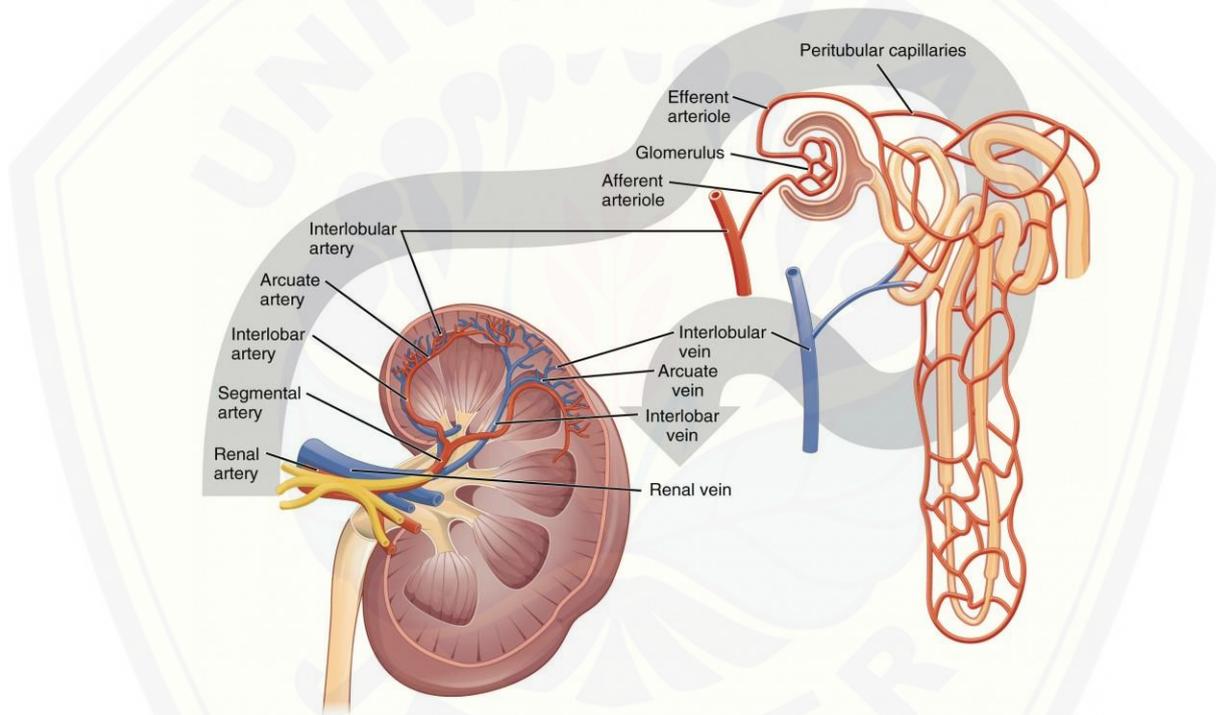
Ginjal merupakan organ berwarna coklat kemerahan berbentuk seperti kacang merah yang terletak pada dinding posterior abdomen, berjumlah dua buah dimana masing-masing terletak di kanan dan kiri *columna vertebralis*. Ginjal kanan terletak setinggi Vertebra Thorakal XII sampai Vertebra Lumbal II, sedangkan ginjal kiri letaknya setinggi Vertebra Thorakal XI sampai Vertebra Lumbal II. Panjang ginjal kira-kira 11 cm, lebar ginjal 6 cm, dan tebalnya 3 cm, dengan berat ginjal pada pria mencapai 125-170 gram, sedangkan pada wanita mencapai 115-155 gram (Moore & Anne, 2012).

Pada sisi medial setiap ginjal yang cekung terdapat celah vertikal yang disebut hilum yaitu tempat lewatnya arteri dan vena renalis, pembuluh limfatik, saraf dan ureter. Jika ginjal dibagi dengan potongan longitudinal, dua daerah utama yang dapat digambarkan yaitu korteks di bagian luar dan medulla di bagian dalam. Medula ginjal terbagi menjadi beberapa massa jaringan berbentuk kerucut yang disebut piramida ginjal (gambar 2.2). Dasar dari setiap piramida dimulai pada perbatasan antara korteks dan medulla serta diakhiri pada papilla, yang menonjol ke dalam ruangan pelvis ginjal (Richard *et al.*, 2014).



Gambar 2.2 Ginjal potongan longitudinal (Sumber: Richard *et al.*, 2014)

Vaskularisasi ginjal berasal dari arteri renalis yang merupakan cabang dari aorta abdominalis di distal arteri mesenterica superior. Arteri renalis masuk ke dalam hilum bersama dengan vena, ureter, pembuluh limfe, dan nervus kemudian bercabang menjadi arteri interlobaris (gambar 2.3). Memasuki struktur yang lebih kecil, arteri interlobaris ini berubah menjadi arteri arkuata, kemudian arteri interlobularis lalu akhirnya menjadi arteriola aferen yang menuju ke kapiler glomerulus. Ujung distal kapiler pada tiap glomerulus bergabung untuk membentuk arteriol eferen yang menuju jaringan kapiler selanjutnya yaitu kapiler peritubular yang mengelilingi tubulus ginjal (Richard *et al.*, 2014).



Gambar 2.3 Vaskularisasi ginjal (Sumber: Richard *et al.*, 2014)

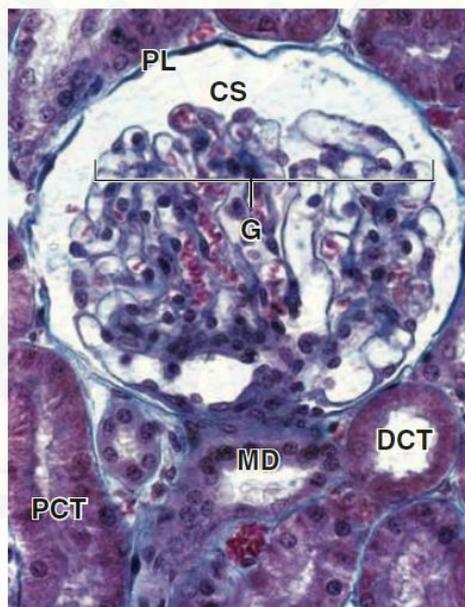
Kapiler peritubulus mengalir ke dalam pembuluh sistem vena, yang secara progresif membentuk vena interlobularis, vena arkuata, vena interlobaris, dan vena renalis yang kemudian keluar dari ginjal di samping arteri renalis dan ureter. Ginjal mendapatkan persarafan melalui pleksus renalis yang seratnya berjalan bersama dengan arteri renalis. Impuls sensorik dari ginjal berjalan menuju korda spinalis segmen T10-11 dan memberikan sinyal sesuai dengan level

dermatomnya. Oleh karena itu, dapat dikatakan bahwa nyeri di daerah pinggang (*flank*) bisa merupakan nyeri alih dari ginjal (Richard *et al.*, 2014).

Tiap ginjal manusia tersusun atas 800.000 sampai 1.000.000 nefron. Setiap nefron terdiri atas kumpulan kapiler yang disebut glomerulus dan tubulus. Glomerulus tersusun dari jejaring kapiler glomerulus yang bercabang. Kapiler glomerulus dilapisi oleh sel-sel epitel, dan keseluruhan glomerulus dibungkus oleh kapsula bowman.

2.2.2 Histologi Ginjal

Satuan fungsi ginjal terdiri atas nefron dan duktus koligentes yang menampung curahan nefron, seperti yang telah dijelaskan sebelumnya bahwa di bagian korteks setiap ginjal terdapat jutaan nefron. Setiap nefron terdiri dari bagian yang melebar yaitu korpuskel renalis, tubulus kontortus proksimal, segmen tipis dan tebal ansa henle, tubulus kontortus distal, dan duktus koligentes (Eroschenko, 2010). Gambaran histologi ginjal bagian korpus renalis dapat dilihat pada gambar 2.4



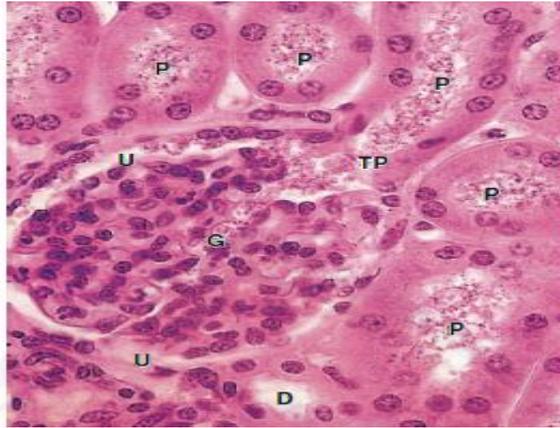
Gambar 2.4 Histologi ginjal bagian korpus renalis. G: glomerulus; CS: *capsular space*; PL: lapisan parietal; MD: makula densa; PCT: tubulus kontortus proksimal; DCT: tubulus kontortus distal. (Sumber: Mescher, 2016)

Korpuskel renalis terdiri atas berkas kapiler yakni glomerulus yang dikelilingi oleh kapsula bowman yang memiliki epitel berdingg ganda. Lapisan dalam kapsul ini di sebut juga lapisan visceral dan lapisan luar disebut lapisan parietal yang membentuk batas luar korpuskel renalis. Sel pada lapisan visceral membentuk tonjolan-tonjolan yang dikenal sebagai podosit. Komponen penting lainnya dari glomerulus yaitu mesangium (gambar 2.5), yang terdiri atas sel mesangial dan matriks mesangial. Sel mesangial memiliki aktivitas fagositik dan menyekresi mediator kimiawi seperti sitokin dan prostaglandin (Price dan Wilson, 2006). Sel mesangial juga memiliki sifat kontraktile serta memiliki reseptor untuk angiotensin II. Aktifnya reseptor ini akan menyebabkan aliran gromerulus menjadi berkurang (Mescher, 2016)



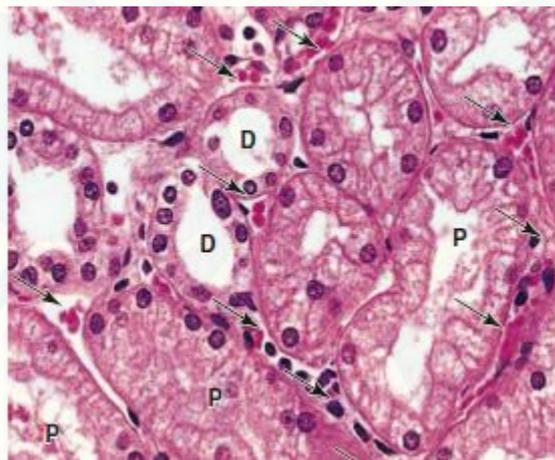
Gambar 2.5 Sel mesangium. MC: sel mesangium; MM: matriks mesangium; BM: membran basal; EC: sel endotel; E: eritrosit; L: limfosit; P: podosit; PD: pedikel; US: *urinary space*. (Sumber: Mescher, 2016)

Epitel gepeng di lapisan parietal kapsula bowman berhubungan langsung dengan epitel ubulus kontortus proksimal yang berbentuk kuboid atau silindris rendah. Filtrat glomerulus yang terbentuk di dalam korpuskel renalis kemudian akan masuk ke dalam tubulus kontortus proksimal sebagai tempat dimulainya proses absorpsi dan ekskresi. Selain itu tubulus kontortus proksimal juga mensekresikan kreatinin dan substansi asing bagi organisme dari plasma intersial ke dalam filtrat (Mescher, 2016).



Gambar 2.6 Tubulus kontortus proksimal. TP: *tubular pole*; P: tubulus kontortus proksimal; U: *urinary space*; G: glomerulus. (Sumber: Mescher, 2016).

Ansa henle merupakan sebuah struktur berbentuk U yang terdiri dari segmen tebal desenden, segmen tipis desenden, segmen tipis asenden dan segmen tebal asenden. Segmen tebal asenden ansa henle kemudian menembus korteks, segmen ini menjadi berkelak-kelok dan disebut tubulus kontortus distal. Sel-sel tubulus kontortus distal memiliki banyak invaginasi membran basal serta mitokondria (Mescher, 2016).

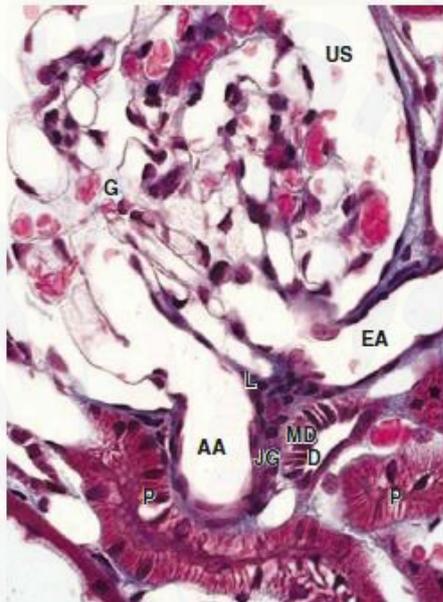


Gambar 2.7 Tubulus kontortus distal. P: tubulus kontortus proksimal; D: tubulus kontortus distal. (Sumber: Mescher, 2016).

Filtrat glomerulus yang berasal dari kontortus distal mengalir menuju ke tubulus koligentes. Sejumlah tubulus koligentes pendek bergabung membentuk beberapa duktus koligentes yang lebih besar. Bagian duktus koligentes yang turun

ke arah papilla medulla disebut duktus papilaris. Duktus koligentess yang lebih kecil dilapisi oleh epitel kuboid. Jauh di dalam medulla, epitel di duktus ini berubah menjadi epitel silindris (Mescher, 2016).

Aparatus jukstaglomerular (JGA) terdiri atas sekelompok sel khusus yang letaknya dekat dengan kutub vaskular masing-masing glomerulus. JGA terdiri atas tiga macam sel yaitu jukstaglomerulus, makula densa tubulus distal, dan mesangial ekstraglomerular (Mescher, 2016).

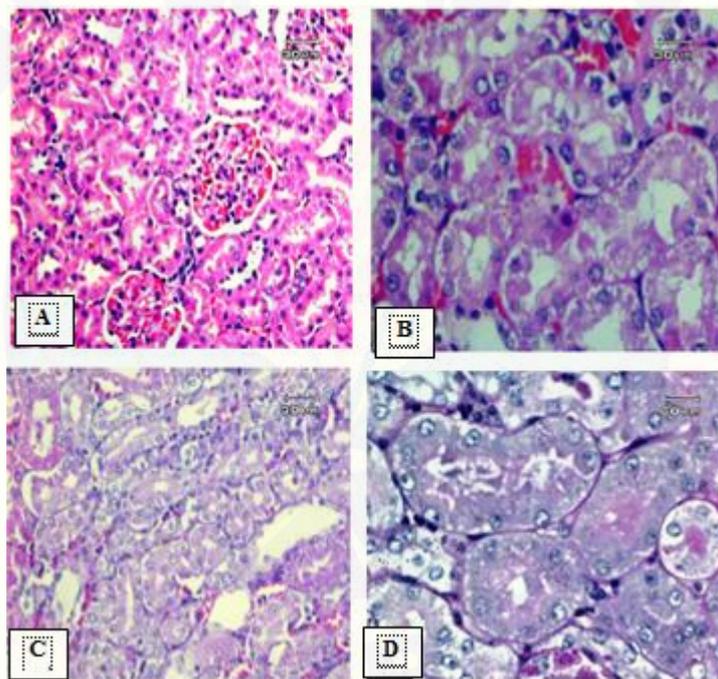


Gambar 2.8 Aparatus jukstaglomerular. D: tubulus kontortus distal; G: glomerulus; MD: makula densa; AA: arteriol aferen; JG: sel granula jukstaglomerular; EA: arteriol eferen; P: tubulus kontortus proksimal; US: *urinary space*. (Sumber: Mescher, 2016).

Paparan obat yang bersifat nefrotoksik, salah satunya adalah asam mefenamat secara berlebihan akan memicu terjadinya jejas pada sel yang bersifat reversible yaitu degenerasi maupun dilatasi stubulus. Gambaran mikroskopis berupa sel-sel epitel tubulus proksimal yang membengkak dengan sitoplasma granuler karena terjadi pergeseran air ekstraseluler ke dalam sel. Pergeseran ini terjadi karena toksin menyebabkan perubahan muatan permukaan sel epitel tubulus, transpor aktif ion dan asam organik, dan kemampuan mengkonsentrasikan dari ginjal yang akhirnya menyebabkan tubulus rusak, aliran menurun. Gambaran pembengkakan sel ini termasuk jenis degenerasi hidropik

yang mana akan tampak *cloudy swelling* (bengkak keruh). Hal ini yang mungkin menyebabkan lumen tubulus proksimal mengalami penyempitan hingga menutup (Somchit *et al*, 2016).

Gambaran mikroskopis ginjal yang mengalami kerusakan tampak degenerasi tubulus proksimal berupa *edema* epitel tubulus tetapi membrana basalis tetap utuh. Namun jika toksin terus menerus masuk dapat membuat tubulus proksimal lebih mengalami kerusakan. Kerusakan ini dapat ditandai dengan ditemukannya degenerasi tubulus, dilatasi tubulus, nekrosis inti dan perdarahan. Kerusakan pada membran basalis juga dapat menyebabkan cairan sel keluar dan sel akan menciut. Selanjutnya, hal ini akan membuat struktur tubulus proksimal sangat rusak dan kehilangan bentuk semula (Somchit *et al.*, 2016).



Gambar 2.9 Kerusakan ginjal. A: Gambaran mikroskopik ginjal tikus normal (perbesaran 200x); B: Tubuli membesar, sel-sel epitel tubulus nekrosis, membran basalisis tampak robek (perbesaran 400x); C: Tubuli membesar, sel-sel epitel membengkak, sitoplasma granuler, inti sel menghilang (perbesaran 200x); D: Tubuli membesar, lumen menyempit, membran basalis robek (perbesaran 400x). (Sumber: Lintong *et al.*, 2012).

2.2.3 Fisiologi Ginjal

Ginjal merupakan suatu organ yang secara struktural sangat kompleks dan melakukan sejumlah fungsi penting ekskresi produk sisa metabolisme, pengendalian air dan garam, pemeliharaan keseimbangan asam yang sesuai dan sekresi berbagai hormon autokoid. Menurut Guyton dan Hall (2014), ginjal tersusun atas beberapa juta nefron yang akan melakukan ultrafiltrasi terkait dengan ekskresi dan reabsorpsi. Kerja ginjal dimulai pada saat dinding glomerulus melakukan ultrafiltrasi untuk memisahkan plasma darah dari sebagian besar air, ion, dan molekul. Hasil dari ultrafiltrasi kemudian dialirkan ke tubulus proksimalis untuk direabsorpsi melalui *brush border* dengan mengambil bahan-bahan yang masih diperlukan oleh tubuh seperti gula, asam amino, vitamin dan sebagainya. Sisa buangan yang tidak diperlukan akan disalurkan dan diekskresikan sebagai urin (Guyton & Hall, 2014).

Volume cairan yang difiltrasi oleh glomerulus setiap satuan waktu disebut sebagai rerata filtrasi glomerulus atau Glomerular Filtration Rate (GFR). Selanjutnya cairan filtrat akan direabsorpsi dan beberapa elektrolit akan mengalami sekresi di tubulus ginjal, yang kemudian menghasilkan urine yang akan disalurkan melalui duktus koligentes. Proses dari reabsorpsi filtrat di tubulus proksimal, ansa henle, dan sekresi di tubulus distal terus berlangsung hingga terbentuk filtrat tubuli yang dialirkan ke kalises hingga pelvis ginjal (Guyton & Hall, 2014).

Berikut ini adalah beberapa fungsi spesifik yang dilakukan oleh ginjal dalam menjalankan banyak fungsi homeostatik penting:

1. Ekskresi produk sisa metabolik dan bahan kimia asing, obat dan metabolit hormon
2. Pengaturan keseimbangan air dan elektrolit
3. Pengaturan osmolaritas cairan tubuh dan konsentrasi elektrolit
4. Pengaturan tekanan arteri
5. Pengaturan keseimbangan asam-basa
6. Sekresi, metabolisme, dan ekskresi hormon
7. Glukoneogenesis

2.3 Asam Mefenamat

2.3.1 Farmakokinetik dan Farmakodinamik

Asam mefenamat merupakan derivat asam antranilat dan termasuk kedalam golongan obat Anti Inflamasi Nons teroid (AINS). Dalam pengobatan, asam mefenamat digunakan untuk meredakan nyeri dan rematik. Asam mefenamat mempunyai khasiat sebagai analgetik dan anti inflamasi. Asam mefenamat merupakan satu-satunya fenamat yang menunjukkan kerja pusat dan juga kerja perifer. Mekanisme kerja asam mefenamat adalah dengan menghambat kerja enzim siklooksigenase (Alfred, 2011). Struktur kimia asam mefenamat dapat dilihat pada gambar 2.10.



Gambar 2.10 Struktur kimia asam mefenamat. (Sumber: Alfred, 2011)

Tablet asam mefenamat diberikan secara oral. Diberikan melalui mulut dan diabsorpsi pertama kali dari lambung dan usus selanjutnya obat akan melalui hati diserap darah dan di bawa oleh darah sampai ke tempat kerjanya. Konsentrasi puncak asam mefenamat dalam plasma tercapai dalam 2 sampai 4 jam. Pada manusia, sekitar 50% dosis asam mefenamat diekskresikan dalam urin sebagai metabolit 3-hidroksimetil terkonjugasi. Dan 20% obat ini ditemukan dalam feses sebagai metabolit 3-karboksil yang tidak terkonjugasi (Alfred, 2011).

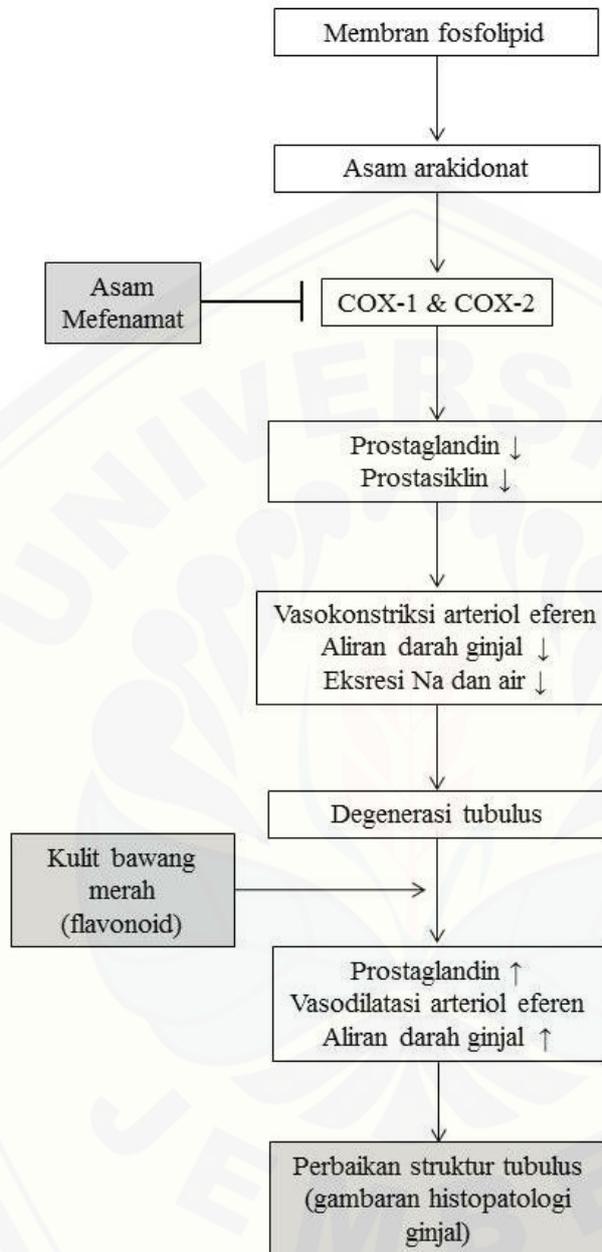
2.3.2 Efek Asam Mefenamat Terhadap Ginjal

Asam mefenamat merupakan obat antiinflamasi yang sering digunakan dalam penatalaksanaan nyeri. Obat ini bekerja dengan cara menghambat enzim *cyclooksigenase* pada jalur asam arakidonat. Penghambatan tersebut mengakibatkan terjadinya penghambatan sintesis prostaglandin, tromboxan, dan

prostasiklin yang meruakan mediator inflamasi dan agen vasodilator ginjal. Selain itu prostaglandin juga memiliki efek sebagai agen vasodilator arteriol aferen. Sedangkan prostasiklin juga memiliki efek menstimulasi pengeluaran natrium pada ginjal. Ketika sintesis keduanya dihambat oleh pemberian asam mefenamat maka tidak hanya menyebabkan vasokonstriksi ginjal, namun juga terjadi penurunan ekskresi natrium pada ginjal. (White W., 2009; Landefeld *et al.*, 2016).

Sintesis prostaglandin I_2 dan PGE_2 memiliki peranan penting dalam terjadinya degenerasi tubular. Prostaglandin akan mengurangi retensi pembuluh darah, melebarkan lapisan pembuluh darah dan meningkatkan perfusi ginjal. Hal ini menyebabkan redistribusi darah dari korteks ginjal ke nefron di area juxtaglomerular. Asam mefenamat disini bekerja menghambat sintesis prostaglandin, akibatnya terjadi penurunan suplai darah ke nefron yang kemudian menyebabkan iskemik akut dan degenerasi tubulus pada ginjal (Landefeld *et al.*, 2016).

2.5 Kerangka Konseptual



Keterangan:
—| : menghambat
—> : memicu
■ : variabel yang diteliti

Gambar 2.11 Kerangka konsep

Membran fosfolipid sel epitel ginjal secara fisiologis akan menghasilkan asam arakidonat untuk membentuk prostaglandin sebagai agen vasodilator. Keberadaan asam mefenamat diharapkan memiliki efek terhadap sekresi prostaglandin dan prostasiklin. Asam mefenamat secara sistemik akan menghambat kerja COX-1 dan COX-2. COX-1 diperlukan untuk sekresi prostaglandin oleh sel mesangial ginjal. Penghambatan COX-1 dan COX-2 mengakibatkan penurunan sekresi prostaglandin fisiologis. Prostaglandin yang menurun mengakibatkan terjadinya vasokonstriksi arteriol eferen sehingga menyebabkan aliran darah ginjal menjadi menurun dan ekskresi natrium serta air juga menurun. Kondisi ketidakseimbangan hemodinamik ini yang lama kelamaan akan menyebabkan degenerasi tubulus. Konsumsi ekstrak etanol kulit bawang merah yang mengandung flavonoid diharapkan mampu memperbaiki kondisi inflamasi pada tubulus akibat asam mefenamat dengan meningkatkan kembali sekresi prostaglandin dan mengembalikan keseimbangan hemodinamik.

2.6 Hipotesis Penelitian

Hipotesis dari penelitian ini adalah terdapat pengaruh pemberian ekstrak etanol kulit bawang terhadap perbaikan gambaran histopatologi ginjal tikus *wistar* yang diinduksi asam mefenamat.

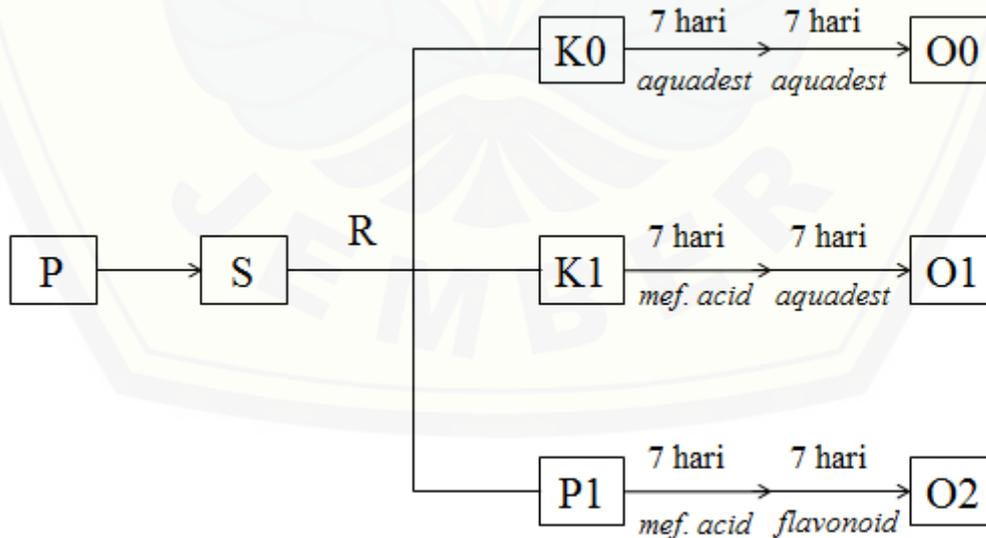
BAB 3. METODE PENELITIAN

3.1 Jenis Penelitian

Jenis penelitian yang digunakan pada penelitian ini yaitu *true experimental*. Penelitian ini dilakukan di lingkungan laboratorium dengan tujuan untuk mengetahui suatu pengaruh yang timbul akibat adanya perlakuan terhadap subyek penelitian. Hasil intervensi kelompok perlakuan kemudian dibandingkan dengan kelompok kontrol.

3.2 Rancangan Penelitian

Rancangan penelitian yang digunakan yaitu *post test only control group design* secara *in vivo*. Pengukurannya hanya dilakukan setelah dilakukan perlakuan (*pos test*) tanpa melakukan pengukuran sebelum perlakuan (*pre test*). Skema rancangan penelitian dapat dilihat pada gambar 3.1.



Gambar 3.1 Rancangan Penelitian

Keterangan:

P : Populasi

S : Sampel

R : Randomisasi

K0 : Kelompok kontrol yang diberi *aquadest* 2 ml/ekor/hari intraperitoneal

K1 : Kelompok kontrol yang diberi asam mefenamat 100 mg/kgBB/hari intraperitoneal pada hari ke-1 sampai hari ke-7, kemudian diberi *aquadest* 2 ml/ekor/hari intraperitoneal pada hari ke-8 sampai hari ke-14

P1 : Kelompok perlakuan yang diberi asam mefenamat 100 mg/kgBB/hari intraperitoneal, kemudian diberi ekstrak etanol 600mg/kgBB/hari per sonde pada hari ke-8 sampai hari ke-14

O0 : Analisis data kelompok K0

O1 : Analisis data kelompok K1

O2 : Analisis data kelompok P1

3.3 Tempat dan Waktu Penelitian

Penelitian ini dilakukan di bulan November 2019 hingga Februari 2020, di beberapa tempat sebagai berikut:

- a. Laboratorium Farmakologi Fakultas Kedokteran Universitas Jember, pembuatan ekstrak kulit bawang merah dan pemeliharaan hingga perlakuan hewan coba.
- b. Praktek mandiri dokter spesialis patologi anatomi di Kabupaten Jember, untuk pembuatan preperat histopatologi oleh ahli.
- c. Laboratorium Patologi Anatomi Fakultas Kedokteran Universitas Jember, untuk pengamatan preperat histopatologi.

3.4 Populasi dan Sampel Penelitian

Populasi pada penelitian ini yaitu tikus putih jantan galur *wistar*. Besar sampel diperoleh dari rumus *Federer* sebagai berikut:

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

$$(3 - 1)(r - 1) \geq 15$$

$$2r \geq 15 + 2$$

$$r \geq 8,5 \rightarrow 9$$

Keterangan:

t = jumlah kelompok perlakuan

r = jumlah sampel tiap kelompok

Tiap kelompok ditambah 10% yang digunakan sebagai faktor koreksi ($10\% \times 9 = 0,9 \approx 1$).

Berdasarkan rumus di atas, besar sampel untuk masing-masing kelompok pada penelitian ini minimal 9 ekor ditambah 1 ekor tiap kelompok sebagai faktor koreksi. Jadi besar sampel yang digunakan pada penelitian ini adalah 30 ekor. Pembagian tikus kedalam kelompok ditentukan berdasarkan teknik *simple random sampling*. Sampel yang digunakan dalam penelitian ini harus memenuhi kriteria inklusi dan eksklusi sebagai berikut:

- a. Kriteria inklusi sampel penelitian yaitu:
 1. tikus putih jantan galur Wistar;
 2. tikus sehat yang ditandai dengan kemampuan bergerak aktif;
 3. usia 2-3 bulan;
 4. berat 150-200 gram.
- b. Kriteria eksklusi sampel penelitian yaitu:
 1. tikus yang sakit ketika proses pengambilan sampel yang ditandai dengan gerakan lemah dan kurang aktif;
 2. tikus yang mengalami diare ketika proses pengambilan sampel.
- c. Kriteria *drop out* sampel penelitian yaitu:
 1. tikus yang sakit saat masa penelitian yang ditandai dengan gerakan kurang aktif;
 2. tikus yang mati saat masa penelitian.

3.5 Jenis dan Sumber Data

Jenis data pada variabel yang diukur dalam penelitian ini yaitu data primer. Data primer adalah data berupa angka yang diperoleh dari hasil penilaian derajat kerusakan pada ginjal berdasarkan kriteria skoring histopatologi ginjal (Suhita *et al.*, 2013) yang dapat dilihat pada tabel 3.1.

Tabel 3.1 Sistem Skoring Histopatologi Ginjal (Sumber: Suhita *et al.*, 2013)

Skoring	Keterangan
0	Tidak terjadi nekrosis inti, degenerasi tubulus, dilatasi tubulus proksimal tiap lapang pandang
1	Ditemukan lesi fokal seperti nekrosis inti, degenerasi tubulus, dilatasi tubulus proksimal tiap lapang pandang.
2	Ditemukan lesi difus/merata seperti nekrosis inti, degenerasi tubulus, dilatasi tubulus proksimal tiap lapang pandang

3.6 Variabel Penelitian

Variabel bebas dalam penelitian ini yaitu pemberian ekstrak etanol bawang merah. Variabel terikat dalam penelitian ini yaitu gambaran histopatologi ginjal tikus. Variabel terkontrol dalam penelitian ini yaitu strain, jenis kelamin, serta berat badan hewan coba, lingkungan hidup hewan coba, dan prosedur pembuatan ekstrak etanol kulit bawang merah.

3.7 Definisi Operasional

- a. Pemberian asam mefenamat dalam penelitian ini adalah pemberian asam mefenamat secara intraperitoneal dengan dosis 100 mg/kgBB/hari pada hari ke-1 sampai ke-7. Asam mefenamat akan digunakan sebagai faktor pemicu adanya kerusakan pada ginjal (Somchit, *et al.*, 2014).

- b. Ekstrak etanol kulit bawang merah dalam penelitian ini adalah ekstrak yang didapatkan dari kulit bawang merah melalui metode maserasi menggunakan pelarut etanol 70% (Marelli *et al.*, 2019). Kulit bawang merah didapatkan dari limbah produksi bawang merah goreng yang telah dibersihkan. Dosis yang digunakan untuk pengobatan tikus yaitu 600 mg/kgBB diberikan sehari sekali selama tujuh hari sejak hari ke-8 sampai hari ke-14 (Dalimunthe, 2018 dan Sembiring, *et al.*, 2017).
- c. Histopatologi ginjal dalam penelitian ini adalah pengamatan secara mikroskopik struktur ginjal hewan coba dengan pewarnaan Hematoksilin-Eosin (HE). Pengamatan dilakukan terhadap perubahan struktur histologi ginjal tikus dengan mikroskop cahaya perbesaran 400x pada 5 lapang pandang. Histopatologi ginjal tikus dibandingkan antara kelompok perlakuan dengan kelompok kontrol menggunakan kriteria skoring histopatologi ginjal (Suhita *et al.*, 2013).

3.8 Instrumen Penelitian

Instrumen penelitian yang digunakan dijelaskan dalam tabel 3.2 berikut:

Tabel 3.2 Instrumen penelitian

Prosedur	Instrumen laboratorium
Ekstraksi kulit bawang merah	botol kaca, <i>blender</i> , kertas saring <i>Whatman</i> No.2, corong <i>Buchner</i> , batang pengaduk, <i>water bath</i>
Pemeliharaan hewan coba	bak plastic, penutup kawat, tempat minum, timbangan
Perlakuan hewan coba	sprit, sonde lambung, sarung tangan, <i>tissue</i> , gelas beker
Pembuatan preparat histologis	toples, kapas, <i>minor set</i> , <i>handscoon</i> , plastic, mikrotom, <i>object glass</i> , <i>paraffin</i> , <i>cover glass</i>
Pengamatan histopatologi	mikroskop <i>Olympus</i> BX53, kamera <i>OptiLab</i>

3.9 Prosedur Penelitian

Rangkaian prosedur penelitian dalam penelitian ini meliputi ekstraksi kulit bawang merah, perlakuan hewan coba, pembuatan preparat histopatologi, dan pengukuran hasil.

3.9.1 Uji Kelayakan Etik

Tikus *wistar* jantan sebagai subjek penelitian ini harus mendapat surat kelayakan etik sehingga perlu diajukan kepada komisi etik Fakultas Kedokteran Universitas Jember. Prosedur ini bertujuan untuk menjamin keamanan bagi peneliti maupun hewan coba, melindungi hewan coba, dan memperjelas tujuan serta kewajiban peneliti.

3.9.2 Ekstrak Kulit Bawang Merah

Proses ekstraksi kulit bawang merah dilakukan di Laboratorium Biokimia Fakultas Kedokteran Universitas Jember. Kulit bawang merah didapatkan dari limbah perusahaan bawang merah goreng yang berlokasi di Kelurahan Gebang, Kecamatan Gebang, Kabupaten Jember. Limbah kulit bawang merah kemudian dilakukan pencucian dengan cara direndam air garam lalu dibilas air mengalir untuk membersihkan tanah dan pestisida (Fitriadi dan Putri, 2016). Peneliti memisahkan kulit bawang merah dari pengotor yang tidak diperlukan selama proses pencucian kulit bawang merah. Pembuatan ekstrak dilakukan dengan metode maserasi. Pelarut yang digunakan yaitu etanol 70% (Marelli dkk., 2019 dan Lee dkk., 2014). Kulit bawang merah yang telah dicuci kemudian dikeringkan menggunakan oven dengan suhu 40-45⁰C (Elsyana dan Tutik, 2018). Kulit bawang merah kering dihancurkan menggunakan *blender*. Ekstrak etanol dibuat dengan cara merendam 500 gram dengan etanol 70% sampai volume 2,5 liter selama 24 jam dan sesekali diaduk. Proses ekstraksi dilakukan pengulangan sebanyak tiga kali dengan pelarut baru. Ekstrak yang dihasilkan disaring menggunakan kertas saring Whatman No.2 untuk memisahkan antara filtrat dan residu (Lee dkk., 2014). Filtrat yang diperoleh kemudian diuapkan menggunakan *water bath* dengan suhu 50⁰C untuk mendapatkan ekstrak kental.

3.9.3 Perlakuan Hewan Coba

Sebanyak 27 ekor tikus ditempatkan dalam kandang untuk proses aklimatisasi hewan coba. Tikus diberikan makan dan minum standar selama 7 hari, kemudian tikus dibagi menjadi 4 kelompok. Masing-masing kelompok terdiri atas 9 ekor tikus. Kemudian, perlakuan dilakukan dengan langkah-langkah sebagai berikut:

a. Induksi Asam Mefenamat

Dosis asam mefenamat yang diberikan pada kelompok perlakuan yaitu 100 mg/kgBB/hari. Asam mefenamat sebelumnya diencerkan dalam *dimethyl sulfoxide* 10% atau minyak kelapa sawit. Pemberian asam mefenamat dilakukan secara intraperitoneal. Kelompok K0 diberikan normal salin atau minyak kelapa sawit secara intraperitoneal. Pemberian asam mefenamat dilakukan pada hari ke-1 sampai hari ke-7.

b. Pemberian Ekstrak Etanol Kulit Bawang Merah

Pembuatan sediaan ekstrak etanol kulit bawang merah dicapai dengan cara melarutkan ekstrak etanol kulit bawang merah dalam 2 ml Na-CMC 0,5%. Volume pelarut dipilih dengan pertimbangan volume lambung tikus yaitu antara 4-5 ml. Dosis ekstrak etanol kulit bawang merah yang diberikan pada kelompok P1 yaitu 600 mg/kgBB/hari (Dalimunthe, 2018 dan Sembiring, *et al.*, 2017). Pemberian ekstrak etanol kulit bawang merah dilakukan peroral menggunakan sonde selama tujuh hari sejak hari ke-8 sampai hari ke-14. Kemudian kelompok P1 diterminasi pada hari ke-15.

3.9.4 Pengambilan Jaringan dan Pembuatan Sediaan Histopatologi

Kelompok K0, K1 dan P1 diterminasi menggunakan larutan eter pada hari ke-15. Pengambilan organ ginjal dilakukan pada hari yang sama dengan hari tikus diterminasi (lampiran 3.1). Metode yang digunakan dalam pembuatan preparat histopatologi yaitu metode paraffin dan pewarnaan HE. Setiap tikus wistar dibuat satu preparat jaringan ginjal. Pada setiap preparat dilakukan pengamatan pada 5 lapangan pandang, yaitu pada keempat sudut dan bagian tengah preparat. Hasil

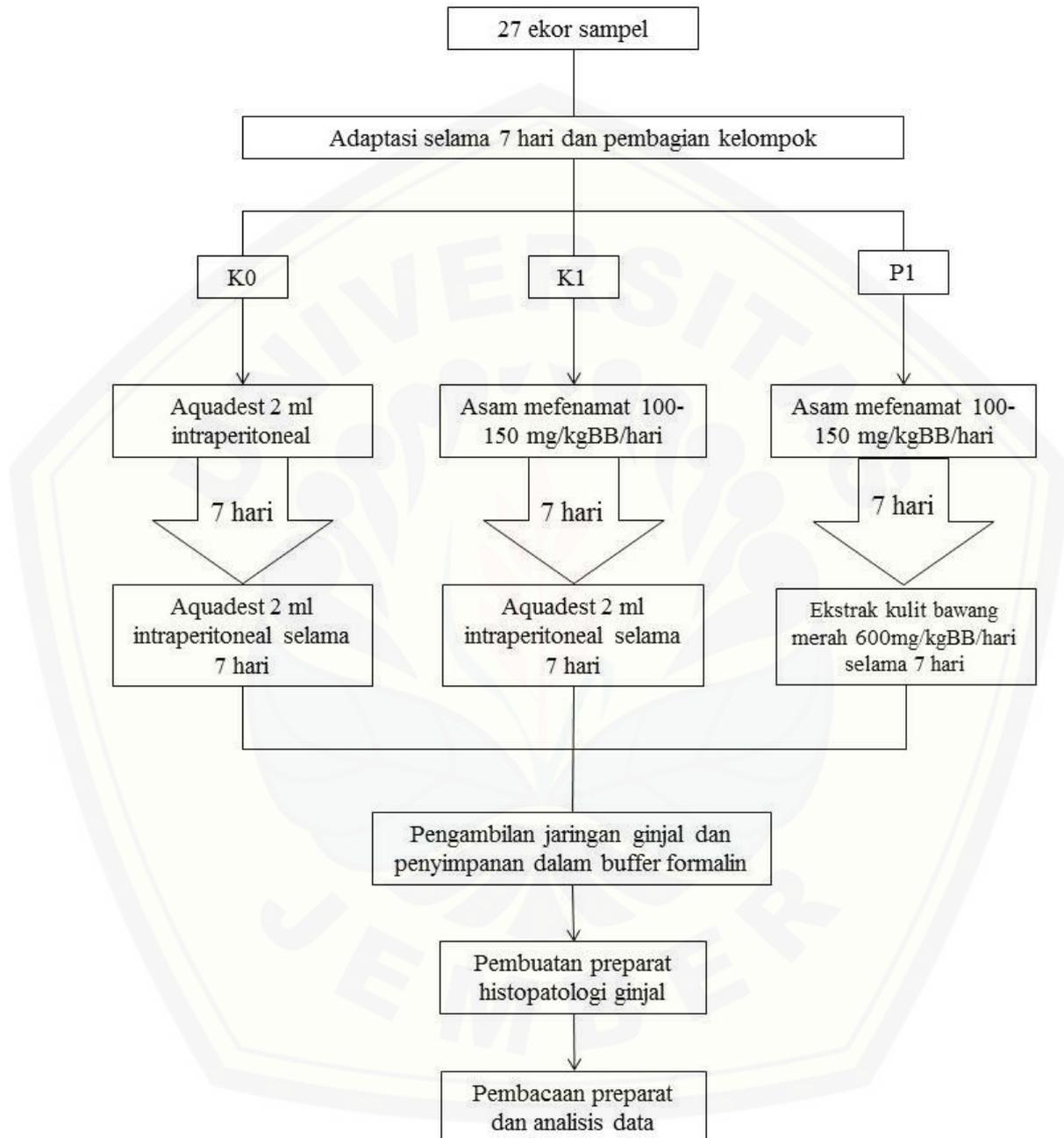
pembacaan preparat dari 5 lapang pandang didapatkan derajat histologis dengan kriteria skoring histopatologi ginjal (Suhita *et al*, 2013) untuk penilaian satu tikus. Metode baku histologis pengambilan jaringan dan pembuatan sediaan dapat dilihat pada lampiran 3.2

3.10 Analisis Data

Data yang diperoleh dari hasil skoring merupakan data kuantitatif yang dianalisis menggunakan program SPSS. Data yang diperoleh berupa data ordinal yang menggambarkan tingkatan. Analisis data dilakukan dengan uji *Kruskall Wallis*. Hasil uji *Kruskall Wallis* menunjukkan hasil yang berbeda signifikan sehingga peneliti melanjutkan analisis data menggunakan uji *Mann Whitney*.

3.11 Alur Penelitian

Skema alur penelitian ini dapat dilihat pada gambar 3.2 sebagai berikut:



Gambar 3.2 Skema alur penelitian

BAB 5. PENUTUP

5.1 Kesimpulan

Kesimpulan yang dapat diambil dari penelitian ini adalah ekstrak etanol kulit bawang merah dosis 600 mg/kgBB dapat menyebabkan perubahan gambaran histopatologi ginjal tikus *Wistar* berupa percepatan proses penyembuhan jaringan yang mengalami peradangan akibat efek obat asam mefenamat.

5.2 Saran

Berdasarkan kesimpulan tersebut, maka saran yang dapat diberikan peneliti yaitu:

1. Perlu dilakukan pengamatan hewan coba dengan durasi lebih lama untuk mengetahui tanda klinis yang timbul selama penelitian berlangsung.
2. Perlu dilakukan pengamatan pada pemberian dosis ekstrak kulit bawang merah lebih dari 600 mg/kgBB untuk mengetahui dosis efektif penyembuhan mendekati normal dalam waktu 7 hari.
3. Perlu dilakukan penelitian mengenai uji toksisitas akut ekstrak etanol kulit bawang merah untuk mengetahui batas aman penggunaannya.

DAFTAR PUSTAKA

- Arshad, M.S., M. Sohaib, M. Nadeem, F. Saeed, A. Imran, A. Javed, Z. Amjad, dan S.M. Batool. 2017. Status and trends of nutraceuticals from onion and onion by-products: A critical review. *Congen Food & Agriculture*.
- Alfred, G., Louis, SG. 2011. Goodman and Gilman's The Pharmacological Basis of Therapeutics. Edisi 12. New York : The McGraw-Hill Companies, Inc. Pp : 1382-1388.
- Dalimunthe, A. 2018. Aktivitas hepatoprotektor ekstrak etanol kulit bawah merah (*Allium cepa* L. Corium) terhadap mencit jantan yang diinduksi parasetamol. *TALENTA Conference Series: Tropical Medicine (TM)*. 1(3): 1-6.
- de Souza, P., Boeing, T., Somensi, L. B., Cechinel-Zanchett, C. C., Bastos, J. K., Petreanu, M. 2017. Diuretic effect of extracts, fractions and two compounds from *Rubus rosaefolius* Sm. (Rosaceae) leaves in rats. *Naunyn Schmiedebergs. Arch. Pharmacol.* 390, 351–360. doi: 10.1007/s00210-016-1333-4
- Depkes RI. 2013. Riset Kesehatan Dasar. Jakarta: Badan Penelitian dan pengembangan Kesehatan Kementrian Kesehatan RI.
- El-Kashef, D. H., El-Kenawi, A. E., Suddek, G. M., and Salem, H. A. 2015. Flavocoxid attenuates gentamicin-induced nephrotoxicity in rats. *Naunyn Schmiedebergs Arch. Pharmacol.* 388, 1305–1315. doi: 10.1007/s00210-015-1164-8
- Elberry, A.A., S. Mufti, J. Al-Maghrabi, E.A. Sattar, S.A. Ghareib, H.A. Mosli, dan S.A. Gabr. 2014. Immunomodulatory effect of red onion (*Allium cepa* Linn) scale extract on experimentally induced atypical prostatic hyperplasia in wistar rats. *Mediators of Inflammation*.
- Elsyana, V., dan Tutik. 2018. Penapisan fitokimia dan skrining toksisitas ekstrak etanol kulit bawang merah. *Jurnal Farmasian Malahayati*. 1(2): 107-114.
- Eroschenko VP. 2010. Atlas histology difiore dengan korelasi fungsional. Jakarta: EGC.
- Fitriadi, B.R, dan A.C. Putri. 2016. Metode-metode pengurangan residu pestisida pada hasil pertanian. *Jurnal Rekayasa Kimia dan Lingkungan*. 11(2): 61-71
- Food Drugs Adminstration. 2013. Asean Guideline on Stability Study of Drug Product. Available online at: <http://www.fda.gov.ph/attachments/article/>

[95567/2%20ASEAN%20Guideline%20on%20Stability%20Study%20of%20Drug%20Product.doc](#). [Diakses pada 20 September 2019].

- Ghosh, A.K., M. Banerjee, dan N.K. Bhattacharyya. 2019. Anti-inflammatory activity of root of *Alpinia galanga* wild. *Chronicles Young Scientists*. 2(3): 139-43.
- Guyton, A.C., dan Hall, J.E. 2014. Buku Ajar Fisiologi Kedokteran. Edisi 12. Jakarta: EGC
- Holmes J, Rainer T, Geen J, Roberts G, May K, Wilson N. 2016. Acute kidney injury in the era of the AKI e-alert. *Clin J Am Soc Nephrol*, 11(12):2123-2131.
- Landefeld K., Gonzales H., and Sander G. 2016. Hypertensive Crisis: The Causative Effects of Nonsteroidal Anti-Inflammatory Drugs. *Journal of Clinical Case Reports*, 6(7): 1-3.
- Lee, K.A., K.T. Kim, H.J. Kim, M.S. Chung, P.S. Chang, H. Park, dan H.D. Paik. 2014. Antioxidant activities of onion (*Allium cepa* L.) peel extracts produced by ethanol, hot water, and subcritical water extraction. *Food Science Biotechnology*. 23(2): 615-21.
- Marelli, M., V. Amodeo, G. Statti, dan F. Conforti. 2019. Biological properties and bioactive components of *Allium Cepa L.*: focus on potential benefits in the treatment of obesity and related comorbidities. *Molecules*. 24(119).
- Mescher, Anthony L. 2016. Junqueira's Basic Histology. 14th edit. United States : McGraw-Hill
- Moore KL, Anne MR. 2012. Anatomi klinis dasar. Jakarta: Hipokrates, hlm. 278– 9. Osterman M, Chang R: *Acute Kidney Injury in the Intensive Care Unit according to RIFLE*. *Critical Care Medicine* 2007; 35:1837-1843
- Panche, A.N., Diwan, A.D., Chandra, S.R. 2016. Flavonoids: an overview. *Journal Nutrition Science* 5, e47.
- Price, Wilson. 2006. Patofisiologi Vol 2 ; Konsep Klinis Proses-proses Penyakit. Penerbit Buku Kedokteran. EGC. Jakarta
- Rahayu S, Kurniasih N, Amalia V. 2015. Ekstraksi Dan Identifikasi Senyawa Flavonoid Dari Limbah Kulit Bawang Merah Sebagai Antioksidan Alami. *al Kimiya*. 2(1):1-8.
- Richard L Drake; Wayne Vogl; Adam W M Mitchell. 2014. Gray's Anatomy: Anatomy of the Human Body. Elsevier; 2014.

- Sembiring, R., C. Kairupan, dan L. L. Loho. 2017. Gambaran histopatologik lambung tikus wistar (*Rattus Novergicus*) yang diberi sari buah nanas (*Ananas comosus* (L.) Merr) setelah induksi asam mefenamat. *Jurnal e- Biomedik*. 5(1).
- Skerget, M., Majheniè, L., Bezjak, M., dan Knez, Z. 2009. Antioxidant, Radical Scavenging and Antimicrobial Activities of Red Onion (*Allium cepa* L.) Skin and Edible Part Extracts. *Chemical and Biochemical Engineering Quarterly*. 23(4): 435-444
- Somchit, Muhammad N., Sanat, F., Hui, Gan E., Wahab, Shahrin I., Ahmad, Zuraini. 2014. *Mefenamic Acid Induced Nephrotoxicity: An Animal Model*. *Advance Pharmaceutical Bulletin*. 4(4), 401 – 404.
- Suhita, Ni Luh P. R, Sudira, I. W., Winaya, Ida B. O. 2013. Histopatologi Ginjal Tikus Putih Akibat Pemberian Ekstrak Pegagan (*Centella asiatica*) Peroral. *Jurnal Kefarmasian Udayana* 5(1): 63-69.
- Tandi, J., Wulandari, Ayu, Asrifa. 2017. Efek Ekstrak Etanol Daun Gendola Merah (*Basella alba* L.) terhadap Kadar Kreatinin, Ureum dan Deskripsi Histologis Tubulus Ginjal Tikus Putih Jantan (*Rattus norvegicus*) Diabetes yang Diinduksi Streptozotocin. *Journal Farmasi Galenika*. 3(2): 93 – 102.
- Tjitrosoepomo, gembong. 2010. Taksonomi Tumbuhan Spermatophyta. Yogyakarta: Gajah Mada University press.
- Wang, H., Li, D., Hu, Z., Zhao, S., Zheng, Z., and Li, W. 2016. Protective effects of green tea polyphenol against renal injury through ROS-mediated JNK-MAPK pathway in lead exposed rats. *Mol. Cells*. 39, 508–513.
- White W., 2009. Defining the Problem of Treating the Patient with Hypertension and Arthritis Pain. *The American Journal of Medicine*, 122 (5A): 3-9.
- Wibowo, S. 2009. Budi Daya Bawang Putih, Merah dan Bombay. Jakarta: Penebar Swadaya.
- Wiegand. 2015. Non-steroidal Anti-inflammatory Agent Toxicity. Available from:URL [<http://emedicine.medscape.com> Diakses 8 November 2019]
- Wilson GJ, Kark AL, Francis LP, Hoy W, Healy HG, Mallett AJ. 2017. The increasing rates of acute interstitial nephritis in Australia: a single centre case series. *BMC Nephrol*.18(1):329.

Lampiran 3.1 Prosedur Pembedahan Hewan Uji

A. Persiapan

1. Siapkan pot organ tikus yang sudah diberi label sesuai dengan nomor tikus yang akan dibedah. Pastikan label pada pot organ sudah benar.
2. Pot organ diisi dengan formalin 4-10% (dan atau buffer formalin untuk AgNOR) untuk menyimpan organ.
3. Siapkan 1 tim bedah yang terdiri dari 3 orang. Satu orang membedah tikus, 1 orang mencuci dan membersihkan organ, sedangkan 1 orang lainnya mencatat data dan mengambil gambar.
4. Lapisi meja bedah dengan menggunakan plastik
5. Siapkan alat-alat bedah yang digunakan:
 - a. Gunting bedah: lurus panjang, lurus pendek dan bengkok
 - b. Pinset, digunakan untuk memudahkan membedah dan memegang tikus
 - c. Cawan petri untuk meletakkan organ
 - d. Papan bedah, tempat fiksasi tikus yang akan dibedah
 - e. *Pins*, untuk memfiksasi tikus yang akan dibedah
 - f. Gelas beker, tempat pencucian organ yang sudah dipisahkan
6. Siapkan perlengkapan pendukung pembedahan yang akan digunakan:
 - a. Blangko untuk mencatat data
 - b. Kamera digital
 - c. Jas lab, masker, dan *gloves*

B. Pembedahan tikus

1. Tikus di terminasi dengan menggunakan larutan eter. Pastikan tikus sudah benar-benar mati dengan mengevaluasi denyut jantung dan pernapasan tikus.
2. Posisikan tikus pada papan bedah menggunakan *pins*. Pastikan tubuh tikus terfiksasi dengan baik pada papan sehingga memudahkan tahap pembedahan.

3. Bedah mulai bagian perut ataupun uterus menggunakan gunting bengkok. Jika perlu cukur rambut tikus pada bagian perut dan bersihkan sisa rambut dengan kapas yang dibasahi air.
4. Ambil dan pisahkan organ dari jaringan sekitarnya menggunakan gunting lurus
5. Bersihkan organ dari lemak-lemak yang masih menempel. Hilangkan lemak yang ada dengan cepat dan hati-hati (jangan sampai merusak organ).
6. Cucilah organ dengan aquadest berulang-ulang hingga bersih dari darah.
7. Cucilah dengan NaCL 0,9% berulang-ulang. Cuci dengan cepat dan berhati-hati.
8. Masukkan organ dalam pot berisi formalin 4-10% dan buffer formalin.
9. Dokumentasikan tiap tahap pembedahan.

C. Sanitasi

1. Masukkan semua sisa organ yang tidak terpakai ke dalam kantong plastik dan tutup dengan rapat.
2. Serahkan kantong plastik berisi sisa organ ke analis laboratorium untuk dilakukan insinerasi
3. Sampah lain berupa plastik, kertas, dll yang tidak berhubungan dengan organ dibuang dalam kantong plastik tersendiri
4. Bersihkan area kerja sisa pembedahan dengan sabun dan jika perlu semprot dengan alkohol. Pastikan area kerja kembali bersih, bebas dari kotoran sisa pembedahan.

Lampiran 3.2 Metode Baku Histologis Pemeriksaan Jaringan

A. Cara pengambilan jaringan dan fiksasi

1. Mengambil jaringan segera setelah tikus diterminasi (maksimal 2 jam) dengan ukuran $1 \times 1 \times 1 \text{ cm}^3$
2. Kemudian memasukkan ke dalam larutan fiksasi dengan urutan sebagai berikut:
 - a. Fiksasi dalam larutan formalin 10%
 - b. Dehidrasi dengan alkohol 30% selama 20 menit I, 20 menit II, dan 20 menit III. Lalu dilanjutkan dengan alkohol 40%, 50%, 70%, 80%, 90%, 96% masing-masing selama 1 jam. Alkohol 70% dan 80% dapat ditunda hingga keesokan harinya.
 - c. Larutan xylol alkohol 1:1 Dengan waktu kurang lebih 24 jam.
 - d. *Clearing* dengan larutan cylvol 1,2,3 dengan waktu masing-masing 20 menit, sehingga jaringan terlihat tembus pandang.
 - e. Xylol paraffin 1:1 selama 20 menit/24 jam dengan dipanaskan dalam oven 60°C .
 - f. *Embedding* dan *blocking*: paraffin 1,2,3 selama 20 menit lalu jaringan dicetak blok paraffin, kemudian didinginkan, sehingga cetakan dapat dibuka.
 - g. *Trimming*: memotong balok-balok paraffin sehingga jaringan mudah dipotong.

B. Cara pemotongan blok (sectioning)

1. Menyiapkan kaca objek bersih.
2. Kaca objek diberi albumin di bagian tengah.
3. Blok yang sudah disiapkan dipotong dengan ketebalan 5 mikron, lalu dimasukkan dalam air panas kurang lebih 60°C . Setelah jaringan mengembang, jaringan diambil dengan kaca objek yang sudah diberi albumin.
4. Keringkan.

5. Paraffin yang ada pada kaca objek atau jaringan dihilangkan dengan cara dipanaskan dalam oven 60°C atau dengan tungku.

C. Pewarnaan

Slide jaringan dimasukkan dalam:

1. Xylol 1, xylol 2, xylol 3 masing-masing 10 menit.
2. Rehidrasi dengan alkohol xylol selama 5 menit.
3. Bilas alkohol 30-96% masing-masing kurang lebih 30 menit.
4. Bilas aquades satu kali kurang lebih 10 menit.
5. Rendam dalam hematoksilin kurang lebih 10 menit.
6. Bilas dengan air mengalir sampai bersih.
7. Bilas aquades, lalu acid alkohol (alkohol+NACl 0.9%).
8. Bilas alkohol 50-96%.
9. Eosin kurang lebih 2-58 menit.
10. Bilas alkohol 96% sebanyak dua kali.
11. Bilas alkohol xylol.
12. Keringkan dengan ketas saring, langsung dibersihkan kotoran-kotoran yang ada di sekitar jaringan.
13. Xylol 1(15 menit), xylol 2 (5 menit), tetesi asam Canada, langsung ditutup kaca penutup.
14. Preparat siap digunakan.

Lampiran 4.1 Perhitungan Dosis Asam Mefenamat dan Ekstrak Etanol Kulit Bawang Merah

Perbandingan asam mefenamat → 100 mg : 2 ml : 1 kgBB

Perbandingan ekstrak kulit bawang → 600 mg : 2 ml : 1 kgBB

Kelompok K0

Nomor tikus	BB (gram)	Dosis asmef (mg)	Dosis ekstrak (mg)	Larutan (ml)
K0.1	170	0	0	0,34
K0.2	170	0	0	0,34
K0.3	170	0	0	0,34
K0.4	170	0	0	0,34
K0.5	160	0	0	0,32
K0.6	200	0	0	0,4
K0.7	190	0	0	0,38
K0.8	160	0	0	0,32
K0.9	210	0	0	0,21
K0.10	170	0	0	0,34

Kelompok K1

Nomor tikus	BB (gram)	Dosis asmef(mg)	Larutan asmef (ml)	Dosis ekstrak(mg)	Larutan ekstrak (ml)
K1.1	160	16	0,32	96	0,8
K1.2	160	16	0,32	96	0,8
K1.3	200	20	0,4	120	1
K1.4	170	17	0,34	102	0,85
K1.5	190	19	0,38	114	0,95
K1.6	200	20	0,4	120	1
K1.7	170	17	0,34	102	0,85
K1.8	160	16	0,32	96	0,8
K1.9	170	17	0,34	102	0,85
K1.10	170	17	0,34	102	0,85

Kelompok P

Nomor tikus	BB (gram)	Dosis asmeF (mg)	Larutan asmeF (ml)	Dosis ekstrak (mg)	Larutan ekstrak (ml)
P1	180	18	0,36	108	0,9
P2	200	20	0,4	120	1
P3	170	17	0,34	102	0,85
P4	170	17	0,34	102	0,85
P5	180	18	0,36	108	0,9
P6	170	17	0,34	102	0,85
P7	200	20	0,4	120	1
P8	210	21	0,42	126	1,05
P9	180	18	0,36	108	0,9
P10	190	19	0,38	114	0,95

Kelompok P

No	Pembaca 1						Pembaca 2						Data P
	LP1	LP2	LP3	LP4	LP5	Mean	LP1	LP2	LP3	LP4	LP5	Mean	
P1	1	0	0	0	1	0,4	1	1	0	1	1	0,8	0,6
P2	0	0	2	0	2	0,8	1	1	1	1	1	1	0,9
P3	0	0	1	1	1	0,6	0	0	1	1	1	0,6	0,6
P4	1	1	1	1	1	1	1	1	1	0	0	0,6	0,8
P5	1	1	1	0	0	0,6	1	1	1	1	1	1	0,8
P6	1	1	1	1	0	0,8	0	2	0	0	1	0,6	0,7
P7	1	0	0	2	2	1	1	0	0	1	1	0,6	0,8
P8	1	1	1	0	0	0,6	1	0	0	1	0	0,4	0,5
P9	2	2	1	0	1	1,2	1	1	1	0	0	0,6	0,9
P10	0	2	0	1	0	0,6	0	0	0	0	1	0,2	0,8



Lampiran 4.3 Analisis Statistik Hasil Pembacaan Histopatologi

Kruskal-Wallis Test

Ranks			
	Kelompok	N	Mean Rank
Grading	K0	10	5,60
	K1	10	25,50
	P	10	15,40
	Total	30	

Test Statistics^{a,b}

Grading	
Chi-Square	25,827
df	2
Asymp. Sig.	,000

a. Kruskal Wallis Test

b. Grouping Variable: Kelompok

Mann-Whitney Test

Ranks				
	Kelompok	N	Mean Rank	Sum of Ranks
Grading	K0	10	5,50	55,00
	K1	10	15,50	155,00
	Total	20		

Test Statistics^a

Grading	
Mann-Whitney U	,000
Wilcoxon W	55,000
Z	-3,832
Asymp. Sig. (2-tailed)	,000
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	,000 ^b

a. Grouping Variable: Kelompok

b. Not corrected for ties.

Mann-Whitney Test

Ranks				
	Kelompok	N	Mean Rank	Sum of Ranks
Grading	K1	10	15,50	155,00
	P	10	5,50	55,00
	Total	20		

Test Statistics^a

Grading	
Mann-Whitney U	,000
Wilcoxon W	55,000
Z	-3,823
Asymp. Sig. (2-tailed)	,000
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	,000 ^b

a. Grouping Variable: Kelompok

b. Not corrected for ties.

Mann-Whitney Test

Ranks				
	Kelompok	N	Mean Rank	Sum of Ranks
Grading	K0	10	5,60	56,00
	P	10	15,40	154,00
	Total	20		

Test Statistics^a

Grading	
Mann-Whitney U	1,000
Wilcoxon W	56,000
Z	-3,742
Asymp. Sig. (2-tailed)	,000
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	,000 ^b

a. Grouping Variable: Kelompok

b. Not corrected for ties.

Lampiran 4.4 Dokumentasi Kegiatan Penelitian



