



**PENGARUH SERBUK CACING TANAH (*Pheretima javanica* K.)
TERHADAP PROTEIN URIN, MORFOLOGI GINJAL DAN
GAMBARAN HISTOPATOLOGI GINJAL
TIKUS PUTIH (*Rattus norvegicus* B.)**

SKRIPSI

Oleh:

**Dea Ayu Rahma Putri
140210103059**

**PROGRAM STUDI PENDIDIKAN BIOLOGI
JURUSAN PENDIDIKAN MIPA
FAKULTAS KEGURUAN DAN ILMU PENDIDIKAN
UNIVERSITAS JEMBER
2018**



**PENGARUH SERBUK CACING TANAH (*Pheretima javanica* K.)
TERHADAP PROTEIN URIN, MORFOLOGI GINJAL DAN
GAMBARAN HISTOPATOLOGI GINJAL
TIKUS PUTIH (*Rattus norvegicus* B.)**

SKRIPSI

Diajukan guna melengkapi tugas akhir dan memenuhi salah satu syarat untuk menyelesaikan studi dan mencapai gelar Sarjana Pendidikan (S1) pada Program Studi Pendidikan Biologi

Oleh:

**Dea Ayu Rahma Putri
140210103059**

**PROGRAM STUDI PENDIDIKAN BIOLOGI
JURUSAN PENDIDIKAN MIPA
FAKULTAS KEGURUAN DAN ILMU PENDIDIKAN
UNIVERSITAS JEMBER
2018**

PERSEMBAHAN

Puji syukur peneliti panjatkan kehadirat Allah SWT yang senantiasa memberikan petunjuk dan ridho-Nya, serta Nabi Muhammad SAW yang selalu menjadi tauladan bagi umatnya. Skripsi ini saya persembahkan untuk:

1. Ayahanda Achmad Budiono, Ibunda Endang Sri Utami Ningsih, serta adikku Jasmine Indana Zulfa Ningrum yang telah mendoakan, memberikan semangat dan mendukung serta menjadi kekuatan;
2. Prof. Dr. Joko Waluyo, M.Si. yang telah dengan sabar membimbing, memotivasi, dan memberikan kepercayaan dari awal hingga akhir diselesaikannya skripsi ini;
3. Almarhumah guru les tercinta Ibu Koestinah telah yang menjadi salah satu semangat dalam belajar;
4. Bapak/Ibu Guru TK AL-Irsyad Al-Islamiyah, SDN 5 Patokan, SMPN 4 Situbondo, SMAN 2 Situbondo serta Bapak/ Ibu dosen Pendidikan Biologi yang telah memberikan bekal ilmu;
5. Almamter tercinta Fakultas Keguruan dan Ilmu Pendidikan Universitas Jember.

MOTTO

“Karena sesungguhnya sesudah kesulitan itu ada kemudahan. Sesungguhnya sesudah kesulitan itu ada kemudahan. Maka apabila kamu telah selesai (dari suatu urusan), kerjakanlah dengan sungguh-sungguh (urusan) yang lain”
(terjemahan Surah Al –Insyirah ayat 5-7)^{*)}

^{*)}Departemen Agama Republik Indonesia. 2005. *Al-Qur'an dan Terjemahannya*. Bandung: Jamanatul Ali Art

PERNYATAAN

Saya yang bertanda tangan dibawah ini:

Nama : Dea Ayu Rahma Putri

NIM : 140210103059

Menyatakan dengan sesungguhnya bahwa karya tulis ilmiah yang berjudul “Pengaruh Serbuk Cacing Tanah (*Pheretima Javanica* K.) terhadap Protein Urin, Morfologi Ginjal dan Gambaran Histopatologi Ginjal Tikus Putih (*Rattus Norvegicus* B.)” adalah benar-benar hasil karya sendiri, kecuali jika dalam pengutipan substansi disebutkan sumbernya, dan belum pernah diajukan pada institusi manapun, serta bukan karya jiplakan. Saya bertanggung jawab atas keabsahan dan kebenaran isinya sesuai dengan sikap ilmiah yang harus dijunjung tinggi.

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

Jember, Februari 2018

Yang menyatakan,



Dea Ayu Rahma Putri

NIM. 140210103059



**PENGARUH SERBUK CACING TANAH (*Pheretima javanica* K.)
TERHADAP PROTEIN URIN, MORFOLOGI GINJAL DAN
GAMBARAN HISTOPATOLOGI GINJAL
TIKUS PUTIH (*Rattus norvegicus* B.)**

SKRIPSI

Oleh:

**Dea Ayu Rahma Putri
140210103059**

Pembimbing Utama : Prof. Dr. H. Joko Waluyo, M.Si

Pembimbing Anggota : Dr. Dwi Wahyuni, M. Kes

PERSETUJUAN

**PENGARUH SERBUK CACING TANAH (*Pheretima javanica* K.)
TERHADAP PROTEIN URIN, MORFOLOGI GINJAL DAN
GAMBARAN HISTOPATOLOGI GINJAL
TIKUS PUTIH (*Rattus norvegicus* B.)**

SKRIPSI

Diajukan guna melengkapi tugas akhir dan memenuhi salah satu syarat untuk menyelesaikan studi dan mencapai gelar Sarjana Pendidikan (S1) pada Program Studi Pendidikan Biologi

Oleh

Nama Mahasiswa : Dea Ayu Rahma Putri
NIM : 140210103059
Jurusan : Pendidikan MIPA
Program Studi : Pendidikan Biologi
Angkatan Tahun : 2014
Daerah Asal : Situbondo
Tempat, Tanggal Lahir : Situbondo, 04 Desember 1995

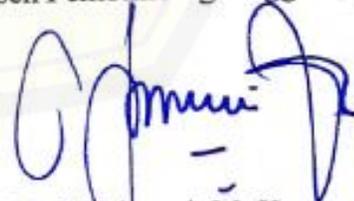
Disetujui oleh

Dosen Pembimbing Utama,



Prof. Dr. H. Joko Waluyo, M. Si
NIP. 19571028 198503 1 001

Dosen Pembimbing Anggota,



Dr. Dwi Wahyuni, M. Kes
NIP. 19600309 198702 2 002

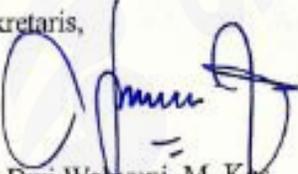
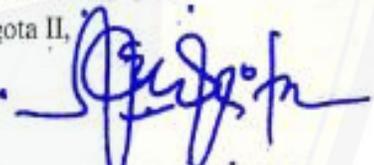
PENGESAHAN

Skripsi yang berjudul “Pengaruh Serbuk Cacing Tanah (*Pheretima Javanica* K.) terhadap Protein Urin, Morfologi Ginjal dan Gambaran Histopatologi Ginjal Tikus Putih (*Rattus Norvegicus* B.)” telah diuji dan disahkan pada:

Hari, tanggal : 23 Januari 2018

Tempat : Fakultas Keguruan dan Ilmu Pendidikan Universitas Jember

Tim Penguji

Ketua,  <u>Prof. Dr. H. Joko Waluyo, M. Si</u> NIP. 19571028 198503 1 001	Sekretaris,  <u>Dr. Dwi Wahyuni, M. Kes</u> NIP. 19600309 198702 2 002
Anggota I,  <u>Dr. Jekti Prihatin, M.Si</u> NIP. 19651009 199103 2 001	Anggota II,  <u>Erlia Narulita S.Pd, M.Si., Ph.D</u> NIP. 19800705 200604 2 004

Mengesahkan
Dekan FKIP Universitas Jember

Prof. Drs. Dafik, M.Sc., Ph.D
NIP. 19680802 199303 1 004

RINGKASAN

Pengaruh Serbuk Cacing Tanah (*Pheretima javanica* K.) terhadap Protein Urin, Morfologi Ginjal dan Gambaran Histopatologi Ginjal Tikus Putih (*Rattus norvegicus* B.); Dea Ayu Rahma Putri; 140210103059, 55 Halaman, Program Studi Pendidikan Biologi; Jurusan Pendidikan MIPA; Fakultas Keguruan dan Ilmu Pendidikan Universitas Jember.

Cacing tanah banyak diketahui manfaatnya bagi manusia. Cacing tanah yang paling banyak populasinya di pulau jawa adalah *Pheretima javanica* K. Cacing tanah jenis *Pheretima javanica* K. diketahui mengandung senyawa antibiotik yaitu *Lumbricin 1* dan Streptomisin yang merupakan hasil metabolit sekunder dari bakteri simbiosis yang ada di dalam rongga perut cacing tanah *Pheretima javanica* K. Selain itu, cacing tanah *Pheretima javanica* K. juga diketahui mengandung enzim lumbrokinase yang berfungsi dalam pembekuan darah serta asam arakidonat yang berfungsi untuk menurunkan demam akibat adanya inflamasi dan juga mengandung protein tinggi. Cacing tanah sering digunakan sebagai obat tradisional oleh masyarakat. Namun semua jenis obat, termasuk obat tradisional harus diteliti pengaruhnya. Ginjal merupakan salah satu organ tubuh yang mudah terpapar senyawa racun. Pemeriksaan organ ginjal dapat dilakukan dengan mengetahui protein urin, morfologi ginjal dan gambaran histopatologi ginjal. Tujuan dari penelitian ini adalah untuk mengetahui pengaruh serbuk cacing tanah (*Pheretima javanica* K.) terhadap protein urin, morfologi ginjal dan gambaran histopatologi ginjal tikus putih (*Rattus norvegicus* B.).

Pada penelitian ini dosis serbuk cacing tanah yang digunakan adalah 0,4 g/ Kg BB; 0,8 g/ Kg BB; 1,6 g/ Kg BB; dan 3,2 g/ Kg BB yang nantinya akan disondekan secara oral terhadap hewan uji dengan lama waktu 90 hari Adapun yang diamati pada penelitian ini yaitu protein urin, morfologi ginjal dan gambaran histopatologi ginjal. Pada penelitian ini, akan dilakukan pemeriksaan kandungan protein urin pada saat

sebelum dan sesudah pemberian serbuk cacing tanah (*Pheretima javanica* K.). Protein urin dipilih karena merupakan cara untuk mengetahui kondisi fisiologis ginjal yang sederhana dan populer hingga saat ini. Morfologi ginjal yang diamati pada penelitian ini yaitu meliputi bentuk ginjal, warna ginjal, dan permukaan ginjal. Sedangkan histopatologi ginjal yang diamati yaitu apakah ada degenerasi hidrofik, degenerasi lemak, dan nekrosis. Pembacaan histopatologi ginjal menggunakan bantuan mikroskop cahaya dengan perbesaran 400 X dan penentuan skor kerusakan histopatologinya menggunakan derajat skoring.

Hasil analisis pengaruh serbuk cacing tanah (*Pheretima javanica* K.) menunjukkan bahwa tidak ada pengaruh serbuk cacing tanah (*Pheretima javanica* K.) terhadap protein urin tikus putih (*Rattus norvegicus* B.) karena dari hasil analisis profil kimia urin tikus jantan nilai $sig.(2-tailed)$ nya lebih besar dari pada nilai α yaitu $0,082 > 0,05$ dan pada hasil analisis profil kimia urin tikus betina nilai $sig.(2-tailed)$ nya juga lebih besar dari pada nilai α yaitu $0,433 > 0,05$. Dari penelitian ini juga diketahui bahwa urin tikus jantan dan betina positif mengandung protein baik itu pada kelompok kontrol maupun kelompok perlakuan karena dapat disebabkan oleh beberapa faktor seperti demam, kedinginan, stres emosi dan fisik, latihan fisik yang berat, serta lepasnya sel-sel tubulus yang tua. Kemudian hasil penelitian morfologi ginjal diketahui bahwa morfologi ginjal kelompok perlakuan memiliki kesamaan morfologi dengan kelompok kontrol yang artinya tidak ada pengaruh serbuk cacing tanah (*Pheretima javanica* K.) terhadap morfologi ginjal tikus putih (*Rattus norvegicus* B.). Kemudian pada hasil penelitian histopatologi ginjal tikus putih (*Rattus norvegicus* B.) diketahui bahwa histopatologi ginjal tikus kelompok kontrol dan perlakuan sama-sama tidak ditemukan adanya kerusakan seperti degenerasi hidrofik, degenerasi melembak, dan nekrosis baik pada jenis kelamin jantan dan betina yang artinya serbuk cacing tanah (*Pheretima javanica* K.) tidak berpengaruh terhadap gambaran histopatologi ginjal tikus putih (*Rattus norvegicus* B.).

PRAKATA

Puji syukur penulis panjatkan kepada Allah SWT atas segala rahmat dan karunia-Nya sehingga penulis bisa menyelesaikan skripsi yang berjudul “Pengaruh Serbuk Cacing Tanah (*Pheretima javanica* K.) terhadap Protein Urin, Morfologi Ginjal dan Gambaran Histopatologi Ginjal Tikus Putih (*Rattus norvegicus* B.)”. skripsi ini disusun guna memenuhi syarat menyelesaikan pendidikan strata 1 (S1) pada Program Studi Pendidikan Biologi Fakultas Keguruan dan Ilmu Pendidikan Universitas Jember.

Penulisan Skripsi ini tentunya tidak lepas dari bantuan berbagai pihak. Oleh karena itu penulis ingin menyampaikan terimakasih kepada:

1. Prof. Drs. Dafik, M.Sc., Ph.D selaku Dekan Fakultas Keguruan dan Ilmu Pendidikan Universitas Jember;
2. Dr. Dwi Wahyuni, M.Kes. selaku Ketua Jurusan Pendidikan MIPA;
3. Dr. Iis Nur Asyiah, S.P., M.P. selaku Ketua Program Studi Pendidikan Biologi;
4. Prof. Dr. Joko Waluyo, M.Si. selaku Dosen Pembimbing Utama dan Dr. Dwi Wahyuni, M.Kes. selaku Dosen Pembimbing Anggota yang telah meluangkan waktu dan dengan tulus membimbing penulis;
5. Dr. Jekti Prihatin, M.Si. selaku Dosen Penguji Utama dan Ibu Erlia Narulita, S.Pd., M.Si., Ph.D. selaku Dosen Penguji Anggota yang telah memberikan pengarahan dan masukan untuk perbaikan skripsi ini;
6. Bapak Agusmurdojohadi Putradjaka, A. Md. yang telah membantu dan membimbing penelitian kami di Laboratorium Biomedik Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Jember;
7. Bripda Dony Dwi Prasetya yang telah memberikan semangat dan motivasi selama penelitian;

8. Teman-Teman satu proyek penelitian yaitu Ayu, Ulfa, Desi dan Nafi yang telah banyak memberikan bantuan selama penelitian;
9. Naurah, Ulfa, Ayu, Anis, dan Rindayu yang telah membuat suasana perantauan seperti rumah sendiri;
10. Teman-teman satu DPA, teman-teman kelas A dan Kelas B yang sangat murah untuk berbagi ilmu, teman-teman angkatan 2014 yang memberikan kenangan-kenangan indah selama pendidikan;
11. Untuk semua pihak yang tidak dapat disebutkan satu persatu yang telah memberikan kontribusi dalam penyelesaian skripsi ini.

Penulis juga menerima segala kritik dan saran dari semua pihak demi kesempurnaan skripsi ini. Penulis berharap semoga skripsi ini bermanfaat.

Jember, Februari 2018

Penulis

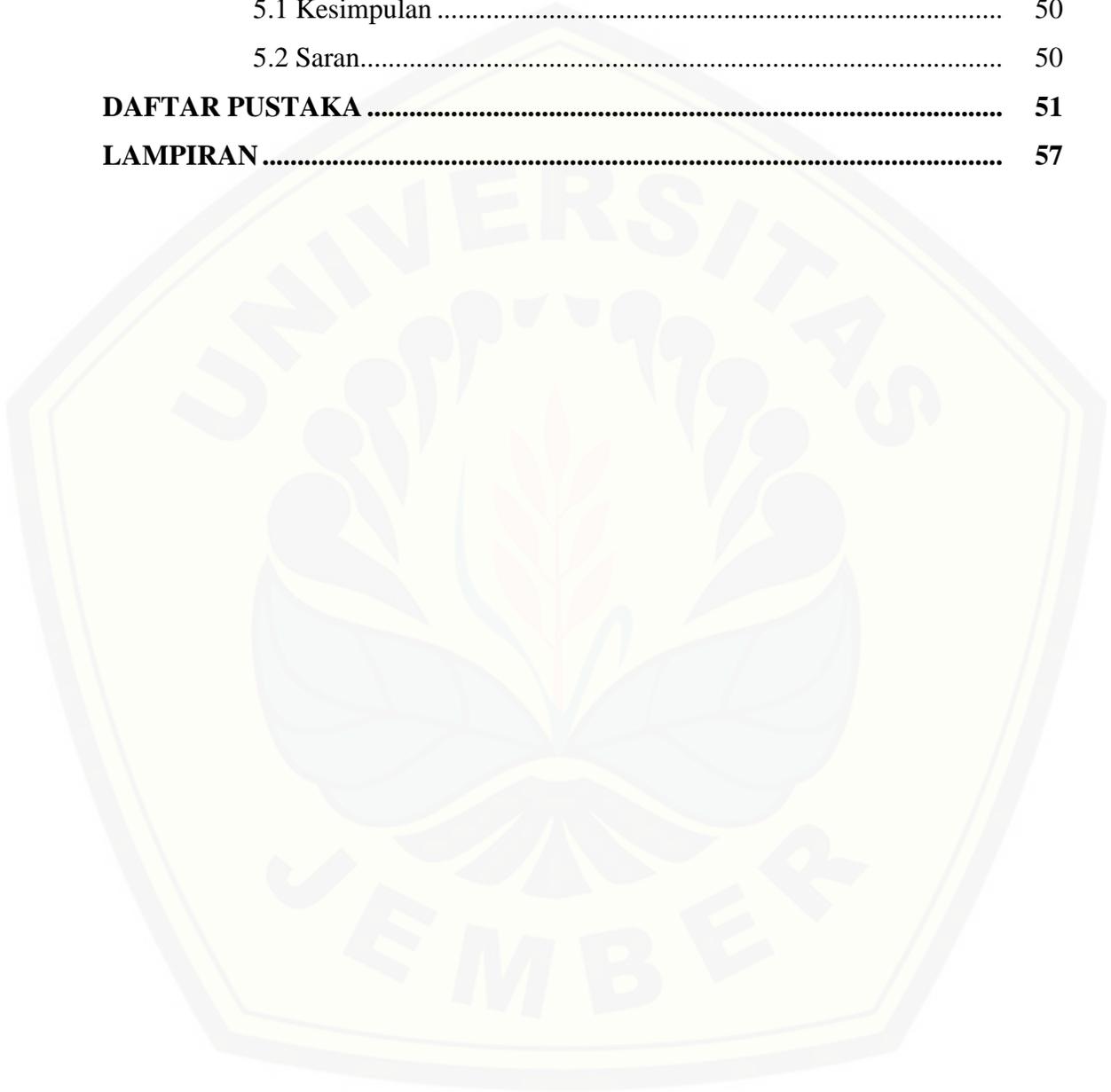
DAFTAR ISI

	Halaman
HALAMAN SAMPUL	i
HALAMAN JUDUL	ii
HALAMAN PERSEMBAHAN.....	iii
HALAMAN MOTTO	iv
HALAMAN PERNYATAAN.....	v
HALAMAN BIMBINGAN.....	vi
HALAMAN PERSETUJUAN.....	vii
HALAMAN PENGESAHAN	viii
RINGKASAN.....	ix
PRAKATA	xi
DAFTAR ISI.....	xiii
DAFTAR TABEL.....	xvii
DAFTAR GAMBAR	xviii
DAFTAR LAMPIRAN	xix
BAB 1. PENDAHULUAN.....	1
1.1 Latar Belakang.....	1
1.2 Rumusan Masalah	3
1.3 Batasan Masalah	4
1.4 Tujuan Penelitian.....	5
1.5 Manfaat Penelitian.....	5
BAB 2. TINJAUAN PUSTAKA	6
2.1 Cacing Tanah (<i>Pheretima javanica</i> K.)	6
2.1.1 Klasifikasi Cacing Tanah (<i>Pheretima javanica</i> K.)	6
2.1.2 Morfologi Cacing Tanah (<i>Pheretima javanica</i> K.)	7

2.1.3 Fisiologi Cacing Tanah (<i>Pheretima javanica</i> K.)	8
2.1.4 Habitat Cacing Tanah (<i>Pheretima javanica</i> K.).....	9
2.1.5 Aktivitas dan Sumber Makanan Cacing Tanah (<i>Pheretima javanica</i> K.).....	10
2.1.6 Kandungan Cacing Tanah (<i>Pheretima javanica</i> K.)	11
2.2 Ginjal	12
2.2.1 Anatomi dan Morfologi ginjal.....	12
2.2.2 Histopatologi Ginjal.....	14
2.2.3 Faal Ginjal.....	16
2.2.4 Faktor Penyebab Kerusakan Ginjal	17
2.3 Protein Urin.....	18
2.4 Kerangka Berpikir	19
2.5 Hipotesis.....	20
BAB 3. METODE PENELITIAN.....	21
3.1 Jenis Penelitian.....	21
3.2 Tempat dan Waktu Penelitian.....	21
3.3 Identifikasi Variabel Penelitian.....	21
3.3.1 Variabel Bebas	21
3.3.2 Variabel Terikat	21
3.3.3 Variabel Kontrol	22
3.4 Alat dan Bahan Penelitian	22
3.4.1 Alat Penelitian.....	22
3.4.2 Bahan Penelitian	22
3.5 Kriteria, Jumlah dan Pemilihan Sampel.....	23
3.5.1 Kriteria Sampel	23
3.5.2 Jumlah Sampel.....	23
3.5.3 Pemilihan Sampel	23
3.6 Definisi Operasional.....	24

3.7 Desain Penelitian	25
3.8 Prosedur Penelitian	26
3.8.1 Persiapan Pembuatan Serbuk Cacing Tanah (<i>Pheretima javanica</i> K.).....	26
3.8.2 Tahap Pengujian Tikus (<i>Rattus norvegicus</i> B.).....	26
3.8.3 Pemberian Serbuk Cacing Tanah (<i>Pheretima javanica</i> K.)....	27
3.8.4 Pemeriksaan Protein Urin	28
3.8.5 Pengamatan Morfologi Ginjal	28
3.8.6 Pembuatan Preparat Histologi ginjal	28
3.9 Analisis Data	31
3.10 Alur Penelitian	32
BAB 4. HASIL DAN PEMBAHASAN	33
4.1 Hasil Penelitian	33
4.1.1 Hasil Penelitian Protein Urin Tikus Putih (<i>Rattus norvegicus</i> B.)	33
4.1.2 Hasil Penelitian Morfologi Ginjal Tikus Putih (<i>Rattus norvegicus</i> B.)	35
4.1.3 Hasil Penelitian Histopatologi Ginjal Tikus Putih (<i>Rattus norvegicus</i> B.).....	36
4.2 Pembahasan	42
4.2.1 Pengaruh Serbuk Cacing Tanah (<i>Pheretima javanica</i> K.) terhadap Protein Urin Tikus Putih (<i>Rattus norvegicus</i> B.)	43
4.2.2 Pengaruh Serbuk Cacing Tanah (<i>Pheretima javanica</i> K.) terhadap Morfologi Ginjal Tikus Putih (<i>Rattus norvegicus</i> B.)	46
4.2.3. Pengaruh Serbuk Cacing Tanah (<i>Pheretima javanica</i> K.) terhadap Histopatologi Ginjal Tikus Putih (<i>Rattus norve-</i>	

<i>gicus B.)</i>	47
BAB. 5 PENUTUP	50
5.1 Kesimpulan	50
5.2 Saran.....	50
DAFTAR PUSTAKA	51
LAMPIRAN	57



DAFTAR TABEL

	Halaman
2.1 Perbandingan Kandungan Asam Amino (%) Pada Cacing Tanah, Ikan, dan Daging	11
3.1 Rancangan Penelitian Uji Pengaruh Serbuk Cacing Tanah (<i>Pheretima javanica</i> K.) pada Tikus Putih (<i>Rattus norvegicus</i> B.) Jantan	25
3.2 Rancangan Penelitian Uji Pengaruh Serbuk Cacing Tanah (<i>Pheretima javanica</i> K.) pada Tikus Putih (<i>Rattus norvegicus</i> B.) Betina.....	27
3.3 Komposisi Pakan Jenis PLIP	27
3.4 Prosedur <i>Tissue Processor</i> dan Pengaturan Waktu	29
3.5 Tahap Pewarnaan Mayers Hematoxylin Eosin	30
3.6 Skor Derajat Kerusakan Jaringan Ginjal.....	31
4.1 Protein Urin Tikus Betina Sebelum dan Sesudah Perlakuan.....	34
4.2 Protein Urin Tikus Jantan Sebelum dan Sesudah Perlakuan	34
4.3 Hasil Pengamatan Morfologi Ginjal Tikus Putih (<i>Rattus norvegicus</i> B.) betina	35
4.4 Hasil Pengamatan Morfologi Ginjal Tikus Putih (<i>Rattus norvegicus</i> B.) Jantan.....	36
4.5 Skor Derajat Kerusakan Jaringan Ginjal.....	42

DAFTAR GAMBAR

	Halaman
2.1 <i>Pheretima javanica</i> K.	8
2.2 Histopatologi Ginjal Tikus Kelompok Kontrol	16
2.3 Histopatologi Ginjal Tikus yang Mengalami Degenerasi dan Nekrosis	16
2.4 Kerangka Berpikir	19
3.1 Skema Alur Penelitian.....	32
4.1 Histopatologi ginjal kelompok kontrol betina dengan pewarnaan HE.....	37
4.2 Histopatologi ginjal kelompok P1 betina dengan pewarnaan HE.....	37
4.3 Histopatologi ginjal kelompok P2 betina dengan pewarnaan HE	38
4.4 Histopatologi ginjal kelompok P3 betina dengan pewarnaan HE	38
4.5 Histopatologi ginjal kelompok P4 betina dengan pewarnaan HE	39
4.6 Histopatologi ginjal kelompok Kontrol jantan dengan pewarnaan HE.....	39
4.7 Histopatologi ginjal kelompok P1 jantan dengan pewarnaan HE	40
4.8 Histopatologi ginjal kelompok P2 jantan dengan pewarnaan HE	40
4.9 Histopatologi ginjal kelompok P3 jantan dengan pewarnaan HE	41
4.10 Histopatologi ginjal kelompok P4 jantan dengan pewarnaan HE.....	41

DAFTAR LAMPIRAN

	Halaman
Lampiran A. Matriks Penelitian.....	58
Lampiran B. Analisis <i>SPSS Paired-Sample T Test</i>	61
Lampiran C. Hasil Lab Protein Urin.....	62
Lampiran D. Dokumentasi	66
Lampiran E. Foto Morfologi Ginjal.....	68
Lampiran F. Lembar Konsultasi	70
Lampiran G. Surat Penelitian.....	72

BAB 1. PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

Cacing tanah telah lama dikenal oleh manusia. Hewan ini hidup di serasah karena terlindung dari sinar matahari, lembab, dan gembur. Habitat ini sangat baik bagi cacing tanah untuk tumbuh dan berkembang biak (Ovianto, 2004). Cacing tanah memiliki banyak jenis. Jenis yang banyak ditemukan di Pulau Jawa antara lain yaitu *Pontoscolex coretrurus*, *Lumbricus rubellus*, *Pheretima capensis* dan *Pheretima javanica*. Dari ketiga cacing tanah tersebut jumlah populasinya paling banyak di Pulau Jawa adalah *Pheretima javanica* (Waluyo, 1994). Uji pendahuluan terhadap potensi beberapa ekstrak cacing tanah menunjukkan bahwa *Pheretima javanica* mengandung senyawa antibakteri (Waluyo, 2003).

Senyawa antibakteri pada cacing tanah dipercaya dapat menghambat pertumbuhan bakteri seperti *Escherichia coli*, *Shigella dysenteriae*, *Staphylococcus aureus*, dan khususnya *Salmonella thypi*. Kemampuan cacing tanah dalam menghambat pertumbuhan bakteri disebabkan oleh kandungan zat antibakteri yang terdapat pada cacing tanah yaitu mikroba simbiotik *Streptomyces sp.* yang menghasilkan antibiotik streptomisin (Arifiyanti, 2009). Menurut Indriati (2012) cacing tanah (*Lumbricus rubellus*) memiliki aktifitas antimikroba karena menghasilkan zat pengendali bakteri yang bernama *lumbricin*. Selain itu secara umum cacing tanah dilaporkan memiliki pengaruh sebagai antipiretik (Zhang *et al*, 1992). Antipiretik adalah golongan obat yang berfungsi menurunkan demam. Beberapa obat yang termasuk dalam golongan ini adalah Asetaminofen, Ibuprofen dan aspirin (Jurnalis *et al*, 2015). Cacing tanah juga diketahui mengandung protein yang bisa mencapai 84,5% (Simanjuntak dan Waluyo, 1982). Dalam dunia modern sekarang ini, cacing tanah sering digunakan sebagai obat karena banyak mengandung senyawa aktif tersebut (Hermawan, 2013). Di Indonesia seperti Jawa Barat dan

Lampung, cacing tanah dimanfaatkan sebagai bahan obat tradisional. Ada dua jenis cacing tanah yang sering digunakan yaitu dari jenis *Lumbricus rubellus* dan *Pheretima sp.* (Priosoeryanto *et al.*, 2001).

Ginjal merupakan organ tubuh yang sering menerima dampak akibat penggunaan obat, khususnya mengenai pengaruhnya terhadap nefron (Bagnis, 2004). Resiko tersebut tidak hanya terdapat pada penggunaan obat modern, tetapi juga pada obat tradisional (Sohn, 2009). Oleh karena itu, Setiap obat atau makanan harus diteliti pengaruhnya sebelum diperbolehkan penggunaannya secara luas (Gani, 1995). WHO juga telah menempatkan perihal keamanan obat tradisional menjadi salah satu langkah penting didalam strategi pengembangan obat tradisional periode 2014-2023 (WHO, 2013).

Untuk mengetahui pengaruh suatu obat atau makanan perlu diadakan uji ilmiah. Pada percobaan ini organ yang diperiksa secara histopatologi adalah ginjal. Menurut Guyton dan Hall (2008) Pemeriksaan histopatologi ginjal berfungsi untuk mengetahui gejala yang terjadi pada struktur organ yang mengalami paparan senyawa uji. Alasannya karena ginjal merupakan organ sasaran utama dari efek senyawa uji selain hati. Parameter perubahan histopatologi ginjal yang diamati adalah terjadinya peradangan. Peradangan merupakan respon protektif setempat yang ditimbulkan oleh cedera atau kerusakan yang berfungsi menghancurkan, mengurangi atau mengurung agen pencedera maupun jaringan yang cedera. Sedangkan urin digunakan untuk pemeriksaan fungsi ginjal. Menurut Argalawa (2005) ginjal yang sehat selain ditandai dengan fungsi yang baik, konsentrasi protein yang dikeluarkan melalui urin lebih rendah juga harus mempunyai ukuran yang normal.

Mengetahui suatu pengaruh obat merupakan langkah awal untuk melindungi konsumen terhadap kemungkinan bahaya obat tersebut (Klaasen, 1995). Manfaat uji tersebut adalah untuk mendapatkan gejala yang mungkin timbul karena obat, mengetahui batas kemanan, dan derajat kematian hewan percobaan akibat obat. Uji tersebut dapat dilakukan dalam jangka waktu 90 hari (Murtini *et al.*, 2007). Biasanya

uji pengaruh suatu obat dapat dilakukan pada hewan uji salah satunya tikus putih (*Rattus norvegicus* B.). Hewan ini termasuk dalam kelompok mamalia, sehingga pengaruh yang didapat oleh tikus putih (*Rattus norvegicus* B.) ini hampir sama dengan pengaruh yang akan diperoleh dengan manusia. Kelompok mamalia dipilih karena memiliki kemiripan secara fisiologis dengan manusia (Wolfenshon dan Lloyd, 2013).

Dari penelitian sebelumnya, menurut Sari (2017) pengujian serbuk cacing tanah kering terhadap histologi ginjal pada tikus putih (*Rattus norvegicus* B.), menghasilkan nilai *Lethal Dose* (LD_{50}) semu. Dikatakan semu karena dosis yang diberikan sudah mencapai batas maksimum volume yang boleh diberikan pada hewan uji tikus putih (*Rattus norvegicus* B.). Pada uji ini LD_{50} yang diketahui sebagai LD_{50} semu yaitu 5000 mg/ Kg BB, sehingga dikatakan praktis tidak berpengaruh. Oleh karena itu, dari latar belakang tersebut perlu dibuat uji lanjutan dengan judul “Pengaruh Serbuk Cacing Tanah (*Pheretima Javanica* K.) terhadap Protein Urin, Morfologi Ginjal dan Gambaran Histopatologi Ginjal Tikus Putih (*Rattus Norvegicus* B.)”

1.2 Rumusan Masalah

Berdasarkan latar belakang yang telah dikemukakan, maka dapat rumusan masalahnya sebagai berikut:

- a. Bagaimana pengaruh serbuk cacing tanah (*Pheretima javanica* K.) terhadap protein urin tikus putih (*Rattus norvegicus* B.)?
- b. Bagaimana pengaruh serbuk cacing tanah (*Pheretima javanica* K.) terhadap morfologi ginjal tikus putih (*Rattus norvegicus* B.)?
- c. Bagaimana pengaruh serbuk cacing tanah (*Pheretima javanica* K.) terhadap gambaran histopatologi ginjal tikus putih (*Rattus norvegicus* B.)?

1.3 Batasan Masalah

Untuk mempermudah pembahasan dan mengurangi kerancuan dalam menafsirkan masalah dalam penelitian ini, maka perlu adanya batasan masalah sebagai berikut:

- a. *Pheretima javanica* K. yang dewasa dan sehat dengan ciri fisik yaitu bagian klitelum terlihat jelas, warna dorsal lebih gelap dari pada ventral, ukuran tubuh dewasa rata-rata besar dan panjang, serta pergerakannya lincah dan dengan panjang kisaran 25 cm.
- b. Cacing tanah yang digunakan didapatkan dengan cara cacing tanah dicuci bersih lalu dikeringkan bersama isi perutnya, kemudian ditimbang sesuai dengan dosis yang telah ditentukan.
- c. Cacing tanah yang digunakan dalam bentuk serbuk
- d. Pelarut yang digunakan untuk mengemulsikan serbuk cacing tanah (*Pheretima javanica* K.) adalah larutan aquadest dan *carboxymethyl cellulose CMC* Na 1%.
- e. Tikus putih galur wistar (*Rattus norvegicus* B.) dengan jenis kelamin jantan dan betina, kisaran berat 170-200 gram dengan usia 6-8 bulan.
- f. Profil urin tikus putih (*Rattus norvegicus* B.) yang dianalisis yaitu kandungan protein dalam urin.
- g. Morfologi ginjal tikus putih (*Rattus norvegicus* B.) yang dilihat yaitu bentuk, warna, dan struktur permukaan.
- h. Gambaran histopatologi yang diamati yaitu degenerasi hidrofik, degenerasi lemak dan nekrosis.
- i. Variasi dosis serbuk cacing tanah (*Pheretima javanica* K.) yang digunakan yaitu 0,4 g/ Kg BB, 0,8 g/ Kg BB, 1,6 g/ Kg BB, dan 3,2 g/ Kg BB.

1.4 Tujuan Penelitian

Berdasarkan rumusan masalah yang ada, maka tujuan dari penelitian ini adalah:

- a. Untuk menganalisis pengaruh serbuk cacing tanah (*Pheretima javanica* K.) terhadap protein urin tikus putih (*Rattus norvegicus* B.).
- b. Untuk menganalisis pengaruh serbuk cacing tanah (*Pheretima javanica* K.) terhadap morfologi ginjal tikus putih (*Rattus norvegicus* B.).
- c. Untuk menganalisis pengaruh serbuk cacing tanah (*Pheretima javanica* K.) terhadap histopatologi ginjal tikus putih (*Rattus norvegicus* B.).

1.5 Manfaat Penelitian

Manfaat yang diperoleh dari penelitian ini adalah:

- a. Bagi penulis dapat membuktikan secara ilmiah mengenai pengaruh serbuk cacing tanah (*Pheretima javanica* K.) terhadap protein urin, morfologi ginjal, dan gambaran histopatologi ginjal pada tikus putih (*Rattus norvegicus* B.).
- b. Bagi peneliti lain dapat digunakan sebagai bahan penelitian selanjutnya terkait uji pengaruh serbuk cacing tanah (*Pheretima javanica* K.) terhadap protein urin, morfologi ginjal, dan gambaran histopatologi ginjal pada tikus putih (*Rattus norvegicus* B.).
- c. Bagi masyarakat dapat memberikan informasi untuk memanfaatkan cacing tanah (*Pheretima javanica* K.) sebagai antibakteri seperti pada bakteri *Salmonella thypi*.

BAB 2. TINJAUAN PUSTAKA

2.1 Cacing Tanah (*Pheretima javanica* K.)

Cacing tanah merupakan jenis hewan tingkat rendah yang tidak memiliki tulang belakang atau disebut avertebrata dan bertubuh lunak. Cacing tanah ini tergolong ke dalam filum annelida karena tubuhnya tersusun dari beberapa segmen (ruas) berbentuk cincin (Khairumam dan Amri, 2009). Jenis cacing tanah yang banyak ditemukan di Pulau Jawa yaitu *Pontoscolex coretrurus*, *Lumbricus rubellus*, *Pheretima capensis*, dan *Pheretima javanica*. Diantara keempat cacing tersebut yang paling banyak jumlah populasinya adalah spesies *Pheretima javanica* (Waluyo, 1994). Cacing tanah secara luas digunakan dalam pengobatan oriental tradisional untuk mengobati penyakit kardiovaskular dan antipiretik. Rongga tubuh cacing tanah mengandung cairan selom yang mengandung materi biologis seperti antibakteri, hemolitik, aglutinatif, dan kegiatan mitogenik (Fu *et al*, 2014). Pada penelitian ini jenis cacing yang digunakan adalah *Pheretima javanica*, oleh karena itu akan banyak dibahas mengenai cacing tanah jenis ini.

2.1.1 Klasifikasi Cacing Tanah (*Pheretima javanica* K.)

Klasifikasi *Pheretima javanica* dalam ITIS (2017) adalah sebagai berikut:

Kingdom	: Animalia
Subkingdom	: Bilateria
Infrakingdom	: Prostostomia
Superphylum	: Lophozoa
Phylum	: Annelida
Class	: Clitellata
Superorder	: Metagynophora
Order	: Opisthopora

Suborder : Crassiclitellata
Superfamily : Megascolecoidea
Family : Megascolecoidea
Genus : *Pheretima* Kinberg

2.1.2 Morfologi Cacing Tanah (*Pheretima javanica* K.)

Tubuh cacing tanah terbagi atas lima bagian yaitu bagian depan (anterior), bagian tengah, bagian belakang (posterior), bagian punggung (dorsal), dan bagian bawah (ventral). Organ mulut terdapat di depan segmen pertama dan anus berada di bagian belakang pada segmen terakhir. Mulut dan anus bukan bagian dari segmen tapi bagian dari tubuh itu sendiri. Mulut cacing juga dilengkapi dengan prostomium (bibir mulut) (Khairumam dan Amri, 2009). Prostomium pada cacing berfungsi sebagai organ syaraf perasa yang terbentuk dari tonjolan daging yang menutupi lubang mulut cacing. Prostomium menyebabkan cacing menjadi lebih peka terhadap benda-benda disekitarnya (Bachtiar *et al*, 2013).

Pada cacing dewasa terdapat klitelum yang berfungsi untuk perkembangbiakan. Klitelum merupakan bagian tubuh cacing yang mengalami penebalan yang terletak di antara anterior dan posterior. Warna klitelum lebih terang dari tubuhnya. Pada setiap segmen tubuh cacing tanah terdapat seta (setae) yaitu rambut yang pendek dan keras yang berfungsi sebagai pencengkeram atau perlekatan pada tempat cacing berada (Rukmana, 1999).

Pheretima javanica memiliki ciri ekstrenal yaitu panjang 110-140 mm, diameternya 3,0-5 mm, jumlah segmen pada tubuhnya sekitar 102 hingga 125 segmen. Bagian dorsal memiliki warna yang lebih gelap daripada bagian ventral, bagian dorsal agak kehitaman dan kebiru-biruan dengan bagian anterior lebih hitam daripada bagian posterior. Sedangkan pada bagian ventral dari cacing ini berwarna coklat muda sampai keputihan. Prostomium tipe epilobus dengan lubang dorsal

dimulai pada segmen XII/XIII. Klitelum berbentuk seperti cincin yang terletak pada segmen XiV-XVI (Waluyo, 1993).

Sifat cacing tanah adalah hermaprodit, sehingga pada tubuhnya terdapat dua alat kelamin. Tetapi dalam perkembangbiakannya tetap membutuhkan pasangan. Dalam sekali bertelur cacing tanah bisa menghasilkan 200 butir telur. Dalam waktu 2 sampai 3 hari telur akan menetas dan menjadi individu baru (Bachtiar *et al*, 2003). Lubang kelamin jantan berjumlah sepasang yang terletak pada segmen XVII. Lubang ini menonjol keluar seperti bibir yang melingkar dan diantara lubang kelamin. Lubang kelamin betina ada pada segmen XIV sementara lubang spermateka ada 2 pasang dan terletak pada segmen VII/VIII. Pada cacing tidak ada papila genitalia (Waluyo, 1993).



Gambar 2.1 *Pheretima* sp.: a) morfologi tubuh; b) klitelum berbentuk annular; c) prostomium tipe epilobus; d) seta perichitine. Perbandingan skala cacing *Pheretima* sp. pada gambar dengan cacing *Pheretima* sp. yang sebenarnya adalah 1:3 (dalam cm) (Jayanthi *et al*, 2014).

2.1.3 Fisiologi Cacing Tanah (*Pheretima javanica* K.)

Pheretima javanica memiliki 5 pasang jantung. Darahnya terdiri atas cairan plasma yang mengandung corpuscles yang tidak berwarna (*amoebocyte*) dan plasma darahnya berwarna merah karena mengandung hemoglobin. Pigmen hasil respirasi terlarut di dalam hemoglobin. Peredaran darah terjadi ke dan dari seluruh tubuh dalam suatu sistem pembuluh darah tertutup di kapiler darah. Zat-zat makanan dan oksigen dialirkan ke sel-sel atau jaringan dan CO₂ dikeluarkan (Waluyo, 2006).

Cacing ini sudah memiliki pembuluh darah sehingga memiliki sistem peredaran darah tertutup. Darahnya berwarna merah karena mengandung hemoglobin. Pembuluh darah yang melingkari esofagus berfungsi memompa darah keseluruhan tubuh (Budiarti, 2006). Alat peredaran cacing tanah terdiri atas pembuluh darah punggung, pembuluh darah perut, dan lima pasang lengkap aorta. Lengkung aorta tersebut berfungsi sebagai jantung. Sistem saraf annelida adalah sistem saraf tangga tali. Ganglia otak terletak di depan faring pada arterior (Wiryo, 2006).

Epidermis kulit cacing biasanya berfungsi sebagai organ pernafasan. Cacing tanah tidak memiliki sistem pernafasan tetapi cacing tanah memperoleh O₂ dan melepaskannya CO₂ melalui membran luar atau kulit. Dalam proses pernafasan oksigen akan bercampur dengan hemoglobin dalam darah dan diedarkan keseluruhan jaringan. Pada keadaan yang mendesak, cacing tanah dapat bertahan hidup selama beberapa jam tanpa suplai udara segar (Waluyo, 2006).

2.1.4 Habitat Cacing Tanah (*Pheretima javanica* K.)

Cacing tanah termasuk spesies *Pheretima javanica* hidup ditempat lembab dan tidak terkena sinar matahari langsung. Kelembapan ini penting untuk mempertahankan cadangan air dalam tubuh (Indriani, 2007). Jenis tanah yang disukai oleh cacing adalah tanah yang kaya akan bahan organik, teksturnya gembur, dan agak basah. Namun, cacing tanah tidak hanya ditemukan di tanah yang gembur tapi juga dapat ditemukan di tumpukan sampah organik yang lembab dan sudah terurai. Sampah disukai cacing karena banyak mengandung humus atau bahan organik yang merupakan sumber makanan bagi cacing (Bachtiar *et al*, 2003).

Penyebaran cacing tanah dipengaruhi oleh kondisi bahan organik. Bahan organik sangat penting untuk perkembangan dan pertumbuhan cacing tanah. Tanah yang mengandung sedikit bahan organik biasanya sulit dijumpai cacing tanah. Kalaupun ada jumlahnya sangat sedikit (Palungkun, 2011). Menurut Rukmana

(1999), cacing tanah dapat hidup pada habitat alami maupun buatan. Berikut merupakan faktor-faktor yang mempengaruhi kehidupan cacing tanah di habitatnya:

a. Suhu (*Temperature*)

Suhu ideal untuk cacing tanah dan penetasan kokon berkisar 15°C-25°C. Suhu tanah yang lebih tinggi dari 25°C masih cocok untuk cacing tanah, tetapi juga harus diimbangi dengan kelembapan yang memadai dan naungan yang cukup. Oleh karena itu, cacing tanah biasanya sering ditemukan di bawah pohon atau dibawah tumpukan sampah organik.

b. Kelembapan

Kelembapan tanah berpengaruh dalam kemampuan reproduksi cacing tanah. Kelembapan yang ideal untuk cacing tanah adalah 15%-50%. Kelembapan optimum pada rH 42%-60%. Kelembapan tanah yang terlalu tinggi dapat menyebabkan cacing tanah berwarna pucat dan kemudian mati. Sebaliknya bila kelembapan terlalu rendah, cacing tanah akan masuk kedalam tanah kemudian berhenti makan dan akhirnya mati.

c. Keasaman tanah (pH)

Cacing tanah tumbuh dan berkembang biak pada tanah yang sedikit asam sampai netral. Kisaran keasaman tanah (pH) yang ideal untuk cacing tanah adalah 6-7,2.

2.1.5 Aktivitas dan Sumber Makanan Cacing Tanah (*Pheretima javanica* K.)

Cacing tanah biasanya keluar pada malam hari untuk mencari makan. Cacing tanah jarang keluar di siang hari (Radiopoetro, 1990). Cacing tanah tidak memiliki indera penglihatan tapi bisa menemukan makanannya dengan menggunakan prostomium pada tubuhnya. Cacing tanah bereaksi negatif terhadap matahari. Dalam jangka waktu beberapa menit saja cacing tanah bisa mati jika terkena sinar matahari (Bachtiar *et al*, 2003).

Cacing tanah *Pheretima javanica* memperoleh makanan dari zat-zat organik sisa organisme yang sudah mati terutama hewan dan tumbuhan (Radiopoetro, 1990).

Cacing tanah mencerna makanannya di dalam tanah (Nelfia, 2013). Makanan cacing tanah adalah bahan organik yang telah dirombak oleh mikroorganisme tanah terutama bakteri. Selain itu, bahan organik yang merupakan makanan bagi cacing tanah dapat berasal dari serasah, kotoran ternak atau hewan yang telah mati (Yuliprianto, 1993). Menurut Nurhadi dan Yanti (2016) cacing tanah juga akan keluar dari liangnya untuk mencari makan. Cacing tanah mencari makan dengan cara menggaruk-garukkan ekornya ke tanah dan makanan di ambil dengan menggunakan tubuhnya.

2.1.6 Kandungan Cacing Tanah (*Pheretima javanica* K.)

Kandungan gizi cacing tanah cukup tinggi, terutama kandungan proteinnya yang mencapai 61% (Palungkun, 2008). Kandungan protein cacing ternyata lebih tinggi dari sumber protein lainnya, misalnya daging 51% dan ikan 60%. Jepang, Hongaria, Thailand, Filipina dan Amerika Serikat cacing dimanfaatkan sebagai bahan makanan manusia selain digunakan bahan obat dan kosmetik (Rukmana, 1999).

Tabel 2.1. Perbandingan kandungan Asam Amino (%) Cacing Tanah, Ikan, Daging

NO	Kandungan asam anino	Cacing Tanah (%)	Daging (%)	Ikan(%)
1	Arginin	4,13	3,48	3,09
2	Sistein	2,29	1,07	0,80
3	Asam Glutamat	-	-	3,40
4	Glisin	2,29	2,09	4,40
5	Histidin	1,56	0,97	1,50
6	Isoleusin	2,58	1,33	3,60
7	Leusin	4,48	3,54	5,10
8	Lisin	4,33	3,08	6,40
9	Methionin	2,18	1,45	1,80
10	Fenilalanin	2,25	2,17	2,60
11	Serin	2,88	2,15	-
12	Theronin	2,95	1,77	2,80
13	Triptofan	-	-	0,70
14	Tirosin	1,36	1,29	1,80
15	Valin	3,01	2,22	3,50
16	Protein Kasar	61,00	51,00	60,00

(Sumber : Simanjuntak dan Waluyo, 1982).

Cacing tanah memiliki aktifitas mikroba karena menghasilkan zat pengendali bakteri yang bernama *lumbricin*. *Mode of action Lumbricin 1* dengan cara mengubah dan merusak mekanisme permeabilitas membrane sehingga metabolit sel bakteri terganggu (Palungkun, 2011). *Lumbricin 1* juga dapat menghambat sintesis protein dan DNA dalam sel bakteri (Indriani, 2012). *Lumbricin* juga dapat merusak sel bakteri sehingga membentuk celah yang menyebabkan perubahan permeabilitas pada membrane yang akhirnya dapat menyebabkan kematian sel. Didalam saluran cerna cacing tanah mengandung enzim lumbrokinase (Gayatri, 2013). Ekstrak cacing tanah juga diketahui mengandung mikroba simbiotik *Streptomyces sp.* yang menghasilkan antibiotik streptomisin (Arifiyanti, 2009). Selain itu, menurut Waluyo (2005) cacing tanah mengandung asam arakidonat yang sangat efektif sebagai penurun suhu tubuh pada demam infeksi.

2.2 Ginjal

2.2.1 Morfologi dan Anatomi Ginjal

Ginjal merupakan salah satu organ vital tubuh yang sangat penting dalam mempertahankan kesetabilan dalam tubuh. Ginjal berfungsi mengatur keseimbangan cairan tubuh, elektrolit dan asam basa melalui filtrasi darah, reabsorpsi selektif air, elektrolit dan non elektrolit. Ginjal juga berfungsi untuk mengeluarkan produk sisa metabolisme tubuh dan bahan kimia asing (Price dan Wilson 2006). Selain itu ginjal juga berfungsi untuk mengatur tekanan arteri, sekresi hormon, dan glukoneogenesis (Guyton dan Hall, 1997). Menurut Snell (2006) bentuk ginjal mirip dengan kacang merah. Ginjal memiliki warna coklat kemerahan dengan permukaan yang halus. Bagian luar ginjal dibungkus oleh simpai jaringan fibrosa tipis yang dapat dilepaskan dengan mudah dari parenkim di bawahnya (Leeson *et al*, 2001). Pada tepi medial masing-masing ginjal yang cekung terdapat celah vertikal yang dikenal sebagai hilum renale yaitu tempat arteri renalis masuk dan vena renalis serta pelvis renalis keluar (Moore dan Anne, 2012).

Ginjal dibagi dua dari atas ke bawah, dua daerah utama yang dapat digambarkan yaitu korteks dibagian luar dan medulla dibagian dalam (Guyton dan Hall, 2008). Tikus mempunyai ginjal unilobar atau unipiramidal (Leeson *et al*, 2001). Setiap ginjal terdapat satu unit fungsional yang disebut nefron. Setiap nefron terdiri atas bagian yang melebar, korpuskulus ginjal, tubulus kontortus proksimal, segmen tebal dan tipis ansa Henle, serta tubulus kontortus distal (Junqueira *et al*, 2005).

2.2.2 Histopatologi Ginjal

Unit kerja fungsional pada ginjal disebut nefron. Satuan fungsi ginjal tersusun dari nefron dan duktus koligentes. Nefron terdiri dari korpuskulum renal dan tubuli distal (tubulus kontortus proksimal, lengkung henle, tubulus kontortus distal dan tubulus koligentes). Glomerulus tersusun atas kapiler arteriole afferen yang masuk dan afferen yang keluar terletak didekat vaskuler pole endotel kapiler dengan tipe *fenestrated* dan dikelilingi oleh kapsula bowman yang tersusun atas sepitel pipih selapis. Batas Tubulus kontortus proksimal dan asidofilik tidak jelas, inti sedikit dan banyak *brush border* dibandingkan tubulus distal yang pucat, batas jelas dan inti banyak (Eroschenko, 2010).

Ginjal berfungsi untuk menyaring darah untuk dijadikan urin. Darah yang membawa sisa metabolisme difiltrasi oleh glomerulus. Ditubulus ginjal, beberapa zat yang masih diperlukan tubuh direabsorpsi dan zat hasil sisa metabolisme disekresikan bersama air membentuk urin. Setiap hari tidak kurang dari 180 liter cairan tubuh difiltrasi di glomerulus dan menghasilkan urin sebanyak 1-2 liter (Purnomo, 2003). Urin merupakan jalur utama untuk menyekresikan sebagian besar zat toksik. Hal ini mengakibatkan ginjal memiliki volume aliran darah yang tinggi, mengkonsentrasikan zat toksik pada filtrat, membawa zat toksik melalui tubulus dan mengaktifkan zat toksik tertentu. Oleh karena itu, ginjal merupakan organ sasaran utama dari efek toksik (Lu, 1995). Berikut adalah susunan histologi ginjal dalam satu nefron:

a. Kapsula Bowman

Glomerulus adalah sekumpulan kapiler yang terbentuk dari arteriol aferen dan ditunjang jaringan ikat halus (Eroschenko, 2003).

b. Tubulus Kontortus Proksimal

Tubulus kontortus proksimal dilapisi oleh sel-sel selapis silindris. Sel ini memiliki sitoplasma asidofik yang disebabkan oleh adanya mitokondria panjang dalam jumlah besar. Apiks sel memiliki banyak mikrovili dengan panjang kira-kira satu μm yang membentuk *brush border* (Junqueira, 2007).

Pada kutub urinarius di korpuskel renalis, epitel pipih dilapisi parietal kapsula bowman berhubungan langsung dengan epitel tubulus kontortus proksimal yang berbentuk kuboid atau silindris rendah. Filtrat glomerulus yang terbentuk di dalam korpuskel renalis masuk ke dalam tubulus kontortus proksimal yang merupakan tempat dimulainya proses absorpsi dan ekskresi. Selain aktivitas tersebut, tubulus kontortus proksimal mensekresikan kreatinin dan substansi asing bagi organisme seperti asam para aminohippurat dan penisilin dari plasma interstisial ke dalam filtrat (Junqueira, 2002).

c. Lengkung Henle

Lengkung henle merupakan struktur yang berbentuk melengkung. Lengkung henle terdiri atas ruas tebal descenden, ruas tipis descenden, dan ruas tipis ascenden dan ruas tebal ascenden. Lumen ruas nefron ini lebar karena dindingnya terdiri atas sel epitel gepeng yang intinya hanya sedikit menonjol ke dalam lumen (Junqueira, 2007).

d. Tubulus Kontortus Distal

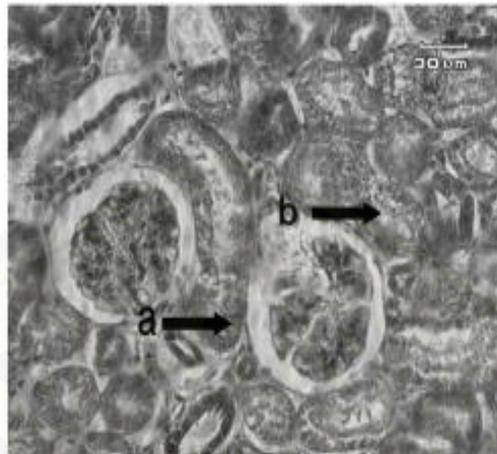
Tubulus kontortus distal merupakan bagian terakhir dari nefron yang dilapisi oleh sel epitel selapis kuboid. Sel-sel tubulus distal lebih pipih dan lebih kecil dibandingkan dengan tubulus proksimal sehingga tubulus distal tampak lebih memiliki banyak sel dan inti. Sel tubulus kontortus distal lebih banyak invaginasi membran basal dan mitokondria terkait yang menunjukkan fungsi transpor ionnya (Junqueira, 2007).

e. Tubulus Duktus Koligens

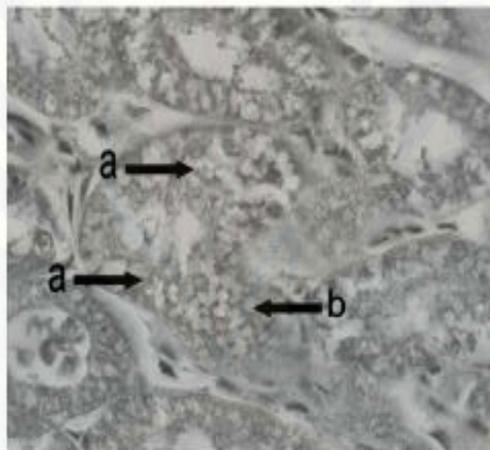
Tubulus koligens dilapisi epitel sel kuboid dan bergaris tengah lebih kurang 40 μ m, sewaktu tubulus masuk lebih dalam ke dalam medula, sel-selnya meninggi sampai menjadi silindris. Di sepanjang perjalanannya, tubulus dan duktus koligenster terdiri dari sel-sel yang pucat dengan pulasan biasa. Epitel duktus koligens responsif terhadap vasopressin arginin atau hormon antidiuretik, yang disekresi hipofisis posterior. Jika masukan air terbatas, hormon antidiuretik disekresikan dan epitel duktus koligens mudah dilalui air yang diabsorpsi dari filtrat glomerulus (Junqueira, 2007).

Pada umumnya dengan paparan zat toksik rendah bisa menyebabkan perubahan fisiologis dari tubulus proksimal, namun paparan dosis zat toksik tinggi juga akan menyebabkan perubahan morfologi. Perubahan morfologi pada ginjal ada dua macam yaitu reversibel dan irreversibel. Perubahan reversibel antara lain yaitu degenerasi sel tubulus, inflamasi sel tubulus dan terbentuknya *cast*. Sedangkan perubahan irreversibel yaitu atrofi atau dilatasi lumen, fibrosis sel tubulus, dan yang paling berat adalah nekrosis sel tubulus. Perubahan irreversibel biasanya ditandai dengan memipihnya inti sel dan hilangnya brush border (Price dan Wilson, 2006).

Penilaian tubulus kontortus proksimal ginjal yang abnormal dapat ditentukan dengan melihat sel-sel epitel yang menyusun tubulus kontortus proksimal. Dikatakan abnormal bila terjadi pembengkakan sel-sel penyusun epitel sehingga lumen tubulus proksimal menjadi menyempit bahkan menutup. Secara mikroskopis akan terlihat jelas. Gambaran seperti itu yang nantinya dilihat dan dihitung sebagai tubulus proksimal yang abnormal (Whyte, 2008).



Gambar 2.2 Histopatologis ginjal tikus kelompok kontrol. a= Glomerulus, b= Tubulus (HE, 400x) (Fahrimal *et al*,2016)



Gambar 2.3 Histopatologis ginjal tikus yang mengalami degenerasi dan nekrosis. a= Degenerasi, b= Nekrosis (HE, 1000x) (Fahrimal *et al*,2016)

2.2.3 Faal ginjal

Urinalisis adalah salah satu pemeriksaan laboratorium yang penting untuk mendiagnosis (Lembar, 2012). Banyak produk akhir metabolisme dan berbagai zat lainnya diekskresikan melalui urin. Pemeriksaan urinalisis selain memberikan indikasi kondisi ginjal sebagai organ ekskresi, juga mampu memberikan indikasi berbagai kondisi sistemik seseorang. Protein dalam urin biasanya dapat digunakan untuk menandakan bahwa seseorang sedang mengalami penyakit ginjal atau nefritis.

Pada kondisi normalnya hanya akan ada sebagian kecil dari protein plasma difiltrasi di glomerulus. Protein yang difiltrasi tersebut kemudian direabsorpsi di tubulus, sehingga dalam keadaan normal tidak ada protein plasma yang muncul di urin (Sherwood, 2001). Sejumlah protein ditemukan pada pemeriksaan urin rutin, baik tanpa gejala, ataupun dapat menjadi gejala awal dan mungkin suatu bukti adanya penyakit ginjal yang serius (Bawazier, 2006).

2.2.4 Faktor Penyebab Kerusakan Ginjal

Menurut kumar (2006), nefrotoksikasi ginjal dipengaruhi oleh berbagai hal, yaitu:

a. Obat atau zat kimia toksik

Ada beberapa jenis obat atau zat kimia yang dapat menyebabkan nefrotoksikasi yaitu seperti *Acetaminophen* dosis tinggi dapat menyebabkan nekrosis tubulus, obat Anti Inflamasi Non-Steroid (NSAID) menyebabkan nekrosis papiler, maupun Aminoglikosida dapat menyebabkan gagal ginjal.

b. Dosis

Dosis obat atau zat kimia yang digunakan sangat berpengaruh pada tingkat kerusakan ginjal. Semakin tinggi dosisnya yang masuk dalam peredaran darah sistemik maka semakin besar pula kerusakan sel yang terjadi.

c. Nutrisi

Nutrisi berpengaruh terhadap timbulnya kerusakan sel ginjal. Nutrisi diperlukan untuk menjaga fisiologis sel.

d. Jenis Kelamin

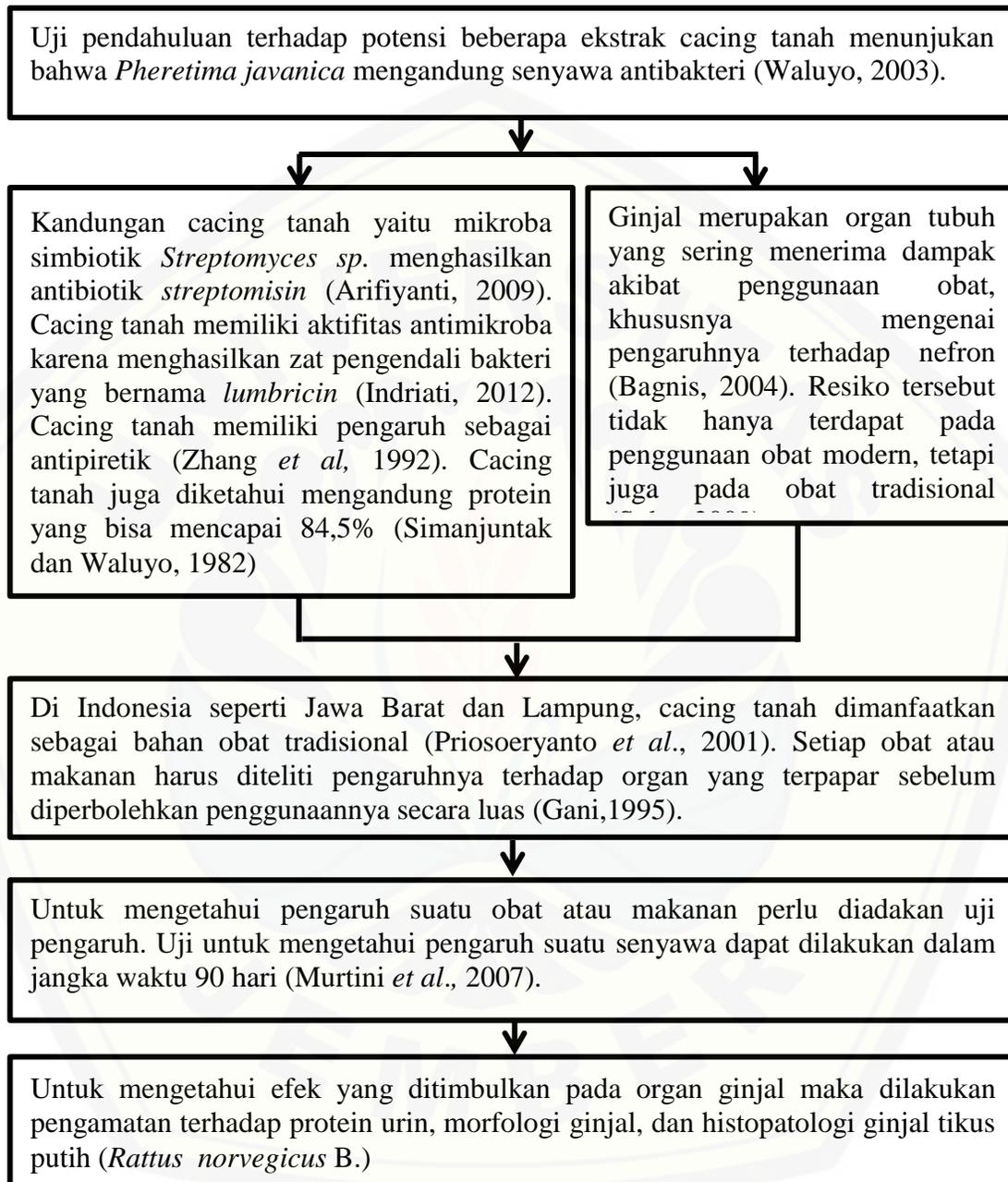
Jenis kelamin sangat berkaitan dengan proses hormonal dalam tubuh. Pada jenis kelamin perempuan kerja hormonal lebih banyak dibandingkan dengan laki-laki. Diduga hormon juga berpengaruh terhadap metabolisme maupun reaksi zat dalam tubuh misal dalam proses penyimpanan lemak, yaitu ketika peneliti menghilangkan

ovarium tikus betina untuk meniru kondisi menopause, mereka melihat bahwa jaringan asam lemak tikus betina tampak seperti jantan (kompas, 2014).

2.3 Protein Urin

Urine atau disebut juga kemih atau air kencing merupakan cairan yang diekskresikan oleh ginjal. Urin disimpan dalam kandung kemih dan dikeluarkan melalui uretra. Urinalisis adalah pemeriksaan urine lengkap di laboratorium. Biasanya urinalisis rutin meliputi pemeriksaan warna, kejernihan, berat jenis, pH, protein, glukosa, keton, dan pemeriksaan mikroskopis. Pemeriksaan tersebut berfungsi untuk mendiagnosis penyakit ginjal, infeksi saluran kemih, dan untuk mendeteksi penyakit gangguan metabolisme yang tidak berhubungan dengan ginjal. Beberapa tes skrining cepat untuk mengetahui kandungan protein urin (*Labstix*, *Combistix*, *Albustix*, *Albutest*) memanfaatkan prinsip protein error dari indikator pH. Sebagian besar tes lain untuk protein urin menggunakan prinsip presipitasi protein oleh sebab seperti panas dan asam asetat, asam nitrat, asam sulfosalisilat, dan asam trichlorasetat. Dalam larutan asam, albumin dan globulin dikoagulasi oleh panas dengan adanya garam anorganik (White, 1970).

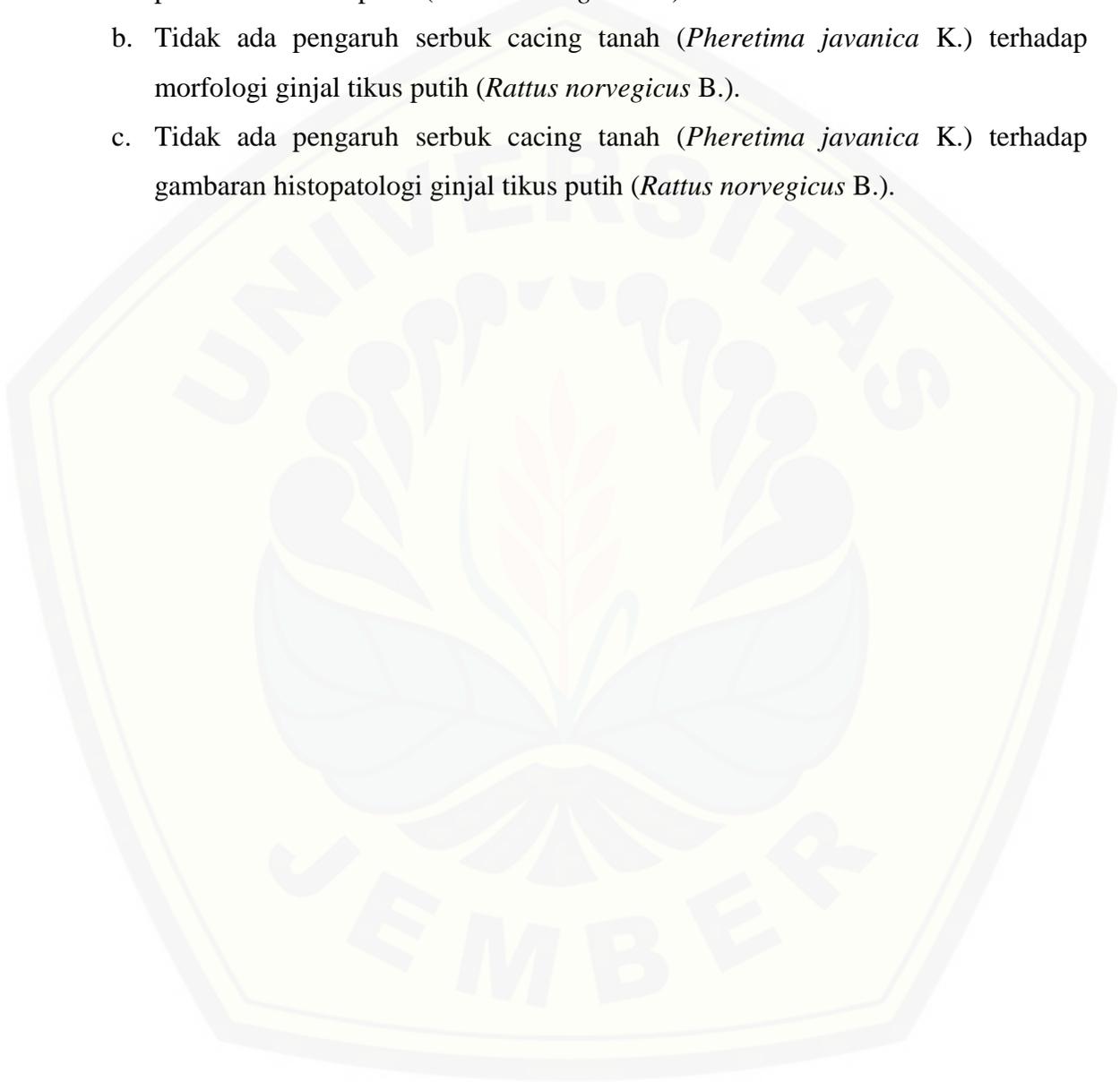
2.4 Kerangka berfikir



Gambar 2.4 Bagan Kerangka Berpikir

2.6 Hipotesis

- a. Tidak ada pengaruh serbuk cacing tanah (*Pheretima javanica* K.) terhadap protein urin tikus putih (*Rattus norvegicus* B.).
- b. Tidak ada pengaruh serbuk cacing tanah (*Pheretima javanica* K.) terhadap morfologi ginjal tikus putih (*Rattus norvegicus* B.).
- c. Tidak ada pengaruh serbuk cacing tanah (*Pheretima javanica* K.) terhadap gambaran histopatologi ginjal tikus putih (*Rattus norvegicus* B.).



BAB 3. METODE PENELITIAN

3.1 Jenis Penelitian

Jenis penelitian ini adalah eksperimental laboratorik karena bertempat di laboratorium sehingga sifatnya eksperimen atau percobaan. Sifat data yang dihasilkan adalah kuantitatif dan kualitatif karena berupa angka dan gambar.

3.2 Tempat dan Waktu penelitian

Penelitian ini dilakukan di Laboratorium Biomedik Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Jember, Laboratorium Biologi Program Studi Pendidikan Biologi Universitas Jember dan laboratorium Piramida Jember. Penelitian ini dimulai pada bulan Juni sampai Oktober 2017.

3.3 Identifikasi Variabel Penelitian

3.3.1 Variabel Bebas

Variabel bebas merupakan variabel yang menjadi sebab munculnya perubahan (variabel terikat). Variabel bebas dalam penelitian ini yaitu serbuk cacing tanah (*Pheretima javanica* K.) dengan variasi dosis yang telah ditentukan.

3.3.2 Variabel Terikat

Variabel terikat merupakan variabel yang muncul akibat pengaruh variabel bebas. Berikut adalah variabel terikat dalam penelitian ini:

- a. Profil kimia urin tikus putih (*Rattus norvegicus* B.)
- b. Morfologi ginjal tikus putih (*Rattus norvegicus* B.)
- c. Perubahan gambaran histopatologi ginjal tikus putih (*Rattus norvegicus* B.)

3.3.3 Variabel Kontrol

Variabel kontrol merupakan variabel yang dikendalikan oleh peneliti sehingga hubungan variabel bebas dan variabel terikat tidak dipengaruhi oleh faktor lain yang tidak ikut diteliti. Berikut variabel kontrol dalam penelitian ini:

- a. Jenis hewan coba adalah tikus putih (*Rattus norvegicus* B.) wistar strain;
- b. Berat hewan coba yang digubakan kisaran 175-200 gram;
- c. Umur hewan coba yang digunakan kisaran 6-8 bulan;
- d. Jenis kelamin hewan coba yang digunakan meliputi jantan dan betina;
- e. Hewan coba dalam keadaan sehat;
- f. Waktu penelitian 97 hari (termasuk masa aklimatisasi).

3.4 Alat dan Bahan Penelitian

3.4.1 Alat Penelitian

Alat-alat yang digunakan pada penelitian ini yaitu: blender, ayakan, nampan, timba, kandang tikus, tempat makan dan minum tikus, gelas beker, gelas ukur, sonde lambung, neraca digital, rak urin, botol aqua bekas ukuran 1,5 liter, corong, pot urin, papan dan alat seksio, botol vial, pipet, bunsen, kaki 3, kawat kasa, kaca objek dan kaca penutup, mikrotom, mikroskop, kertas label, buku agenda, alat tulis, kamera digital.

3.4.2 Bahan Penelitian

Bahan-bahan yang digunakan dalam penelitian ini yaitu: cacing tanah (*Pheretima javanica* K.), *carboxymethyl cellulose* Na 1% , larutan bouin, alkohol, xylol, parafin, pewarna hematoksilin, formalin, entelan, aquades, tisu, pakan tikus, serta tikus putih (*Rattus norvegicus* B.) jantan dan betina.

3.5 Kriteria, Jumlah dan Pemilihan Sampel

3.5.1 Kriteria Sampel

Tikus putih (*Rattus norvegicus* B.) yang digunakan dalam penelitian ini yaitu tikus putih dengan jenis kelamin jantan dan betina dengan tubuh sehat, tidak cacat, sudah dewasa dengan kisaran berat badan 175-200 gram, dan berumur 6-8 bulan.

3.5.2 Jumlah Sampel

Jumlah total sampel yang digunakan dalam penelitian ini adalah 50 ekor tikus putih (*Rattus norvegicus* B.) dengan rincian 25 jenis kelamin betina dan 25 jenis kelamin jantan. Dari 25 dibagi menjadi 5 kelompok untuk 1 kelompok kontrol dan 4 kelompok perlakuan dengan masing-masing 5 kali ulangan. Penentuan jumlah sampel minimal dapat diketahui dengan menggunakan rumus besar sampel eksperimental dari Federer (1995) yaitu $(t-1)(r-1) \geq 15$, dimana t adalah jumlah perlakuan dan r adalah jumlah hewan coba tiap kelompok perlakuan. Karena dalam penelitian ini menggunakan 1 kelompok kontrol dan 4 kelompok perlakuan sehingga $t=5$, maka:

$$\begin{aligned}(t-1)(r-1) &\geq 15 \\(5-1)(r-1) &\geq 15 \\4(r-1) &\geq 15 \\r-1 &\geq 3,75 \\r &\geq 4,75\end{aligned}$$

3.5.3 Pemilihan Sampel

Sebelum digunakan dalam penelitian, 50 ekor tikus putih (*Rattus norvegicus* B.) diadaptasikan terlebih dahulu selama 7 hari. Selama pemeliharaan, tikus putih (*Rattus norvegicus* B.) diberi makan dan minum secara *ad libitum*. Untuk menghindari bias terhadap berat badan maka perlu dilakukan penimbangan berat badan tikus putih (*Rattus norvegicus* B.) sebelum diberi perlakuan. Selanjutnya membagi 5 kelompok secara acak yang masing-masing terdiri dari 5 ekor jantan dan

betina sehingga total terdapat 10 kelompok sample. Rinciannya adalah sebagai berikut:

Kelompok K : 5 ekor jantan dan 5 ekor betina tikus putih (*Rattus norvegicus* B.)

Kelompok K1: 5 ekor jantan dan 5 ekor betina tikus putih (*Rattus norvegicus* B.)

Kelompok K2: 5 ekor jantan dan 5 ekor betina tikus putih (*Rattus norvegicus* B.)

Kelompok K3: 5 ekor jantan dan 5 ekor betina tikus putih (*Rattus norvegicus* B.)

Kelompok K4: 5 ekor jantan dan 5 ekor betina tikus putih (*Rattus norvegicus* B.)

3.6 Defini Operasional

Definisi operasional digunakan untuk menjelaskan gambaran judul penelitian. Defini operasional dalam penelitian ini yaitu:

- a. Serbuk cacing tanah (*Pheretima javanica* K.) kering yaitu cacing tanah yang sudah dikeringkan dalam suhu 40°C selama 4 jam kemudian dijadikan serbuk dengan menambahkan pelarut *carboxymethyl cellulose* Na 1% dan aquades.
- b. Tikus putih (*Rattus norvegicus* B.) yang digunakan dalam penelitian ini adalah jenis strain wistar dengan ciri-ciri memiliki tubuh sehat, tidak cacat, berjenis kelamin jantan dan betina, gerakannya lincah, dan umur dewasa kisaran 6-8 bulan.
- c. Histopatologi ginjal digunakan untuk menggambarkan pola jaringan, kerusakan dan perubahan yang ditimbulkan akibat pemberian serbuk cacing tanah (*Pheretima javanica* K.) selama 90 hari. Pada penelitian ini yang diamati yaitu ada tidaknya kerusakan atau perubahan berupa degenerasi hidrofik, degenerasi melembak (vakuolisasi), dan nekrosis.

3.7 Desain Penelitian

Dalam penelitian ini menggunakan rancangan acak lengkap. Berikut rinciannya:

Tabel 3.1 Rancangan Penelitian Uji Pengaruh Serbuk Cacing Tanah (*Pheretima javanica* K.) Pada Tikus Putih (*Rattus norvegicus* B.) Jantan

Perlakuan	Pengulangan				
	1	2	3	4	5
K	K. U1	K. U2	K. U3	K. U4	K. U5
P1	P1. U1	P1. U2	P1. U4	P1. U4	P1. U5
P2	P2. U1	P2. U2	P2. U4	P2. U4	P2. U5
P3	P3. U1	P3. U2	P3. U3	P3. U4	P3. U5
P4	P4. U1	P4. U2	P4. U3	P4. U4	P4. U5

Keterangan:

K : Kontrol dengan induksi aquades

P1 : Perlakuan 1 (Induksi cacing tanah kering dengan dosis 0,4 gr/Kg BB)

P2 : Perlakuan 2 (Induksi cacing tanah kering dengan dosis 0,8 gr/Kg BB)

P3 : Perlakuan 3 (Induksi cacing tanah kering dengan dosis 1,6 gr/Kg BB)

P4 : Perlakuan 4 (Induksi cacing tanah kering dengan dosis 3,2 gr/Kg BB)

U : Ulangan

Tabel 3.2 Rancangan Penelitian Uji Pengaruh Serbuk Cacing Tanah (*Pheretima javanica* K.) Kering Pada Tikus Putih (*Rattus norvegicus* B.) Betina

Perlakuan	Pengulangan				
	1	2	3	4	5
K	K. U1	K. U2	K. U3	K. U4	K. U5
P1	P1. U1	P1. U2	P1. U4	P1. U4	P1. U5
P2	P2. U1	P2. U2	P2. U4	P2. U4	P2. U5
P3	P3. U1	P3. U2	P3. U3	P3. U4	P3. U5
P4	P4. U1	P4. U2	P4. U3	P4. U4	P4. U5

Keterangan:

K : Kontrol dengan induksi aquades

P1 : Perlakuan 1 (Induksi cacing tanah kering dengan dosis 0,4 gr/Kg BB)

P2 : Perlakuan 2 (Induksi cacing tanah kering dengan dosis 0,8 gr/Kg BB)

P3 : Perlakuan 3 (Induksi cacing tanah kering dengan dosis 1,6 gr/Kg BB)

P4 : Perlakuan 4 (Induksi cacing tanah kering dengan dosis 3,2 gr/Kg BB)

U : Ulangan

3.8 Prosedur Penelitian

Tahap persiapan dan pembuatan serbuk cacing tanah (*Pheretima javanica* K.) kering kemudian dilanjutkan dengan pembagian kelompok perlakuan. Selanjutnya adalah pengujian profil kimia urin pertama (protein urin) baru diberi perlakuan serbuk cacing tanah dan setelah 90 hari di uji profil kimia urin (protrin urin) yang kedua. Setelah perlakuan dan pemeriksaan urin selesai, selanjutnya tikus putih (*Rattus norvegicus* B.) dibedah untuk diamati morfologi ginjalnya dan dibuat preparat histopatologinya. Adapun rincian prosedur penelitiannya sebagai berikut:

3.8.1 Persiapan Pembuatan Serbuk Cacing Tanah (*Pheretima javanica* K.)

Tahap awal persiapan pada pembuatan serbuk cacing tanah (*Pheretima javanica* K.) yaitu dengan mengeringkan cacing tanah (*Pheretima javanica* K.) basah selama 6-7 hari. Kemudian cacing tanah (*Pheretima javanica* K.) yang sudah kering di oven dengan suhu 40°C selama 4 jam kemudian diblender, diayak, dan ditimbang sesuai dosis yang sudah dikonversikan dari dosis manusia ke tikus putih (*Rattus norvegicus* B.) yaitu 0,4 gr; 0,8 gr; 1,6 gr; dan 3,2 gr / 0,2 KgBB. Setelah menimbang berat kering serbuk kemudian menetapkan dosis yaitu ½ X, 1X, 2X, dan 4X dosis optimal uji aktivitas gram/kgBB.

3.8.2 Tahap Pengujian Tikus Putih (*Rattus norvegicus* B.)

a. Tahap persiapan

Tikus putih (*Rattus norvegicus* B.) yang memenuhi kriteria untuk dijadikan hewan uji coba ditempatkan pada kandang (suhu \pm 25°C dan kelembapan 80%). Tikus putih (*Rattus norvegicus* B.) sebelumnya sudah diadaptasikan selama 7 hari.

b. Pemeliharaan dan perawatan

Pemeliharaan dan perawatan tikus putih (*Rattus norvegicus* B.) dilakukan di Laboratorium Biomedik Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Jember. Hewan tersebut dipelihara dalam kandang kusus yang sekamnya diganti 3 hari sekali dengan

tujuan untuk menjaga kesehatan hewannya. Selama masa aklimatisasi, hewan uji coba diberi makan dan minum yang sesuai dengan standart *ad libitum*. Pakannya berupa makanan standart dengan jenis PLIP hasil produksi dari PT. Cargil Indonesia dengan komposisi sebagai berikut.

Tabel 3.3 Komposisi Pakan Jenis PLIP

Komposisi	Presentasi
Protein	21%
Serat	4%
Lemak	4%
Air	14%
Abu	6,5%
Kalsium	0,9%-1,1%
Phospor	0,7%-0,9%

Sumber: Arixs, 2006.

c. Dosis yang diggunakan dalam penelitian

Dosis yang digunakan dalam penelitian ini merupakan hasil dari uji pendahuluan. Dosis yang digunakan dalam penelitian ini diperoleh berdasarkan dosis optimal dari uji aktifitas serbuk cacing tanah (*Pheretima javanica* K.) kering pada penelitian sebelumnya yaitu 0,8 gr/Kg BB .

3.8.3 Pemberian serbuk cacing tanah (*Pheretima javanica* K.)

Sebelum diberi serbuk cacing tanah (*Pheretima javanica* K.) dilakukan penimbangan berat badan terlebih dahulu dan pengecekan profil kimia urin (protein urin) pertama. Kemudian setiap hari selama 90 hari tikus diberi serbuk cacing tanah (*Pheretima javanica* K.) kering dengan dosis yaitu 0,4 gr/Kg BB, 0,8 gr/Kg BB, 1,6 gr/Kg BB dan 3,2 gr /Kg BB. Setelah selama 90 hari tikus diberi serbuk cacing tanah (*Pheretima javanica* K.), kemudian tikus diuji profil kimia urin (protein urin) yang kedua kemudian dibedah dan diambil organ ginjalnya untuk diamati morfologinya dan dibuat preparat untuk dilakukan pengamatan histopatologinya.

3.8.4 Pemeriksaan Profil Kimia Urin

Pada penelitian ini, pengujian profil kimia urin dilakukan dengan melihat jumlah protein urin pada saat sebelum pemberian serbuk cacing tanah (*Pheretima javanica* K.) dan setelah pemberian serbuk cacing tanah (*Pheretima javanica* K.). Jika hasilnya nanti menunjukkan adanya peningkatan berarti terjadi disfungsi ginjal. Pemeriksaan protein urin sendiri dengan melakukan pengambilan sampel sebanyak seperempat pot untuk setiap sampel, kemudian diberi reagen urin.

3.8.5 Pengamatan morfologi ginjal tikus putih (*Rattus norvegicus* B.)

Dalam penelitian ini pengamatan morfologi ginjal tikus putih (*Rattus norvegicus* B.) meliputi bentuk yaitu mirip dengan kacang merah, warna yaitu cokelat kemerahan dan struktur permukaan yaitu halus.

3.8.6 Pembuatan preparat histopatologi ginjal

Tikus putih (*Rattus norvegicus* B.) yang telah diberi serbuk cacing tanah (*Pheretima javanica* K.) selama 90 hari dengan dosis yang telah ditentukan selanjutnya dibedah untuk pembuatan histopatologi ginjalnya.

Menurut Taryu (2005) pembuatan preparat organ ginjal sama halnya dengan pembuatan preparat organ lain. Adapun langkah kerja pembuatan preparat organ yaitu:

- a. Pengambilan ginjal tikus putih (*capturing*), ginjal yang telah diambil kemudian dicuci.
- b. Pematangan ginjal
 - 1) Ginjal yang dipilih untuk diperiksa histopatologinya, dipotong setebal $\pm 0,5-1$ cm.
 - 2) Potongan ginjal dimasukkan dalam keranjang pemrosesan lalu diberi label nomor menggunakan bolpoint.
- c. Perendaman (*embedding*) dan Pencetakan (*block*)

Embedding adalah proses penanaman sampel dalam parafin. Proses ini harus dilakukan dekat api agar parafin tidak membeku. Selanjutnya, sampel diletakkan ke dalam cetakan yang berisi parafin cair ukurannya setengah dari dinding cetakan. Kemudian setelah sampel diletakkan barulah ditutup lagi dengan parafin lagi di atasnya hingga batas cetakan. Selanjutnya parafin disimpan dalam lemari es agar segera membeku.

Menurut susanti (2015), *embedding cassette* yang telah diisi jaringan, dimasukkan ke dalam *tissue processor* dengan pengaturan waktu yang telah diuraikan pada Tabel 3.4.

Tabel 3.4 Prosedur *Tissue Processor* dan Pengaturan Waktu

No.	Proses	Reagensia	Waktu
1	Fiksasi	Buffer formalin 4%	2 jam
2	Fiksasi	Buffer formalin 4%	2 jam
3	Dehidrasi	Alkohol 70%	1 jam
4	Dehidrasi	Alkohol 70%	1 jam
5	Dehidrasi	Alkohol 100%	1 jam
6	Dehidrasi	Alkohol 100%	2 jam
7	Dehidrasi	Alkohol 100%	2 jam
8	Clearing	Toulen	1 jam
9	Clearing	Toulen	1,5 jam
10	Clearing	Toulen	1,5 jam
11	Impregnasi	Parafin	2 jam
12	Impregnasi	Parafin	3 jam
		Total waktu	20 jam

Sumber: Susanti, 2015.

d. Pematangan

Setelah parafin membeku, selanjutnya dilakukan pematangan setebal 4 μm menggunakan mikrotom, sehingga didapatkan permukaan yang rata. Selanjutnya memilih jaringan yang paling bagus dari pita-pita tersebut dengan bantuan mikroskop. Kemudian potongan yang sudah dipilih direntangkan di atas kaca objek yang sudah diberi lem haup pada kisaran suhu 40°C (Susanti, 2015).

e. Pewarnaan

Pewarnaan sampel dengan menggunakan Hematoksilin Eosin (HE). Adapun proses pewarnaannya yaitu:

- 1) Semua bahan harus diperiksa sebelum proses pewarnaan dilakukan
- 2) Tahap pewarnaan

Tabel 3.5 Tahap Pewarnaan Mayers Hematoxylin Eosin

No.	Reagensia	Waktu
1	Xylol I	2 menit
2	Xylol II	2 menit
3	Alkohol 100% I	1 menit
4	Alkohol 100% II	1 menit
5	Alkohol 95% I	1 menit
6	Alkohol 95% II	1 menit
7	Mayer's Hematoxylin	15 menit
8	Rendam dalam Tap Water	20 menit
9	Masukkan ke dalam eosin	15 detik-2 menit
10	Alkohol 95% III	2 menit
11	Alkohol 95% IV	2 menit
12	Alkohol 100% III	2 menit
13	Alkohol 100% IV	2 menit
14	Alkohol 100% V	2 menit
15	Xylol III	2 menit
16	Xylol IV	2 menit

Sumber: Susanti, 2015.

- 3) Setelah pewarnaan selesai, selanjutnya adalah tahap *coverslipping* yaitu menyiapkan *coverslips* secukupnya sesuai dengan jumlah preparat yang baru diwarnai dan meneteskan 1-2 entelan pada setiap *coverslip*. Pada proses penutupan preparat dengan slide harus berhati-hati agar tidak terbentuk gelembung udara. Setelah menutup preparat, slide dibersihkan dengan xylol kemudian diberi label sesuai perlakuan. Selanjutnya melakukan pengamatan menggunakan mikroskop.

f. Pengamatan histopatologi

Pengamatan histopatologi ginjal dilakukan setelah setelah satu hari pembuatan preparat. Pengamatan menggunakan mikroskop dengan perbesaran objektif 4X, 10X, 20X, dan 40X. Pengamatan preparat histologi ginjal dengan mikroskop cahaya menggunakan perbesaran 400 kali (Susanti, 2015).

3.9 Analisis Data

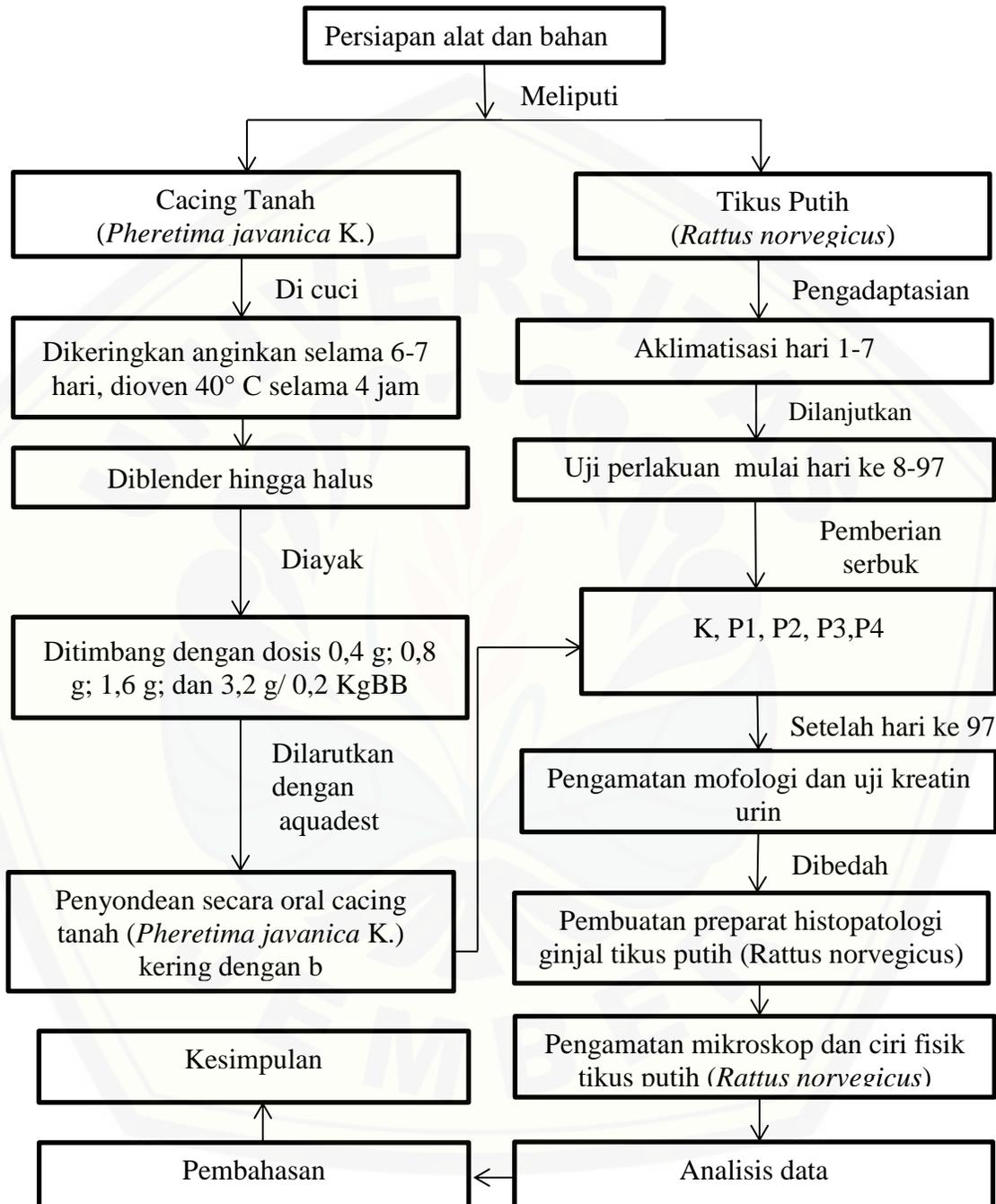
Analisis data ini digunakan untuk mengetahui ada tidaknya perbedaan kandungan protein urin sebelum perlakuan dan sesudah perlakuan. Analisis menggunakan aplikasi SPSS 16.0 yaitu *Paired-Sample T Test* dengan taraf kepercayaan 95% ($\alpha=0,05$). Untuk data morfologi ginjal dianalisis secara deskriptif yaitu dengan membandingkan morfologi ginjal tikus putih (*Rattus norvegicus* B.) kelompok kontrol dengan 4 kelompok perlakuan dan disesuaikan dengan teori. Untuk data histopatologi dalam bentuk skoring dan dianalisis secara deskriptif. Menurut Suhita *et al* (2013) skor penilaian derajat kerusakan jaringan ginjal dikuantitatifkan dalam bentuk tabel sebagai berikut.

Tabel 3.6 Skor derajat kerusakan jaringan ginjal

Skor	Kriteria kerusakan
1	Tidak terjadi kerusakan pada jaringan ginjal
2	Bila terjadi degenerasi hidrofik
3	Bila terjadi degenerasi melemak
4	Bila terjadi nekrosis

Sumber: Suhita *et al* (2013).

3.10 Alur penelitian



Gambar 3. 1 Skema alur penelitian

BAB 5. PENUTUP

5.1 Kesimpulan

- a. Serbuk cacing tanah (*Pheretima javanica* K.) tidak berpengaruh terhadap protein urin tikus putih (*Rattus norvegicus* B.) karena berdasarkan hasil analisis SPSS nilai *sig.*(*2-tailed*) yang dihasilkan lebih besar dari nilai $\alpha=0,05$ yaitu pada protein urin tikus betina adalah 0,433 dan pada protein urin tikus jantan adalah 0,082.
- b. Serbuk cacing tanah (*Pheretima javanica* K.) tidak berpengaruh terhadap morfologi ginjal tikus putih (*Rattus norvegicus* B.) karena dari hasil penelitian pada tikus jantan maupun tikus betina bentuk ginjal masih seperti kacang merah, berwarna cokelat kemerahan, dan permukaannya halus.
- c. Serbuk cacing tanah (*Pheretima javanica* K.) tidak berpengaruh terhadap histopatologi ginjal tikus putih (*Rattus norvegicus* B.) karena dari hasil penelitian pada tikus jantan maupun tikus betina, tidak ditemukan adanya indikator kerusakan seperti degenerasi hidrofik, degenerasi lemak, dan nekrosis pada sel epitel tubulusnya.

5.2 Saran

Berdasarkan hasil penelitian penulis menyarankan beberapa hal berikut:

- a. perlu diadakan uji klinik serbuk cacing tanah (*Pheretima javanica* K.) terhadap penderita penyakit tifus.
- b. Jangan terlalu lama dalam memfiksasi pada proses pembuatan preparat karena akan mempengaruhi tebal tipisnya pewarnaan.

DAFTAR PUSTAKA

- Amalina, N. 2009. *Uji Toksisitas Akut Ekstrak Valerian (Valeriana officinalis) terhadap Hepar Mencit Balb/C. Karya Tulis Ilmiah*. Semarang: Fakultas Kedokteran Universitas Diponegoro.
- Angelina, G.H., A. Azmizah, dan S. Soehartojo. 2000. Pengaruh pemberian air sungai dan PDAM Jangir terhadap perubahan histologis ginjal tikus putih (*Rattus novergicus*). *Jurnal Media Ked. Hewan*. 16(3):180-185.
- Anggriani, Y.D. 2008. *Pengaruh Pemberian Teh Kombucha Dosis Bertingkat Per Oral terhadap Gambaran Histologi Ginjal Mencit BALB/C*. Skripsi. Semarang: Fakultas Kedokteran Universitas Diponegoro.
- Arifiyanti, D. 2009. *Pengaruh Cacing Tanah Lumbricus rubellus dan Pheretima sp. Terhadap Pertumbuhan Bakteri Salmonella typhi Secara In Vitro*. <http://digilib.upi.edu/pasca/available/etd-0105107-125417> [1 September 2017].
- Argalawa, G.C. 2005. *Short Texbook of Physiology*. Newkarta: Academia.
- Ariks. 2006. *Mengenal Olahan Bahan Pangan Nonberas*. Bandung :Cybertokoh.
- Bachtiar, Y. dan Lentera. 2003. *Menghasilkan pakan Alami Untuk Ikan Hias..* Jakarta: Agro Media Pustaka.
- Bagnis, C. I., Deray, G., Baumelou, A., Le Quintrec, M., & Vanherweghem, J. L. 2004. Herbs and the kidney. *American Journal of Kidney Diseases*. 44(1): 1-11.
- Baron, D.N. 1990. *Kapita Selektta Patologi Klinik. Edisi 4*. Jakarta: EGC.
- Budiarti, R., D.R. Husain, Z.Hasyim dan A.Abdullah. 2014. Kemampuan Beberapa Isolat Bakteri Endosimbion Cacing Tanah *Lumbricus rubellus*. *Jurnal MIPA*. Universitas Hasanuddin.
- BPOM RI. 2014. *Pedoman Uji Toksisitas Nonklinik Secara In vivo*. Jakarta: Direktorat Jendral Pengawasan Obat dan Makanan.

- Carroll, M.F dan Temte J.L. 2006. Proteinuria in Adults: Diagnostic Approach. *Am Fam Physician*. 62(40).
- Clarke, E.G.C. and M.L. Clarke. 1975. *Veterinary Toxicology Cassell and Collver*. London: Mc Millan Publishers Ltd.
- Dewanto, HR. 2007. *Vitamin dan Mineral dalam Farmakologi dan Terapi*. Departemen Farmakologi dan terapeutik Fakultas Kedokteran Universitas Indonesia. Jakarta : Percetakan Gaya Baru.
- Diana, F.M. 2009. Fungsi dan Metabolisme Protein. *Jurnal Kesehatan Masyarakat*. 4(1).
- Donatus, I. A., 2005, *Toksikologi Dasar*, Yogyakarta : Universita Gajah Mada.
- Edmund, L. 2010. *Kidney function tests. Clinical chemistry and molecular diagnosis. 4th ed*. America: Elsevier.
- Eroschenko, V. P. 2003. *Atlas Histologi di Fiore dengan Kolerasi Fungsional. Diterjemahkan oleh Dewi Anggraini dan Tiara M. N. Sikumbang*. Jakarta: EGC.
- Gani, S. 1995. *Farmakologi dan Terapan*. Edisi 4. Jakarta: Bagian Farmakologi Universitas Indonesia.
- Gayatri,A.P. 2013. Penggunaan Lumbrikinase sebagai Fibrinolitik dan Anti Trombotik Oral. *Jurnal Continuing Medical Education*. Vol 40(3).
- Guyton, A. C. dan Hall, J. E. 1997. *Buku Ajar Fisiologi Kedokteran*. Jakarta: EGC.
- Guyton, A.C., & Hall, J.E. 2008. *Buku Ajar Fisiologi Kedokteran edisi II*,. Jakarta: Buku Kedokteran EGC.
- Hermawan. 2013. *Usaha Budidaya Cacing Lumbricus*.Yogyakarta: Pustaka Baru Press.
- Himawan, S. 1992. *Kumpulan Kuliah Patologi*. Jakarta: UI Press.
- Hyde, C. A. C. dan Missailidis, S. 2009. Inhibition of Arachidonic Acid Metabolism and Its Implication on Cell Proliferation and Tumour-Angiogenesis. *International Immunopharmacology*. 9(6): 701–715.

- Howanitz, P.J., J.H. Howanitz, dan J.B., Henry. 2001. *Principal of instrumentation. In JB Henry (ed) Clinical diagnosis and management by laboratory methods. 19th ed.* Philadelphia: W.B. Saunders Co.
- Imanuel, S. 2014. *Biokimia Glukosa Darah, Lemak, Protein, Enzim Dan NonProtein Nitrogen. Dalam: Setiati S, Alwi I, Sudoyo AW, K Marcellus S, Setiyohadi B, Syam AF. Buku Ajar Ilmu Penyakit Dalam. Edisi ke-6.* Jakarta: Interna Publishing.
- Indriani, Y. H. 2007. *Membuat Kompos Secara Kilat.* Jakarta: Penebar Swadaya.
- Indriati, G., M. Sumitri, dan R. Widiana. 2012. Pengaruh Air Rebusan Cacing Tanah (*Lumbricus rubellus*) Terhadap Pertumbuhan Bakteri *Eschericia colli*. *Jurnal Prosiding Semirata BKS PTN-B MIPA 2012.* ISBN 978-602-9115-20-8.
- ITIS. 2017. *Pheretima javanica.* <http://www.itis.gov/> [1 Mei 2017].
- Jayanthi, S., R.Widhiastuti, dan E.Jumilawaty. 2014. Komposisi Komunitas Cacing Tanah pada Lahan Pertanian Organik dan Anorganik di Desa Raya Kecamatan Berastagi Kabupaten Karo. *Jurnal Biotik.* 2 (1): 1-76.
- Jumaydha, L.N., Youla A.A., dan yanti M.M. 2016. Gambar Kadar Protein dalam Urin pada Pekerja Bangunan. *Jurnal e-Biomedik (eBm).* 4(2).
- Junqueira, L.C. dan J. Carneiro. 2007. *Teks dan Atlas Histologi Dasar.* Jakarta: EGC.
- Jurnalis, Y.D., Y. Sayoeti, dan M. Moriska. 2015. Kelainan Hati akibat Penggunaan Antipiretik. *Jurnal Kesehatan Andalas.* (4) 3: 978-987.
- Juwono R. dan Prayitno A. 2003. *Terapi Antibiotik Dalam: Farmasi Klinik, Ed Aslam.* Jakarta: Elex Media Komputindo.
- Kee, J. L. 1997. *Buku Saku Pemeriksaan Laboratorium dan Diagnostik dengan Implikasi Keperawatan. Edisi 2.* Jakarta: EGC.
- Khairumam dan A. Khirul. 2009. *Mengeruk Untung dari Beternak Cacing:* Jakarta: Agromedia Pustaka.
- Klaasen, C.D. 1995. *Cassarett and Doull's toxicology: The Basic Science of Poisons.* Edisi 5. London: Mc Graw-Hill.

- Kompas. 2014. Pria dan Wanita Menyimpan Lemak Secara Berbeda. <http://lifestyle.kompas.com/read/2014/10/23/155850623/Pria.dan.Wanita.Menyimpan.Lemak.secara.Berbeda> [26 Januari 2018].
- Laboratorium Anatomi-Histologi. 2004. *Hand Out Histologi. Paket II*. Surabaya: Fakultas Kedokteran Universitas Airlangga.
- Leeson, C. Leeson R., Thomas S, dan Anthony P. 2001. *Buku Ajar Histologi*. Edisi 5. Diterjemahkan oleh dr. Tan Tambajong, dkk. 2004. Jakarta: EGC.
- Lee, M. 2009. *Basic Skills in Interpreting Laboratory Data. 4th Ed*. Bethesda: American Society of Health-System Pharmacist.
- Lu, C. 1995. Toksikologi Dasar: Asas Organ Sasaran dan Penelitian Resiko. Edisi 2. Jakarta: Universitas Indonesia.
- Murtini, J.T., N. Priyanto, dan S.T. Siregar. 2007. Toksisitas Subkronik Alginat pada Histopatologi Hati, Ginjal, dan Lambung Mencit. *Jurnal Bioteknologi Kelautan dan Perikanan*. 5(2).
- Musnelina, L., A. Fuad Afdhal, A. Gani, dan P. Andayani. 2004. Pola Pemberian Antibiotika Pengobatan Demam Tifoid Anak di Rumah Sakit Fatmawati Jakarta Tahun 2001-2002. *Makara Kesehatan*. 8(1): 27-31.
- Nattadiputra, S dan Munaf, S. 2009. *Aminoglikosida dan Beberapa Antibiotika Khusus. Kumpulan Kuliah Farmakologi*. Jakarta: EGC.
- Nelfia, H. 2013. Hubungan Faktor-Faktor Yang Mempengaruhi Insidens Penyakit Demam Tifoid Di Kelurahan Samata Kecamatan Somba Opu Kabupaten Gowa 2013. *Jurnal Kesehatan*. 7(1).
- Nurhadi dan Y. febr. 2016. *Buku Ajar Taksonomi Invertebrata*. Yogyakarta: Deepublish.
- Palungkun, R. 2008. *Sukses Beternak Cacing Tanah Lumbricus rubellus*. Jakarta: Penebar Swadaya.
- Pramitasari, O.P. 2013. Faktor Resiko Kejadian Penyakit Demam Tifoid pada yang Dirawat Di Rumah Sakit Umum Daerah Ungaran. *Jurnal Kesehatan Masyarakat*. 2(1): 1-10.
- Pratiwi, S. T. 2008. *Mikrobiologi Farmasi*. Jakarta: Erlangga Medikal Series.

- Price, S. A dan Wilson, M. L. 2006. *Patofisiologi Konsep Klinis Proses-Proses Penyakit*. Jakarta: EGC.
- Priosoeryanto, B., P. Pontjo, P. Masniari, T.M .P.U. Risa, A.I. Yelly, dan P.U. Hendro. 2001. Aktifitas Antibakteri dan Efek Terapeutik Ekstrak Cacing Tanah *Lumbricus rubellus* Secara Invitro dan Invivo Pada Mencit Berdasarkan Gambaran Patologi Anatomi dan Histopatologi. *Jurnal Balai Penelitian Veteriner (BALITVET)*: Bogor.
- Priyanto. 2009. *Toksikologi Mekanisme, Terapi Antidotum, dan Penilaian Resiko*, Cetakan I, 7-9, 11-15, 55,59, 152-153. Jawa Barat: Lembaga Studi dan Konsultasi Farmakologi.
- Purnomo. 2003. *Dasar-Dasar Urologi*. Malang: Fakultas Kedokteran Universitas Brawijaya.
- Radiopoetro. 1990. *Zoologi*. Jakarta: Erlangga.
- Raini, M. 2015. Kajian Pestisida Berbahan Aktif Antibiotika. *Media Litbangkes*. 25(1): 33 – 4.
- Robbins, S. L., Khumar, V., dan Cotran, R. S. 2007. *Buku Ajar Patologi I*. Edisi 4. Thompson, A. D. dan Cotton, R.E. 2002. *Catatan Kuliah Patologi*. Edisi 3. R. F Maulany (Penerjemah). Jakarta EGC.
- Rovin B.H, M.D. 2016. *Protein in The Urine (Beyond The Basics)*. from:<http://www.uptodate.com/contents/protein-in-theurineproteinuriabeyond-the-basics#H13> [23 Januari 2018].
- Rukmana, R. 1999. *Budidaya Cacing Tanah*. Yogyakarta: Kanisius.
- Sacher. 2004. *Tinjauan Klinis Hasil Pemeriksaan Laboratorium*. Jakarta: Gramedia Pustaka Utama.
- Sajhuti, D., E. Suradikusumah, dan M. A. Santoso. 2002. *Efek Antipiuretik Ekstrak Cacing Tanah*. Bandung: Jurusan Kimia FMIPA ITB.
- Sari, Dellya R.K.S. 2017. *Toksistas Akut Serbuk Cacing Tanah (Pheretima javanica K.) Kering Terhadap Gambaran Histopatologi Ginjal Tikus Putih (Rattus norvegicus B.) dan Pemanfaatannya Sebagai Poster*. Skripsi. Jember: Universitas Jember.

- Sohn, S. H., Lee H., Nam J. Y., Kim S. H., Jung H. J., Kim Y., dan Bae H. (2009). Screening of herbal medicines for the recovery of cisplatin-induced. *Environmental Toxicology and Pharmacology*. 28(2): 206-212.
- Sibuea H. W, Panggabean M. M, danGultom P. S. 2005. *Ilmu Penyakit Dalam. Cetakan Ke 2*. Jakarta: Rineka Cipta.
- Silbernagyl dan Lang. F. 2007. *Ginjal, Keseimbangan Air, Dan Garam dalam Teks & Atlas Berwarna Patofisiologi*. Cetakan 1. Jakarta: EGC
- Simanjuntak, A.K., dan Waluyo, Djoko. 1982. *Cacing Tanah Budidaya dan Pemanfaatannya*. Jakarta: Penebar Swadaya.
- Sirois M. 2005. *Laboratory Animal Medicine : Principles and Procedures*. United States of America: Mosby, Inc.
- Snell, Richard S. 2006. *Anatomi Klinik untuk Mahasiswa Kedokteran Edisi 6*. Diterjemahkan oleh Liliana Sugiharto. Jakarta: EGC.
- Sohn, S. H., Lee, H., Nam, J. Y., Kim, S. H., Jung, H. J., Kim, Y., ... & Bae, H. (2009). Screening of herbal medicines for the recovery of cisplatin-induced. *Environmental Toxicology and Pharmacology*. 28(2): 206-212.
- Suhita, Ni Luh Putu Ratna, W. Sudira, dan B.O Winaya. 2013. Histopatologi Ginjal Tikus Putih Akibat Pemberian Ekstrak Pegagan (*Centella asiatica*) Peroral. *Buletin Veteriner Udayana*. 5(2):71-78.
- Susanti, E. 2015. *Gambaran Histopatologi Hati Tikus Putih (Rattus Norvegicus) yang Diberi Insektisida Golongan Piretroid (Sipermetrin)*. Skripsi. Makassar: Program Studi Kedoktersn Hewan Fakultas Kedokteran Universitas Hasanuddin.
- Susilo, A. 2014. *Pengaruh pemberian metanil yellow peroral dosis bertingkat selama 30 hari terhadap gambaran histopatologi ginjal mencit BALB/C*. Tesis. Semarang: Fakultas Kedokteran Universitas Diponegoro
- Verdiansyah. 2016. Pemeriksaan Fungsi Ginjal. *Jurnal CDK*. 43(2): 148-154.
- Waluyo, J. 1993. *Distribusi dan Kepadatan Cacing tanah di Berbagai Biota di Daerah Bandung Utara. Tidak Dipublikasikan*. Tesis. Bandung: Departemen Biologi Fakultas MIPA ITB.

- Waluyo, J. 1994. *Distribusi dan Kepadatan Cacing Tanah Di Daerah Jember*. Penelitian yang tidak dipublikasikan, Jember.
- Waluyo, J. 2006. Karakterisasi Protein Antibakteri dari Cacing Tanah *Pheretima javanica*. *Jurnal Saintifika*. 4(3): 218-226.
- Waluyo, L. 2005. *Mikrobiologi Umum*. Malang: Universitas Muhammadiyah Malang.
- WHO. 2013. *Traditional Medicine Strategy 2014-2023*. Geneva: World Health Organization.
- White, L. Wilma, Erickson, M. Marilyn, Stevens, dan C. Sue. 1970. *Chemistry for Medical Technologists*. Saint louis: The C.V. Mosby Company.
- Wiryono. 2006. *Pengaruh Pemberian Serasah dan Cacing Tanah Terhadap Pertumbuhan Tanaman Lamtoro dan Turi Pada Media Tanam Tanah Bekas Penambangan Batu Bara*. Skripsi. .Bengkulu: Universitas Bengkulu.
- Whyte, D. A., R.N. Fine. 2008. *Acute Renal Failure in Children*. *Pediatr. Rev.* 29: 299-307.
- Wolfensohn, S. E. dan M.H. Lloyd. 2003. *Handbook of Laboratory Animal Management and Welfare*. 3rd edition. Oxford: Blackwell Science. h. 85-86.
- Yuliprianto. 1993. *Mengenal Jenis-Jenis cacing Tanah Asli Indonesia dan Kemungkinan Pemanfaatannya dalm Cakrawala Pendidikan*. Yogyakarta: Penerbit Pusat PPM IKIP Yogyakarta.

LAMPIRAN

A. Matriks Penelitian

Judul	Rumusan Masalah	Variabel	Indikator	Sumber Data	Metode Penelitian
Pengaruh Serbuk cacing tanah (<i>Pheretima javanica</i> K.) terhadap Protein Urin, Morfologi ginjal dan Gambaran Histopatologi Ginjal tikus putih (<i>Rattus norvegicus</i> B.)	<ol style="list-style-type: none"> 1. Bagaimana pengaruh serbuk cacing tanah (<i>Pheretima javanica</i>) profil kimia urin tikus putih (<i>Rattus norvegicus</i> B.)? 2. Bagaimana pengaruh serbuk cacing tanah (<i>Pheretima javanica</i>) terhadap morfologi ginjal tikus putih (<i>Rattus norvegicus</i> B.)? 3. Bagaimana pengaruh serbuk 	<p>a. Variabel bebas: Serbuk cacing tanah (<i>Pheretima javanica</i> K.) dengan variasi dosis yang telah ditentukan.</p> <p>b. Variabel terikat: Profil Kimia Urin, Morfologi Ginjal serta Gambaran Histopatologi Ginjal tikus putih (<i>Rattus norvegicus</i>).</p> <p>c. Variabel Kontrol:</p> <ul style="list-style-type: none"> • Jenis hewan coba adalah tikus putih (<i>Rattus norvegicus</i> B.) wistar strain; 	<ol style="list-style-type: none"> 1. Profil Kimia Urin yang diamati yaitu adanya atau tidaknya protein pada urin 2. Morfologi yang diamati yaitu bentuk ginjal seperti kacang merah, warnanya cokelat kemerahan, dan permukaannya halus 3. Apabila 	Berdasarkan studi pustaka penelitian-penelitian sebelumnya dan hasil uji laboratorium serta pengamatan lapang.	<p>1. Jenis Penelitian</p> <p>Jenis penelitian ini adalah eksperimental laboratorium karena bertempat di laboratorium sehingga sifatnya eksperimen atau percobaan. Sifat data yang dihasilkan adalah kuantitatif dan kualitatif karena berupa angka dan gambar. Ekperimen ini dilakukan dengan menggunakan Rancangan Acak Lengkap (RAL). Penelitian ini berjudul “Pengaruh Serbuk Cacing Tanah (<i>Pheretima javanica</i> K.) terhadap Protein Urin, Morfologi ginjal, dan Histopatologi Ginjal Tikus Putih (<i>Rattus norvegicus</i> B.) yang bertujuan untuk mengetahui apakah ada pengaruh toksik dari serbuk cacing tanah (<i>Pheretima javanica</i> K.) pada organ ginjal melalui pengukuran profil kimia urin, morfologi</p>

	<p>cacing tanah (<i>Pheretima javanica</i>) terhadap gambaran histopatologi ginjal tikus putih (<i>Rattus norvegicus</i> B.)?</p>	<ul style="list-style-type: none"> • Berat hewan coba yang digubakan kisaran 175-200 gram; • Umur hewan coba yang digunakan kisaran 6-8 bulan; • Jenis kelamin hewan coba yang digunakan meliputi jantan dan betina; • Hewan coba dalam keadaan sehat; • Waktu penelitian 97 hari (termasuk masa aklimatisasi). 	<p>ditemukan adanya degenerasi hidrofobik, degenerasi melemak dan nekrosis pada sel epitel tubulus ginjal akibat pemberian serbuk cacing tanah (<i>Pheretima javanica</i> K.).kering.</p>	<p>dan gambaran histopatologi ginjal tikus putih (<i>Rattus norvegicus</i> B.).</p> <p>2. Definisi Operasional Serbuk cacing tanah (<i>Pheretima javanica</i> K.) kering diperoleh dari cacing tanah yang telah dikeringkan dengan menggunakan suhu 40°C selama 4 jam kemudian dijadikan serbuk dengan cara di blender. Tikus putih (<i>Rattus norvegicus</i> B.) yang digunakan yaitu jenis strain wistar dengan ciri-cirinya yang sehat, dewasa, tidak pucat dan pergerakannya lincah. Uji pengaruh serbuk cacing tanah (<i>Pheretima javanica</i> K.) pada tikus putih (<i>Rattus norvegicus</i> B.) dengan kriteria hewan uji yang berusia 6-8 bulan, berat 175-200 gram. Histopatologi ginjal digunakan untuk mengetahui pola jaringan dan gambaran kerusakan jaringan epitel tubulus ginjal akibat pemberian serbuk cacing tanah (<i>Pheretima javanica</i> K.) selama 90 hari pada organ hati. Pemeriksaan profil kimia urin yaitu salah satunya protein merupakan salah satu indikator fisiologis ginjal.</p>
--	---	--	---	--

3. Prosedur Penelitian

Prosedur penelitian ini terdiri dari beberapa tahanan. Tahap yang pertama yaitu aklimatisasi hewan coba selama satu minggu. Tahap kedua adalah pengambilan sampel urin pertama sebelum perlakuan. Tahap ketiga adalah pemberian perlakuan yaitu penyondean serbuk cacing tanah. Tahap keempat adalah pengambilan sampel urin kedua untuk mengetahui perbedaan profil kimia urin sebelum dan sesudah pemberian ekstrak cacing tanah (*Pheretima javanica* K.). kemudian tahap berikutnya adalah pembedahan untuk pengamatan morfologi ginjal dan yang terakhir adalah pembuatan preparat histopatologi ginjal.

4. Analisis Data

Teknik analisis data untuk mengetahui adanya perbedaan profil kimia urin sebelum dan sesudah perlakuan digunakan *Paired-Sampel T Test*. Sedangkan untuk analisis morfologi dan gambaran histopatologi ginjal menggunakan analisis deskriptif.

Lampiran B. Hasil analisis SPSS *Paired-Sample T Test*

Hasil analisis uji *Paired-Sample T Test* protein urin tikus betina

	Perbedaan pasangan					t	df	Sig. (2-tailed)
	Rata-Rata	Std. Deviasi	Std. Rata-Rata Error	95% Taraf Kepercayaan				
				Batas Bawah	Batas Atas			
Pasang SEBELUM - an 1 SESUDAH	-.13333	.63994	.16523	-.48772	.22105	-.807	14	.433

Hasil analisis uji *Paired-Sample T Test* protein urin tikus jantan

	Perbedaan pasangan					t	df	Sig. (2-tailed)
	Rata-Rata	Std. Deviasi	Std. Rata-Rata Error	95% Taraf Kepercayaan				
				Batas Bawah	Batas Atas			
Pasang SEBELUM - an 1 SESUDAH	.20000	.41404	.10690	-.02929	.42929	1.871	14	.082

Lampiran C. Hasil Lab Protein Urin



Jl. Moch. Soerji No. 84
Telp. (0331) 424557 Fax. (0331) 484314
Email : lab.klinik@piramida.com
Ijin DINKES nomor : 440/2272/414/2013
"Mutu Diagnosa dan Pelayanan yang kami Utamakan"

PENELITIAN FAKULTAS FKIP BIOLOGI UNIVERSITAS JEMBER

TANGGAL 13 JULI 2017

NO.	KADE SAMPEL	JENIS KELAMIN	HASIL PROTEIN URIN
1	K/1	JANTAN	+4
2	K/2	JANTAN	+4
3	K/3	JANTAN	+4
4	P1/1	JANTAN	+4
5	P1/2	JANTAN	+3
6	P1/3	JANTAN	+2
7	P2/1	JANTAN	+2
8	P2/2	JANTAN	+3
9	P2/3	JANTAN	+4
10	P3/1	JANTAN	+4
11	P3/2	JANTAN	+3
12	P3/3	JANTAN	+4
13	P4/1	JANTAN	+2
14	P4/2	JANTAN	+4
15	P4/3	JANTAN	+4

Pemeriksa, 51
LABORATORIUM KLINIK

PIRAMIDA
Jl. Moch. Soerji 84 Jember
(Ayu Berti C, Amad AK)



Jl. Moch. Soerji No. 84
Telp. (0331) 424567 Fax. (0331) 484384
Email : lab.klinik.piramida@gmail.com
Jin DINKES nomor : 440/2272/484/2013
"Mutu Diagnosa dan Pelayanan yang kami Utamakan"

PENELITIAN FAKULTAS FKIP BIOLOGI UNIVERSITAS JEMBER

TANGGAL 13 Juli 2017

NO.	KADE SAMPEL	JENIS KELAMIN	HASIL PROTEIN URIN
1	K/1	BETINA	+3
2	K/2	BETINA	+3
3	K/3	BETINA	+2
4	P1/1	BETINA	+3
5	P1/2	BETINA	+3
6	P1/3	BETINA	+3
7	P2/1	BETINA	+3
8	P2/2	BETINA	+2
9	P2/3	BETINA	+3
10	P3/1	BETINA	+3
11	P3/2	BETINA	+3
12	P3/3	BETINA	+3
13	P4/1	BETINA	+3
14	P4/2	BETINA	+3
15	P4/3	BETINA	+3

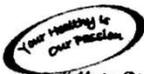
Pemeriksa,
LABORATORIUM KLINIK

PIRAMIDA

Jl. Moch. Soerji 84 Jember

Telp. (0331) 424567

(Ayu Bekti C, Amd.AK)

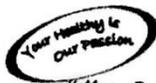


Jl. Mach. Semaji No. 84
 Telp. (0331) 424567 Fax. (0331) 484314
 Email : lab.klinik.piramida@gmail.com
 Ijin DINKES nomor : 440/2272/414/2013
 "Mutu Diagnosa dan Pelayanan yang kami Utamakan"

**PENELITIAN FAKULTAS FKIP BIOLOGI UNIVERSITAS JEMBER
 TANGGAL 21 OKTOBER 2017**

NO.	KODE SAMPEL	JENIS KELAMIN	HASIL PROTEIN URIN
1	K/1	BETINA	+3
2	K/2	BETINA	+3
3	K/3	BETINA	+4
4	P1/1	BETINA	+4
5	P1/2	BETINA	+3
6	P1/3	BETINA	+3
7	P2/1	BETINA	+3
8	P2/2	BETINA	+2
9	P2/3	BETINA	+4
10	P3/1	BETINA	+3
11	P3/2	BETINA	+2
12	P3/3	BETINA	+3
13	P4/1	BETINA	+3
14	P4/2	BETINA	+3
15	P4/3	BETINA	+3

Pemeriksa,
 LABORATORIUM KLINIK
PIRAMIDA
 (Bekti G. Amd:AK)



Jl. Mach. Seruji No. 84
Telp. (0331) 424567 Fax. (0331) 484304
Email : lab.klinik.piramida@gmail.com
Ijin DINKES nomor : 440/2272/414/2013
"Mutu Diagnosa dan Pelayanan yang kami Utamakan"

PENELITIAN FAKULTAS FKIP BIOLOGI UNIVERSITAS JEMBER
TANGGAL 19 OKTOBER 2017

NO.	KODE SAMPEL	JENIS KELAMIN	HASIL PROTEIN URIN
1	K/1	JANTAN	+4
2	K/2	JANTAN	+4
3	K/3	JANTAN	+3
4	P1/1	JANTAN	+4
5	P1/2	JANTAN	+3
6	P1/3	JANTAN	+2
7	P2/1	JANTAN	+2
8	P2/2	JANTAN	+3
9	P2/3	JANTAN	+4
10	P3/1	JANTAN	+4
11	P3/2	JANTAN	+3
12	P3/3	JANTAN	+3
13	P4/1	JANTAN	+3
14	P4/2	JANTAN	+3
15	P4/3	JANTAN	+4

Pemeriksa,
LABORATORIUM KLINIK



PIRAMIDA

Bekti C. Amd:AK

Lampiran D. Dokumentasi



Proses pengumpulan cacing



Proses pencucian cacing



Proses penjemuran cacing



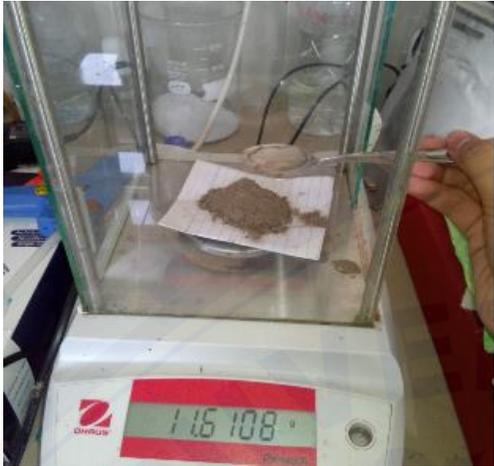
Proses pengovenan cacing



Proses pemblenderan cacing



Penyondean Tikus



Penimbangan serbuk cacing tanah sesuai dengan dosis yang ditetapkan



Tikus yang selesai diambil urinnya di kumpulkan kembali bersama kelompok perlakuannya sebelum dikembalikan ke kandang



Pengambilan urin



Pemberian makan dan minum tikus



Pembedahan tikus



Pembedahan tikus

Lampiran E. Foto Morfologi Ginjal

c. Morfologi ginjal tikus betina



Kelompok kontrol



Kelompok P1



Kelompok P2



Kelompok P3



Kelompok P4

d. Morfologi ginjal tikus jantan



Kelompok kontrol



Kelompok P1



Kelompok P2



Kelompok P3



Kelompok P4

Lampiran F. Lembar Konsultasi



KEMENTERIAN RISET, TEKNOLOGI, DAN PENDIDIKAN TINGGI
UNIVERSITAS JEMBER

FAKULTAS KEGURUAN DAN ILMU PENDIDIKAN

Jalan Kalimantan Nomor 37 Kampus Bumi Tegalboto Jember 68121

Telepon: 0331-334988, 330738 Fax: 0331-334988

Laman: www.fkip.unej.ac.id

LEMBAR KONSULTASI PENYUSUNAN SKRIPSI

Pembimbing Utama

Nama : Dea Ayu Rahma Putri
 NIM : 140210103059
 Jurusan/Program Studi : Pendidikan MIPA/ Pendidikan Biologi
 Judul : Toksisitas Subakut Serbuk Cacing Tanah (*Pheretima javanica* K.) terhadap Profil Kimia Urin, Morfologi dan Histopatologi Ginjal Tikus Putih (*Rattus norvegicus* B.)
 Pembimbing Utama : **Prof. Dr. Joko Waluyo, M.Si.**

Kegiatan Konsultasi

No.	Hari/ Tanggal	Materi Konsultasi	Tanda Tangan Pembimbing
1.	8 Maret 2017	Penentuan Judul	
2.	13 Maret 2017	Konsul BAB 1	
3.	17 Juli 2017	Konsultasi BAB 1,2, dan 3	
4.	19 Juli 2017	Pengajuan BAB 1,2,dan 3	
5.	25 Juli 2017	Revisi BAB 1,2,dan 3	
6.	8 Agustus 2017	Revisi BAB 1,2 dan 3	
7.	15 Agustus 2017	Revisi BAB 1,2, dan 3	
8.	22 Agustus 2017	ACC seminar proposal	
9.	7 September 2017	Seminar proposal	
10.	13 September 2017	Konsultasi penelitian	
11.	20 September 2017	Konsultasi penelitian	
12.	6 November 2017	Konsultasi hasil Penelitian	
13.	4 Desember 2017	Konsultasi hasil penelitian	
14.	8 Januari 2018	Pengajuan BAB 1,2,3,4, dan 5	
15.	12 Januari 2018	Revisi BAB 1,2,3,4, dan 5	
16.	15 Januari 2018	Revisi BAB 1,2,3,4, dan 5	
17.	16 Januari 2018	ACC ujian Skripsi	

Catatan:

1. Lembar ini harus dibawa dan diisi setiap melakukan konsultasi
2. Lembar ini harus dibawa sewaktu seminar proposal skripsi dan ujian skripsi



KEMENTERIAN RISET, TEKNOLOGI, DAN PENDIDIKAN TINGGI
UNIVERSITAS JEMBER

FAKULTAS KEGURUAN DAN ILMU PENDIDIKAN

Jalan Kalimantan Nomor 37 Kampus Bumi Tegalboto Jember 68121

Telepon: 0331-334988, 330738 Fax: 0331-334988

Laman: www.fkip.unej.ac.id

LEMBAR KONSULTASI PENYUSUNAN SKRIPSI

Pembimbing Utama

Nama : Dea Ayu Rahma Putri
 NIM : 140210103059
 Jurusan/Program Studi : Pendidikan MIPA/ Pendidikan Biologi
 Judul : Toksisitas Subakut Serbuk Cacing Tanah (*Pheretima javanica* K.) terhadap Profil Kimia Urin, Morfologi dan Histopatologi Ginjal Tikus Putih (*Rattus norvegicus* B.)
 Pembimbing Utama : **Dr. Dwi Wahyuni, M. Kes.**

Kegiatan Konsultasi

No.	Hari/ Tanggal	Materi Konsultasi	Tanda Tangan Pembimbing
1.	8 Maret 2017	Penentuan Judul	
2.	13 Maret 2017	Konsul BAB 1	
3.	17 Juli 2017	Konsultasi BAB 1,2, dan 3	
4.	19 Juli 2017	Pengajuan BAB 1,2,dan 3	
5.	25 Juli 2017	Revisi BAB 1,2,dan 3	
6.	8 Agustus 2017	Revisi BAB 1,2 dan 3	
7.	15 Agustus 2017	Revisi BAB 1,2, dan 3	
8.	22 Agustus 2017	ACC seminar proposal	
9.	7 September 2017	Seminar proposal	
10.	13 September 2017	Konsultasi penelitian	
11.	20 September 2017	Konsultasi penelitian	
12.	6 November 2017	Konsultasi hasil Penelitian	
13.	4 Desember 2017	Konsultasi hasil penelitian	
14.	8 Januari 2018	Pengajuan BAB 1,2,3,4, dan 5	
15.	12 Januari 2018	Revisi BAB 1,2,3,4, dan 5	
16.	15 Januari 2018	Revisi BAB 1,2,3,4, dan 5	
17.	16 Januari 2018	ACC ujian Skripsi	

Catatan:

1. Lembar ini harus dibawa dan diisi setiap melakukan konsultasi
2. Lembar ini harus dibawa sewaktu seminar proposal skripsi dan ujian skripsi

Lampiran G. Surat Penelitian



KEMENTERIAN RISET, TEKNOLOGI, DAN PENDIDIKAN TINGGI
UNIVERSITAS JEMBER
FAKULTAS KEGURUAN DAN ILMU PENDIDIKAN
Jalan Kalimantan Nomor 37 Kampus Bumi Tegal Boto Jember 68121
Telepon: 0331-334988, 330738 Fax: 0331-332475
Laman: www.fkip.unej.ac.id

Nomor **5498**/UN25.1.5/LT/2017

18 AUG 2017

Lampiran : -

Perihal : Permohonan Ijin Penelitian

Yth. Dekan Fakultas Kedokteran Universitas Jember
Jember

Diberitahukan dengan hormat, bahwa mahasiswa FKIP Universitas Jember di bawah ini:

Nama : Dea Ayu Rahma Putri

NIM : 140210103059

Jurusan : Pendidikan MIPA

Program Studi : Pendidikan Biologi

Berkenaan dengan penyelesaian studinya, mahasiswa tersebut bermaksud melaksanakan penelitian di Laboratorium Mikrobiologi Fakultas Kedokteran Universitas Jember dengan judul "Toksitasitas Sub Akut Cacingtanah kering (*Pheretima javanica* K.) Kering Terhadap Gambaran Histopatologi Ginjal, Profil Kimia Urin dan Ciri Fisik Tikus Putih (*Rattus norvegicus*)".

Schubungan dengan hal tersebut, mohon Saudara berkenan memberikan ijin dan sekaligus memberikan bantuan informasi yang diperlukan.

Demikian atas perkenan dan kerjasama yang baik kami sampaikan terimakasih.


Prof. Dr. Suratno, M.Si
NIP. 19670625 1992031 003

Tembusan Yth:

1. Ketua Laboratorium Mikrobiologi Fakultas Kedokteran Universitas Jember
2. Arsip



KEMENTERIAN RISET, TEKNOLOGI, DAN PENDIDIKAN TINGGI
UNIVERSITAS JEMBER
FAKULTAS KEGURUAN DAN ILMU PENDIDIKAN
Jalan Kalimantan Nomor 37 Kampus Bumi Tegal Boto Jember 68121
Telepon: 0331-334988, 330738 Faks: 0331-332475

SURAT KETERANGAN SELESAI PENELITIAN

Kami selaku Teknisi Laboratorium Biomedik Fakultas Kedokteran Gigi yang mengawasi penelitian/ percobaan mahasiswa sebagai tersebut dibawah ini.

Nama : Dea Ayu Rahma Putri
NIM : 140210103059
Jurusan : Pendidikan Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam
Program Studi : Pendidikan Biologi

Menerangkan dengan sebenarnya bahwa mahasiswa yang bersangkutan betul-betul telah selesai melaksanakan penelitian/percobaan tentang:

“Toksistas Subakut Serbuk Cacing Tanah (*Pheretima javanica* K.) terhadap Profil Kimia Urin, Morfologi Ginjal, dan Gambaran Histopatologi Ginjal Tikus Putih (*Rattus norvegicus* R.)”

Bertempat di Laboratorium Biomedik Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Jember mulai bulan September sampai dengan bulan November 2017.

Demikian, disampaikan terimakasih.

Jember, 9 Januari 2018
Teknisi Laboratorium Biomedik
Fakultas Kedokteran Gigi

← 
Agusmurdojohadi Purnadajaka, A. Md.
NIP. 197208181999031002