



**TOKSISITAS SUBAKUT EKSTRAK CACING TANAH
(*Pheretima javanica*) TERHADAP FAAL, MORFOLOGI,
DAN GAMBARAN HISTOPATOLOGI GINJAL
TIKUS PUTIH (*Rattus norvegicus*)**

SKRIPSI

Oleh
Alfi Oktafani Sarli
NIM 150210103057

**PROGAM STUDI PENDIDIKAN BIOLOGI
JURUSAN PENDIDIKAN MIPA
FAKULTAS KEGURUAN DAN ILMU PENDIDIKAN
UNIVERSITAS JEMBER
2019**



**TOKSISITAS SUBAKUT EKSTRAK CACING TANAH
(*Pheretima javanica*) TERHADAP FAAL, MORFOLOGI,
DAN GAMBARAN HISTOPATOLOGI GINJAL
TIKUS PUTIH (*Rattus norvegicus*)**

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
Alfi Oktafani Sarli
NIM 150210103057

**PROGAM STUDI PENDIDIKAN BIOLOGI
JURUSAN PENDIDIKAN MIPA
FAKULTAS KEGURUAN DAN ILMU PENDIDIKAN
UNIVERSITAS JEMBER
2019**

PERSEMBAHAN

Puji syukur peneliti panjatkan kehadiran 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 Mohammad Jumali, Ibunda Siti Maesaroh, serta kakak dan adikku 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. Dr. Dwi Wahyuni, M.Kes. yang telah tulus ikhlas membimbing dan memotivasi hingga terselesaikannya skripsi ini;
4. Bapak/Ibu Guru TK Pertiwi Genteng, SDN 1 Genteng, SMPN 3 Genteng, SMAN 2 Genteng, serta Bapak/Ibu dosen Pendidikan Biologi yang telah memberikan bekal ilmu;
5. Almamater Fakultas Keguruan dan Ilmu Pendidikan Universitas Jember.

MOTTO

Barang siapa yang bertaqwa kepada Allah, maka Allah akan memberikan jalan keluar kepadanya dan memberi rezeki dari arah yang tidak disangka-sangka. Barang siapa yang bertaqwa kepada Allah, maka Allah akan jadikan urusannya menjadi mudah.

Barang siapa yang bertaqwa kepada Allah akan dihapuskan dosa-dosanya dan mendapat pahala yang agung.

(Terjemahan QS. Ath-Thalaq: 2-4)^{*)}

Semua orang punya hak yang sama untuk sukses.^{**)}

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

^{**)} Diredja, Tjahja Gunawan. 2012. *Chairul Tanjung Si Anak Singkong*. Jakarta: PT. KompasMedia Nusantara

PERNYATAAN

Saya yang bertanda tangan dibawah ini:

Nama : Alfi Oktafani Sarli

NIM : 150210103057

Menyatakan dengan sesungguhnya bahwa karya tulis ilmiah yang berjudul “Toksisitas Subakut Ekstrak Cacing Tanah (*Pheretima javanica*) terhadap Faal, Morfologi, dan Gambaran Histopatologi Ginjal Tikus Putih (*Rattus norvegicus*)” adalah benar-benar hasil karya sendiri, kecuali jika dalam pengutipan subtransi disebutkan sumbernya, dan belum pernah diajukan pada institusi manapun, serta bukan karya jiplakan. Saya bertanggung jawab atas keabsahan dan kebenaran isinya sesuai dengan sikap ilmiah yang harus dijunjung tinggi.

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

Jember, Maret 2019

Yang menyatakan,

Alfi Oktafani Sarli

NIM. 150210103057



**TOKSISITAS SUBAKUT EKSTRAK CACING TANAH
(*Pheretima javanica*) TERHADAP FAAL, MORFOLOGI,
DAN GAMBARAN HISTOPATOLOGI GINJAL
TIKUS PUTIH (*Rattus norvegicus*)**

SKRIPSI

Oleh
Alfi Oktafani Sarli
NIM 150210103057

Dosen Pembimbing Utama : Prof. Dr. Joko Waluyo, M.Si.
Dosen Pembimbing Anggota : Dr. Dwi Wahyuni, M.Kes.

PERSETUJUAN

**TOKSISITAS SUBAKUT EKSTRAK CACING TANAH
(*Pheretima javanica*) TERHADAP FAAL, MORFOLOGI,
DAN GAMBARAN HISTOPATOLOGI GINJAL
TIKUS PUTIH (*Rattus norvegicus*)**

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 : Afi Oktafani Sarli
NIM : 150210103057
Jurusan : Pendidikan MIPA
Program Studi : Pendidikan Biologi
Angkatan Tahun : 2015
Daerah Asal : Banyuwangi
Tempat, Tanggal Lahir : Banyuwangi, 11 Oktober 1996

Disetujui oleh

Dosen Pembimbing Utama

Dosen Pembimbing Anggota

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

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

PENGESAHAN

Skripsi yang berjudul “Toksistas Subakut Ekstrak Cacing Tanah (*Pheretima javanica*) terhadap Faal, Morfologi, dan Gambaran Histopatologi Ginjal Tikus Putih (*Rattus norvegicus*)” telah diuji dan disahkan pada:

Hari : Selasa

Tanggal : 26 Februari 2019

Tempat : Fakultas Keguruan dan Ilmu Pendidikan Universitas Jember

Tim Penguji

Ketua,

Sekretaris,

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

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

Anggota I,

Anggota II,

Dr. Dra. Jekti Prihatin, M. Si
NIP. 19651009 199103 2 001

Kamalia Fikri, S. Pd., M.Pd
NIP. 19840223 201012 2 004

Mengesahkan
Dekan FKIP Universitas Jember

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

RINGKASAN

Toksisitas Subakut Ekstrak Cacing Tanah (*Pheretima javanica*) terhadap Faal, Morfologi, dan Gambaran Histopatologi Ginjal Tikus Putih (*Rattus norvegicus*); Alfi Oktafani Sarli; 150210103057, 68 halaman, Program Studi Pendidikan Biologi; Jurusan Pendidikan MIPA; Fakultas Keguruan dan Ilmu Pendidikan Universitas Jember.

Pengobatan dengan menggunakan obat tradisional mulai dikembangkan oleh para ilmuwan dikarenakan obat tradisional lebih efektif dan tidak memberikan efek samping. Bahan baku obat tradisional dapat berasal dari tumbuhan maupun hewan. Salah satu hewan yang dapat dimanfaatkan untuk pengobatan khususnya pengobatan demam *typhoid* adalah cacing tanah. Ekstrak cacing tanah (*Pheretima javanica*) mengandung senyawa asam arakidonat yang dikenal dapat menurunkan panas tubuh akibat infeksi dan juga menghasilkan antibakteri mirip *lumbricin* yaitu antibakteri yang memiliki berat molekul 31,0 kDa dan 34,0 kDa. Ekstrak cacing tanah terbukti menghambat bakteri *Salmonella typhi* penyebab demam *typhoid*, namun tetap perlu dilakukan uji praklinik yaitu uji toksisitas subakut untuk membuktikan secara ilmiah mengenai khasiat dan keamanannya.

Uji toksisitas subakut dilakukan dengan pemberian dosis bertingkat (50 mg/KgBb; 500 mg/KgBb; dan 1000 mg/KgBb) secara oral pada hewan uji setiap hari satu kali selama 28 hari ditambah 14 hari tanpa induksi untuk melihat *reversibilitas*. Setiap dosis obat yang masuk ke dalam tubuh akan mengalami proses absorpsi, selanjutnya hasil metabolit dari proses absorpsi yang larut dalam air akan diekskresikan melalui ginjal. Bila terjadi kerusakan pada ginjal maka akan menyebabkan proses ekskresi pada ginjal akan terganggu sehingga hasil metabolisme akan terakumulasi dan menyebabkan toksik bagi tubuh.

Adapun yang diamati pada penelitian ini yaitu faal ginjal, morfologi ginjal, dan gambaran histopatologi ginjal. Faal ginjal yang diamati meliputi kadar BUN dan kreatinin dikarenakan BUN dan juga kreatinin merupakan indeks penting kerusakan fungsi ginjal yang dapat mencerminkan fungsi filtrasi glomerular. Terganggunya fungsi ginjal akan menyebabkan konsentrasi urin dan kreatinin dalam darah akan melebihi nilai normal yang mana nilai normal BUN pada tikus yaitu 18-28 mg/dl dan nilai normal kreatinin pada tikus yaitu 0,578-1,128 mg/dl. Morfologi ginjal yang diamati pada penelitian ini yaitu meliputi berat relatif organ ginjal dan warna ginjal. Sedangkan histopatologi ginjal yang diamati yaitu adanya degenerasi hidrofik, degenerasi melemak, dan nekrosis. Pembacaan histopatologi ginjal menggunakan bantuan mikroskop cahaya dengan perbesaran 400 X dan penentuan skor kerusakan histopatologi menggunakan derajat skoring.

Hasil analisis toksisitas subakut ekstrak cacing tanah (*Pheretima javanica*) terhadap faal ginjal menunjukkan bahwasanya ekstrak cacing tanah (*Pheretima javanica*) tidak toksik atau tidak menyebabkan terjadinya gangguan terhadap faal ginjal tikus putih (*Rattus norvegicus*) yang ditandai dengan persamaan regresi linier pengaruh variasi dosis terhadap kadar BUN adalah $y = -1,497x + 51,47$ dengan $R^2 = 0,139$. Koefisien regresi pada persamaan tersebut bernilai negatif yang berarti kenaikan dari variasi dosis tidak diikuti oleh kenaikan kadar BUN. Sedangkan persamaan regresi linier pengaruh variasi dosis terhadap kadar kreatinin adalah $y = 0,048x + 0,757$ dengan $R^2 = 0,455$. Koefisien regresi pada persamaan tersebut bernilai positif yang berarti kenaikan dari variasi dosis diikuti oleh kenaikan kadar kreatinin. Nilai R^2 kedua uji baik uji kadar BUN dan kreatinin secara berurutan yaitu 0,139 dan 0,455 yang mana berdasarkan nilai tersebut kenaikan kadar BUN dan kreatinin tidak lebih dari dua kali lipat dari nilai normalnya.

Hasil analisis toksisitas subakut ekstrak cacing tanah (*Pheretima javanica*) terhadap morfologi ginjal menunjukkan bahwasanya ekstrak cacing tanah (*Pheretima javanica*) tidak toksik terhadap morfologi ginjal tikus putih (*Rattus norvegicus*) yang ditandai dengan nilai signifikansi beart relatif organ 0,244 dimana $p > 0,01$ yang artinya ekstrak cacing tanah (*Pheretima javanica*) berpengaruh secara tidak signifikan terhadap berat relatif organ ginjal tikus putih (*Rattus norvegicus*), dan juga warna organ ginjal pada kelompok perlakuan sama dengan kelompok kontrol yaitu merah kecoklatan. Kemudian hasil analisis toksisitas subakut ekstrak cacing tanah (*Pheretima javanica*) terhadap histopatologi ginjal menunjukkan bahwasanya ekstrak cacing tanah (*Pheretima javanica*) tidak toksik terhadap histopatologi ginjal tikus putih (*Rattus norvegicus*) yang ditandai pada kelompok K(-), P1, P2, P3, S1, dan S2 terdapat perubahan histopatologi pada ke-5 lapang pandang, perubahan histopatologi tersebut berupa degenerasi hidrofik pada sel tubulus, namun derajat kerusakannya memiliki skor 1 yang mana termasuk kategori ringan yaitu $< 30\%$ lapang pandang. Selanjutnya hasil skoring dianalisis, dan menunjukkan nilai signifikansi 0,926 dimana $p > 0,01$ yang artinya ekstrak cacing tanah (*Pheretima javanica*) berpengaruh secara tidak signifikan terhadap histopatologi organ ginjal tikus putih (*Rattus norvegicus*).

Hasil analisis yang telah dijabarkan diatas menunjukkan bahwasanya ekstrak cacing tanah (*Pheretima javanica*) aman untuk dikonsumsi dalam jangka waktu panjang dikarenakan tidak menimbulkan efek toksik terhadap faal, morfologi, dan gambaran histopatologi ginjal tikus putih (*Rattus norvegicus*).

PRAKATA

Puji syukur penulis panjatkan kepada Allah SWT atas segala rahmat dan karunia-Nya sehingga penulis bisa menyelesaikan skripsi yang berjudul “Toksisitas Subakut Ekstrak Cacing Tanah (*Pheretima javanica*) terhadap Faal, Morfologi, dan Gambaran Histopatologi Ginjal Tikus Putih (*Rattus norvegicus*)”. 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 dan juga Dosen Pembimbing Anggota yang telah tulus ikhlas meluangkan waktu, pikiran, dan perhatian dalam memberikan bimbingan, saran, dan motivasi dalam penulisan skripsi ini;
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 yang telah meluangkan waktu, pikiran, dana, dan perhatian dalam memberikan bimbingan, saran, dan motivasi dalam penulisan skripsi ini;
5. Dr. Dra. Jekti Prihatin, M.Si., selaku Dosen Penguji Utama yang telah bersedia dalam memberikan kritik dan saran demi kesempurnaan skripsi ini;
6. Kamalia Fikri, S.Pd., M.Pd., selaku Dosen Penguji Anggota yang telah bersedia dalam memberikan kritik dan saran demi kesempurnaan skripsi ini;
7. Seluruh Dosen FKIP Program Studi Pendidikan Biologi, atas semua ilmu yang diberikan selama menjadi mahasiswa Pendidikan Biologi.

8. Dr. Medo Kurniawan sekaligus suami saya yang selalu memberikan do'a, perhatian, dukungan, dan sumbangan pikiran dalam pembuatan skripsi ini.
9. Rekan "Proyek Cacing" Wardaniyatus Sholihah, Nanda Bhukti Fadhillah, Angki Tri Agustina, Siti Nur Anisah, Rif'atul Fitri Supa'at, Haiva Zulfaizah, Erna Kristiana Dewi, Meiliana Dwi Cahya, dan Anna Rishofa A'yuni yang selalu memberikan dukungan;
10. Teman-teman yang sudah seperti saudara "Serendipity Squad" Siti Nur Anisah, Rif'atul Fitri Supa'at, Haiva Zulfaizah, dan Angki Tri Agustina yang selalu memberikan dukungan dan kekuatan selama masa kuliah;
11. Teman-teman angkatan 2015 Program Studi Pendidikan Biologi, Universitas Jember yang telah memberikan dukungan, semangat, dan kenangan;
12. Semua pihak yang terkait, yang tidak dapat saya sebutkan satu persatu.

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

Jember, Maret 2019

Penulis

DAFTAR ISI

	Halaman
HALAMAN JUDUL	i
HALAMAN PERSEMBAHAN	ii
HALAMAN MOTTO	iii
HALAMAN PERNYATAAN.....	iv
HALAMAN BIMBINGAN.....	v
HALAMAN PERSETUJUAN.....	vi
HALAMAN PENGESAHAN.....	vii
RINGKASAN	viii
PRAKATA	x
DAFTAR ISI.....	xii
DAFTAR TABEL	xv
DAFTAR GAMBAR.....	xvi
DAFTAR LAMPIRAN	xvii
BAB 1. PENDAHULUAN	1
1.1 Latar Belakang.....	1
1.2 Rumusan Masalah	4
1.3 Batasan Masalah	4
1.4 Tujuan Penelitian.....	5
1.5 Manfaat Penelitian.....	6
BAB 2. TINJAUAN PUSTAKA.....	7
2.1 Cacing tanah (<i>Pheretima javanica</i>)	7
2.1.1 Klasifikasi Cacing Tanah (<i>Pheretima javanica</i>).....	7
2.1.2 Morfologi Cacing Tanah (<i>Pheretima javanica</i>).....	7
2.1.3 Senyawa dalam Cacing Tanah (<i>Pheretima javanica</i>).....	8
2.1.4 Ekstraksi Senyawa Aktif Cacing Tanah (<i>Pheretima</i>	

<i>javanica</i>).....	10
2.2 Tikus Putih (<i>Rattus norvegicus</i>)	11
2.2.1 Klasifikasi Tikus Putih (<i>Rattus norvegicus</i>)	11
2.2.2 Morfologi Tikus Putih (<i>Rattus norvegicus</i>)	11
2.3 Uji Toksisitas Subakut.....	13
2.4 Ginjal.....	14
2.4.1 Morfologi dan Anatomi Ginjal	14
2.4.2 Histopatologi Ginjal.....	15
2.4.3 Faal Ginjal.....	19
2.5 Kerangka Berpikir.....	22
2.6 Hipotesis.....	23
BAB 3. METODE PENELITIAN.....	24
3.1 Jenis Penelitian.....	24
3.2 Tempat dan Waktu Penelitian.....	24
3.3 Identitas Variabel Penelitian	24
3.4 Definisi Operasional.....	25
3.5 Jumlah Sampel	26
3.6 Alat dan Bahan Penelitian	27
3.6.1 Alat Penelitian.....	27
3.6.2 Bahan Penelitian	27
3.7 Prosedur Penelitian.....	28
3.8 Analisis Data.....	33
3.9 Alur Penelitian	36
BAB 4. HASIL DAN PEMBAHASAN.....	37
4.1 Hasil.....	37
4.1.1 Hasil Pengamatan Berat Badan Tikus (<i>Rattus</i> <i>norvegicus</i>)	37
4.1.2 Hasil Pengamatan Gejala Toksisitas pada Tikus (<i>Rattus</i>	

<i>norvegicus</i>)	39
4.1.3 Hasil Pengamatan Faal Ginjal Tikus Putih (<i>Rattus norvegicus</i>)	40
4.1.4 Hasil Pengamatan Morfologi Ginjal Tikus Putih (<i>Rattus norvegicus</i>)	42
4.1.5 Hasil Pengamatan Histopatologi Ginjal Tikus Putih (<i>Rattus norvegicus</i>)	44
4.2 Pembahasan	46
4.2.1 Toksisitas Subakut Ekstrak Cacing Tanah (<i>Pheretima javanica</i>) terhadap Faal Ginjal Tikus Putih (<i>Rattus norvegicus</i>)	50
4.2.2 Toksisitas Subakut Ekstrak Cacing Tanah (<i>Pheretima javanica</i>) terhadap Morfologi Ginjal Tikus Putih (<i>Rattus norvegicus</i>)	54
4.2.3 Toksisitas Subakut Ekstrak Cacing Tanah (<i>Pheretima javanica</i>) terhadap Histopatologi Ginjal Tikus (<i>Rattus norvegicus</i>)	56
BAB 5. PENUTUP	59
5.1 Kesimpulan	59
5.2 Saran	59
DAFTAR PUSTAKA	61

DAFTAR TABEL

	Halaman
Tabel 2.1 Data fisiologis tikus putih	12
Tabel 3.1 Rancangan Penelitian Uji Toksisitas Subkronis Ekstrak Cacing Tanah (<i>Pheretima javanica</i>) Pada Tikus Putih (<i>Rattus norvegicus</i>) Jantan	27
Tabel 3.2 Komposisi Pakan Produksi PT Cargil Indonesia	29
Tabel 3.3 Parameter Gejala Toksistas	30
Tabel 3.4 Skor Kondisi Tubuh Tikus	30
Tabel 3.5 Tahap Pewarnaan Mayers Hematoxylin Eosin	32
Tabel 3.6 Skor Derajat Histopatologi.....	34
Tabel 3.7 Perubahan Parameter Histopatologi Organ.....	35
Tabel 4.1 Rata-Rata Berat Badan Tikus Sebelum dan Sesudah Induksi.....	38
Tabel 4.2 Rata-Rata Berat Badan Satelit Hari ke-29 sampai Hari ke-42.....	39
Tabel 4.3 Hasil Pengamatan Gejala Toksisitas pada Tikus	40
Tabel 4.4 Hasil Rerata Berat Relatif Organ Ginjal Tikus	42
Tabel 4.5 Hasil Pengamatan Morfologi Ginjal Tikus Putih (<i>Rattus norvegicus</i>)	43
Tabel 4.6 Skor Derajat Histopatologi.....	45

DAFTAR GAMBAR

	Halaman
Gambar 2.1 Morfologi <i>Pheretima javanica</i>	8
Gambar 2.2 Tikus putih (<i>Rattus norvegicus</i>) wistar	12
Gambar 2.3 Nefron.....	15
Gambar 2.4 Histopatologis ginjal tikus normal	16
Gambar 2.5 Degenerasi hidrofik epitel tubular ginjal (panah hitam), Nekrosis (panah biru)	17
Gambar 2.6 a = Degenerasi meleak sel tubulus, b = Glomerulus membengkak, c = Adhesi glomerulus dengan kapsula bowman	19
Gambar 2.7 Skema Kerangka Konsep	22
Gambar 3.1 Diagram Alur Penelitian.....	36
Gambar 4.1 Grafik kenaikan kadar BUN dan Kreatinin tiap kelompok perlakuan setelah induksi	41
Gambar 4.2 Histopatologi ginjal dengan pewarnan HE.....	44

DAFTAR LAMPIRAN

	Halaman
Lampiran A. Matriks Penelitian.....	69
Lampiran B. Data Hasil Pengamatan	72
Lampiran C. Hasil Analisis SPSS	77
Lampiran D. Hasil Uji Bioklinis BUN dan Ureum.....	83
Lampiran E. Dokumentasi	85
Lampiran F. Dokumentasi Morfologi Ginjal	91
Lampiran G. Lembar Konsultasi.....	93
Lampiran H. Surat Penelitian.....	95

BAB 1. PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

Penggunaan antibiotik sebagai pengobatan demam *typhoid* sampai saat ini masih sangat tinggi. Antibiotik yang sering digunakan yaitu kloramfenikol, amoksisilin, gentamisin, dan kotrimoksazol. Namun, antibiotik khususnya kloramfenikol menimbulkan efek samping seperti mual pada penderita maag, penekanan sumsum tulang bahkan terjadi anemia aplastik (Nuraini *et al.*, 2015). Seiring berkembangnya penelitian, diketahui bahwasanya demam *typhoid* yang disebabkan oleh *Salmonella typhi* telah resisten terhadap antibiotik. Resistensi bakteri *Salmonella typhi* terhadap antibiotik kloramfenikol dilaporkan pertama kali di Inggris pada tahun 1950 dan di India tahun 1972. Perkembangan selanjutnya, beberapa negara di Asia melaporkan adanya strain *Salmonella typhi* yang telah resisten terhadap dua atau lebih antibiotik yang lazim digunakan yaitu *ampisilin*, kloramfenikol, dan kotrimoksazol (Crump *et al.*, 2004), sehingga perlu adanya obat pengganti sebagai alternatif untuk pengobatan demam *typhoid* yaitu menggunakan obat tradisional.

Pengobatan dengan menggunakan obat tradisional mulai dikembangkan oleh para ilmuwan dikarenakan obat tradisional lebih efektif dan tidak memberikan efek samping. Bahan baku obat tradisional dapat berasal dari tumbuhan maupun hewan. Salah satu hewan yang dapat dimanfaatkan untuk pengobatan khususnya pengobatan demam *typhoid* adalah cacing tanah. Cacing tanah yang sering digunakan sebagai obat tradisional yaitu *Lumbricus rubellus* dan *Pheretima javanica*. Hasil penelitian terhadap potensi beberapa ekstrak cacing tanah menunjukkan bahwa cacing tanah *Pheretima javanica* mengandung senyawa asam arakidonat yang

dikenal dapat menurunkan panas tubuh akibat infeksi (Waluyo, 2004). *Pheretima javanica* juga menghasilkan antibakteri mirip *lumbricin* yaitu antibakteri yang memiliki berat molekul 31,0 kDa dan 34,0 kDa (Waluyo *et al.*, 2007).

Hasil penelitian Muzaiyanah (2017) menunjukkan bahwa serbuk cacing tanah (*Pheretima javanica*) kering terbukti berpengaruh secara signifikan terhadap penyembuhan demam *typhoid* pada tikus putih dengan dosis efektif sebesar 1,6 g/0,2 KgBB. Penelitian selanjutnya yaitu uji toksisitas akut yang dilakukan oleh Sari (2017) menunjukkan bahwa pemberian serbuk cacing tanah (*Pheretima javanica*) kering dari dosis terkecil 0,4 g/0,2 KgBB sampai dosis tertinggi 3,2 g/0,2 KgBB selama 14 hari tidak menyebabkan efek toksik pada tikus putih. Hasil penelitian lebih lanjut pada uji toksisitas subakut yang dilakukan oleh Putri (2018) menunjukkan bahwa pemberian serbuk cacing tanah (*Pheretima javanica*) kering yang diinduksikan pada tikus putih selama 90 hari tidak memberikan perubahan pada morfologi ginjal tikus putih dan juga tidak ditemukan adanya kerusakan seperti degenerasi hidrofik, degenerasi melemap, dan nekrosis pada histologi ginjal tikus putih.

Penelitian mengenai serbuk cacing tanah telah banyak dilakukan, namun pada pasal 5 Peraturan Kepala BPOM nomor 12 tahun 2014 menyebutkan bahwa obat berupa kapsul hanya dapat berisi ekstrak. Ekstrak adalah sediaan kering, kental, atau cair yang dibuat dengan mengambil sari simplisia nabati atau hewani menurut cara yang cocok. Selama dalam bentuk ekstrak, zat berkhasiat yang terdapat dalam simplisia memiliki kadar yang tinggi (BPOM, 2014). Waluyo *et al* (2007) menyatakan bahwa ekstrak cacing tanah *Pheretima javanica* dapat menghambat pertumbuhan bakteri *Salmonella typhi* dengan kadar hambat sebesar 7,0–10,0 mm. Meskipun ekstrak cacing tanah terbukti menghambat bakteri *Salmonella typhi* penyebab demam *typhoid*, namun tetap perlu dilakukan uji praklinik untuk membuktikan secara ilmiah mengenai khasiat dan keamanannya. Uji praklinik yang dilakukan yaitu uji toksisitas.

Uji toksisitas merupakan suatu pengujian untuk mengamati suatu aktivitas farmakologi suatu senyawa dan mendeteksi efek toksik suatu zat pada sistem biologi, serta untuk mengetahui tingkat keamanan dalam pengkonsumsian suatu senyawa. Uji toksisitas meliputi pengujian toksisitas akut, subakut dan kronik. Uji toksisitas akut memiliki kisaran waktu selama 14 hari, sedangkan uji toksisitas subakut memiliki kisaran waktu selama 28 hari (BPOM, 2014). Tujuan utama uji toksisitas subakut menurut Price dan Wilson (2005) yaitu untuk menentukan efek toksik suatu zat yang tidak terdeteksi pada uji toksisitas akut. Uji toksisitas subakut dilakukan dengan pemberian dosis bertingkat secara oral pada hewan uji setiap hari satu kali selama 28 hari. Hewan uji yang digunakan yaitu tikus putih (*Rattus norvegicus*). Penggunaan hewan uji tikus putih dimaksudkan sebagai model untuk melihat adanya reaksi biokimia, fisiologik, dan patologik, karena tikus putih dapat mewakili system biologis manusia, sehingga pengaruh yang ditimbulkan terhadap tikus putih ini hampir sama dengan pengaruh yang akan diperoleh manusia baik secara morfologi, anatomi, dan fisiologisnya pada organ tertentu seperti ginjal (BPOM, 2014).

Ginjal merupakan organ utama dalam proses ekskresi obat (Schmitz. *et al.*, 2009). Setiap bahan obat yang masuk ke dalam tubuh akan mengalami proses absorpsi. Setelah mengalami absorpsi, bahan tersebut akan didistribusikan ke seluruh tubuh untuk mengikuti proses metabolisme di hepar dan selanjutnya hasil metabolit yang larut dalam air akan diekskresikan melalui ginjal. Kerusakan pada ginjal menyebabkan proses ekskresi pada ginjal akan terganggu sehingga hasil metabolisme akan terakumulasi dan menyebabkan toksik bagi tubuh (Suhita *et al.*, 2013).

Indeks penting kerusakan fungsi ginjal yaitu nilai nitrogen urea darah (BUN) yang dapat mencerminkan fungsi filtrasi glomerular (Zhou *et al.*, 2017) dan kreatinin (Lemeire *et al.*, 2005). Terganggunya fungsi ginjal akan menyebabkan konsentrasi urin dan kreatinin dalam darah akan melebihi nilai normal (Nuridayanti, 2011) yang mana nilai normal BUN pada tikus yaitu 18-28 mg/dl (River, 1998) dan nilai normal kreatinin pada tikus yaitu 0,578-1,128 mg/dl (Dewi *et al.*, 2016). Hal ini juga akan

berpengaruh pada morfologi ginjal yaitu warna ginjal akan semakin pucat dikarenakan senyawa yang bersifat toksik menyebabkan perlemakan pada ginjal sehingga mengganggu aliran darah ke ginjal (Fortes, 2017) dan memiliki berat organ yang melebihi kisaran normalnya yaitu 0,7 g-2,0 g (Sukow *et al.*, 2006) dan juga kerusakan organ ginjal dapat dilihat melalui gambaran histopatologi ginjal pada tikus putih (*Rattus norvegicus*) untuk melihat perubahan abnormal pada tingkat jaringan. Kerusakan ginjal karena zat toksik dapat diidentifikasi berdasarkan perubahan struktur histologi yaitu terbentuknya degenerasi hidrofik, degenerasi melemak, dan nekrosis. Perubahan struktur histologi ginjal ini dipengaruhi oleh jumlah zat kimia yang masuk ke dalam tubuh. Berdasarkan latar belakang yang telah diuraikan tersebut, maka perlu dilakukan penelitian mengenai toksisitas subakut ekstrak cacing tanah (*Pheretima javanica*) terhadap faal, morfologi, dan gambaran histopatologi ginjal tikus putih (*Rattus norvegicus*).

1.2 Rumusan Masalah

Berdasarkan latar belakang masalah diatas dapat dirumuskan rumusan masalah sebagai berikut :

- a. Bagaimana toksisitas subakut ekstrak cacing tanah (*Pheretima javanica*) terhadap faal ginjal tikus putih (*Rattus norvegicus*) ?
- b. Bagaimana toksisitas subakut ekstrak cacing tanah (*Pheretima javanica*) terhadap morfologi ginjal tikus putih (*Rattus norvegicus*) ?
- c. Bagaimana toksisitas subakut ekstrak cacing tanah (*Pheretima javanica*) terhadap histopatologi ginjal tikus putih (*Rattus norvegicus*) ?

1.3 Batasan Masalah

Adapun batasan masalah untuk mempermudah pembahasan dan menghindari kerancuan dalam penelitian ini adalah sebagai berikut :

- a. Hewan uji coba yang digunakan adalah tikus putih jantan (*Rattus norvegicus*) dengan strain wistar berusia 3-4 bulan dengan berat 200-250 g.
- b. Cacing tanah yang digunakan dalam penelitian ini adalah jenis *Pheretima javanica* dengan kriteria dewasa, sehat, tidak pucat, dan gerakannya aktif.
- c. Pelarut yang digunakan dalam pembuatan ekstrak cacing yaitu etanol 70%.
- d. Parameter faal ginjal tikus putih (*Rattus norvegicus*) yang dianalisis yaitu kandungan kreatinin dan nitrogen urea darah (BUN).
- e. Morfologi ginjal tikus putih (*Rattus norvegicus*) yang dilihat yaitu berat organ dan warna organ.
- f. Parameter yang diamati pada gejala toksisitas meliputi berat badan dan keadaan tikus.
- g. Parameter pengamatan histopatologi organ ginjal tikus putih (*Rattus norvegicus*) pada penelitian ini meliputi kerusakan ginjal berupa adanya degenerasi hidrofik, degenerasi melemak, dan nekrosis.
- h. Variasi dosis ekstrak cacing tanah (*Pheretima javanica*) yang digunakan untuk uji toksisitas yaitu 50 mg; 500 mg; dan 1000 mg.
- i. Uji toksisitas subakut yang dilakukan yaitu induksi ekstrak secara oral selama 28 hari pada kelompok perlakuan ditambah pengamatan selama 14 hari tanpa pemberian ekstrak pada kelompok satelit untuk melihat *reversibilitas*

1.4 Tujuan Penelitian

Berdasarkan rumusan masalah yang telah disebutkan, maka dapat dirumuskan tujuan penelitian sebagai berikut :

- a. Untuk menganalisis toksisitas subakut ekstrak cacing tanah (*Pheretima javanica*) terhadap faal ginjal tikus putih (*Rattus norvegicus*) ?
- b. Untuk menganalisis toksisitas subakut ekstrak cacing tanah (*Pheretima javanica*) terhadap morfologi ginjal tikus putih (*Rattus norvegicus*) ?

- c. Untuk menganalisis toksisitas subakut ekstrak cacing tanah (*Pheretima javanica*) terhadap histopatologi ginjal tikus putih (*Rattus norvegicus*) ?

1.5 Manfaat Penelitian

Hasil penelitian ini diharapkan dapat bermanfaat untuk berbagai pihak, antara lain:

- a. Bagi Peneliti

Penelitian ini dapat memberi pengetahuan serta wawasan mengenai ketoksikan ekstrak cacing tanah (*Pheretima javanica*) terhadap faal ginjal, morfologi ginjal, dan gambaran histopatologi ginjal yang digunakan sebagai obat tradisional yang berguna untuk kesehatan.

- b. Bagi Peneliti Lain

Penelitian ini dapat digunakan sebagai acuan atau sumbangan pemikiran untuk melakukan penelitian lanjutan.

- c. Bagi Masyarakat

Penelitian ini dapat menambah wawasan serta pengetahuan dengan memperoleh informasi mengenai manfaat cacing tanah (*Pheretima javanica*) sebagai obat alternatif pengganti obat sintesis dengan menggunakan ekstrak cacing tanah (*Pheretima javanica*) dengan dosis yang efektif dan aman untuk dikonsumsi.

BAB 2. TINJAUAN PUSTAKA

2.1 Cacing tanah (*Pheretima javanica*)

2.1.1 Klasifikasi Cacing Tanah (*Pheretima javanica*)

Cacing tanah merupakan hewan tingkat rendah yang tidak memiliki tulang belakang (avertebrata) dan bertubuh lunak. Cacing tanah yang paling banyak jumlah populasinya di Pulau Jawa adalah jenis *Pheretima javanica* yang mempunyai tubuh relatif lebih besar dan panjang di antara cacing tanah yang lain. Adapun klasifikasi dari cacing tanah (*Pheretima javanica*) menurut *database* koleksi zoologi oleh Universitas Havard (2018) yaitu :

Kingdom	: Animalia
Phylum	: Annelida
Class	: Oligochaeta
Ordo	: Haplotaxida
Family	: Megascolecidae
Genus	: <i>Pheretima</i>
Spesies	: <i>Pheretima javanica</i>

2.1.2 Morfologi Cacing Tanah (*Pheretima javanica*)

Tubuh Cacing Tanah (*Pheretima javanica*) dibedakan atas bagian anterior (terdapat mulut) dan juga posterior. Bagian dorsal *Pheretima javanica* memiliki warna yang lebih gelap daripada bagian ventral. Tubuh cacing terdiri dari sederetan segmen yang sama (*metameri*). Setiap segmen pada tubuh cacing tanah terdapat rambut pendek dan keras yang disebut seta. Seta berfungsi sebagai lem di tanah ketika cacing berjalan atau menggali tanah, sehingga digerakkan oleh pelindung dan otot retraktor.



Gambar 2.1 Morfologi *Pheretima javanica* (Sumber : Novyan *et al.*, 2016)

Pheretima javanica memiliki panjang tubuh sekitar 150–185 mm, dengan diameter 5-6 mm, jumlah segmen pada tubuhnya sekitar 125-245 segmen (Jayatri *et al.*, 2014). Cacing tanah dewasa memiliki alat untuk menyiapkan proses perkembangbiakan yang disebut klitelum. Klitelum berbentuk seperti cincin yang terletak pada segmen XIV-XVI. Klitelum akan membentuk selubung kokon yang nantinya akan bergerak ke arah mulut dan bertemu dengan saluran telur, telur-telur tersebut keluar dari lubang dan bergerak ke arah mulut kemudian bersama dengan selubung kokon yang akhirnya terlepas. Cacing tanah bersifat hermaphrodit, sehingga pada tubuhnya terdapat dua alat kelamin. Tetapi dalam perkembangbiakannya tetap membutuhkan pasangan. Lubang kelamin jantan berjumlah sepasang yang terletak pada segmen XVIII, sedangkan lubang kelamin betina terdapat pada bagian ventral pada segmen XIV (Waluyo, 2006).

2.1.3 Senyawa dalam Cacing Tanah (*Pheretima javanica*)

Cacing tanah ternyata mempunyai potensi yang sangat menakjubkan bagi kehidupan dan kesejahteraan manusia. Di Indonesia, cacing tanah sudah mulai dimanfaatkan sebagai bahan baku obat. Pengobatan yang menggunakan bahan baku cacing tanah antara lain pengobatan peradangan, gangguan hematologi, demam,

gangguan hati, nyeri sendi, darah tinggi, tekanan, menyembuhkan bronkhitis, reumatik sendi, sakit gigi, dan tipus (Dewi *et al.*, 2017).

Meningkatnya sejumlah bukti penggunaan cacing tanah sebagai obat di berbagai negara menunjukkan bahwa cacing tanah bermanfaat dalam bidang farmakologi dan menghambat bakteri patogenik, seperti ekstrak glikolipoprotein (G-90) yang diperoleh dari jaringan homogenat cacing tanah yang menunjukkan aktivitas antioksidan, fibrinolitik, dan antikoagulatif. G-90 mengandung beberapa faktor pertumbuhan, termasuk insulin faktor pertumbuhan, faktor pertumbuhan seperti imunoglobulin, dan faktor pertumbuhan epidermis (Fu *et al.*, 2014).

Cacing tanah memiliki efek antibakteri terhadap bakteri gram negatif dan gram positif yang bersifat bakteriastik dan bakterisid, hal ini disebabkan karena cacing tanah memiliki senyawa aktif antara lain golongan senyawa alkaloid (Suryani, 2010). Cacing tanah juga memiliki kandungan protein sebesar 2/3 dari berat kering tubuhnya. Protein pada cacing tanah setidaknya terdiri atas 11 macam asam amino esensial dan 6 macam asam amino nonesensial. Cacing tanah memiliki senyawa bioaktif antimikroba peptide yang disebut *Lumbricin I*. *Lumbricin I* mempunyai aktifitas antimikroba berspektrum luas, yaitu menghambat bakteri gram negative dan bakteri gram positif. *Lumbricin I* mengandung prolin 15% dari total berat kering dan tersusun dari 26 macam asam amino (Punu *et al.*, 2016). Sedangkan cacing tanah (*Pheretima javanica*) mengandung asam arakidonat yang dikenal dapat menurunkan panas tubuh akibat infeksi dan memiliki kandungan asam amino hidroksiprolin 19,04% yang berperan dalam aktifitas antibakteri (Waluyo, 2004) dan juga *Pheretima javanica* menghasilkan antibakteri mirip *lumbricin* yang dapat menghambat pertumbuhan bakteri *Salmonella typhi* yaitu antibakteri yang memiliki berat molekul 31,0 kDa dan 34,0 kDa (Waluyo, 2007).

Lumbrokinase merupakan sekelompok enzim proteolitik dengan berat molekul 25-32 kDa, yang meliputi plasminogen activator dan plasmin. Salah satu efek utama lumbrokinase yang telah diketahui adalah sebagai fibrinolitik (Shazari dan Betta,

2016) dan antitrombotik dengan mekanisme kerja menghidrolisis fibrin dan fibrinogen, serta mengaktifkan plasminogen menjadi plasmin. Lumbrokinase merupakan rantai peptida tunggal yang sebagian besar terdiri dari residu asam aspartat dan sedikit lisin (Istiqomah, 2014). Suhu optimal untuk enzim ini adalah 50°C dengan pH optimal adalah 4-12 (Cho *et al.*, 2008). *Made of action* lumbrokinase yang dimiliki cacing tanah yaitu dengan cara interaksi elektrostatik dengan dinding sel bakteri sehingga terbentuk lubang ionik/celah yang menyebabkan terjadinya perubahan pada permeabilitas membran hingga menyebabkan kematian sel (Ciptanto, 2011).

2.1.4 Ekstraksi Senyawa Aktif Cacing Tanah (*Pheretima javanica*)

Ekstraksi merupakan salah satu metode pemisahan zat terlarut dengan pelarutnya berdasarkan titik didih pelarut. Metode ekstraksi yang digunakan dalam penelitian ini yaitu metode maserasi. Maserasi merupakan cara ekstraksi yang paling sederhana. Maserasi melibatkan perendaman bahan (kasar atau bubuk) dalam wadah tertutup dengan pelarut pada suhu kamar (Azwanida, 2015).

Pelarut yang biasa digunakan untuk ekstraksi etanol dan air. Pemilihan pelarut yang akan dipakai dalam proses ekstraksi harus memperhatikan sifat kandungan senyawa yang akan diisolasi dan harus mempunyai sifat kepolaran yang sama. *Pheretima javanica* menghasilkan senyawa bioaktif mirip *lumbricin* yaitu antibakteri yang memiliki berat molekul 31,0 kDa dan 34,0 kDa dan memiliki sifat polar sehingga pelarut yang digunakan harus memiliki sifat kepolaran yang sama agar pelarut mampu melarutkan senyawa yang akan diekstrak (Damanik *et al.*, 2014). Berdasarkan penelitian sebelumnya, pelarut yang digunakan yaitu etanol dengan konsentrasi 70% dengan perbandingan (1:3) yaitu 1 kilogram bahan dalam 3 liter pelarut. Pemilihan etanol 70% dikarenakan etanol 70% bersifat polar dan memiliki kadar hambat paling tinggi terhadap *Salmonella typhi* daripada konsentrasi 50% dan 96%, dengan kadar hambat masing-masing 1.57 mm, 1.1 mm, dan 0.6 mm. Proses

maserasi dilakukan dalam jangka waktu minimal 3 hari dengan sering diaduk. Setelah 3 hari, campuran ditekan atau disaring sehingga diperoleh filtrat. Filtrat cacing tanah kemudian dirotary menggunakan rotary vacum evaporator sampai terbentuk ekstrak mentah. Selanjutnya ekstrak mentah dioven pada suhu rendah (40°C) sampai menjadi pasta (Dewi *et al.*, 2017).

2.2 Tikus Putih (*Rattus norvegicus*)

2.2.1 Klasifikasi Tikus Putih (*Rattus norvegicus*)

Tikus putih (*Rattus norvegicus*) adalah hewan yang paling sering digunakan sebagai model dalam penelitian biomedis dikarenakan dapat mewakili system biologis manusia. Salah satu galur yang paling banyak digunakan adalah tikus *Wistar* yang mulai dikembangbiakkan di *Wistar Institute* sejak 1906 (Fitria *et al.*, 2015). Pemilihan tikus *Wistar* dalam penelitian dikarenakan tikus *Wistar* lebih jinak daripada jenis tikus yang lainnya. Adapun klasifikasinya adalah sebagai berikut:

Kingdom	: Animalia
Phylum	: Chordata
Class	: Mammalia
Ordo	: Rodentia
Family	: Muridae
Genus	: <i>Rattus</i>
Spesies	: <i>Rattus norvegicus</i> (ITIS.gov, 2018).

2.2.2 Morfologi dan Fisiologi Tikus Putih (*Rattus norvegicus*)

Morfologi tikus putih (*Rattus norvegicus*) dibagi menjadi dua bagian yaitu kepala dan badan. Ciri-ciri tikus putih (*Rattus norvegicus*) yaitu memiliki hidung tumpul, badan besar, memiliki panjang tubuh 18-25 cm, memiliki telinga yang kecil dan memiliki bola mata berwarna merah (Smith dan Mangkoewidjodjo, 1998)



Gambar 2.2 Tikus putih (*Rattus norvegicus B.*) wistar (Sumber: Zikrul, 2015)

Penentuan umur reproduktif pada tikus oleh Sengupta (2013) dengan cara mempelajari fase-fase kehidupan dan perilakunya. Beberapa fase tersebut antara lain adalah: rentang hidup antara 2–3 tahun, mulai disapih saat umur 3 minggu (21 hari), fase kematangan seksual atau pubertas mulai umur 6 minggu (40–60 hari), fase pradewasa saat umur 63–70 hari, fase kematangan sosial saat umur 5–6 bulan (160–180 hari), dan fase penuaan saat umur 15–24 bulan. Tikus putih dapat hidup dengan baik pada kisaran temperatur 19° C – 23° C dan kelembaban 40-70 % (Wolfenshon dan Lloyd, 2003). Data fisiologis tikus putih dapat dilihat pada Tabel 2.1

Tabel 2.1 Data fisiologis tikus putih

Rentang umur	2,5-3,5 tahun
Berat badan (<i>adult</i>)	Jantan 450-550 g, betina 250-300 g
Berat badan (<i>birth weight</i>)	5 g
Detak jantung	260-400 <i>beat</i> per menit
Laju pernapasan	75-115 per menit
Suhu tubuh	35,9-37,5 °C
Volume darah	50-70 ml/kg
Volume urin	3,3 ml/100 g
Konsumsi makan harian	10 g/100 g BB
Konsumsi minum harian	10-12 ml/100 g BB
Kadar BUN tikus wistar jantan	18-28 mg/dl
Kadar kreatinin normal tikus wistar	0,578-1,128 mg/dl

Sumber: Sengupta, 2013

2.3 Uji Toksisitas Subakut

Toksisitas didefinisikan sebagai suatu kemampuan zat kimia dalam menimbulkan kerusakan pada organisme akibat interaksi antara *toxicants* dan sel baik saat digunakan atau saat berada dalam lingkungan. Interaksi ini dapat bervariasi tergantung pada bahan kimia sifat racun dan membran sel, karena dapat terjadi pada permukaan sel, di dalam sel tubuh, atau di jaringan di bawah serta pada matriks ekstraseluler (Jothy *et al.*, 2011). Timbulnya keracunan dapat disebabkan oleh dosis dan cara pemberian yang salah. Suatu zat dikatakan beracun (toksik) apabila zat tersebut berpotensi memberikan efek berbahaya terhadap mekanisme biologi tertentu pada suatu organisme. Ketoksikan suatu senyawa ditentukan dari adanya kadar/lama tinggal senyawa racun tersebut di tempat aksi dan keefektifan mekanisme aksi. Keadaan ini bergantung pada kondisi pemejanaan dan kondisi makhluk hidup.

Uji toksisitas merupakan salah satu uji yang digunakan untuk mengetahui keamanan suatu obat yang akan dijadikan produk obat terhadap organ vital seperti hati dan ginjal (Price dan Wilson, 2005), dikarenakan fungsi kedua organ ini dapat dipengaruhi oleh dosis obat yang tinggi. Uji toksisitas umumnya dirancang untuk mengevaluasi keseluruhan efek suatu senyawa pada hewan coba yang meliputi uji toksisitas akut, toksisitas subakut atau subkronik dan toksisitas kronik (Purwaningsih *et al.*, 2015). Pengujian toksisitas ini dapat diketahui perubahan berupa akumulasi, toleransi, metabolisme, dan kelainan khusus di organ atau sistem organ yang diteliti (Depkes RI, 2013).

Uji toksisitas subakut adalah suatu pengujian untuk mendeteksi efek toksik yang muncul setelah pemberian sediaan uji dengan dosis berulang yang diberikan secara oral pada hewan uji selama sebagian umur hewan, tetapi tidak lebih dari 10% seluruh umur hewan. Prinsip dari uji toksisitas subakut oral adalah sediaan uji dalam beberapa tingkat dosis diberikan setiap hari pada beberapa kelompok hewan uji dengan satu dosis per kelompok selama 28 hari. Tujuan uji toksisitas subkronis oral adalah untuk memperoleh informasi adanya efek toksik zat yang tidak terdeteksi

pada uji toksisitas akut; informasi kemungkinan adanya efek toksik setelah pemaparan sediaan uji secara berulang dalam jangka waktu tertentu; informasi dosis yang tidak menimbulkan efek toksik (*No Observed Adverse Effect Level* / NOAEL); dan mempelajari adanya efek kumulatif dan efek reversibilitas zat tersebut (BPOM, 2014).

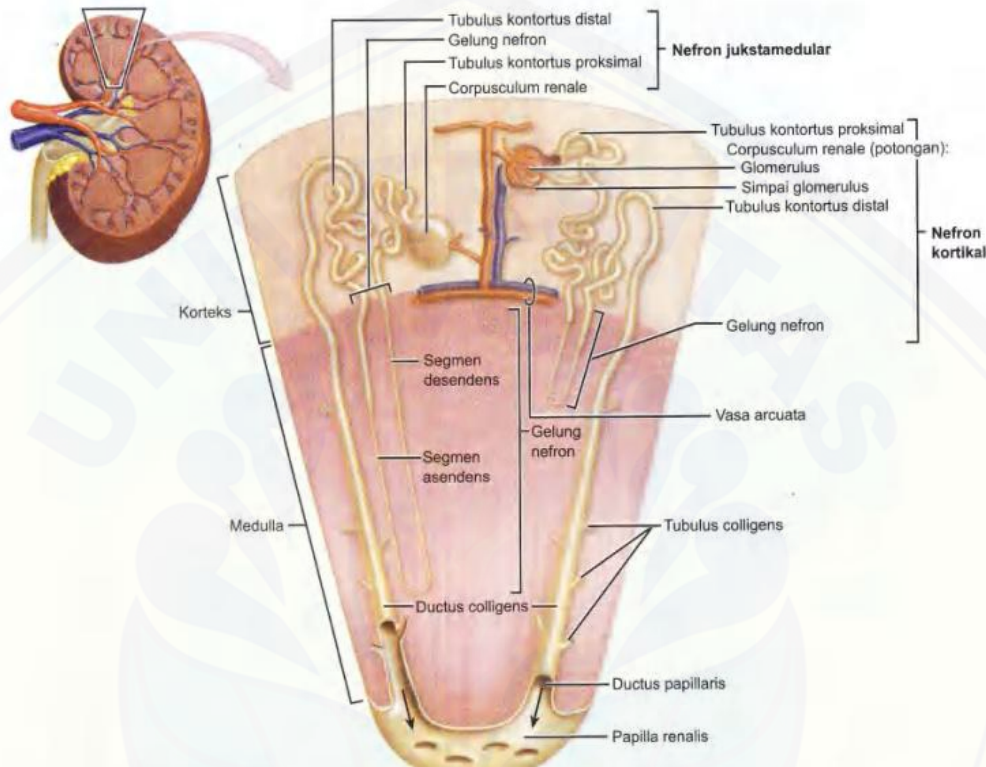
2.4 Ginjal

2.4.1 Morfologi dan Anatomi Ginjal

Ginjal adalah suatu organ di ruang retroperitoneal bagian posterior dari abdomen, pada posisi supinasi terletak pada vertebra torakal XII sampai vertebra lumbar III, dengan posisi ginjal sebelah kanan lebih rendah dari pada ginjal kiri dikarenakan terdapat hati didepannya. Ginjal berbentuk mirip kacang, berwarna coklat kemerahan dengan permukaan yang halus. Pada tikus dewasa, dengan berat badan antara 200-300 g, berat ginjal adalah antara 0,7-2,0 g dengan panjang ginjal adalah sekitar 15 mm, lebarnya kurang lebih 9 mm, dan tebalnya sekitar 6 mm. Data tersebut dapat berbeda signifikan akibat perbedaan strain, usia, jenis kelamin dan pola makan pada tikus (Suckow *et al.*, 2006).

Ginjal terdiri atas 1-1,4 juta unit fungsional yang disebut nefron yang pada dasarnya mempunyai struktur dan fungsi yang sama (Gambar 2.3). Nefron terdiri atas dua komponen, yaitu korpuskulum renal dan tubuli distal (tubulus kontortus proksimal, ansa henle, tubulus kontortus distal dan tubulus koligentes) (Eroschenko, 2010). Cabang utama setiap nefron terdiri atas korpuskel ginjal, yaitu pelebaran bagian awal di korteks; tubulus kontortus proksimal, yang terutama berada di korteks; bagian tipis dan tebal gelung nefron (ansa Henle), yang menurun ke dalam medula, dan menanjak kembali ke korteks; tubulus kontortus distal; dan tubulus colligens. Tubulus colligens dari sejumlah nefron berkonvergensi ke dalam ductus colligens yang mengangkut urine ke calyx dan ureter. Nefron korteks berada hampir

sempurnanya di korteks sementara nefron jukstamedular di dekat medula memiliki gelung panjang di medulla (Mescher, 2010).

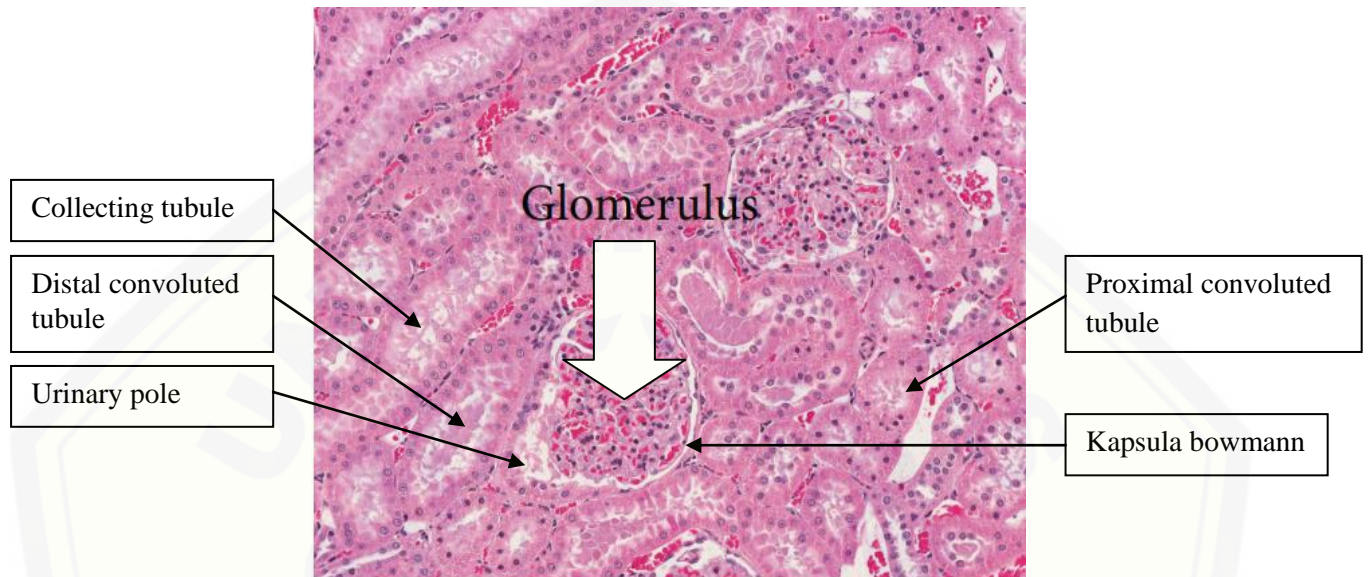


Gambar 2.3 Nefron (Sumber : Mescher, 2010)

2.4.2 Histopatologi Ginjal

Setiap ginjal dilapisi oleh kapsul jaringan ikat padat tidak teratur. Irisan sagital ginjal menunjukkan korteks yang lebih gelap di bagian luar dan medula yang lebih terang di bagian dalam, yang terdiri atas banyak piramida renalis bentuk kerucut. Korteks ginjal didominasi oleh corpusculum renalis dan tubulus ginjal. Corpusculum renalis terdiri atas kapsula bowmann yang tersusun dari sel selapis pipih dan mengelilingi glomerulus. Tubulus-tubulus ginjal yang berada di korteks ginjal antara lain tubulus kontortus proksimal dan tubulus kontortus distal. Tubulus kontortus proksimal bagian basisnya lebih lebar dari apexnya dengan batas yang tidak jelas,

inti sedikit dan banyak brush border dibandingkan dengan tubulus distal yang pucat, batas jelas dan inti banyak (Eroschenko, 2010) yang dapat dilihat pada Gambar 2.4.

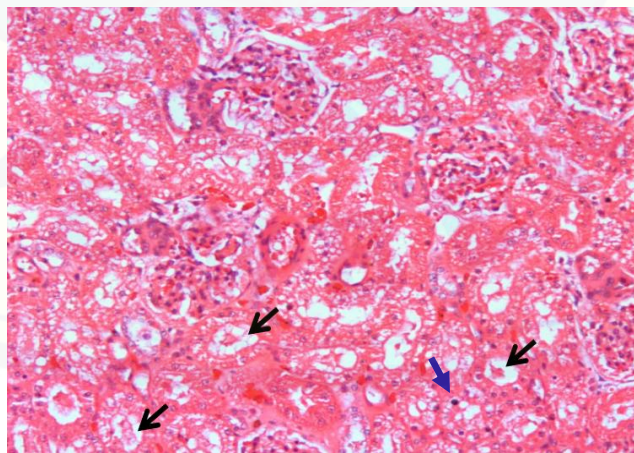


Gambar 2.4 Histopatologis ginjal tikus normal (HE, 200x) (Lee *et al.*, 2013)

Anggiani (2008) menjelaskan bahwa kerusakan ginjal berhubungan dengan kemampuan ginjal dalam mengkonsentrasikan substansi xenobiotik di dalam sel. Dalam histopatologi ginjal tikus putih (*Rattus norvegicus*) kerusakan ginjal karena zat toksik dapat diidentifikasi berdasarkan perubahan struktur histologi, yaitu *nekrosis tubular akut (NTA)* yang secara morfologi ditandai dengan dekstruksi epitel tubulus proksimal. Sel epitel tubulus proksimal peka terhadap anoksia dan mudah hancur karena keracunan akibat kontak dengan bahan-bahan yang diekskresikan melalui ginjal. Perubahan struktur histologi ginjal ini tentu dipengaruhi oleh jumlah zat kimia yang masuk ke dalam tubuh. Zat kimia yang masuk dari darah menuju urin, akan diakumulasikan di tubulus proksimal atau jika substansi kimia direabsorpsi dari urin akan melewati sel epitel tubulus dengan konsentrasi tinggi. Kemudian substansi tersebut akan mengalami pemekatan dan menjadi zat toksik yang memicu kerusakan ginjal.

Kerusakan ginjal yang disebabkan oleh zat toksik mengalami dua perubahan yang sering terjadi pada ginjal yaitu perubahan yang reversibel dan ireversibel. Perubahan reversibel antara lain adalah degenerasi sel tubulus, inflamasi sel tubulus dan terbentuknya *cast*, sedangkan perubahan ireversibel dari sel tubulus antara lain adalah atrofi atau dilatasi lumen, fibrosis sel tubulus, dan yang paling berat adalah nekrosis sel tubulus. Perubahan ireversibel biasanya ditandai dengan hilangnya brush border dan inti sel memipih (Price & Wilson, 2005).

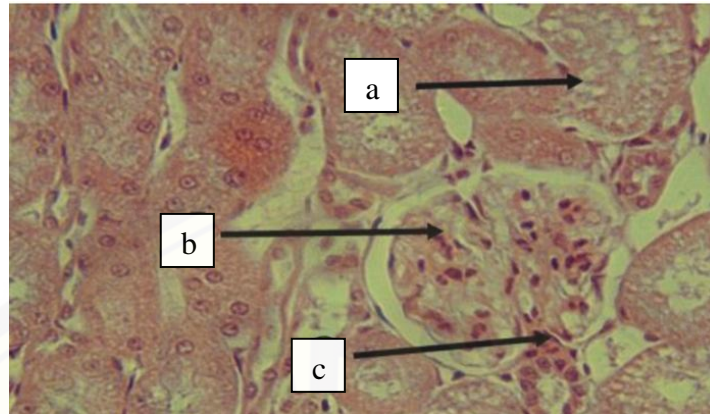
Degenerasi merupakan suatu kondisi ketika sel kehilangan struktur normalnya yang kemudian menuju kematian sel dan merupakan tanda dimulainya kerusakan sel karena adanya toksin (Fahrimal *et al.*, 2016). Degenerasi hidrofik merupakan jejas sel yang *reversible* dengan penimbunan intraseluler yang lebih parah jika disertai adanya albumin. Etiologinya sama dengan pembengkakan sel, hanya intensitas rangsangan patologik lebih berat dan jangka waktu terpapar rangsangan patologik lebih lama. Degenerasi hidrofik ditandai dengan adanya kebengkakan sel karena akumulasi cairan sitoplasma, sitoplasma keruh, inti sel normal, terdapat ruang-ruang kosong (vakuola), sel membesar dan merapat. Degenarasi hidrofik biasanya banyak terjadi pada sel-sel epitel (Suhita *et al.*, 2013).



Gambar 2.5 Degenerasi hidrofik epitel tubular ginjal (panah hitam), Nekrosis (panah biru)
(HE, 200x) (Amer *et al.*, 2012)

Degenerasi melemak merupakan akumulasi intraseluler lemak yang biasanya terjadi pada organ hepar, ginjal, dan jantung. Hal ini disebabkan karena peningkatan produksi asam lemak dan berkurangnya oksidasi dari asam lemak. Degenerasi melemak terjadi karena akumulasi lemak abnormal di dalam sitoplasma sehingga mengakibatkan ukuran sel membesar, terdapat vakuola lemak dan vakuola lemak tampak kosong serta mendesak inti ketepi. Degenerasi melemak menggambarkan adanya penimbunan abnormal trigliserid dalam sel parenkim. Etiologi dari degenerasi melemak adalah toksin, malnutrisi protein, diabetes melitus, obesitas dan anoksia. Akibat perubahan perlemakan tergantung dari banyaknya timbunan lemak. Jika tidak terlalu banyak timbunan lemak maka tidak terjadi gangguan fungsi sel, tetapi jika terjadi timbunan lemak berlebihan, maka menyebabkan perubahan perlemakan dalam sel dan dapat menyebabkan nekrosis (Suhita *et al.*, 2013).

Nekrosis merupakan sel-sel yang mengalami perubahan yang mengarah ke kematian sel, yang disebabkan oleh adanya zat toksik yang masuk bersama dengan aliran darah menuju ke ginjal. Proses terjadinya nekrosis ini diawali dengan destruksi epitel tubulus akibat kontak dengan zat toksik (Anggiani, 2008). Perubahan secara mikroskopik akan tampak pada perubahan intinya yang kehilangan gambaran kromatin, menjadi keriput, tidak vasikuler lagi, inti lebih padat, berwarna gelap (piknosis), inti terbagi atas fragmen-fragmen, robek (karioreksis), kariolisis. Nekrosis dapat disebabkan oleh bermacam-macam agen etiologi dan dapat menyebabkan kematian dalam beberapa hari. Diantara agen penyebabnya yaitu : racun kuat (misal fosfor, jamur beracun arsen dan lainnya), gangguan metabolik (biasanya pada metabolisme protein), dan infeksi virus.



Gambar 2.6 a = Degenerasi melempok sel tubulus, b = Glomerulus membesar, c = Adhesi glomerulus dengan kapsula Bowman (1000x) (Pewarnaan HE) (Nurdiniyah *et al.*, 2015).

2.4.3 Faal Ginjal

Ginjal merupakan organ vital yang berperan sangat penting dalam mempertahankan kestabilan lingkungan dalam tubuh. Ginjal merupakan organ kedua setelah hepar, yang paling sering menjadi sasaran kerusakan oleh zat – zat kimia karena organ ini menerima 25-30 % sirkulasi darah untuk dibersihkan, sehingga sebagai organ filtrasi kemungkinan terjadinya perubahan patologik sangat tinggi. Hal ini disebabkan banyaknya zat kimia yang diekskresikan melalui urin. Urin adalah jalur utama ekskresi sebagian besar zat toksik. Akibatnya, ginjal mempunyai volume aliran darah yang tinggi, mengkonsentrasi toksikan pada filtrat, membawa toksikan melalui tubulus, dan mengaktifkan toksikan tertentu (Purwaningsih *et al.*, 2015).

Ginjal mempunyai fungsi cadangan yang besar, sehingga kehilangan satu ginjal tidak akan menyebabkan efek sakit. Akan tetapi, pada penyakit ginjal dapat terjadi penumpukan sisa buangan (sampah) yang menyebabkan uremia atau penyakit ginjal stadium akhir (PGSA). Apabila filtrasi glomerulus mengalami kebocoran yang hebat, molekul protein yang besar akan terbuang ke dalam urin, menyebabkan proteinuria. Apabila terjadi kerusakan hebat pada glomerulus, eritrosit dapat melewatinya sehingga terjadi hematuria. Ginjal juga memiliki fungsi untuk menyaring atau

membersihkan darah dengan mengeluarkan zat sisa organik, seperti urea, asam urat, kreatinin, dan produk penguraian hemoglobin dan hormon. Namun karena paparan zat toksik, bisa terjadi kerusakan pada ginjal (Suhita *et al.*, 2013).

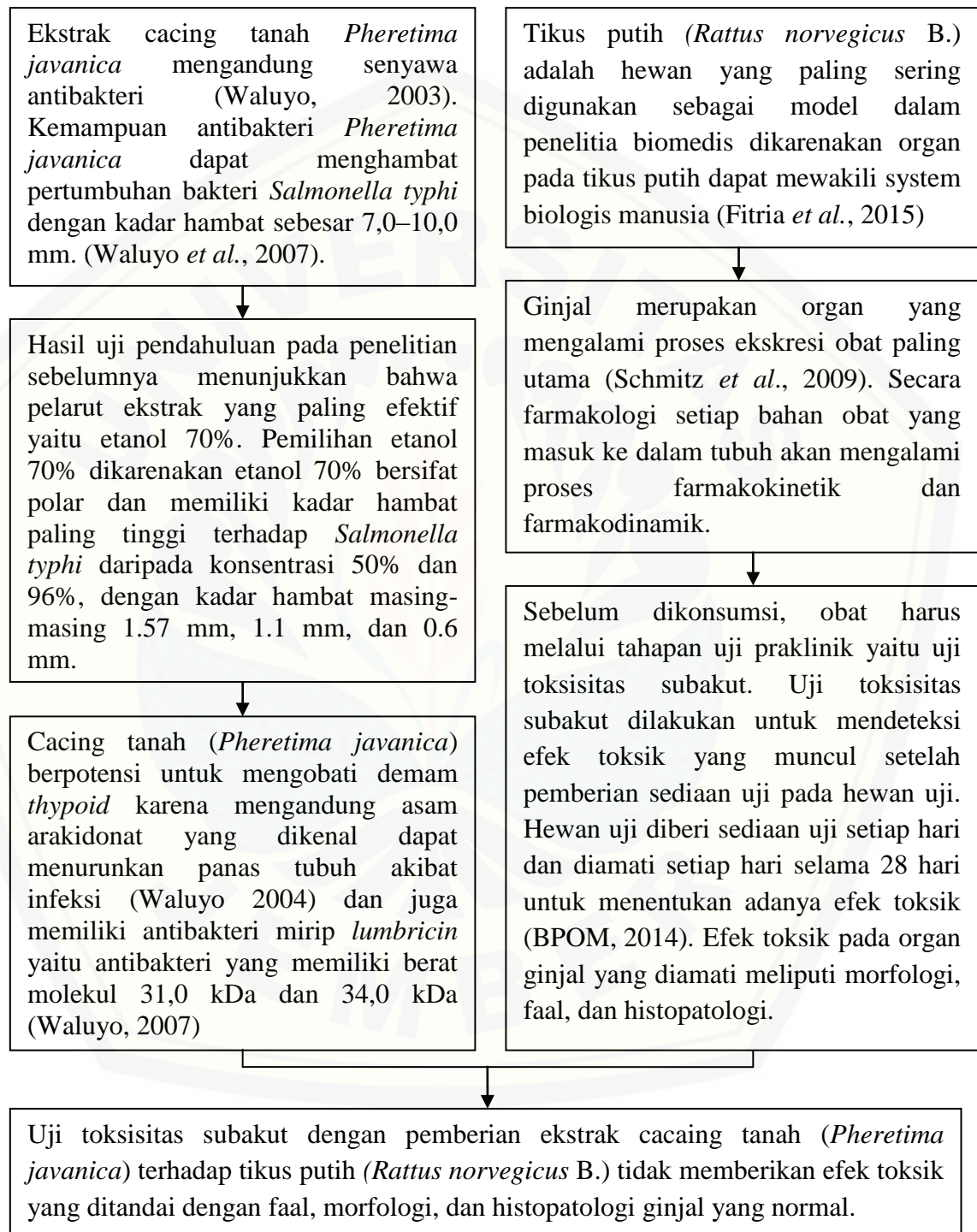
Indeks penting kerusakan fungsi ginjal yaitu nilai nitrogen urea darah (BUN) yang dapat mencerminkan fungsi filtrasi glomerular (Zhou *et al.*, 2017) dan kreatinin serum (Lemeire *et al.*, 2005). Jika fungsi ginjal terganggu, konsentrasi urin dan kreatinin dalam darah akan melebihi nilai normal (Nuridayanti, 2011). Kadar BUN tikus wistar jantan yaitu 18-28 mg/dl (River, 1998). Peningkatan nitrogen urea darah bergantung pada penurunan fungsi filtrasi glomerulus. Penurunan fungsi ginjal 15% (<15ml/mnt) mengindikasikan adanya gagal ginjal dan uremia. Nitrogen urea merupakan produk sisa hasil metabolisme protein yang utama. Kadar nitrogen urea darah merupakan kadar keseimbangan antara pembentukan ureum dengan ekskresi ureum oleh ginjal. Kenaikan nitrogen urea darah (BUN) tidak hanya dipengaruhi oleh penyakit ginjal, tetapi juga dipengaruhi oleh masukan protein dalam diet, katabolisme jaringan, pemecahan protein darah yang berlebihan, pengurangan ekskresi urea karena penurunan laju filtrasi glomerulus, dan pengaruh zat kimia toksik (Wientarsih *et al.*, 2012).

Proses awal biosintesis keratin berlangsung di ginjal yang melibatkan asam amino arginin dan glisin. Menurut salah satu penelitian *in vitro*, kreatin diubah menjadi kreatinin dalam jumlah 1,1% per hari. Pada pembentukan kreatinin tidak ada mekanisme *reuptake* oleh tubuh, sehingga sebagian besar kreatinin diekskresi lewat ginjal. Jika terjadi disfungsi renal maka kemampuan filtrasi kreatinin akan berkurang dan kreatinin serum akan meningkat. Peningkatan kadar kreatinin serum dua kali lipat mengindikasikan adanya penurunan fungsi ginjal sebesar 50%, demikian juga peningkatan kadar kreatinin serum tiga kali lipat merefleksikan penurunan fungsi ginjal sebesar 75%. Ada beberapa penyebab peningkatan kadar kreatinin dalam darah, yaitu dehidrasi, kelelahan yang berlebihan, penggunaan obat yang bersifat

toksik pada ginjal, disfungsi ginjal disertai infeksi, hipertensi yang tidak terkontrol, dan penyakit ginjal (Alfonso *et al.*, 2016).

Kreatinin merupakan hasil metabolisme dari kreatin dan fosfokreatin. Kreatinin memiliki berat molekul 113-Da (Dalton). Kreatinin merupakan indikator kuat bagi fungsi ginjal, peningkatan kadar kreatinin serum dua kali lipat dari serum normal menunjukkan penurunan fungsi ginjal sebanyak 50%. Kadar kreatinin normal tikus wistar adalah 0,578-1,128 mg/dl (Dewi, *et al.*, 2016). Kreatinin difiltrasi di glomerulus dan direabsorpsi di tubular. Kreatinin plasma disintesis di otot skelet sehingga kadarnya bergantung pada massa otot dan berat badan. Kadar kreatinin darah ditentukan oleh banyaknya massa otot (laju metabolisme protein) dan aktivitas metabolisme tubuh. Kadar kreatinin darah juga akan meningkat jika kondisi sakit (panas atau ada infeksi). Obyek dalam penelitian adalah kadar kreatinin darah, sebab sintesis kreatinin relatif konstan sehingga dapat menggambarkan faal ginjal (Purnomo, 2011). Kelemahan kadar kreatinin sebagai parameter fungsi ginjal yaitu peningkatannya dalam darah terjadi jika laju filtrasi glomerulus (LFG) telah menurun di bawah 70% dari normal, sehingga tidak dapat digunakan untuk mendeteksi kerusakan ginjal dini.

2.5 Kerangka Konsep

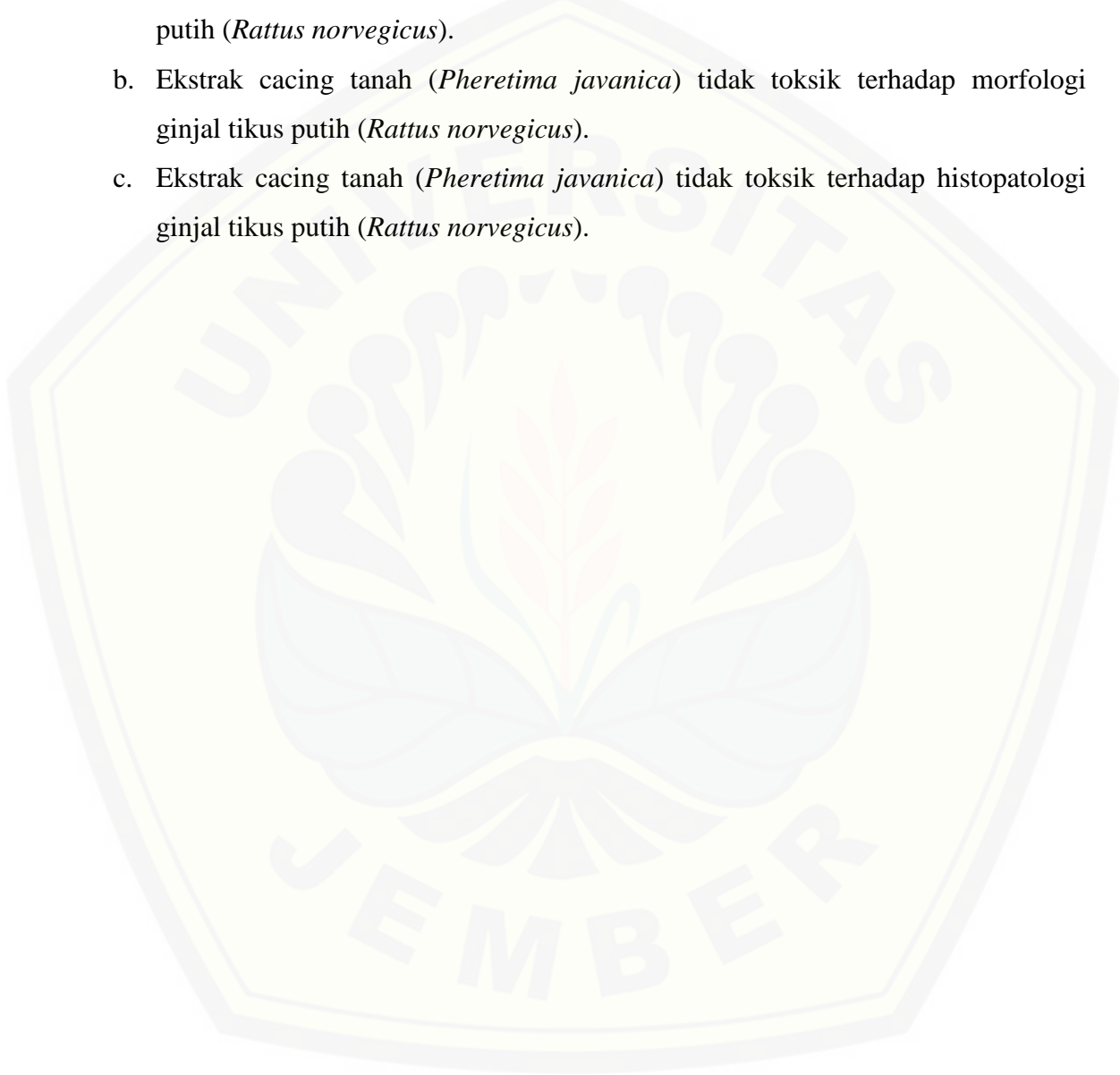


Gambar 2.7 Skema Kerangka Konsep

2.6 Hipotesis

Hipotesis dari penelitian ini adalah sebagai berikut:

- a. Ekstrak cacing tanah (*Pheretima javanica*) tidak toksik terhadap faal ginjal tikus putih (*Rattus norvegicus*).
- b. Ekstrak cacing tanah (*Pheretima javanica*) tidak toksik terhadap morfologi ginjal tikus putih (*Rattus norvegicus*).
- c. Ekstrak cacing tanah (*Pheretima javanica*) tidak toksik terhadap histopatologi ginjal tikus putih (*Rattus norvegicus*).



BAB 3. METODE PENELITIAN

3.1 Jenis Penelitian

Penelitian ini merupakan penelitian eksperimental laboratoris dikarenakan pada penelitian ini menggunakan perlakuan untuk memanipulasi objek penelitian yang disertai dengan adanya kontrol. Ekperimen ini dilakukan dengan menggunakan Rancangan Acak Lengkap (RAL).

3.2 Tempat dan Waktu Penelitian

Penelitian ini dilaksanakan di Laboratorium Biomedik Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Jember, Laboratorium Biologi Fakultas Keguruan dan Ilmu Pendidikan Universitas Jember, dan Laboratorium SMK Analis Kesehatan Jember. Penelitian ini dilakukan dengan waktu yang dibutuhkan selama 42 hari. Penelitian ini dimulai pada bulan Oktober 2018 sampai Januari 2019.

3.3 Identitas Variabel Penelitian

3.3.1 Variabel Bebas

Variabel bebas merupakan variabel yang dapat mempengaruhi atau menjadi sebab perubahan timbulnya variabel terikat. Dalam penelitian ini variabel bebasnya adalah varian dosis ekstrak cacing tanah (*Pheretima javanica*) yang diinduksikan pada tikus putih (*Rattus norvegicus*).

3.3.2 Variabel Terikat

Variabel terikat adalah variabel yang dapat dipengaruhi atau menjadi akibat karena adanya variabel bebas. Variabel terikat pada penelitian ini adalah efek toksisitas subakut pada tikus putih (*Rattus norvegicus*) setelah diinduksi oleh cacing tanah (*Pheretima javanica*) dan diamati melalui gambaran histopatologi

ginjal, fungsi faal ginjal, morfologi ginjal, serta ciri fisik dari tikus putih (*Rattus norvegicus*).

3.3.3 Variabel Kontrol

Variabel kontrol adalah variabel yang dikendalikan sehingga hubungan variabel bebas dan variabel terikat tidak dipengaruhi oleh faktor luar yang tidak diteliti. Variabel kendali meliputi:

- a. Umur hewan coba yang digunakan (3-4 bulan)
- b. Berat badan hewan coba yang digunakan (200-250 gam)
- c. Jenis kelamin hewan coba adalah jantan
- d. Jenis hewan coba adalah tikus putih (*Rattus norvegicus*) jenis wistar strain
- e. Hewan uji dalam keadaan sehat
- f. Pelarut ekstrak yang digunakan yaitu etanol 70%
- g. Waktu perlakuan induksi ekstrak selama 28 hari pada kelompok perlakuan ditambah dengan pengamatan 14 hari tanpa induksi ekstrak pada kelompok satelit.

3.4 Definisi Operasional

Definisi operasional dijelaskan agar tidak menimbulkan makna ganda dan untuk menghindari perbedaan persepsi dalam mengartikan beberapa variabel dalam penelitian ini, definisi operasional dalam penelitian ini adalah sebagai berikut:

- a. Toksisitas subakut didefinisikan sebagai uji yang dilakukan terhadap hewan uji dengan perlakuan memberikan ekstrak cacing tanah (*Pheretima javanica*) setiap hari atau minimal 5 hari dalam 1 minggu terhadap tikus putih (*Rattus norvegicus*) selama 28 hari.
- b. Tikus putih (*Rattus norvegicus*) yang digunakan yaitu jenis strain wistar dengan ciri-cirinya yang sehat, dewasa, tidak pucat dan pergerakannya aktif.

- c. Parameter faal ginjal tikus putih (*Rattus norvegicus*) yang dianalisis yaitu kandungan kreatinin dan BUN.
- d. Morfologi ginjal tikus putih (*Rattus norvegicus*) yang diamati yaitu berat organ ginjal dan warna organ ginjal.
- e. Histopatologi ginjal dilakukan untuk mengetahui pola jaringan dan gambaran kerusakan serta perubahan yang ditimbulkan akibat pemberian ekstrak cacing tanah (*Pheretima javanica*) kering selama 28 hari pada organ ginjal. Ginjal yang diamati yaitu pada bagian sel tubulus dengan parameter yang di amati adanya degenerasi hidrofik, degerasi melemak, dan nekrosis.

3.5 Jumlah Sampel

Jumlah total sampel hewan coba yang digunakan dalam penelitian ini adalah tikus putih jantan (*Rattus norvegicus*) sebanyak 24 ekor. Penentuan jumlah sampel minimal dengan menggunakan rumus besar sampel eksperimental, dimana $(t-1)(r-1) \geq 15$ perlakuan, dimana t adalah jumlah perlakuan dan r adalah jumlah hewan coba tiap kelompok perlakuan.

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

$$(6-1)(r-1) \geq 15$$

$$5(r-1) \geq 15$$

$$r-1 \geq 15/5$$

$$r-1 \geq 3$$

$$r \geq 3 + 1$$

$$r \geq 4$$

Jumlah tikus jantan yang digunakan sebanyak 4 ekor untuk masing-masing perlakuan (5 kelompok perlakuan dan 1 kelompok kontrol). Jadi total hewan uji pada penelitian ini adalah 24 ekor tikus putih. Adapun rancangan penelitiannya adalah sebagai berikut:

Tabel 3.1 Rancangan Penelitian Uji Toksisitas Subakut Ekstrak Cacing Tanah (*Pheretima javanica*) Pada Tikus Putih (*Rattus norvegicus*) Jantan.

Perlakuan	Pengulangan			
	1	2	3	4
K(-)	K(-). U1	K(-). U2	K(-). U3	K(-). U4
P1	P1. U1	P1. U2	P1. U3	P1. U4
P2	P2. U1	P2. U2	P2. U3	P2. U4
P3	P3. U1	P3. U2	P3. U3	P3. U4
S1	S1. U1	S1. U2	S1. U3	S1. U4
S2	S2. U1	S2. U2	S2. U3	S2. U4

Keterangan:

- K(-) : Kontrol negatif (diberi akuades)
 P1 : Perlakuan 1 (Induksi ekstrak cacing tanah dengan dosis 50 mg/KgBB)
 P2 : Perlakuan 2 (Induksi ekstrak cacing tanah dengan dosis 500 mg/KgBB)
 P3 : Perlakuan 3 (Induksi ekstrak cacing tanah dengan dosis 1000 mg/KgBB)
 S1 : Satelit 1 (Satelit kontrol (diberi akuades))
 S2 : Satelit 2 (Satelit, ekstrak cacing tanah dengan dosis 1000 mg/KgBB)
 U : Ulangan

3.6 Alat dan Bahan Penelitian

3.6.1 Alat Penelitian

Alat yang digunakan dalam penelitian antara lain: timbangan analitik, toples kaca, pengaduk, beaker glass, kertas saring, erlenmeyer, corong kaca, sloky, blender, nampan plastik, oven, kulkas, gelas ukur, timba, LAF (*Laminar Air Flow*), rotary evaporasi, vortex, bunsen, timbangan hewan, hematokrit, tabung darah, kandang tikus, tempat makan dan minum tikus, sonde, 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

3.6.2 Bahan Penelitian

Bahan yang digunakan adalah cacing tanah (*Pheretima javanica*), akuades, ethanol 70 %, alkohol 70%, formalin, tikus putih (*Rattus norvegicus*) jantan galur

wistar, pakan, alumunium foil, *carboxymethyl cellulose* Na 1% , larutan bouin, xylol, parafin, pewarna hematoksilin, entelan, tissue, plastik wrap.

3.7 Prosedur Penelitian

3.7.1 Pembuatan Ekstrak Cacing Tanah (*Pheretima javanica*)

Cacing tanah (*Pheretima javanica*) dicuci bersih, selanjutnya ditimbang berat basah nya. Setelah ditimbang dikeringanginkan selama 6 hari, kemudian dioven dengan suhu 40°C selama 4 jam kemudian diblender sampai halus dan disaring. Cara pembuatan ekstrak cacing tanah dengan menggunakan perbandingan 1:3 (500 g serbuk cacing tanah dilarutkan dalam 1500 ml etanol 70%) kemudian didiamkan selama 3 hari dan rutin diaduk 3 kali sehari. Hasil rendaman disaring dengan menggunakan kertas saring hingga didapatkan filtrat. Selanjutnya filtrat tersebut melalui proses rotary evaporasi pada suhu 40°C hingga terbentuk pasta. Proses ekstraksi maserasi 500 g cacing tanah menghasilkan ekstrak etanol cacing tanah berbentuk pasta sebanyak 36 g.

3.7.2 Pengujian Tikus Putih (*Rattus norvegicus*).

a. Tahap Persiapan

Tahap persiapan meliputi pembuatan kandang dan tempat minum. Kandang terbuat dari bak plastik dengan kawat dan beralaskan sekam kering. Hewan coba tikus putih yang telah memenuhi kriteria sampel di atas, di tempatkan dalam kandang dengan suhu ruangan diatur menjadi $22^{\circ} \pm 3^{\circ}$ C, kelembapan relatif 30–70%, dan penerangan 12 jam terang 12 jam gelap.

b. Pemeliharaan dan Perawatan

Pemeliharaan dan perawatan tikus putih dilakukan di Laboratorium Farmakologi Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Jember. Hewan coba diaklimasikan selama 7 hari dengan tujuan untuk menyeragamkan dan mengamati keadaan tikus putih awal sebelum dilakukan perlakuan. Kondisi kandang tikus selalu

dalam pengawasan dan juga sekam dalam kandang diganti 4 hari sekali, hal ini bertujuan untuk menjaga kesehatan tikus. Hewan coba diberi makan dan minum yang selalu tersedia. Pakan tikus berupa makanan standart yang diproduksi oleh PT. Cargil Indonesia dengan komposisi yang dapat dilihat pada Tabel 3.2.

Table 3.2 Komposisi Pakan Produksi PT Cargil Indonesia

Komposisi	Persentase (%)
Protein	21
Serat	4
Lemak	4
Air	14
Abu	6,5

c. Dosis yang Digunakan dalam Penelitian

Batas dosis minimum yang digunakan dalam penelitian berdasarkan uji toksisitas akut, sedangkan batas dosis maksimum yang digunakan sebesar 1000 mg/KgBB (BPOM, 2014). Dosis yang digunakan dalam penelitian ialah 50 mg/KgBB; 500 mg/KgBB; 1000 mg/KgBB.

d. Pengambilan darah awal

Pengambilan darah awal dilakukan untuk mengetahui kondisi awal hewan coba sebelum diberi perlakuan. Pengambilan darah ini dilakukan melalui plexus orbital sebanyak 2 ml dan dimasukkan dalam pipa kapiler no EDTA.

e. Pemberian ekstrak cacing tanah (*Pheretima javanica*).

Pemberian ekstrak cacing tanah diberikan secara oral kepada tikus putih (*Rattus norvegicus*) minimal 5 hari dalam 1 minggu selama 28 hari, sedangkan kelompok satelit ini tetap dipelihara sampai 14 hari setelah hari ke 28 tanpa pemberian zat uji lagi untuk melihat *reversibilitas*.

f. Pengamatan gejala toksisitas

Pengamatan gejala toksisitas dilakukan setiap hari selama 28 hari untuk melihat munculnya gejala-gejala toksik, sedangkan untuk kelompok satelit pengamatan dilanjutkan selama 14 hari kemudian untuk mendeteksi proses penyembuhan

kembali dari pengaruh toksik. Tanda-tanda gejala toksik yang diamati dapat dilihat pada Tabel 3.3

Tabel 3.3 Parameter Gejala Toksisitas pada Tikus

No.	Kategori	Parameter
1	Tidak ada indikasi sakit dan stress	Rambut terawat baik (tidak berdiri dan tidak kusam), peka terhadap rangsang, dalam kondisi yang baik (tenang), nafsu makan normal, dan nilai skor kondisi tubuh 3,4, atau 5
2	Sakit dan stres ringan	Rambut berdiri dan kusam, gaya berjalan sedikit membungkuk, terdapat luka, agak gelisah, dan nilai skor kondisi tubuh 2
3	Sakit dan stres sedang	Rambut berdiri dan kusam, mata menyipit, berjalan membungkuk dan atau lambat, agresif dan terlihat tidak nyaman, tidak nafsu makan, dan nilai skor kondisi tubuh 2
4	Sakit dan stres parah	Rambut sberdiri dan kusam, mata cekung (menunjukkan tanda dehidrasi), bergerak lambat atau tidak merespon ketika dielus, membungkuk, reaksi berlebih terhadap rangsang, dan skor kondisi tubuh 1

Sumber: Burkholder *et al.*, 2012

Skor kondisi tubuh merupakan penilaian yang cepat, mudah, dan memiliki hubungan dengan kondisi kesehatan tikus. Skor kondisi tubuh terdiri atas 5 kategori yang dapat dilihat pada Tabel 3.4

Tabel 3.4 Skor Kondisi Tubuh Tikus

Skor	Ciri-ciri
1	Kurus, struktur tulang sangat menonjol secara ekstrim, sedikit atau tidak sama sekali tertutup oleh daging
2	Dibawah kondisi baik, menunjukkan segmentasi pada ruas-ruas tulang belakang, dan tulang panggul bagian dorsal mudah teraba
3	Kondisi baik, ruas tulang belakang dan tulang panggul bagian dorsal tidak menonjol namun masih dapat diraba dengan sedikit tekanan
4	Diatas kondisi baik, ruas tulang belakang terasa bila ditekan secara kuat dan ruas-ruas pada tulang belakang mulai tidak terlihat
5	Obesitas, tikus terlihat besar merata, struktur tulang tersembunyi dibawah daging dan lemak subkutan

Sumber: Burkholder *et al.*, 2012

g. Pemeriksaan biokimia klinis

Pengambilan darah pasca induksi dilakukan pada hari ke 29, sedangkan untuk kelompok satelit dilakukan pada hari ke 43. Darah diambil melalui plexus orbital sebanyak 2 ml dan dimasukkan dalam tabung kapiler no EDTA. Pemeriksaan biokimia klinis dilakukan di laboratorium klinik Piramida Jember. Parameter yang diperiksa yaitu kreatinin dan nitrogen urea darah (BUN).

h. Penimbangan organ

Organ yang akan ditimbang harus dikeringkan terlebih dahulu dengan kertas penyerap, kemudian segera ditimbang untuk mendapatkan bobot organ absolut. Berat organ relatif dapat diperoleh dengan rumus berikut:

$$\text{berat organ relatif} = \frac{\text{berat organ absolut}}{\text{berat badan}}$$

(Venkatasubbu *et al.*, 2015)

i. Pembuatan preparat histopatologi ginjal

Pembuatan preparat histopatologi ginjal dilakukan pada akhir pengujian yaitu hari ke 29 bagi kelompok uji sedangkan kelompok satelit dilakukan pada hari ke 43. Tikus dibedah dan diambil organ ginjalnya untuk diperiksa dan dilakukan pembuatan preparat histopatologi ginjal. Adapun langkah kerja pembuatan preparat organ yaitu:

1. Fiksasi atau pengawetan, yaitu merendam organ dalam formalin 10% pada suhu kamar selama 1x24 jam.
2. Dehidrasi, yaitu proses pengeluaran air dari jaringan agar jaringan tersebut dapat diisi oleh parafin sehingga dapat diiris tipis. Organ yang telah difiksasi kemudian direndam alkohol secara bertingkat (alkohol 50% selama 3 jam, alkohol 70% selama 3 jam, alkohol 80% selama 3 jam, alkohol 95% selama 3 jam, dan alkohol absolut selama 1 jam) yang mana setiap perlakuan konsentrasi alkohol, alkoholnya diganti setiap 1 jam sekali
3. *Clearing*, yaitu suatu tahap untuk mengeluarkan alkohol dari jaringan dan menggantinya dengan larutan yang dapat berikatan dengan parafin. Setelah

proses dehidrasi, organ dimasukkan kedalam wadah *clearing* I dan selanjutnya dimasukkan dalam wadah *clearing* II selama 30 menit, masing-masing wadah berisi larutan chlorofom dan direndam selama 30 menit.

4. Impegrasi, yaitu proses pengeluaran cairan *clearing* dari jaringan dan menggantinya dengan parafin. Setelah proses akhir *clearing*, organ dimasukkan kedalam wadah yang berisis parafin yang sudah mencair dan dimasukkan kedalam inkubator dengan suhu 56°C-59°C selama 2 jam.
5. *Blocking*, yaitu proses pembuatan blok preparat dengan menggunakan parafin. Organ dimasukkan dan diatur posisinya ke dalam cetakan yang sebelumnya telah diisi dengan parafin cair pada dasarnya, kemudian parafin cair dituang sampai cetakan penuh. Selanjutnya didiamkan pada suhu ruang selama sehari, sampai parafin benar-benar mengeras, setelah itu didinginkan ke dalam lemari pendingin pada suhu 4°C.
6. Pemotongan (*sectioning*), hasil cetakan dipotong menggunakan mikrotom dengan ketebalan 5 μm , selanjutnya irisan (pita parafin) yang diperoleh dari pemotongan tersebut dipindahkan menggunakan kuas kedalam *waterbath* dengan temperatur 37°C-40°C dan dibiarkan mengembang. Selanjutnya pita parafin ditempelkan pada gelas objek.
7. *Staining* (pewarnaan) menggunakan Hematoksilin Eosin (HE).

Tabel 3.5 Tahap Pewarnaan Mayers Hematoxylin Eosin

No.	Reagensia	Waktu
1	Xylol I	5 menit
2	Xylol II	5 menit
3	Alkohol 90%	3 menit
4	Alkohol 80%	3 menit
5	Alkohol 70%	3 menit
6	Alkohol 50%	3 menit
7	Air mengalir	3 menit
8	Larutan Hematoxylin	15 menit
9	Larutan Eosin	15 menit

No.	Reagensia	Waktu
10	Alkohol 50%	3 menit
11	Alkohol 70%	3 menit
12	Alkohol 80%	3 menit
13	Alkohol 90%	3 menit
14	Xylol I	3 menit
15	Xylol II	3 menit

Setelah proses pewarnaan selesai, preparat ditutup dengan kaca penutup yang telah diberi Canada balsem.

8. Labeling, preparat diberi label sesuai dengan identitas preparat kemudian ditempelkan pada kaca benda (Widayat, 2017).
- j. Pengamatan histopatologi
 Pengamatan histopatologi ginjal dilakukan setelah satu hari pembuatan preparat. Pengamatan preparat histologi ginjal dilakukan dengan menggunakan mikroskop cahaya dengan perbesaran 400x.

3.8 Analisis Data

3.8.1 Analisis Data Faal Ginjal

Pengamatan faal ginjal dianalisis menggunakan grafik regresi linier untuk mengetahui besarnya pengaruh variasi dosis terhadap uji bioklinis BUN dan kreatinin, data yang digunakan dalam regresi linier yaitu data uji bioklinis setelah induksi ekstrak cacaing tanah (*Pheretima javanica*)

3.8.2 Analisis Data Morfologi Ginjal

Pengamatan morfologi organ ginjal dilakukan dengan cara menghitung berat relatif organ yang didapat setelah pembedahan. Hasil yang didapat dianalisis secara statistik dengan metode *one way* ANOVA untuk mengetahui pengaruh variasi dosis terhadap berat relatif organ ginjal. Sedangkan warna ginjal dianalisis secara deskriptif.

3.8.3 Analisis Gejala Toksisitas

Pengamatan gejala toksisitas ginjal diamati secara deskriptif untuk mengetahui ada tidaknya gejala toksik akibat pemberian ekstrak cacing tanah (*Pheretima javanica*) dan pengamatan berat badan tikus dianalisis secara statistik dengan metode *one way* ANOVA untuk mengetahui pengaruh variasi dosis terhadap berat badan tikus. Jika terdapat pengaruh maka dilakukan uji lanjut dengan menggunakan Duncan.

3.8.4 Analisis Histopatologi Ginjal

Pengamatan histopatologi diperoleh melalui pengamatan menggunakan mikroskop dengan 5 lapang pandang untuk mengetahui gambaran histopatologi ginjal tikus putih (*Rattus norvegicus*). Data diperoleh dengan cara pemberian skor terhadap pengamatan preparat histopatologi ginjal pada tikus putih (*Rattus norvegicus*). Skor diperoleh dengan menghitung persentase kerusakan sel dengan menggunakan rumus $\frac{\text{jumlah sel rusak}}{\text{jumlah sel keseluruhan}} \times 100\%$ (Januar *et al.*, 2014). Data perubahan gambaran histopatologi ginjal tikus lalu dianalisis secara statistik dengan metode *Kruskal-Wallis* Test dengan taraf kepercayaan 99%.

Tabel 3.6 Skor Derajat Histopatologi

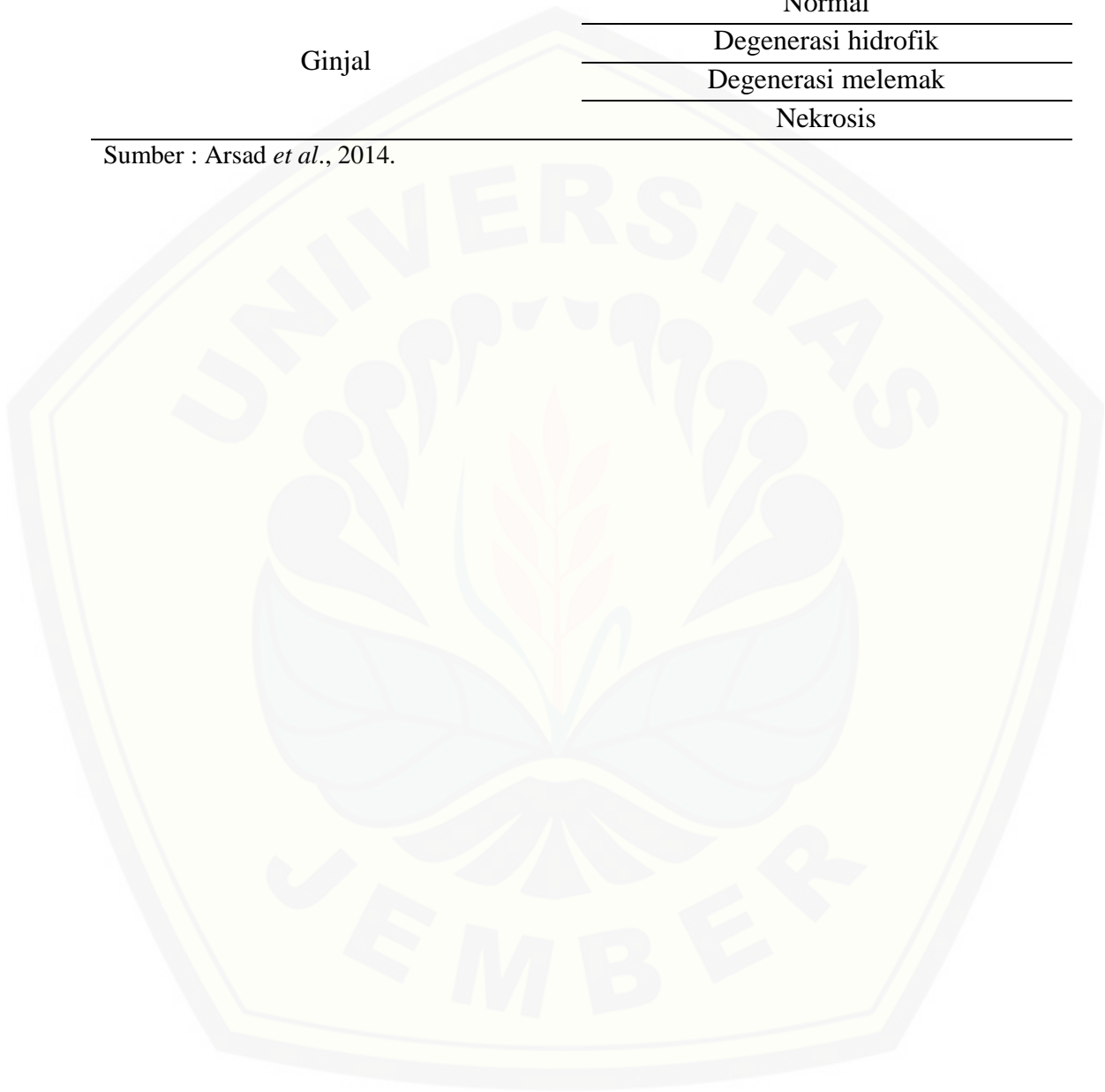
Skor	Tingkat Perubahan
0	Tidak terjadi perubahan histopatologi pada organ ginjal
1	Perubahan tingkat ringan, yaitu jika terjadi perubahan histopatologi <30% lapang pandang
2	Perubahan tingkat sedang, yaitu apabila perubahan yang terjadi adalah 30-50% lapang pandang
3	Perubahan tingkat berat, yaitu apabila pada satu lapang pandang terjadi perubahan histopatologi >50%

Sumber : Arsad *et al.*, 2014.

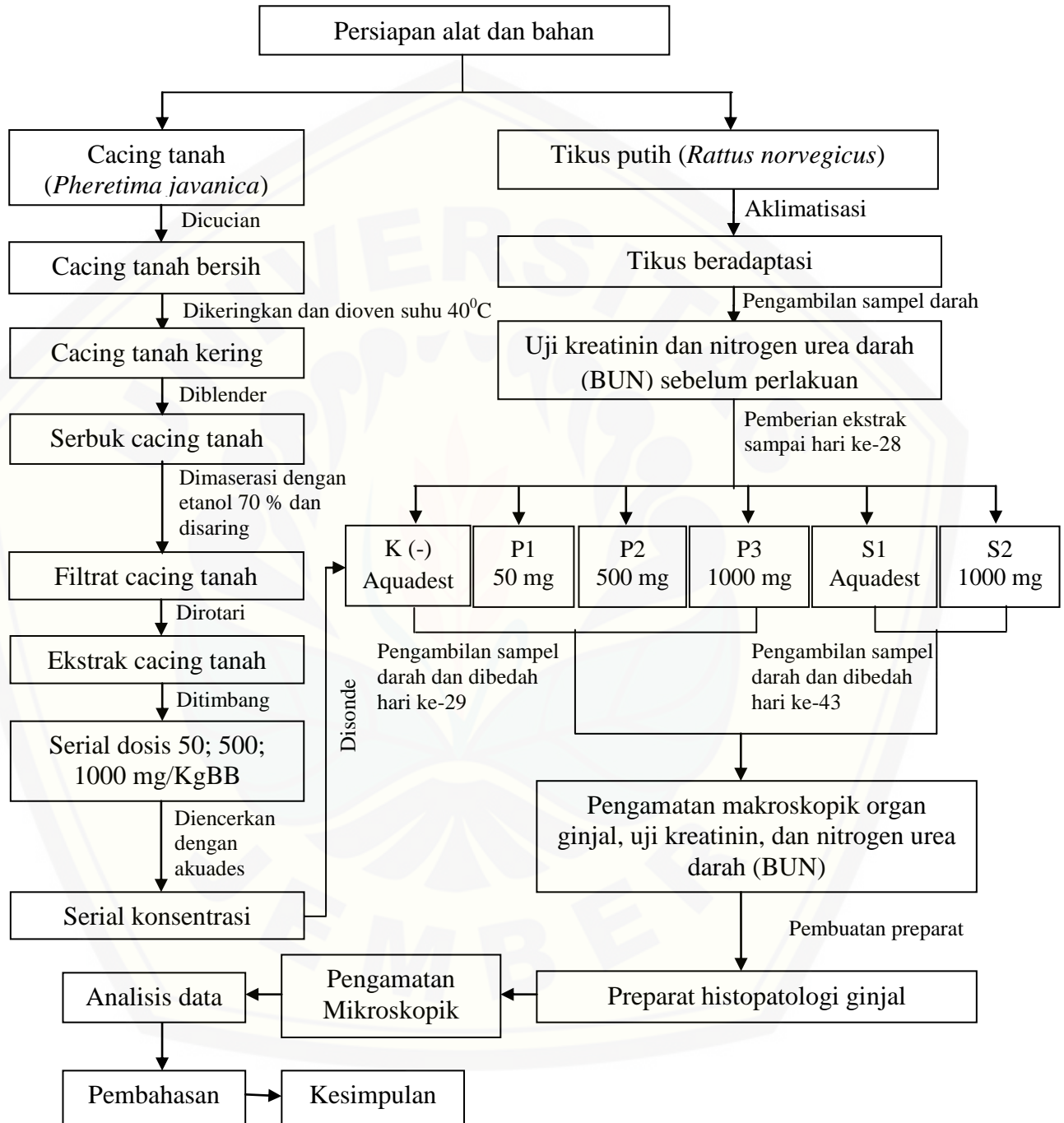
Tabel 3.7 Perubahan Parameter Histopatologi Organ

Organ	Perubahan Histopatologi
Ginjal	Normal
	Degenerasi hidrofik
	Degenerasi melemak
	Nekrosis

Sumber : Arsad *et al.*, 2014.



3.9 Alur Penelitian



Gambar 3.1 Diagram Alur Penelitian

BAB 5. PENUTUP

5.1 Kesimpulan

Berdasarkan hasil penelitian dan pembahasan yang telah dijabarkan, maka dapat ditarik kesimpulan sebagai berikut:

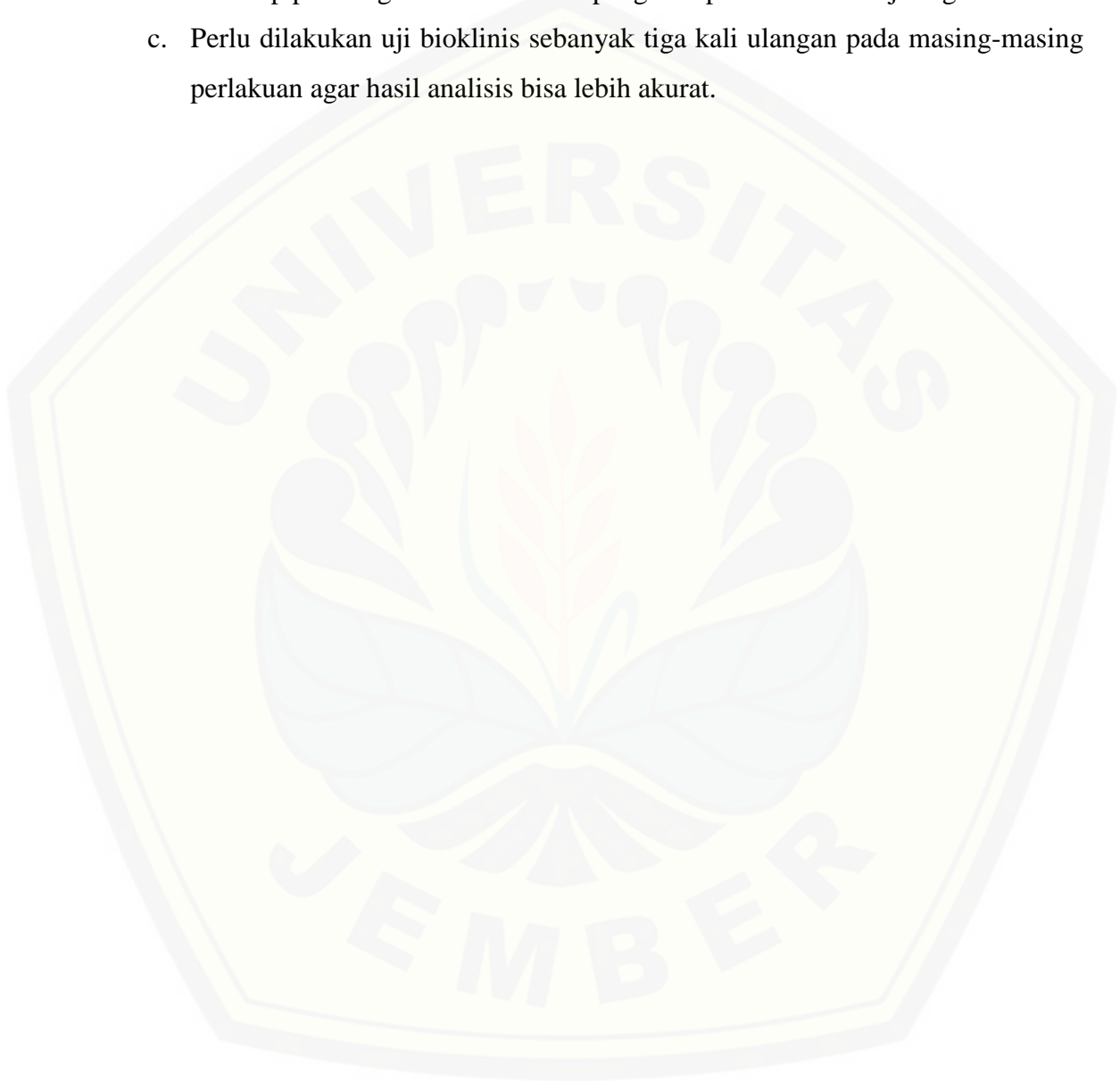
- a. Ekstrak cacing tanah (*Pheretima javanica*) tidak toksik atau tidak menyebabkan terjadinya gangguan pada faal ginjal tikus putih (*Rattus norvegicus*) yang ditandai dengan nilai R^2 kedua uji baik uji kadar BUN dan kreatinin secara berurutan yaitu 0,139 dan 0,455 yang mana nilai tersebut tidak lebih dari dua kali lipat dari nilai normal kadar BUN dan kreatinin.
- b. Ekstrak cacing tanah (*Pheretima javanica*) tidak toksik terhadap morfologi ginjal tikus putih (*Rattus norvegicus*) yang ditandai dengan nilai signifikansi berat organ relatif 0,244 dimana $p > 0,01$ yang artinya ekstrak cacing tanah (*Pheretima javanica*) berpengaruh secara tidak signifikan terhadap berat badan tikus putih (*Rattus norvegicus*), dan juga warna organ ginjal pada semua kelompok perlakuan sama yaitu merah kecoklatan.
- c. Ekstrak cacing tanah (*Pheretima javanica*) tidak toksik terhadap histopatologi ginjal tikus putih (*Rattus norvegicus*) yang ditandai dengan nilai signifikansi 0,926 dimana $p > 0,01$ yang artinya ekstrak cacing tanah (*Pheretima javanica*) berpengaruh secara tidak signifikan terhadap histopatologi organ ginjal tikus putih (*Rattus norvegicus*).

5.2 Saran

Berdasarkan hasil penelitian yang telah dilakukan, maka penulis menyarankan beberapa hal berikut:

- a. Perlu diadakan penelitian lebih lanjut mengenai uji klinis serbuk cacing tanah (*Pheretima javanica*) terhadap penderita penyakit demam *typhoid*.

- b. Sebelum organ ginjal dimasukkan kedalam formalin 10% harus dipotong dahulu agar formalin dapat meresap dalam organ, karena jika formalin tidak meresap pada organ maka akan berpengaruh pada kerusakan jaringan.
- c. Perlu dilakukan uji bioklinis sebanyak tiga kali ulangan pada masing-masing perlakuan agar hasil analisis bisa lebih akurat.



DAFTAR PUSTAKA

- Alfonso, A.A., Mongan, A.E., dan Memah, M.F. 2016. Gambaran kadar kreatinin serum pada pasien penyakit ginjal kronik stadium 5 non dialysis. *Jurnal e-Biomedik (eBm)* 4(1):178-183.
- Amer, A., Siti-Suri, A., Mohd , H., Abdul-Rahman O., Tengku-Azmi T., Faruku, B., and Ajwad, A. 2012. Molecular and pathological identification of feline coronavirus type I. *African Journal of Biotechnology* 11(45): 10451-10461.
- Anggiani, Y. D. 2008. Pengaruh Pemberian Teh Kombucha Dosis Bertingkat Per Oral terhadap Gambaran Histologi Ginjal Mencit BALB/C. *Skripsi*. Semarang: Fakultas Kedokteran Universitas Diponegoro.
- Anggraini, D. R. 2008. Gambaran Makroskopis dan Mikroskopis Hati dan Ginjal Mencit Akibat Pemberian Plumbum Asetat. *Tesis*. Fakultas Kedokteran USU.
- Apriandi, A., Tarman, K., dan Sugita, P. 2016. Toksisitas Subkronis Ekstrak Air Kerang Lamis Secara In Vivo pada Tikus *Sprague dawley*. *JPHPI* 19(2): 177-183.
- Arsad, S.S., Esa, N.M., and Hamzah, H. 2014. Histopathologic Changes in Liver and Kidney Tissues from Male Sprague Dawley Rats Treated with *Rhaphidophora Decursiva* (Roxb.) Schott Extract. *Journal of Cytology & Histology* S4: 001:1-6.
- Azwanida, N.N. 2015. A Review on the Extraction Methods Use in Medicinal Plants, Principle, Strength and Limitation. *Med Aromat Plants* 4(3): 1-6
- Badan Pengawas Obat dan Makanan Republik Indonesia (BPOM RI). 2014. *Pedoman Uji Toksisitas Nonklinik Secara In Vivo*. Jakarta: BPOM RI.
- Ceriana, R. dan Sari, W. 2016. Perubahan Struktur Makroskopis Hati dan Ginjal Mencit yang Diberi Ekstrak Batang Sipatah-Patah (*Cissus ouadrangula* Salisb.). Prosiding Seminar Nasional Biotik.

- Chang, C.J., Tzeng, T., Liou, S., and Chang, Y. 2012. Acute and 28-Day Subchronic Oral Toxicity of an Ethanol Extract of *Zingiber zerumbet* (L.) Smith in Rodents. *Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine* 2(4): 1-12.
- Cho, I.H., Choi, E.S., Lim, H.G., and Lee, H.H. 2008. Purification and Characterization of Six Fibrinolytic Serine-Protease from Earthworm *Lumbricus rubellus*. *Journal of Biochemistry and Molecular Biology* 37(2): 199-205
- Ciptanto, S. 2011. *Mendulang Emas Hitam Melalui Budidaya Cacing Tanah*. Yogyakarta: Lily Publisher.
- Crump, J.A., Luby, S.P. & Mintz, E.D., 2004, The global burden of typhoid fever, *Bull World Health Organ* 82 (5): 346-353.
- Damanik, D. D. P., N. Surbakti., R. Hasibuan. 2014. Ekstraksi Katekin Dari Daun Gambir (*Uncaria Gambir Roxb*) Dengan Metode Maserasi. *Jurnal Teknik Kimia USU* 3(2): 10-14.
- Depkes RI. 2013. *Sistematika Pedoman Pengendalian Penyakit Tifus*. Jakarta: Direktorat Jendral Pengendalian Penyakit & Penyehatan Lingkungan.
- Derelanko, M.J. 2008. *The Toxicologist's Pocket Handbook-Second Edition*. New York (US): CRC Press
- Dewi, N. W. S., A. N. Mahendra., G. W. K. Putra., I. M. Jawi., D. M. Sukrama, and N. L. Kartini. 2017. Ethanolic extract of the powder of red earthworm (*Lumbricus rubellus*) obtained from several organic farmlands in Bali, Indonesia: Analysis of total phenolic content and antioxidant capacity. *Bali Medical Journal (Bali Med J)* 3(3): S80-S83.
- Dewi, P. R. P., Hairrudin., dan Normasari, R. 2016. Pengaruh Stres Fisik terhadap Kadar Kreatinin Serum Tikus Wistar Jantan (*Rattus norvegicus*). *e-Jurnal Pustaka Kesehatan* 4(2):218-221.
- Eroschenko, V. P. 2010. *Atlas Histologi di Fiore dengan Kolerasi Fungsional*. Diterjemahkan oleh Dewi Anggraini dan Tiara M. N. Sikumbang. Jakarta: EGC.

- Fahrimal, Y., Rahmiwati, dan D. Aliza. 2016. Gambaran Histopatologis Ginjal Tikus Putih (*Rattus Novergicus*) Jantan Yang Diinfeksi *Trypanosoma Evansi* Dan Diberi Ekstrak Daun Sernai (*Wedelia biflora*). *Jurnal Medika Veterinaria* 10(2): 166-170.
- Fitria, L., Mulyati., C. M. Tiraya, dan A. S. Budi. 2015. Profil Reproduksi Jantan Tikus (*Rattus norvegicus* Berkenhout, 1769) Galur Wistar Stadia Muda, Pradewasa, dan Dewasa *Jurnal Biologi Papua* 7(1): 29–36.
- Fortes, R.C. 2017. Nutritional Implications in Chronic Liver Disease. *Journal of Liver Research, Disorder & Therapy* 3(5).
- Fu, Y. T., K. Y. Chen., Y. S. Chen, and C. H. Yao. 2014. Earthworm (*Pheretima aspergillum*) extract stimulates osteoblast activity and inhibits osteoclast differentiation. *BMC Complementary and Alternative* 14(440): 1-9.
- Gupta D, dan Bhardwaj S. 2012. Study Of Acute, Subacute and Chronic Toxicity Test. *Intl J Adv Res Pharmaceut Bio Sci* 1(2): 103-129.
- Harlina E. 2007. Toksikologi dan Biotransformasi Senyawa Toksik Lamtoro Merah (*Acacia Villosa*) Pada Tikus. *Disertasi*. Bogor (ID): Sekolah Pascasarjana, Institut Pertanian Bogor.
- Hartanti AW. 2010. Evaluasi Aktivitas Antidiare Isolat *Lactobacillus* dari Air Susu Ibu. *Tesis*. Bogor: Institut Pertanian Bogor.
- Hayes, A.W. 2007. *Principles and Methods of Toxicology, Fifth Edition*. New York (US): CRC Press.
- Istiqomah, L., E. Damayanti., H. Julendra., D. Istika, dan S. Winarsih. 2014. Daya Hambat Ganul Ekstrak Cacing Tanah (*Lumbricus rubellus*) Terhadap Bakteri Patogenik *In Vitro* Inhibitory Effect of Extract Ganule of Earthworms (*Lumbricus rubellus*) on the Pathogenic Bacteria *In Vitro*. *Jurnal sains veteriner* 32(1): 93-104.
- Januar, R., Yusfiati., dan Fitmawati. 2014. Struktur Mikroskopis Hati Tikus Putih (*Rattus novergicus*) Akibat Pemberian Ekstrak Tanaman *Tristaniopsis Whiteana* Griff. *JOM FMIPA* 1(2): 392-401

- Jayatri, S., W. Retno., dan J. Erni. 2014. Komposisi Komunitas Cacing Tanah pada Lahan Pertanian Organik dan Anorganik di Desa Raya Kecamatan Berastagi Kabupaten Karo. *Jurnal Biotik* 2(1) :1-76.
- Jothy, S. L., Z. Zakaria., Y. Chen., Y. L. Lau., L. Y. Latha, and S. Sasidharan. 2011. Acute Oral Toxicity of Methanolic Seed Extract of *Cassia fistula* in Mice. *Molecules* 16: 5268-5282.
- Lemeire, N., Van, B. W., Vanholder, R. 2005. Acute renal failure. *Lancet* 365: 417–30.
- Lee, M., Seo, C., Shin, I., Kim, Y., Kim, J., and Shin, H. 2013. Evaluation of Oral Subchronic Toxicity of Soshiho-Tang Water Extract: The Traditional Herbal Formula in Rats. *Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine*:1-9.
- Lu, Frank C. 2010. *Toksisitas Dasar*. Jakarta: UI Press
- Madinah, Ratningsih, N., Malini, D.M., Faiza, A.H., dan Iskandar, J. 2017. Uji Toksisitas Akut Ekstrak Etanol Kulit Buah Jengkol (*Archidendron pauciflorum*) Terhadap Tikus Wistar Betina. *Pros Sem Nas Masy Biodiv Indon* 3(1): 33-38.
- McGavin, M.D., dan Zachary, J.F. 2007. *Pathologic Basic Veterinary Disease*. St.Louis. USA: Elsevier Mosby.
- Mescher, Anthony L. 2010. *Histologi dasar Junqueira*. USA: The McGaw-Hili Companies Inc.
- Museum of Comparative Zoology-Havard University. 2018. Klasifikasi *Pheretima javanica*. <http://mczbase.mcz.harvard.edu/name/Pheretima%20javanica>. [Diakses 23 November 2018].
- Muzaiyanah. 2017. Pengaruh Serbuk Cacing Tanah (*Pheretima javanica*) terhadap Penyembuhan Penyakit Tifus pada Tikus Putih (*Rattus norvegicus*) Jantan dan Pemanfaatannya sebagai Buku Ilmiah Populer. *Skripsi*. Jember: Universitas Jember.
- Nani, S., Bodhi, Widdhi., dan Simbala, H. 2017. Pengaruh Ekstrak Etanol Buah Pinang Yaki (*Areca vestiaria*) Terhadap Gambaran Makroskopis Organ

- Ginjal Pada Tikus Putih Jantan Galur Wistar (*Rattus norvegicus*). *Jurnal Ilmiah Farmasi* 6(3): 74-82
- Novyan, E., S. Lamin, and I. T. Patriot. 2016. Effect Of Giving Mixed Insecticide Carbofuran On Cow Feces Toward Consumption Rate And Assimilation Efficiency Earth Worms *Pheretima javanica* Gates. *Biovalentia : Biological Research Journal* 2(2): 112-122.
- Nuraini, A. F., G. Herry, dan T. Respati. 2015. Perbandingan Kloramfenikal dengan Seftriakson Terhadap Lama Hari Turun Demam Pada Anak Demam Tifoid, *Jurnal Prosiding Pendidikan Dokter*, ISSN 2460-657x.
- Nurdiniyah., Nazaruddin., Sugito., Salim, M.N., Fahrimal Y., dan Aisyah, S. 2015. Pengaruh Pemberian Ekstrak Kulit Batang Jaloh Terhadap Gambaran Mikroskopis Ginjal Tikus Putih (*Rattus novergicus*) Yang Diinfeksi *Trypanosoma evansi*. *Jurnal Medika Veterinaria* 9(2): 88-92.
- Nuridayanti, E. F. T. 2011. Uji Toksisitas Akut Ekstrak Air Rambut Jagung (*Zea mays* L.) Ditinjau dari Nilai LD₅₀ dan Pengaruhnya Terhadap Fungsi Hati dan Ginjal pada Mencit. *Skripsi*. Depok: Universitas Indonesia.
- Ping, K.Y., Darah, Ibrahim., Chen, Y., Sreeramanan, S., and Sasidharan, S. 2013. Acute and Subchronic Toxicity Study of *Euphorbia hirta* L. Methanol Extract in Rats. *BioMed Research International* 91(1): 1-14.
- Prasta, B.P. 2010. Pengaruh Pemberian Dekstrometorfan Dosis Bertingkat Per Oral Terhadap Gambaran Histopatologi Ginjal Tikus Wistar. *Skripsi*. Semarang: Fakultas Kedokteran Universitas Diponegoro.
- Price, S. A., dan L. M. Wilson, 2005. *Patofisiologi Konsep Klinis Proses-proses penyakit*. Jakarta: Penerbit Buku Kedokteran EGC.
- Punu, G.P., A. Ansari., S. Jaikishun, and D. Seecharran. 2016. Effect of Earthworm (*Perionyx excavatus*) Powder on Selected Bacteria and Fungi. *Journal of Advances in Biology & Biotechnology* 5(2): 1-15.
- Purnomo, Basuki B. 2011. *Dasar-dasar Urologi*. Jakarta: Sagung Seto.

- Purwaningsih, S., E. Handharyan, dan I. R. Lestari. 2015. Pengujian Toksisitas Sub Akut Ekstrak Hipokotil Bakau Hitam pada Tikus Galur *Sprague Dawley*. *Jurnal Akuatika* 6(1): 30-40.
- Putri, D.A.R. 2018. Pengaruh Serbuk Cacing Tanah (*Pheretima javaica* K.) Terhadap Protein Urin, Morfologi Ginjal Dan Gambaran Histopatologi Ginjal Tikus Putih (*Rattus norvegicus*). *Skripsi*. Jember: Universitas Jember.
- Rita, D. 2008. Gambaran Makrokopis dan Miskrokopis Hati Ginjal Akibat Pemberian Plumbum Asetat. *Tesis*. Medan: Sekolah Pascasarjana Universitas Sumatera Utara.
- River, C. 1998. Baseline Hematology And Clinical Chemistry Values For Charles River Wistar Rats-(CR:(Wi)BR) as a Function Of Sex And Age. *Technical Bulletin*. Wilmington.
- Saka, W.A., Akhigbe, R.E., Popoola, O.T., and Oyekunle, O.S. 2012. Changes In Serum Electrolytes, Urea, And Creatinine In *Aloe Vera*-Treated Rats. *J of Young Pharm* 4(2):78-81.
- Sari, D.R.K. 2017. Toksisitas Akut Serbuk Cacing Tanah (*Pheretima javanica*) Kering Terhadap Gambaran Histopatologi Ginjal Tikus Putih (*Rattun norvegicus* B.) Dan Pemanfaatannya Sebagai Poster. *Skripsi*. Jember: Universitas Jember.
- Schmitz, G., H. Lepper, dan M. Heidrich. 2009. *Farmakologi dan Toksikologi Edisi 3*. Jakarta: Penerbit Buku kedokteran EGC.
- Sengupta, P. 2013. The laboratory rat: Relating its age with human's. *International Journal of Preventive Medicine* 4(6): 624–630.
- Shazari, P.A., dan B. Kurniawan. 2016. Manfaat Enzim Protease Fibrinolitik Cacing Tanah (*Lumbricus Rubellus*) terhadap Pasien Stroke Iskemik. *Majority* 5(5): 135-139.
- Smith, J dan Mangkoewidjodjo, S. 1998. Pemeliharaan Pembiakan dan Penggunaan Hewan Percobaan di Daerah Tropis. Jakarta: Universitas Indonesia Press.
- Suckow, M. A., Weisbroth, S. H., dan Franklin, C.L., 2006. *Laboratorium Tikus. Edisi kedua*. USA: Elsevier Academic Press.

- Suhita, N. L. P. R., I. W. Sudira, and I. B. O Winaya. 2013. Histopatologi Ginjal Tikus Putih Akibat Pemberian Ekstrak Pegagan (*Centella asiatica*) Peroral. *Buletin Veteriner Udayana* 5(2): 71-78.
- Suryani, L. 2010. Aktifitas Antibakteri Ekstrak Cacing Tanah (*Lumbricus* sp.) terhadap Berbagai Bakteri Patogen secara *Invitro*. *Jurnal Mutiara Medika* 10(1): 16-21.
- Syabana, M.A. 2010. Toksisitas Akut dan Subkronis Ekstrak Air Buah Murbei (*Morus alba* L.) Pada Tikus *Sprague dawley*. *Tesis*. Bogor (ID): Sekolah Pascasarjana, Institut Pertanian Bogor
- Venkatasubbu, G.D., Ramasamy, S., Gaddam, P.R., And Kumar, J. 2015. Acute And Subchronic Toxicity Analysis Of Surface Modifed Paclitaxel Attached Hydroxyapatite And Titanium Dioxide Nanoparticles. *International Journal Of Nanomedicine* 10:137–148.
- Vetstreet. 2011. BUN and Creatinine Levels. www.vetlearn.com. [Diakses 10 Januari 2019].
- Waluyo, J. 2004. *Uji Potensi Ekstrak Pontoscolex sp. Terhadap Pertumbuhan Berbagai Macam Bakteri*. Jember: Lemlit Unej.
- Waluyo, J. 2006. Karakterisasi Protein Antibakteri dari Cacing Tanah *Pheretima javanica*. *Jurnal Saintika*. 4(3): 218-226.
- Waluyo, J., S. Bambang, dan N. C. Zaini. 2007. Purifikasi dan Karakterisasi Protein Antibakteri dari *Pheretima javanica*. *Jurnal ILMU DASAR*. 8(1):37-44.
- Wang, S.L. 2006. *Veterinary clinical diagnostics (third edition)*. Beijing: China Agriculture.
- Widayat, Dandik. 2017. *Histologi*. Jakarta: EGC
- Wientarsih, I., R. Madyastuti, B. F. Prasetyo dan D. Firnanda. 2012. Gambaran Serum Ureum dan Kreatinin pada Tikus Putih yang Diberi Fraksi Etil Asetat Daun Alpukat. *Jurnal veteriner* 13(1): 57-62.
- Wirasuta, M.A.G., dan Niruri, R. 2007. *Toksikologi Umum*. Bali: Jurusan Farmasi Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Udayana.

- Wolfensohn, S. E. dan M. H. Lloyd. 2003. *Handbook of Laboratory Animal Management and Welfare, 3rd edition*, Blackwell Science, Oxford, h. 85-86.
- Xiao, S., Erdely, A., Wagner, L., and Baylis, C. 2001. Uremic Levels Of BUN Do Not Cause Nitric Oxide Deficiency In Rats With Normal Renal Function. *Am J Physio Renal Physiol* 2(8): F996-F1000.
- Zikrul. 2015. *Mamalia. Lebih dekat dengan makhluk menyusui*. Bandung: Bestart.
- Zhou, X., Rong, Q., Xu, M., Zhang, Y., Dong, Q., Xiao, Y., Liu, Q., Chen, H., Yang, X., Yu, K., Li, Y., Zhao, L., Ye, G., Shi, F., and Lv, C. 2017 Safety pharmacology and subchronic toxicity of jinqing ganules in rats. *BMC Veterinary Research* 13(179): 1-11.

LAMPIRAN

A. MATRIKS PENELITIAN

Judul	Latar Belakang	Rumusan Masalah	Variabel Penelitian	Metodologi Penelitian
Toksisitas Subakut Ekstrak Cacing Tanah (<i>Pheretima javanica</i>) Terhadap Faal, Morfologi, Dan Gambaran Histopatologi Ginjal Tikus Putih (<i>Rattus norvegicus</i>)	<p>Penggunaan antibiotik sebagai pengobatan demam <i>typhoid</i> sampai saat ini masih sangat tinggi. Antibiotik yang sering digunakan yaitu kloramfenikol, amoksisilin, gentamisin, dan kotrimoksazol. Namun, kloramfenikol menimbulkan efek samping seperti mual pada penderita maag, penekanan sumsum tulang bahkan terjadi anemia aplastik (Nuraini <i>et al.</i>, 2015), sehingga perlu adanya obat pengganti sebagai alternatif untuk pengobatan demam <i>typhoid</i> yaitu menggunakan obat tradisional.</p> <p>Pengobatan dengan menggunakan obat tradisional mulai dikembangkan oleh para ilmuwan dikarenakan obat tradisional lebih efektif dan tidak memberikan efek samping. Bahan baku obat tradisional dalam pengobatan demam <i>typhoid</i> adalah cacing tanah. Hasil penelitian terhadap potensi beberapa ekstrak cacing tanah menunjukkan bahwa cacing tanah <i>Pheretima javanica</i> mengandung senyawa asam arakidonat yang dikenal dapat menurunkan panas tubuh akibat infeksi (Waluyo, 2004). <i>Pheretima javanica</i> juga menghasilkan antibakteri mirip <i>lumbricin</i> yaitu antibakteri yang memiliki berat molekul 31,0 kDa dan 34,0 kDa (Waluyo <i>et al.</i>, 2007).</p> <p>Pasal 5 Peraturan Kepala BPOM nomor 12 tahun 2014 menyebutkan bahwa obat berupa kapsul hanya dapat berisi ekstrak, dikarenakan selama dalam bentuk ekstrak,</p>	<p>a. Bagaimana toksisitas subakut ekstrak cacing tanah (<i>Pheretima javanica</i>) terhadap faal ginjal tikus putih (<i>Rattus norvegicus</i>) ?</p> <p>b. Bagaimana toksisitas subakut ekstrak cacing tanah (<i>Pheretima javanica</i>) terhadap morfologi ginjal tikus putih (<i>Rattus norvegicus</i>)</p>	<p>1. Variabel Bebas: Varian dosis ekstrak cacing tanah (<i>Pheretima javanica</i>) yang diinduksikan pada tikus putih (<i>Rattus norvegicus</i>).</p> <p>2. Variabel terikat: Efek toksisitas subakut pada tikus putih (<i>Rattus norvegicus</i>) setelah diinduksi oleh cacing tanah (<i>Pheretima javanica</i>) dan diamati melalui gambaran histopatologi</p>	<p>1. Jenis Penelitian: Penelitian ini merupakan penelitian eksperimental laboratoris. Ekperimen ini dilakukan dengan menggunakan Rancangan Acak Lengkap (RAL).</p> <p>2. Prosedur Penelitian :</p> <p>a. Pembuatan ekstrak (<i>Pheretima javanica</i>)</p> <p>b. Pemeliharaan dan perawatan tikus</p> <p>c. Penimbangan dosis</p> <p>d. Pengambilan darah awal</p>

	<p>zat berkhasiat yang terdapat dalam simplisia memiliki kadar yang tinggi (BPOM, 2014). Waluyo <i>et al</i> (2007) menyatakan bahwa ekstrak cacing tanah <i>Pheretima javanica</i> dapat menghambat pertumbuhan bakteri <i>Salmonella typhi</i> dengan kadar hambat sebesar 7,0–10,0 mm. Meskipun ekstrak cacing tanah terbukti menghambat bakteri <i>Salmonella typhi</i> penyebab demam <i>typhoid</i>, namun tetap perlu dilakukan uji praklinik untuk membuktikan secara ilmiah mengenai khasiat dan keamanannya. Uji praklinik yang dilakukan yaitu uji toksisitas subakut.</p> <p>Tujuan utama uji toksisitas subakut menurut Price dan Wilson (2005) yaitu untuk menentukan efek toksik suatu zat yang tidak terdeteksi pada uji toksisitas akut. Uji toksisitas subakut dilakukan dengan pemberian dosis bertingkat secara oral pada hewan uji setiap hari satu kali selama 28 hari. Hewan uji yang digunakan yaitu tikus putih (<i>Rattus norvegicus</i>). Penggunaan hewan uji tikus putih dimaksudkan sebagai model untuk melihat adanya reaksi biokimia, fisiologik, dan patologik, karena tikus putih dapat mewakili system biologis manusia, sehingga pengaruh yang ditimbulkan terhadap tikus putih ini hampir sama dengan pengaruh yang akan diperoleh manusia baik secara morfologi, anatomi, dan fisiologisnya pada organ tertentu seperti ginjal (BPOM, 2014).</p> <p>Ginjal merupakan organ utama dalam proses ekskresi obat (Schmitz. <i>et al.</i>, 2009). Kerusakan pada ginjal menyebabkan proses ekskresi pada ginjal akan terganggu sehingga hasil metabolisme akan terakumulasi dan menyebabkan toksik bagi tubuh (Suhita <i>et al.</i>, 2013). Indeks penting kerusakan fungsi ginjal yaitu nilai nitrogen urea darah (BUN) yang dapat mencerminkan fungsi</p>	<p>?</p> <p>c. Bagaimana toksisitas subakut ekstrak cacing tanah (<i>Pheretima javanica</i>) terhadap histopatologi ginjal tikus putih (<i>Rattus norvegicus</i>) ?</p>	<p>ginjal, fungsi faal ginjal, morfologi ginjal, serta ciri fisik dari tikus putih (<i>Rattus norvegicus</i>).</p> <p>3. Variabel Kontrol</p> <p>a. Umur hewan coba yang digunakan (3-4 bulan)</p> <p>b. Berat badan hewan coba yang digunakan (200-250 gam)</p> <p>c. Jenis kelamin hewan coba adalah jantan</p> <p>d. Jenis hewan coba adalah tikus putih (<i>Rattus norvegicus</i>)</p>	<p>e. Pemberian ekstrak cacing tanah (<i>Pheretima javanica</i>).</p> <p>f. Pengamatan gejala toksik</p> <p>g. Pemeriksaan biokimia klinis</p> <p>h. Penimbangan organ</p> <p>i. Pembuatan preparat histopatologi ginjal</p> <p>j. Pengamatan histopatologi</p> <p>3. Analisis Data :</p> <p>a. Pengamatan faal ginjal dianalisis menggunakan grafik regresi linier</p> <p>b. berat relatif organ dianalisis dengan metode <i>one way ANOVA</i>. Sedangkan</p>
--	---	---	--	--

	<p>filtrasi glomerular (Zhou <i>et al.</i>, 2017) dan kreatinin (Lemeire <i>et al.</i>, 2005). Terganggunya fungsi ginjal akan menyebabkan konsentrasi urin dan kreatinin dalam darah akan melebihi nilai normal (Nuridayanti, 2011) yang mana nilai normal BUN pada tikus yaitu 18-28 mg/dl (River, 1998) dan nilai normal kreatinin pada tikus yaitu 0,578-1,128 mg/dl (Dewi <i>et al.</i>, 2016). Hal ini juga akan berpengaruh pada morfologi ginjal yaitu warna ginjal akan semakin pucat dikarenakan senyawa yang bersifat toksik menyebabkan perlemakan pada ginjal sehingga mengganggu aliran darah ke ginjal (Fortes, 2017) dan memiliki berat organ yang melebihi kisaran normalnya yaitu 0,7 g-2,0 g (Sukow <i>et al.</i>, 2006) dan juga kerusakan organ ginjal dapat dilihat melalui gambaran histopatologi ginjal pada tikus putih (<i>Rattus norvegicus</i>) untuk melihat perubahan abnormal pada tingkat jaringan. Kerusakan ginjal karena zat toksik dapat diidentifikasi berdasarkan perubahan struktur histology yaitu terbentuknya degenerasi hidrofik, degenerasi melemap, dan nekrosis. Perubahan struktur histologi ginjal ini dipengaruhi oleh jumlah zat kimia yang masuk ke dalam tubuh.</p> <p>Berdasarkan latar belakang yang telah diuraikan tersebut, maka perlu dilakukan penelitian mengenai toksisitas sub akut ekstrak cacing tanah (<i>Pheretima javanica</i>) terhadap faal ginjal, morfologi ginjal, dan gambaran histopatologi ginjal tikus putih (<i>Rattus norvegicus</i>).</p>		<p>jenis wistar strain</p> <p>e. Hewan uji dalam keadaan sehat</p> <p>f. Pelarut ekstrak yang digunakan yaitu ethanol 70%</p> <p>g. Waktu perlakuan induksi ekstrak selama 28 hari pada kelompok perlakuan ditambah dengan pengamatan 14 hari tanpa induksi ekstrak pada kelompok satelit.</p>	<p>warna ginjal dianalisis menggunakan deskriptif.</p> <p>c. gejala toksisitas diamati secara deskriptif. Sedangkan pengamatan berat badan tikus dianalisis dengan metode <i>one way ANOVA</i></p> <p>d. Histopatologi ginjal dianalisis dengan metode <i>Kruskal-Wallis Test</i></p>
--	--	--	--	---

Lampiran B. Data Hasil Pengamatan

1. Berat Badan

a. Selama Induksi

Hari ke	Pra induksi	1	4	7	10	13	16	19	22	25	28
K(-)											
K(-).U1	212	212	244	252	249	258	253	268	268	284	281
K(-).U2	245	248	239	234	231	237	233	247	236	246	240
K(-).U3	252	246	248	266	253	266	260	279	262	275	268
K(-).U4	250	250	258	259	259	257	258	256	260	266	264
Rata-rata	239,75	239	247,25	252,75	248	254,5	251	262,5	256,5	267,75	263,25
P1											
P1.U1	247	247	249	247	254	271	272	275	264	268	257
P1.U2	242	242	231	225	235	243	241	244	247	244	245
P1.U3	217	217	207	213	214	224	224	227	227	235	229
P1.U4	229	230	236	238	238	238	239	228	231	240	242
Rata-rata	233,75	234	230,75	230,75	235,25	244	244	243,5	242,25	246,75	243,25
P2											
P2.U1	245	250	249	245	251	253	264	266	266	274	267
P2.U2	230	230	229	228	261	243	249	250	261	261	258
P2.U3	243	243	237	233	221	256	239	259	264	270	272
P2.U4	245	250	252	253	252	255	255	253	241	245	243
Rata-rata	240,75	243,25	241,75	239,75	246,25	251,75	251,75	257	258	262,5	260
P3											
P3.U1	234	234	223	234	241	268	245	246	239	255	255

P3.U2	222	225	234	235	231	235	246	240	234	238	239
P3.U3	228	228	220	217	221	221	232	224	217	227	276
P3.U4	244	244	251	252	251	252	252	257	249	253	251
Rata-rata	232	232,75	232	234,5	236	244	243,75	241,75	234,75	243,25	255,25
S1											
S1.U1	246	246	304	291	309	296	318	318	298	303	302
S1.U2	240	240	250	254	255	265	265	268	271	278	279
S1.U3	236	234	240	248	253	245	253	263	258	255	254
S1.U4	250	250	255	256	254	255	256	249	253	249	247
Rata-rata	243	242,5	262,25	262,25	267,75	265,25	273	274,5	270	271,25	270,5
S2											
S2.U1	243	243	249	224	228	233	248	250	249	261	255
S2.U2	240	241	244	252	258	264	275	293	299	284	286
S2.U3	218	218	227	223	223	236	235	237	238	257	259
S2.U4	246	246	241	241	242	242	244	243	247	244	244
Rata-rata	236,75	237	240,25	235	237,75	243,75	250,5	255,75	258,25	261,5	261

b. Kelompok satelit setelah induksi

Hari ke	29	31	34	37	40	42
S1						
S1.U1	308	313	307	312	314	313
S1.U2	269	265	268	272	269	272
S1.U3	255	261	252	247	250	253
S1.U4	243	240	239	245	241	239

Rata-rata	268,75	269,75	266,5	269	268,5	269,25
S2						
S2.U1	254	249	256	252	257	255
S2.U2	286	291	289	293	290	292
S2.U3	268	270	269	272	268	273
S2.U4	242	241	236	238	240	241
Rata-rata	262,5	262,75	262,5	263,75	263,75	265,25

2. Gejala Toksisitas

a. Selama Induksi

Perlakuan	Nilai Gejala Toksik																											
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18	19	20	21	22	23	24	25	26	27	28
K(-)	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1
P1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1
P2	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1
P3	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1
S1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1
S2	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1

b. Kelompok satelit setelah induksi

Perlakuan	Nilai Gejala Toksik													
	29	30	31	32	33	34	35	36	37	38	39	40	41	42
S1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1
S2	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1

3. Berat Relatif Organ Ginjal

Perlakuan	Berat Badan Tikus	Berat Absolut Ginjal	Berat Relatif Ginjal
K-			
K-.U1	281	1,402	0,005
K-U2	240	1,370	0,0057
K-U3	268	1,363	0,0051
M	263,00	1,378	0,0053
SD	20,95	0,021	0,0004
P1			
P1U1	257	1,406	0,0046
P1U2	245	1,254	0,0051
P1U3	229	1,035	0,0045
M	243,67	1,232	0,0047
SD	14,05	0,187	0,0003
P2			
P2U1	267	1,385	0,0052
P2U2	258	1,201	0,0047
P2U3	272	1,210	0,0044
M	265,67	1,265	0,0048
SD	7,09	0,104	0,0004
P3			
P3U1	255	1,226	0,0048
P3U2	239	1,109	0,0046

P3U3	276	1,000	0,0036
M	256,67	1,111	0,0043
SD	18,56	0,113	0,0006
S1			
S1U1	313	1,275	0,0041
S1U2	272	1,438	0,0053
S1U3	253	1,158	0,0046
M	279,33	1,290	0,0047
SD	30,66	0,141	0,0006
S2			
S2U1	255	1,177	0,0046
S2U2	292	1,240	0,0042
S2U3	273	1,230	0,0045
M	273,33	1,215	0,0044
SD	18,50	0,034	0,0002

4. Hasil Uji Faal Ginjal

Jenis Uji	N.Normal (mg/dl)	K-	P1	P2	P3	S1	S2
BUN	18-25	48,4	51,3	39,1	57,7	39,8	41,1
Kreatinin	0,58-1,13	0,7	1	0,89	0,9	1,1	0,98

Lampiran C. Hasil Analisis Statistik

1. Analisis Berat Badan Selama Induksi

One-Sample Kolmogorov-Smirnov Test

		HASIL SELISIH
N		24
Normal Parameters ^a	Mean	21.21
	Std. Deviation	19.777
Most Extreme Differences	Absolute	.151
	Positive	.151
	Negative	-.093
Kolmogorov-Smirnov Z		.738
Asymp. Sig. (2-tailed)		.647

a. Test distribution is Normal.

Descriptives

HASIL SELISIH

	N	Mean	Std. Deviation	Std. Error	95% Confidence Interval for Mean		Minimum	Maximum
					Lower Bound	Upper Bound		
K-	4	23.50	31.775	15.888	-27.06	74.06	-5	69
P1	4	9.50	4.509	2.255	2.32	16.68	3	13
P2	4	19.25	14.500	7.250	-3.82	42.32	-2	29
P3	4	23.25	17.519	8.760	-4.63	51.13	7	48
S1	4	27.50	25.593	12.796	-13.22	68.22	-3	56
S2	4	24.25	23.042	11.521	-12.41	60.91	-2	46
Total	24	21.21	19.777	4.037	12.86	29.56	-5	69

Test of Homogeneity of Variances

HASIL SELISIH

Levene Statistic	df1	df2	Sig.
1.979	5	18	.131

ANOVA

HASIL SELISIH	Sum of Squares	Df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	796.708	5	159.342	.350	.876
Within Groups	8199.250	18	455.514		
Total	8995.958	23			

HASILSELISIH

Duncan

PERLA KUAN	N	Subset for alpha = 0.01
		1
P1	4	9.50
P2	4	19.25
P3	4	23.25
K-	4	23.50
S2	4	24.25
S1	4	27.50
Sig.		.302

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

2. Analisis Berat Badan Satelit Setelah Induksi

One-Sample Kolmogorov-Smirnov Test

		HASIL SELISIH
N		8
Normal Parameters ^a	Mean	1.62
	Std. Deviation	3.701
Most Extreme Differences	Absolute	.194
	Positive	.136
	Negative	-.194
Kolmogorov-Smirnov Z		.549
Asymp. Sig. (2-tailed)		.924
a. Test distribution is Normal.		

Descriptives

HASILSELISIH

	N	Mean	Std. Deviation	Std. Error	95% Confidence Interval for Mean		Minimum	Maximum
					Lower Bound	Upper Bound		
S1	4	.50	4.203	2.102	-6.19	7.19	-4	5
S2	4	2.75	3.304	1.652	-2.51	8.01	-1	6
Total	8	1.62	3.701	1.308	-1.47	4.72	-4	6

Test of Homogeneity of Variances

HASIL SELISIH

Levene Statistic	df1	df2	Sig.
1.038	1	6	.347

ANOVA

HASILSELISIH	Sum of Squares	Df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	10.125	1	10.125	.708	.432
Within Groups	85.750	6	14.292		
Total	95.875	7			

3. Analisis Berat Relatif Organ Ginjal

One-Sample Kolmogorov-Smirnov Test

		BERAT RELATIF ORGAN
N		18
Normal Parameters ^a	Mean	.004717
	Std. Deviation	.0004866
Most Extreme Differences	Absolute	.127
	Positive	.099
	Negative	-.127
Kolmogorov-Smirnov Z		.541
Asymp. Sig. (2-tailed)		.932
a. Test distribution is Normal.		

Descriptives

BERAT RELATIF ORGAN

	N	Mean	Std. Deviation	Std. Error	95% Confidence Interval for Mean		Minimum	Maximum
					Lower Bound	Upper Bound		
K-	3	.005267	.0003786	.0002186	.004326	.006207	.0050	.0057
P1	3	.004733	.0003215	.0001856	.003935	.005532	.0045	.0051
P2	3	.004767	.0004041	.0002333	.003763	.005771	.0044	.0052
P3	3	.004333	.0006429	.0003712	.002736	.005930	.0036	.0048
S1	3	.004667	.0006028	.0003480	.003169	.006164	.0041	.0053
S2	3	.004433	.0002082	.0001202	.003916	.004950	.0042	.0046

Descriptives

BERAT RELATIF ORGAN

	N	Mean	Std. Deviation	Std. Error	95% Confidence Interval for Mean		Minimum	Maximum
					Lower Bound	Upper Bound		
K-	3	.005267	.0003786	.0002186	.004326	.006207	.0050	.0057
P1	3	.004733	.0003215	.0001856	.003935	.005532	.0045	.0051
P2	3	.004767	.0004041	.0002333	.003763	.005771	.0044	.0052
P3	3	.004333	.0006429	.0003712	.002736	.005930	.0036	.0048
S1	3	.004667	.0006028	.0003480	.003169	.006164	.0041	.0053
S2	3	.004433	.0002082	.0001202	.003916	.004950	.0042	.0046
Total	18	.004700	.0004887	.0001152	.004457	.004943	.0036	.0057

Test of Homogeneity of Variances

BERATRELATIFORGAN

Levene Statistic	df1	df2	Sig.
1.162	5	12	.382

ANOVA

BERATRELATIFORGAN

	Sum of Squares	Df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	.000	5	.000	1.561	.244
Within Groups	.000	12	.000		
Total	.000	17			

BERATRELATIFORGAN

Duncan

		Subset for alpha = 0.01
PERLA		
KUAN	N	1

P3	3	.004333
S2	3	.004433
S1	3	.004667
P1	3	.004733
P2	3	.004767
K-	3	.005267
Sig.		.042

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

4. Analisis Histopatologi Ginjal

Ranks

PERLAKUAN	N	Mean Rank
DEGENERASIHIDROFIK K-	5	14.00
P1	5	14.00
P2	5	17.00
P3	5	17.00
S1	5	14.00
S2	5	17.00
Total	30	


Test Statistics^{a,b}

	DEGENERASI HIDROFIK
Chi-Square	1.381
df	5
Asymp. Sig.	.926

a. Kruskal Wallis Test


b. Grouping Variable: PERLAKUAN

Lampiran D. Hasil Uji Bioklinis BUN dan Kreatinin

 *Your Healthy is Our Passion*
Jl. Moch. Soerjaji No. 84
Telp. (0331) 424567 Fax. (0331) 484314
Email : lab.klinik.piramida@gmail.com
Ijin DINKES nomer : 445/05/436.32/2007
"Mutu Diagnosa dan Pelayanan yang kami Utamakan"

HASIL PENELITIAN FKIP BIOLOGI
UNIVERSITAS JEMBER
18 JANUARI 2019

No	Kode sampel	SGOT	SGPT	UREUM	CREATININ
1	P 1	46	134	51.3	1.0
2	P2	35	43	39.1	0.89
3	P3	60	67	57.7	0.9
4	K -	89	121	48.4	0.7

Pemeriksa
LABORATORIUM KLINIK
 **PIRAMIDA**
Jl. Moch. Soerjaji 84 Jember
Telp. (0331) 424567

Piramida
LABORATORIUM KLINIK

Your Health is
Our Passion.

Jl. Moch. Soeruji No. 84
Telp. (0331) 424567 Fax. (0331) 484314
Email : lab.klinik.piramida@gmail.com

Ijin DINKES nomor : 445/05/436.32/2007

"Mutu Diagnosa dan Pelayanan yang kami Utamakan"

HASIL PENELITIAN FKIP BIOLOGI
UNIVERSITAS JEMBER
1 FEBRUARI 2019

No	Kode sampel	SGOT	SGPT	UREUM	CREATININ
1	S1	116	88	39.8	1.1
2	S2	118	97	41.1	0.98

Pemeriksa,



LABORATORIUM KLINIK
PIRAMIDA
Jl. Moch. Soeruji 84 Jember
Telp. (0331) 424567

Lampiran E. Dokumentasi

Pembuatan ekstrak



Gambar 1. Pencarian cacing tanah



Gambar 2. Cacing tanah (*Pheretima javanica*)



Gambar 3. Pencucian cacing tanah



Gambar 4. Penimbangan berat basah cacing tanah



Gambar 5. Pengeringan cacing tanah



Gambar 6. Cacing tanah yang sudah dijemur sampai kering



Gambar 7. Penimbangan berat kering cacing tanah



Gambar 8. Pengovenan cacing tanah kering



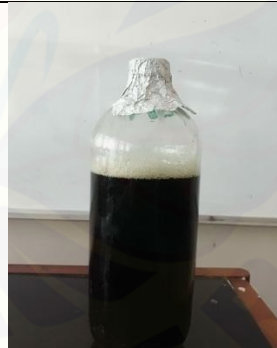
Gambar 9. Pembレンダーan cacing tanah dan pengayakan



Gambar 10. Maserasi



Gambar 11. Penyaringan hasil maserasi



Gambar 12. Hasil saringan



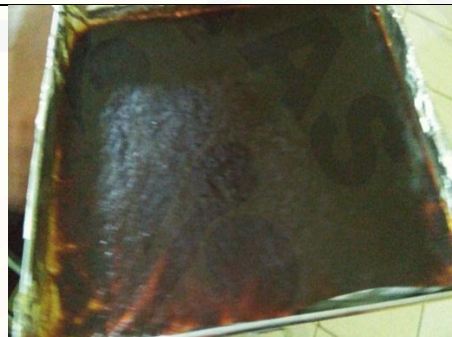
Gambar 13. Menguapkan dengan rotary evaporatory



Gambar 14. Penuangan dalam loyang



Gambar 15. Pengovenan hasil rotary



Gambar 16. Ekstrak cacing tanah



Gambar 17. Pemindahan ekstrak ke gelas ekstrak



Gambar 18. Menyimpan ekstrak dalam kulkas

Tahap Pengujian Tikus Putih



Gambar 19. Aklimatisasi



Gambar 20. Penimbangan ekstrak



Gambar 21 Induksi
Pengamatan Gejala Toksisitas



Gambar 22. Kondisi Tikus

Pengambilan Sampel Darah



Gambar 23. Pengambilan sampel darah

Pembedahan



Gambar 24. Anestesi



Gambar 25. Proses pembedahan

Penimbangan Organ

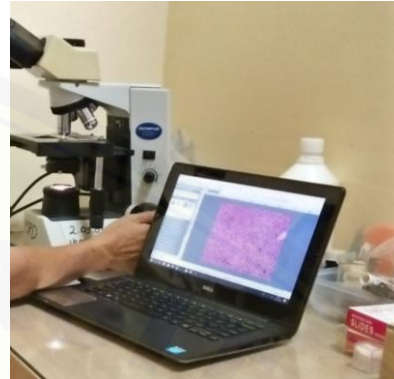


Gambar 26. Organ Ginjal

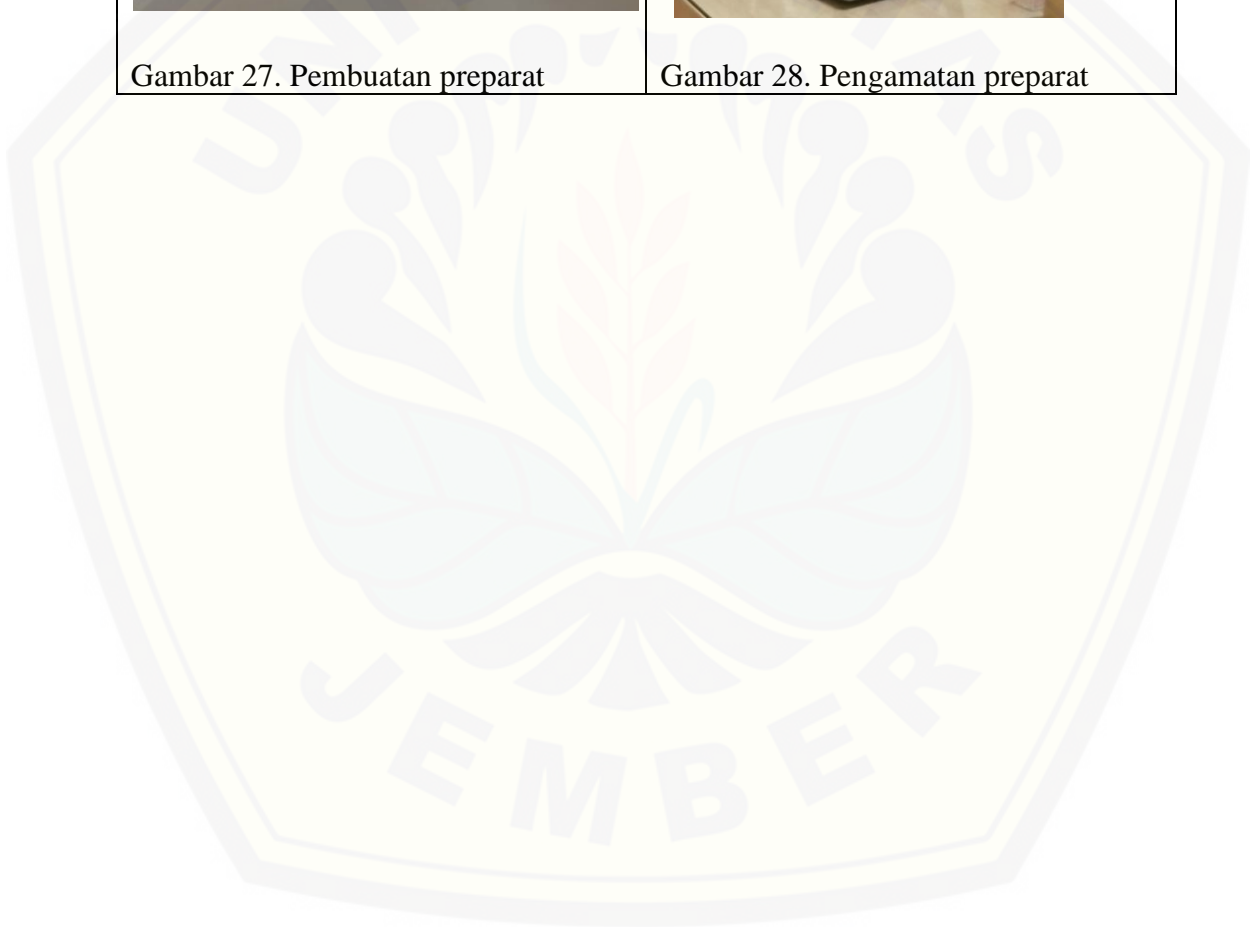
Preparat




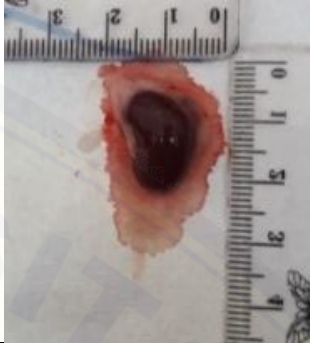


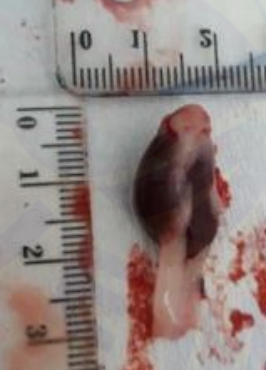

Gambar 27. Pembuatan preparat



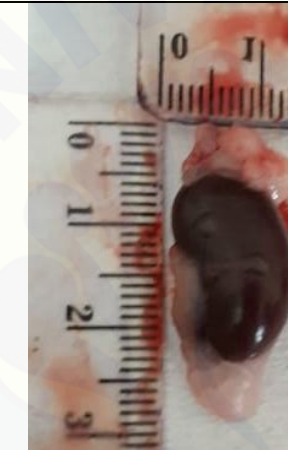
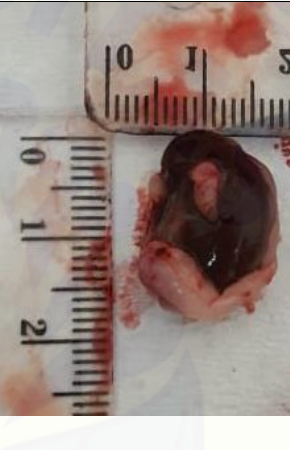
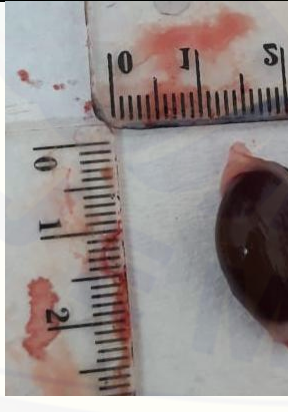
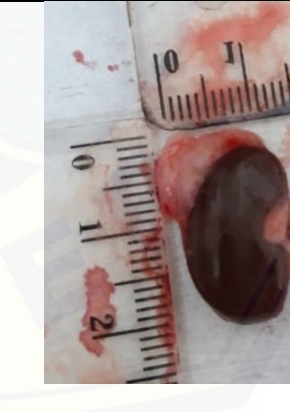


Gambar 28. Pengamatan preparat




Lampiran F. Dokumentasi Morfologi Ginjal

Perlakuan	Foto Morfologi Ginjal	
K-		
	Ginjal kiri	Ginjal kanan
P1		
	Ginjal kiri	Ginjal kanan
P2		
	Ginjal kiri	Ginjal kanan

P3		
	Ginjal kiri	Ginjal kanan
S1		
	Ginjal kiri	Ginjal kanan
S2		
	Ginjal kiri	Ginjal kanan

Lampiran G. Lembar Konsultasi

	KEMENTERIAN RISET, TEKNOLOGI DAN PENDIDIKAN TINGGI
	UNIVERSITAS JEMBER
	FAKULTAS KEGURUAN DAN ILMU PENDIDIKAN
	Jl. Kalimantan 37 Kampus Tegalboto, Telp. Fax (0331) 334988 Jember 68121 Laman: fkip.unej.ac.id

LEMBAR KONSULTASI PENYUSUNAN SKRIPSI**Pembimbing Utama**

Nama : Alfi Oktafani Sarli
 NIM/Angkatan : 150210103057/ 2015
 Jurusan/ Program Studi : Pendidikan MIPA/ Pendidikan Biologi
 Judul Skripsi : Toksisitas Subakut Ekstrak Cacing Tanah (*Pheretima javanica*) terhadap Faal Ginjal, Morfologi Ginjal, dan Gambaran Histopatologi Ginjal Tikus Putih (*Rattus norvegicus*)
 Dosen Pembimbing I : Prof. Dr. Joko Waluyo, M.Si.

Kegiatan Konsultasi

No	Hari/Tanggal	Materi Konsultasi	Tanda Tangan Pembimbing
1	Rabu, 1 Agustus 2018	Judul proposal	
2	Senin, 3 September 2018	Pengajuan bab 1, 2, 3	
3	Selasa, 18 September 2018	Pengajuan revisi pertama bab 1, 2, 3	
4	Selasa, 2 Oktober 2018	Pengajuan revisi kedua bab 1, 2, 3	
5	Selasa, 30 Oktober 2018	ACC proposal skripsi	
6	Senin, 21 Januari 2019	Konsultasi hasil penelitian	
7	Jum'at, 1 Februari 2019	Konsultasi hasil penelitian	
8	Senin, 4 Februari 2019	Pengajuan bab 4	
9	Rabu, 6 Februari 2019	Pengajuan revisi bab 4	
10	Senin, 8 Februari 2019	Pengajuan bab 1, 2, 3, 4, 5, dan lampiran	
11	Senin, 11 Februari 2019	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
	Jl. Kalimantan 37 KampusTegalboto, Telp. Fax (0331) 334988 Jember 68121 Laman: fkip.unej.ac.id

LEMBAR KONSULTASI PENYUSUNAN SKRIPSI

PembimbingAnggota

Nama : Alfi Oktafani Sarli
 NIM/Angkatan : 150210103057/ 2015
 Jurusan/ Program Studi : Pendidikan MIPA/ PendidikanBiologi
 Judul Skripsi : Toksisitas Subakut Ekstrak Cacing Tanah (*Pheretima javanica*) terhadap Faal Ginjal, Morfologi Ginjal, dan Gambaran Histopatologi Ginjal Tikus Putih (*Rattus norvegicus*)
 Dosen Pembimbing II : Dr. Dwi Wahyuni, M.Kes.

Kegiatan Konsultasi

No	Hari/Tanggal	Materi Konsultasi	TandaTangan Pembimbing
1	Rabu, 1 Agustus 2018	Judul proposal	
2	Senin, 3 September 2018	Pengajuan bab 1, 2, 3	
3	Selasa, 18 September 2018	Pengajuan revisi pertama bab 1, 2, 3	
4	Selasa, 2 Oktober 2018	Pengajuan revisi kedua bab 1, 2, 3	
5	Rabu, 10 Desember 2018	ACC proposal skripsi	
6	Senin, 21 Januari 2019	Konsultasi hasil penelitian	
7	Jum'at, 1 Februari 2019	Konsultasi hasil penelitian	
8	Senin, 4 Februari 2019	Pengajuan bab 4	
9	Rabu, 6 Februari 2019	Pengajuan revisi bab 4	
10	Senin, 8 Februari 2019	Pengajuan bab 1, 2, 3, 4, 5, dan lampiran	
11	Kamis, 14 Februari 2019	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 H. Surat Penelitian



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: 0331-332475

Laman: www.fkip.unej.ac.id

SURAT KETERANGAN SELESAI PENELITIAN


Kami selaku Teknisi Laboratorium Biomedik Fakultas Kedokteran Gigi yang mengawasi penelitian mahasiswa sebagai tersebut di bawah ini :

Nama : Alfi Oktafani Sarli
NIM : 150210103057
Jurusan : Pendidikan MIPA
Program Studi : Pendidikan Biologi

Menerangkan dengan sebenarnya bahwa mahasiswa yang bersangkutan betul-betul telah menyelesaikan penelitian tentang "Toksistas Subakut Ekstrak Cacing Tanah (*Pheretima javanica*) Terhadap Faal, Morfologi, Dan Gambaran Histopatologi Ginjal Tikus Putih (*Rattus norvegicus* B.)" bertempat di Laboratorium Biomedik Fakultas Kedokteran Gigi, Universitas Jember mulai bulan November 2018 - Januari 2019

Demikian kami sampaikan terimakasih

Jember, 31 Januari 2019
Teknisi Laboratorium Biomedik
Fakultas Kedokteran Gigi


Agusmurdojohadi Purtadjaka, A.Md
NIP.19720818 199903 1 002