



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

SKRIPSI

Oleh
Nanda Bhekti Fadilla
NIM 150210103033

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

**PROGRAM 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 HATI
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
Nanda Bhukti Fadilla
NIM 150210103033

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

**PROGRAM 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 Nisommudin, Ibunda Susiana, serta adikku Vanesa Bhekti Fadilla yang telah mendoakan, memberikan semangat, dan mendukung serta menjadi kekuatan;
2. Prof. Dr. Joko Waluyo, M.Si. yang telah dengan sabar membimbing, memotivasi, memberikan dana kepercayaan dari awal hingga akhir diselesaikannya skripsi ini;
3. Bapak/Ibu Guru TK Dewi Masitoh 12, MI Al-Mujahidi, SMPN 1 Umbulsari, SMAN 1 Kencong, serta Bapak/Ibu dosen Pendidikan Biologi yang telah memberikan bekal ilmu;
4. Almamater Fakultas Keguruan dan Ilmu Pendidikan Universitas Jember.

MOTTO

“Maka apabila engkau telah selesai (dari sesuatu urusan), tetaplah bekerja keras (untuk urusan yang lain), dan hanya kepada Tuhanmu kamu berharap”
(Terjemahan QS. Asy-Syarah : 7-8) *)

“Berdoalah kepada-Ku pastilah Aku kabulkan untukmu”
(Terjemahan QS. Al Mukmin: 60) *)

“Semua orang punya hak yang sama untuk sukses”
(Chairul Tanjung)**)

*) 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. Kompas Media Nusantara

PERNYATAAN

Saya yang bertanda tangan dibawah ini:

Nama : Nanda Bhekti Fadilla

NIM : 150210103033

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

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

Jember, Maret 2019

Yang menyatakan,

Nanda Bhekti Fadilla

NIM. 150210103033



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

SKRIPSI

Oleh
Nanda Bhekti Fadilla
NIM 150210103033

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

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

PERSETUJUAN

**TOKSISITAS SUBAKUT EKSTRAK CACING TANAH
(*Pheretima javanica*) TERHADAP FAAL, MORFOLOGI,
DAN GAMBARAN HISTOPATOLOGI HATI
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 : Nanda Bhekti Fadilla
NIM : 150210103033
Jurusan : Pendidikan MIPA
Program Studi : Pendidikan Biologi
Angkatan Tahun : 2015
Daerah Asal : Jember
Tempat, Tanggal Lahir : Jember, 17 Juni 1997

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 “Toksitas Subakut Ekstrak Cacing Tanah (*Pheretima javanica*) terhadap Faal, Morfologi dan Gambaran Histopatologi Hati Tikus Putih (*Rattus norvegicus*)” telah diuji dan disahkan pada:

Hari, tanggal : Selasa, 5 Maret 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. Slamet Hariyadi, M.Si
NIP. 19680101 199203 1 007

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

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 Hati Tikus Putih (*Rattus norvegicus*).; Nanda Bhekti Fadilla; 150210103033; 2019, 65 halaman, Program Studi Pendidikan Biologi, Jurusan Pendidikan MIPA, Fakultas Keguruan dan Ilmu Pendidikan, Universitas Jember.

Ekstrak cacing tanah (*Pheretima javanica*) merupakan obat tradisional. Untuk diterima dalam pelayanan kesehatan formal maka hasil data empirik harus didukung oleh bukti ilmiah tentang khasiat dan keamanan penggunaannya pada manusia. Bukti tersebut hanya dapat diperoleh dari penelitian yang dilakukan secara sistematis. Tahapan pengembangan obat tradisional adalah uji in vitro, in vivo, uji praklinik yang terdiri dari uji toksisitas, uji farmakodinamik dan uji klinik. Uji toksisitas terdiri dari uji toksisitas akut dan uji toksisitas subakut. Toksisitas subakut bertujuan untuk mendeteksi efek toksik yang muncul setelah pemberian sediaan uji dengan dosis berulang yang diberikan secara oral pada hewan coba selama sebagian umur hewan yang tidak terdeteksi dalam uji toksisitas akut.

Cacing tanah (*Pheretima javanica*) memiliki kandungan asam amino hidroksiprolin 19,04% yang berperan dalam aktivitas antibakteri. Genus cacing tanah (*Pheretima*) mengandung senyawa yang mirip dengan *lumbricin* seperti yang dihasilkan oleh cacing *Lumbricus rubellus*. Contohnya spesies *Pheretima tschiliensis* menghasilkan senyawa yang mirip dengan *lumbricin*, senyawa ini diberi nama PP-1, dimana PP-1 menunjukkan homologi 77,6% dengan *lumbricin peptide antimikroba I* yang diisolasi dari cacing tanah *Lumbricus rubellus*. *Pheretima javanica* menghasilkan antibakteri yang memiliki berat molekul 31,0 kDa dan 34,0 kDa.

Penelitian ini merupakan penelitian eksperimental laboratoris. Hal ini dikarenakan perlakuan dan lokasi penelitian bertempat di laboratorium. Rancangan percobaan yang digunakan adalah Rancangan Acak Lengkap (RAL). Penelitian dilaksanakan di Laboratorium Biomedik Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Jember, Laboratorium Histologi SMK Analisis TPA Jember dan

Laboratorium Biologi Program Studi Pendidikan Biologi Universitas Jember. Penelitian ini dilakukan pada tanggal 27 Oktober tahun 2018 sampai tanggal 26 Januari tahun 2019. Tujuan dalam penelitian ini adalah untuk menganalisis toksisitas subakut ekstrak cacing tanah (*Pheretima javanica*) terhadap faal, morfologi dan gambaran histopatologi hati tikus putih (*Rattus norvegicus*).

Parameter pengamatan dalam penelitian ini diantaranya pengamatan terhadap faal, morfologi dan gambaran histopatologi hati tikus putih (*Rattus norvegicus*). Pengamatan faal yakni uji bioklinis berupa SGOT dan SGPT. Uji SGOT dan SGPT dilakukan setelah dilakukannya perlakuan, kemudian hasil di bandingkan dengan kadar normal. Nilai uji yang didapat tidak melebihi 2 kali lipat sehingga ekstrak cacing tanah tidak memberikan efek toksik terhadap faal hati tikus putih (*Rattus norvegicus*). Pengamatan morfologi menunjukkan bahwa semua kelompok perlakuan normal yang ditandai dengan warna merah kecoklatan yang berarti ekstrak cacing tanah tidak memberikan efek toksik terhadap morfologi hati tikus putih (*Rattus norvegicus*) serta berat relatif organ yang telah dianalisis menggunakan analisis *one way* ANOVA menunjukkan nilai probabilitas $p > 0,01$ dengan nilai signifikansi sebesar 0,202 yang berarti ekstrak cacing tanah (*Pheretima javanica*) berpengaruh secara tidak signifikan terhadap berat relatif organ hati tikus putih (*Rattus norvegicus*).

Hasil pengamatan gambaran histopatologi yang didapat dalam nilai skor kemudian dianalisis menggunakan Kruskal-Wallis. Hasil analisis menunjukkan nilai probabilitas $p > 0,01$ dengan nilai signifikansi sebesar 0,654 yang berarti ekstrak cacing tanah (*Pheretima javanica*) berpengaruh secara tidak signifikan terhadap histopatologi tikus putih (*Rattus norvegicus*). Hasil analisis secara keseluruhan baik faal, morfologi dan gambaran histopatologi menunjukkan bahwa ekstrak cacing tanah (*Pheretima javanica*) berpengaruh secara tidak signifikan sehingga dapat disimpulkan bahwa ekstrak cacing tanah (*Pheretima javanica*) aman untuk dikonsumsi dalam jangka panjang karena tidak menimbulkan efek toksik terhadap faal, morfologi dan gambaran histopatologi hati tikus putih (*Rattus norvegicus*).

PRAKATA

Puji syukur ke hadirat Allah SWT yang telah melimpahkan rahmat, taufik serta Hidayah-Nya sehingga penulis dapat menyelesaikan skripsi yang berjudul “Toksistas Subakut Ekstrak Cacing tanah (*Pheretima javanica*) terhadap Faal, Morfologi dan Gambaran Histopatologi Hati Tikus Putih (*Rattus norvegicus*)” dengan baik. Skripsi ini digunakan untuk syarat dalam menyelesaikan pendidikan S1 pada Program Studi Pendidikan Biologi Jurusan Pendidikan MIPA Fakultas Keguruan dan Ilmu Pendidikan Universitas Jember.

Dalam penyusunan skripsi ini tidak terlepas dari bantuan berbagai pihak, oleh karena itu penulis menyampaikan banyak terimakasih kepada:

1. Prof. Drs. Dafik, M.Sc., Ph.D., selaku Dekan Fakultas Keguruan dan Ilmu Pendidikan Universitas Jember.
2. Dr. Hj. Dwi Wahyuni M.Kes., selaku Ketua Jurusan Pendidikan Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Fakultas Keguruan dan Ilmu Pendidikan Universitas Jember dan selaku dosen pembimbing anggota yang telah meluangkan waktu, pikiran serta perhatiannya dalam penulisan skripsi ini.
3. Dr. Iis Nur Asyiah, S.P., M.P., selaku Ketua Program Studi Pendidikan Biologi Fakultas Keguruan dan Ilmu Pendidikan Universitas Jember.
4. Prof. Dr Joko Waluyo, M.Si., selaku Dosen Pembimbing utama yang dengan penuh kesabaran membimbing, memberi waktu, dana, serta perhatian dalam penulisan skripsi ini.
5. Dr. Slamet Hariyadi, M.Si_ selaku dosen penguji utama sidang skripsi.
6. Ibu Dr. Dra. Jekti Prihatin, M.Si., selaku dosen penguji anggota sidang skripsi
7. Ayah, Ibu, Adikku Vanesa dan segenap keluarga yang selalu memberikan doa, kekuatan serta dukungan.
8. Sahabat-sahabatku seperjuangan “Proyek Penelitian Cacing” Angki, Alfi,

Warda, Anna, Meli, Erna, Haiva, Siti dan Rif'atul yang selalu memberikan dukungan serta motivasi selama proses pengerjaan skripsi ini.

9. Sahabatku tersayang yang selalu ada Dea, Dian, Lusy, Billa, Siska, Della, Zulfa, Nawang, Ayunda, Enggar, Retno, Feriana, Leni dan Nikita yang selalu memberikan semangat dalam menyelesaikan skripsi ini.
10. Teman-teman angkatan 2015 Program Studi Pendidikan Biologi FKIP Universitas Jember, yang telah memberikan banyak sekali pengalaman serta kenangan yang takkan pernah terlupakan selama melaksanakan studi.
11. Semua pihak yang tidak bisa disebutkan satu persatu yang telah banyak membantu terselesainya skripsi ini.

Penulis berharap semoga skripsi ini dapat bermanfaat bagi peneliti selanjutnya untuk dijadikan sebagai referensi tambahan.

Jember, Maret 2019

Penulis

DAFTAR ISI

	Halaman
HALAMAN JUDUL	i
HALAMAN PERSEMBAHAN	ii
HALAMAN MOTTO	iii
HALAMAN PERNYATAAN	iv
HALAMAN PEMBIMBINGAN	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	5
BAB 2. TINJAUAN PUSTAKA	7
2.1 Cacing tanah (<i>Pheretima javanica</i>)	7
2.1.1 Morfologi dan Fisiologi Cacing tanah (<i>Pheretima javanica</i>)... 7	7
2.1.2 Senyawa dalam Cacing Tanah (<i>Pheretima javanica</i>)..... 9	9
2.1.3 Ekstraksi Cacing Tanah (<i>Pheretima javanica</i>)	10
2.2 Tikus putih galur wistar (<i>Rattus norvegicus</i>)	11
2.3 Hati	12
2.3.1 Morfologi hati	12
2.3.2 Histopatologi Hati.....	13

2.3.3 Fisiologi Hati	18
2.3.4 Enzim SGOT dan SGPT pada Hati.....	18
2.4 Toksisitas Subakut.....	20
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 Identifikasi Variabel Penelitian.....	24
3.3.1 Variabel Bebas	24
3.3.2 Variabel Terikat.....	24
3.3.3 Variabel Kontrol.....	24
3.4 Alat dan Bahan Penelitian.....	25
3.4.1 Alat Penelitian	25
3.4.2 Bahan Penelitian.....	25
3.5 Kriteria Jumlah dan Pemilihan Sampel	26
3.5.1 Kriteria Sampel.....	26
3.5.2 Jumlah Sampel.....	26
3.5.3 Pemilihan Sampel.....	26
3.6 Definisi Operasional.....	27
3.7 Desain Penelitian.....	28
3.8 Prosedur Penelitian.....	29
3.8.1 Persiapan pembuatan ekstrak cacing tanah (<i>Pheretima javanica</i>)	30
3.8.2 Tahap pengujian tikus putih (<i>Rattus norvegicus</i>).....	30
3.8.3 Pembuatan Preparat Histopatologi Hati.....	30
3.9 Analisis Data.....	33
3.9.1 Analisis Data Pola Aktivitas.....	33
3.9.2 Analisis Data SGOT dan SGPT.....	35
3.9.3 Analisis Data Histopatologi.....	35
3.9.4 Analisis Pengamatan Makroskopis.....	35
3.10 Alur Penelitian	37

BAB 4. HASIL DAN PEMBAHASAN	38
4.1 Hasil Penelitian	38
4.1.1 Hasil Pengamatan Gejala Toksisitas.....	38
4.1.2 Hasil Pengamatan Berat Badan Tikus putih (<i>Rattus norvegicus</i>)..	39
4.1.3 Hasil Pengamatan Kadar SGOT dan SGPT	42
4.1.4 Hasil Pengamatan Morfologi Hati Tikus Putih (<i>Rattus norvegicus</i>)	43
4.1.5 Hasil Pengamatan Histopatologi Hati Tikus Putih (<i>Rattus norvegicus</i>)	45
4.2 Pembahasan	49
4.2.1 Toksisitas Ekstrak Cacing Tanah (<i>Pheretima javanica</i>) Terhadap Faal Tikus Putih (<i>Rattus norvegicus</i>)	51
4.2.2 Toksisitas Ekstrak Cacing Tanah (<i>Pheretima javanica</i>) Terhadap Morfologi Hati Tikus Putih (<i>Rattus norvegicus</i>)	53
4.2.3 Toksisitas Ekstrak Cacing Tanah (<i>Pheretima javanica</i>) Terhadap Gambaran Histopatologi Hati Tikus Putih (<i>Rattus norvegicus</i>)	54
BAB 5. PENUTUP	58
5.1 Kesimpulan	58
5.2 Saran.....	58
DAFTAR PUSTAKA	60
LAMPIRAN	67

DAFTAR TABEL

	Halaman
Tabel 3.1 Rancangan Penelitian.....	28
Tabel 3.2 Tahap Pewarnaan	33
Tabel 3.3 Penilaian gejala toksik pada tikus	34
Tabel 3.4 Skor kondisi tubuh tikus	34
Tabel 3.5 Skor derajat histopatologi hati	36
Tabel 3.6 Parameter Histopatologi Hati.....	36
Tabel 4.1 Hasil pengamatan gejala toksisitas tikus putih (<i>Rattus norvegicus</i>)	38
Tabel 4.2 Rata-Rata Berat Badan Tikus Sebelum dan Sesudah Induksi hari 1-28	40
Tabel 4.3 Rata-Rata Berat Badan Tikus Sebelum Dan Sesudah Induksi kelompok satelit hari ke 29-42.....	41
Tabel 4.4 Hasil pengamatan nilai SGOT dan SGPT tikus putih (<i>Rattus norvegicus</i>) sesudah pemberian ekstrak cacing tanah (<i>Pheretima javanica</i>).....	42
Tabel 4.5 Hasil pengamatan berat relatif hati tikus putih (<i>Rattus norvegicus</i>)	44
Tabel 4.6 Hasil pengamatan morfologi hati tikus putih (<i>Rattus norvegicus</i>) ..	45
Tabel 4.7 Hasil pengamatan histopatologi hati tikus putih (<i>Rattus norvegicus</i>)	45

DAFTAR GAMBAR

	Halaman
Gambar 2.1 Morfologi cacing tanah (<i>Pheretima javanica</i>)	8
Gambar 2.2 Tikus putih strain wistar (<i>Rattus norvegicus</i>),	12
Gambar 2.3 Morfologi hati tikus putih <i>Rattus norvegicus</i> normal	13
Gambar 2.4 Diagram Hati	13
Gambar 2.5 Gambaran histologi hati tikus putih (<i>Rattus norvegicus</i>) normal perbesaran 1000x	15
Gambar 2.6 Penampang melintang histologi hati tikus putih (<i>Rattus norvegicus</i>) abnormal, perbesaran 1000x	16
Gambar 2.7 (A) Degenerasi hidrofik, H&E 540x, (B) Nekrosis, M 400x	17
Gambar 2.8 Skema Kerangka Berpikir	22
Gambar 3.1 Skema Alur Penelitian	37
Gambar 4.1 Grafik regresi linier rata-rata berat badan tikus putih (<i>Rattus norvegicus</i>) kelompok kontrol, perlakuan dan satelit hari 1-28.....	39
Gambar 4.2 Grafik regresi linier rata-rata berat badan tikus putih (<i>Rattus norvegicus</i>) kelompok satelit hari 29-42	40
Gambar 4.3 (a) Grafik kadar SGOT setelah induksi cacing tanah (<i>Pheretima javanica</i>). (b) Grafik kadar SGPT setelah induksi cacing tanah (<i>Pheretima javanica</i>)	41
Gambar 4.4 Histopatologi hati	47

DAFTAR LAMPIRAN

1. Lampiran A. Matriks Penelitian.....	67
2. Lampiran B. Hasil Pengamatan.....	70
3. Lampiran C. Hasil Analisis Statistik.....	75
4. Lampiran D. Dokumentasi.....	79
5. Lampiran E. Foto Morfologi Hati.....	84
6. Lampiran F. Lembar Konsultasi.....	85
7. Lampiran G. Surat Penelitian.....	87
8. Lampiran H. Hasil Uji Bioklinis SGOT dan SGPT.....	88

BAB 1. PENDAHULUAN

1.1 Latar belakang

Penggunaan antibiotik dalam pengobatan infeksi bakteri masih menjadi solusi utama dikalangan masyarakat. Antibiotik yang sering digunakan antara lain ampisilin dan kloramfenikol. Penggunaan antibiotik tertentu secara terus menerus seperti kloramfenikol sebagai obat demam *thypoid* dapat memberikan efek samping seperti penekanan sum-sum tulang, gangguan faal hati serta terjadinya *anemia aplastic* (Rampengan, 2013). Pemberian antibiotik secara berlebihan dan monoton (satu jenis terus menerus) maka akan mengurangi efektifitasnya sehingga menimbulkan resistensi terutama bakteri Gram negatif (Al-lawati *et al.*, 2000; Niederman, 2003).

Peningkatan resistensi bakteri yang pesat, dikhawatirkan produksi antibiotik baru tidak dapat mengejar/mendahului hal tersebut. Meskipun di Indonesia masih belum terjadi resistensi 100% terhadap antibiotik seperti kloramfenikol dan ampisilin, tetapi menurut Erviani (2013), dalam penelitiannya menyebutkan bahwa jumlah penderita demam tifoid dalam empat rumah sakit yang resisten terhadap kloramfenikol dan ampisilin (*Multi Drug Resisten*) sebanyak 10 pasien (33,3%), untuk itu alangkah baiknya jika masyarakat mengantisipasi resiko resistensi yang semakin nyata dimasa depan dengan dilakukannya pengembangan obat alternatif seperti pengembangan obat tradisional. Obat tradisional sejauh ini dianggap aman dan memiliki efek samping lebih kecil dibanding obat sintetik (Yuslinda *et al.*, 2011).

Obat tradisional yang sering digunakan oleh masyarakat adalah cacing tanah (Waluyo, 2007). Penelitian yang telah dilakukan menyatakan bahwa cacing tanah jenis *Lumbricus terrestris* digunakan sebagai obat untuk penyembuhan demam tifoid. Uji toksisitas akut menyatakan bahwa hingga dosis 2000 mg/KgBB, cacing tanah jenis *Lumbricus terrestris* tidak menimbulkan efek toksik (Ebere dan Akintonwa, 1995). Cacing tanah adalah hewan yang tidak memiliki tulang belakang (invetebrata), hewan ini termasuk ke dalam filum annelida. Tubuhnya tersusun atas segmen-segmen. Pada umumnya setiap segmen memiliki

empat pasang *setae* (Hickman *et al.*, 2007). Di Indonesia *Pheretima javanica* adalah cacing tanah yang paling banyak jumlahnya dibanding *Pontoscolex coretrurus*, *Lumbricus rubellus*, dan *Pheretima capensis* serta mempunyai tubuh relatif lebih besar dan panjang diantara cacing tanah yang lain (Waluyo *et al.*, 2007).

Cacing tanah mengandung zat antipurin, antipretik, antidota, vitamin, dan beberapa *enzim lumbrokinase*, *peroksidase*, *katalase*, dan *sesulosa* yang berkhasiat untuk pengobatan (Priosoeryanto, 2011). Cacing tanah juga mengandung asam arakidonat yang dikenal dapat menurunkan panas dalam tubuh akibat infeksi (Waluyo, 2006). Cacing tanah (*Pheretima javanica*) memiliki kandungan asam amino hidroksiprolin 19,04% yang berperan dalam aktivitas antibakteri (Waluyo *et al.*, 2010). Genus cacing tanah (*Pheretima*) mengandung senyawa yang mirip dengan *lumbricin* seperti yang dihasilkan oleh cacing *Lumbricus rubellus*. Contohnya spesies *Pheretima tschiliensis* menghasilkan senyawa yang mirip dengan *lumbricin*, senyawa ini diberi nama PP-1, dimana PP-1 menunjukkan homologi 77,6% dengan *lumbricin peptide antimikroba I* yang diisolasi dari cacing tanah *Lumbricus rubellus* (Wang *et al.*, 2003). *Pheretima javanica* menghasilkan antibakteri yang memiliki berat molekul 31,0 kDa dan 34,0 kDa (Waluyo, 2007).

Penelitian sebelumnya pada uji aktivitas diketahui bahwa serbuk cacing tanah (*Pheretima javanica*) menunjukkan adanya pengaruh (menghambat pertumbuhan) terhadap bakteri *Salmonella thypi*. Penelitian yang telah dilakukan oleh Jannah (2017), mengenai uji toksisitas akut serbuk cacing tanah (*Pheretima javanica*) diperoleh hasil tidak terjadi perubahan pada organ yang menjadi parameter utama dalam penelitian ini yaitu hati. Penelitian yang telah dilakukan oleh Firdauzi (2017), mengenai toksisitas subakut serbuk cacing tanah terhadap faal dan gambaran histopatologi hati diperoleh hasil bahwa pemberian serbuk cacing tanah (*Pheretima javanica*) tidak memberikan efek toksik pada hati. Dapat dilihat dari hasil gambaran histopatologi hati normal serta kadar SGOT SGPT yang telah dianalisis menggunakan metode *One Way ANNOVA* menunjukkan serbuk cacing tanah (*Pheretima javanica*) tidak berpengaruh secara signifikan

terhadap kadar SGOT dan SGPT sehingga tidak menimbulkan efek toksik pada hati. Serbuk merupakan sediaan yang telah dihaluskan. Meskipun sudah ada penelitian tentang serbuk (*Pheretima javanica*) namun Peraturan Kepala BPOM nomor 12 tahun 2014 menyebutkan bahwa obat dalam berupa kapsul hanya dapat berisi ekstrak.

Ekstrak adalah sediaan kering, kental atau cair dibuat dengan menyaring simplisia nabati atau hewani menurut cara yang cocok, misalnya dengan cara maserasi, sehingga didapatkan kandungan sesuai dengan pelarut. Ekstrak cacing tanah (*Pheretima javanica*) merupakan obat tradisional. Untuk diterima dalam pelayanan kesehatan formal maka hasil data empirik harus didukung oleh bukti ilmiah tentang khasiat dan keamanan penggunaannya pada manusia. Bukti tersebut hanya dapat diperoleh dari penelitian yang dilakukan secara sistematis. Tahapan pengembangan obat tradisional adalah uji *in vitro*, *in vivo*, uji praklinik yang terdiri dari uji toksisitas, uji farmakodinamik dan uji klinik (BPOM, 2014).

Uji toksisitas dilakukan untuk mengukur derajat efek toksik suatu senyawa yang terjadi dalam waktu tertentu. Uji toksisitas terdiri dari uji toksisitas akut dan uji toksisitas subakut. Toksisitas subakut bertujuan untuk mendeteksi efek toksik yang muncul setelah pemberian sediaan uji dengan dosis berulang yang diberikan secara oral pada hewan coba selama sebagian umur hewan yang tidak terdeteksi dalam uji toksisitas akut (BPOM, 2014). Hewan uji yang sering digunakan adalah tikus putih (*Rattus norvegicus*) karena hewan ini termasuk dalam kelompok mamalia yang memiliki kemiripan secara fisiologis dengan manusia, sehingga pengaruh yang ditimbulkan terhadap tikus putih hampir sama dengan pengaruh yang akan diperoleh manusia nantinya (Wolfenshon *et al.*, 2013).

Efek toksik obat-obatan sering terlihat dalam hati, dikarenakan hati berperan sentral dalam memetabolisme semua obat dan bahan-bahan asing yang masuk ke dalam tubuh (Setiawati *et al.*, 2007). Pemeriksaan histopatologi hati berfungsi untuk mengetahui ada tidaknya kerusakan sel hati akibat paparan senyawa uji. Parameter hati yang dilihat yaitu berupa degenerasi dan nekrosis (Insani *et al.*, 2015). Pengamatan faal hati dilakukan dengan pengukuran enzim SGOT dan SGPT, enzim SGOT dan SGPT dapat mengidentifikasi keamanan

suatu zat yang masuk dan dimetabolisme oleh hati. Sekecil apapun aktivitas *aminotransferase* (SGOT dan SGPT) di dalam darah tetap dapat terdeteksi. Apabila terjadi gangguan dengan fungsi hati, enzim *aminotransferase* akan masuk ke peredaran darah karena telah terjadi perubahan permeabilitas membrane sel sehingga kadar enzim *aminotransferase* (SGOT dan SGPT) dalam darah akan berbeda dengan kadar normal (Tjokroprawiro, 2007). Berdasarkan latar belakang yang telah diuraikan, maka perlu dilakukan penelitian tentang “Toksistas Subakut Ekstrak Cacing Tanah (*Pheretima javanica*) terhadap Faal, Morfologi dan Gambaran Histopatologi Hati Tikus Putih (*Rattus norvegicus*)”.

1.2 Rumusan Masalah

Berdasarkan latar belakang yang telah dikemukakan maka dapat disusun rumusan masalah sebagai berikut :

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

1.3 Batasan Masalah

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

- a. Uji toksistas subakut adalah suatu pengujian untuk mendeteksi efek toksik yang muncul setelah pemberian sediaan uji yang tidak terdeteksi oleh uji toksistas akut dengan dosis berulang yang diberikan secara oral pada hewan uji selama 28 hari.
- b. Hewan coba yang digunakan adalah tikus putih jantan (*Rattus norvegicus*) dengan strain wistar berumur 3-4 bulan dan berat badan 200-250 gram.

- c. Ekstraksi cacing tanah (*Pheretima javanica*) menggunakan pelarut etanol 70%, cacing basah dijemur selama 3-4 hari dibawah sinar matahari, dioven dengan suhu 40° C selama 4 jam kemudian diblender, diayak dan disaring kemudian diekstrak menggunakan *rotary evaporator* sampai berbentuk pasta.
- d. Jenis cacing tanah yang digunakan adalah spesies *Pheretima javanica* yang dapat ditemukan dikandang peternakan sapi dengan kedalaman 20 cm dan diareal tanah yang gembur didaerah Ambulu Jember.
- e. Kriteria cacing tanah yang digunakan adalah yang bertubuh sehat, dewasa, dengan ciri-ciri gerakannya lincah dan tubuhnya tidak pucat.
- f. Pengamatan faal hati, pengukuran kadar SGOT dan SGPT menggunakan serum dari darah hewan coba ditambah reagen SGOT dan SGPT.
- g. Pengamatan morfologi hati meliputi berat dan warna hati tikus putih (*Rattus norvegicus*).
- h. Pengamatan histopatologi hati tikus putih (*Rattus norvegicus*) pada penelitian ini meliputi kerusakan hati berupa degenerasi hidrofik, degenerasi melelak dan nekrosis.

1.4 Tujuan penelitian

Berdasarkan rumusan masalah di atas, dapat dirumuskan tujuan penelitian sebagai berikut :

- a. Untuk menganalisis toksisitas subakut ekstrak cacing tanah (*Pheretima javanica*) terhadap faal hati tikus putih (*Rattus norvegicus*).
- b. Untuk menganalisis toksisitas subakut ekstrak cacing tanah (*Pheretima javanica*) terhadap morfologi hati tikus putih (*Rattus norvegicus*).
- c. Untuk menganalisis toksisitas subakut ekstrak subakut cacing tanah (*Pheretima javanica*) terhadap gambaran histopatologi hati tikus putih (*Rattus norvegicus*).

1.5 Manfaat

Berdasarkan rumusan masalah di atas, dapat dirumuskan tujuan penelitian sebagai berikut :

- a. Bagi penulis, dapat memberi pengetahuan serta wawasan mengenai toksisitas subakut ekstrak cacing tanah (*Pheretima javanica*) terhadap faal, morfologi dan gambaran histopatologi hati tikus putih (*Rattus norvegicus*).
- b. Bagi masyarakat 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*).
- c. Bagi peneliti lainnya, dapat digunakan sebagai pertimbangan untuk melakukan penelitian yang lebih lanjut.

BAB 2. TINJAUAN PUSTAKA

2.1 Cacing tanah (*Pheretima javanica*)

Cacing tanah merupakan hewan yang tidak memiliki tulang belakang (invertebrata). Cacing tanah termasuk kedalam filum annelida. Cacing tanah normalnya muncul pada malam hari namun saat cuaca hujan dan lembab mereka berada dekat dengan permukaan seringnya dengan mulut atau anus yang menonjol keluar. Saat cuaca yang panas dan kering mereka bersembunyi beberapa meter di dalam tanah, menggulung pada tanah yang lembab dan menjadi dorman. Tubuhnya tersusun atas segmen-segmen, pada umumnya setiap segmen memiliki empat pasang setae (Hickman *et al.*, 2007). *Pheretima javanica* adalah cacing tanah yang paling banyak jumlah populasinya dibanding *Pontoscolex coretrurus*, *Lumbricus rubellus*, dan *Pheretima capensis* serta mempunyai tubuh relatif lebih besar dan panjang diantara cacing tanah yang lain (Waluyo *et al.*, 2007).

Klasifikasi *Pheretima javanica* menurut data base koleksi zoologi Harvard University (2018) adalah :

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

2.1.1 Morfologi dan Fisiologi Cacing tanah (*Pheretima javanica*)

Cacing tanah (*Pheretima* sp.) memiliki ciri-ciri morfologi yaitu, segmen-segmen berbentuk cincin, ciri-ciri eksternal tubuh berbentuk silindris, panjang tubuh 140-170 mm, jumlah segmen 108-118, permukaan kulit agak licin, gerakan lincah, warna bagian dorsal agak kehitaman, bagian anterior hitam, bagian ventral berwarna coklat dan posterior berwarna kehitam-hitaman (Sari dan Maya, 2014).



Gambar 2.1 Morfologi Cacing Tanah *Pheretima javanica*, (Novyan *et al.*, 2016).

Cacing tanah telah memiliki pembuluh darah, sehingga sistem peredaran darahnya tertutup. Warna merah pada darah disebabkan karena terdapat kandungan hemoglobin di dalamnya. Pembuluh darah yang melingkari esofagus berfungsi memompa darah ke seluruh tubuh. Cacing tanah memiliki alat peredaran darah yang terdiri dari pembuluh darah punggung, pembuluh darah perut dan lima pasang lengkung aorta, dimana lengkung aorta ini berfungsi sebagai jantung. System saraf annelida adalah system saraf tangga tali. Ganglia otak terletak di depan faring pada anterior (Dondin, 2005).

Waluyo (2006), menyatakan bahwa proses peredaran darah pada cacing tanah (*Pheretima javanica*) terjadi ke dan dari seluruh tubuh dalam suatu sistem pembuluh darah tertutup yang terjadi pada kapiler darah. Zat-zat makanan dan oksigen dialirkan ke sel-sel atau jaringan dan CO₂ dikeluarkan. Pada *Pheretima javanica* memiliki 5 pasang jantung. Darah cacing tanah terdiri dari cairan plasma yang mana mengandung *corpules* yang tak berwarna (*amoebocyte*) dan plasma darah berwarna merah karena adanya hemoglobin.

2.1.2 Senyawa dalam Cacing Tanah (*Pheretima javanica*)

Penelitian yang telah dilakukan menyatakan bahwa cacing tanah jenis *Lumbricus terrestris* digunakan sebagai obat untuk penyembuhan demam tifoid. Uji toksisitas akut menyatakan bahwa hingga dosis 2000 mg/KgBB, cacing tanah jenis *Lumbricus terrestris* tidak menimbulkan efek toksik (Ebere dan Akintonwa,

1995). *Lumbricin I* adalah peptida antimikroba yang kaya prolin dari 62 asam amino (15% prolin dalam rasio molar; massa molekul, 7231 Da), yang urutan lengkapnya ditentukan oleh kombinasi urutan peptida dan analisis cDNA. Analisis urutan peptida dan cDNA mengungkapkan bahwa *lumbricin I* diproduksi sebagai bentuk prekursor yang terdiri dari 76 asam amino, dengan 14 residu dalam presegment dan 62 residu pada *lumbricin I*. *Lumbricin I* menunjukkan aktivitas antimikroba secara in vitro terhadap spektrum luas mikroorganisme tanpa aktivitas hemolitik (Cho *et al.*, 1998).

Cacing tanah (*Pheretima javanica*) memiliki kandungan asam amino hidroksiprolin 19,04% yang berperan dalam aktivitas antibakteri (Waluyo *et al.*, 2010). Genus cacing tanah (*Pheretima*) mengandung senyawa yang mirip dengan *lumbricin* seperti yang dihasilkan oleh cacing *Lumbricus rubellus*. Contohnya spesies *Pheretima tschiliensis* menghasilkan senyawa yang mirip dengan *lumbricin*, senyawa ini diberi nama PP-1, dimana PP-1 menunjukkan homologi 77,6% dengan *lumbricin peptide antimikroba I* yang diisolasi dari cacing tanah *Lumbricus rubellus* (Wang *et al.*, 2003). *Pheretima javanica* menghasilkan antibakteri yang memiliki berat molekul 31,0 kDa dan 34,0 kDa (Waluyo, 2007).

Made of action senyawa *lumbricin I* dengan cara merubah dan merusak mekanisme permeabilitas membran, sehingga bakteri kehilangan metabolit sekunder sel, senyawa ini juga menghambat sintesis protein dan DNA dalam sel. Kemudian di dalam ekstrak cacing tanah juga terdapat zat antipurin, antipiretik, vitamin dan beberapa enzim misalnya *lumbrokinase*, *peroksidase*, *katalase* dan *selulose* yang berkhasiat untuk pengobatan (Indriyati *et al.*, 2012). Potensi lain yang dimiliki oleh cacing tanah yakni memiliki senyawa yang mengandung asam arakidonat yang dikenal dapat menurunkan panas tubuh akibat infeksi (Palungkun, 2010).

2.1.3 Ekstraksi Cacing Tanah (*Pheretima javanica*)

Peraturan Kepala BPOM nomor 12 tahun 2014 menyebutkan bahwa obat dalam berupa kapsul hanya dapat berisi ekstrak. Pembuatan ekstrak cacing tanah (*Pheretima javanica*) harus melalui proses yang disebut ekstraksi. Ekstraksi

adalah suatu proses pemisahan dari bahan padat maupun cair dengan bantuan pelarut. Isolasi adalah teknik pemisahan senyawa yang bercampur dalam suatu ekstrak sehingga dapat menghasilkan senyawa yang murni (Lestari *et al.*, 2014). Ekstraksi dengan pelarut dilakukan dengan mempertemukan bahan yang akan diekstrak dengan pelarut selama waktu tertentu, diikuti pemisahan filtrat terhadap residu bahan yang diekstrak. Ekstraksi dengan menggunakan pelarut seperti etanol, metanol, etil asetat, heksana dan air mampu memisahkan senyawa-senyawa yang penting dalam suatu bahan.

Metode ekstraksi yang digunakan dalam penelitian ini adalah ekstraksi dingin berupa maserasi. Maserasi merupakan proses pengambilan senyawa aktif dengan perendaman menggunakan pelarut yang sesuai dengan sifat kepolaran senyawa yang akan dilarutkan dengan dilakukan pengadukan pada temperatur ruang. Keuntungan metode maserai adalah caranya yang mudah dan tidak memerlukan pemanasan sehingga bahan alam kemungkinan kecil mengalami kerusakan atau terurai (Susanty dan Bachmid, 2016). Pemilihan pelarut yang akan dipakai dalam proses ekstraksi harus memperhatikan sifat kandungan senyawa yang akan diisolasi. Sifat yang penting adalah polaritas dan gugus polar dari suatu senyawa. Pada prinsipnya suatu bahan akan mudah larut dalam pelarut yang sama polaritasnya (Sudarmadji *et al.*, 1989). Penelitian ini menggunakan pelarut etanol 70%.

Proses maserasi menggunakan pelarut etanol 70% dilakukan selama 3 hari dengan teknik pengadukan, sehingga disebut maserasi kinetik. Maserasi adalah ekstraksi zat aktif yang dilakukan dengan cara merendam serbuk dalam pelarut yang sesuai selama beberapa hari pada temperatur kamar terlindung dari cahaya matahari, pelarut akan masuk ke dalam sel melewati dinding sel. Isi sel akan larut karena adanya perbedaan konsentrasi antara larutan didalam sel dengan di luar sel. Larutan yang konsentrasinya tinggi akan terdesak keluar dan di ganti oleh pelarut dengan konsentrasi rendah (proses difusi). Peristiwa tersebut akan berulang sampai terjadi keseimbangan antara larutan di dalam sel dan larutan di luar sel (Rondonuwu *et al.*, 2017).

Hasil dari maserasi adalah filtrat, filtrat didapat dengan proses penyaringan. Filtrat cacing tanah (*Pheretima javanica*) kemudian dipekatkan dengan cara di rotary menggunakan rotary vacuum evaporator untuk mempercepat penguapan pelarut sehingga didapat ekstrak mentah (Putra *et al.*, 2014). Filtrat kemudian dioven dengan suhu 40°C hingga menjadi pasta.

2.2 Tikus Putih Galur Wistar (*Rattus norvegicus*)

Hewan coba sangat diperlukan dalam penelitian bidang biomedik, terutama untuk kajian imunologi, onkologi, fisiologi, patologi, toksikologi, farmakologi, dan neurosains. Sebelum diaplikasikan kepada manusia, serangkaian percobaan menggunakan hewan coba harus dilakukan terlebih dahulu (disebut penelitian praklinik) (Iheidioha *et al.*, 2012). Hewan coba yang digunakan dalam penelitian ini adalah tikus putih (*Rattus norvegicus*) strain wistar.

Klasifikasi Tikus putih (*Rattus norvegicus*) menurut ITIS (2018) sebagai berikut :

Kingdom	: Animalia
Subphylum	: Vertebrata
Class	: Mammalia
Order	: Rodentia
Family	: Muridae
Genus	: <i>Rattus</i>
Spesies	: <i>Rattus norvegicus</i>

Terdapat 5 macam strain utama yang digunakan dalam percobaan laboratorium yaitu *Sparague dawley*, *Osborne- mendell*, *Long evans*, *Sherman* dan *Wistar*. Tikus putih yang digunakan sebagai hewan percobaan adalah *Wistar*, jenis ini lebih jinak dan memiliki warna putih. Tikus dewasa dapat makan 12-20 gram makanan kering setiap hari. Tikus putih memiliki kepala dan badan dengan ciri hidung tumpul, badan besar, pendek 18-25 cm, bagian atas berwarna lebih tua dan muda pada bagian bawahnya, dengan rambut pendek kaku. Telinganya relatif kecil dan bola mata berwarna merah (Smith dan Mangkoewidjodjo, 1998). Tikus putih (*Rattus norvegicus*) digunakan dalam penelitian karena mempunyai kemiripan dengan manusia dalam hal fisiologi, anatomi, nutrisi, patologi,

metabolisme. Tikus jantan digunakan karena sedikit terpengaruh oleh perubahan hormonal (Sitepoe, 1992).



Gambar 2.2 Tikus putih strain wistar (*Rattus norvegicus*), (Spring, 1998).

2.3 Hati

Hati adalah organ besar di kuadran kanan atas abdomen, tepat di bawah diafragma, hati terdiri atas ribuan struktur poligonal yang disebut lobulus hati, yang merupakan unit fungsional dasar organ tersebut (Mescher, 2000). Salah satu fungsi penting hati adalah sebagai detoksikasi tubuh, proses detoksikasi terjadi pada proses oksidasi, reduksi, metilasi, esterifikasi dan konjugasi terhadap berbagai macam bahan seperti zat racun maupun obat (Candra, 2013).

2.3.1 Morfologi hati

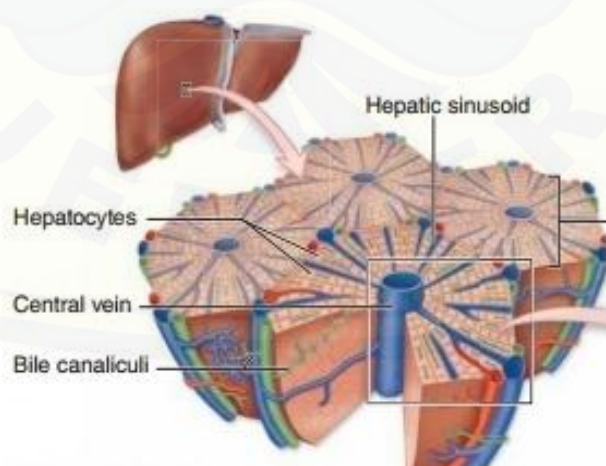
Morfologi hati yang sehat terlihat berwarna merah kecoklatan karena kaya akan persediaan darah dengan tekstur permukaannya licin, konsistensinya kenyal dan berbentuk seperti piramid (Liwandou *et al.*, 2017; Fitmawati *et al.*, 2018). Menurut Westbrook (2016), hati yang berwarna pucat disebabkan oleh pelepasan asam-asam lemak bebas secara cepat yang berasal dari lemak *visceral* (lemak yang menempel pada organ di dalam tubuh) yang membesar. Penyebab hati berwarna pucat adalah senyawa yang bersifat toksik yang menyebabkan perlemakan pada hati, hal tersebut akan mengganggu aliran darah ke hati sehingga hati berwarna pucat (Fortes, 2017; Lailatul *et al.*, 2015).



Gambar 2.3 Morfologi hati tikus putih *Rattus norvegicus* normal, (Fitmawati *et al.*, 2018).

2.3.2 Histopatologi Hati

Hati dibentuk oleh sekitar 100.000 lobulus yang terdiri dari hepatosit, saluran sinusoid yang dikelilingi oleh endotel vaskuler dan sel kupfer yang merupakan bagian dari sistem retikuloedotel. Sel-sel hati atau hepatosit merupakan sel epitel yang berkelompok membentuk lempeng-lempeng yang saling berhubungan. Hepatosit tersusun berupa ribuan lobulus hati kecil ($-0,7 \times 2$ mm) polihedral yang merupakan unit fungsional dan struktural hati yang klasik. Setiap lobulus memiliki tiga sampai enam area portal di bagian periferinya dan suatu vena yang disebut vena sentral di bagian pusatnya (Mescher, 2000).



Gambar 2.4 Diagram hati, keterangan : Diagram memperlihatkan sebuah vena sentral kecil yang menonjol melalui pusat setiap lobulus hati dan sejumlah pembuluh darah yang membatasi bagian tepi, (Mescher, 2000).

Hati adalah organ besar di kuadran kanan atas abdomen, tepat di bawah diafragma, hati terdiri atas ribuan struktur poligonal yang disebut lobulus hati, yang merupakan unit fungsional dasar organ hati. Pembuluh perifer berkelompok terutama pada jaringan ikat yang membentuk saluran portal, yang biasanya mencakup cabang vena porta dan cabang arteri hepatica, serta cabang duktus biliaris. Ketiga struktur ini membentuk trias porta. Kedua pembuluh darah di setiap lobulus membentuk sinusoid yang terbentang melalui lempeng hepatosit dan bermuara ke dalam vena sentralis. Kemudian lobulus hati yang terpotong transversal adalah unit poligonal dengan lempeng sel epitel yang disebut hepatosit yang tersusun dari suatu vena sentral (Mescher, 2000).

Hati merupakan salah satu organ berperan sebagai pusat metabolisme bagi tubuh. Hepatosit merupakan sel utama yang bertanggung jawab terhadap peran sentral hati dalam metabolisme. Fungsi hati selain melindungi tubuh terhadap terjadinya penumpukan zat berbahaya dari luar maupun dari dalam, juga merupakan tempat dimana obat dan bahan toksik lainnya dimetabolisme. Peran metabolisme melalui beberapa sifat enzim yang terlibat dalam transformasi biokimia, selain metabolisme juga berperan dalam lintas aliran darah dari ke seluruh tubuh melalui sistem portal hati. Obat dan bahan kimia lainnya dapat berdampak pada perubahan fungsional dan struktur anatomi hati (Insani *et al.*, 2015). Hati menerima sebagian besar darah dari sistem pencernaan yang membawa darah sedikit oksigen dan kaya akan nutrisi dari organ viseral abdominal (Wicaksono *et al.*, 2015).

Gambaran histopatologi hati normal tikus dapat di tunjukkan dengan gambar dibawah ini :



Gambar 2.5 Gambaran histologi hati tikus putih (*Rattus norvegicus*) normal perbesaran 1000x, (Mulyono *et al.*, 2009).

Cidera hati akut akan menyebabkan perubahan metabolisme yang kemudian akan mengakibatkan struktur dan perubahan fungsi pada hati. Dapat diketahui didalam hati terjadi proses-proses penting yaitu proses pembentukan protein, proses penyimpanan energi, pengaturan metabolisme kolestrol, serta penetralan racun yang bersifat toksik, organ hatilah yang bekerja paling keras untuk menetralsirnya. Hal inilah yang menyebabkan hati sangat mudah sekali mengalami kerusakan yang disebabkan oleh zat yang bersifat toksik. Kerusakan pada hati dapat meliputi kerusakan struktur maupun gangguan fungsi hati (Gibson, 2003).

Kerusakan pada histologi hati meliputi:

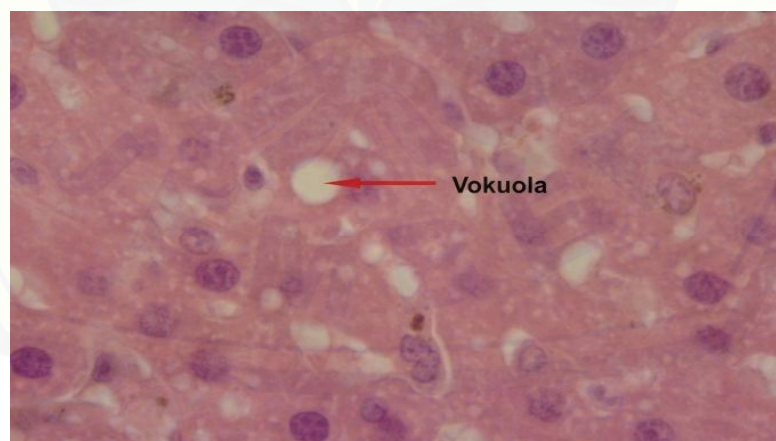
1. Pembengkakan sel (Degenerasi)

Pembengkakan merupakan manifestasi pertama yang ada hampir pada semua bentuk jejas sel sebagai akibat pergeseran air ekstraselular ke dalam sel, akibat gangguan pengaturan ion dan volume. Degenerasi sel juga diartikan sebagai hilangnya struktur normal sel. Secara umum terdapat tiga macam degenerasi, yaitu degenerasi parenkim, degenerasi hidrofis dan degenerasi meleak (*steatosis*) (Oktarian *et al.*, 2017). Tipe degenerasi pertama adalah degenerasi parenkim, merupakan bentuk degenerasi yang paling sering terjadi dan bersifat *reversibel*. Menurut Sarjadi (2003), degenerasi parenkim terjadi karena

adanya pergeseran air ekstraseluler ke dalam sel. Sehingga hepatosit tampak lebih besar dari ukuran normal.

Degenerasi hidrofis, merupakan kerusakan sel hati yang bersifat sementara yang disebabkan karena sel mengalami kekurangan nutrisi, ketuaan sel meupun sebagai suatu cara adaptasi sel hati terhadap terjadinya peningkatan metabolisme di hati. Secara makroskopis, sel yang mengalami degenerasi hidrofis terlihat banyak vakuola-vakuola di sitoplasma dan ukuran sel terlihat lebih besar dibandingkan sel normal (Sudatriet *al.*, 2016). Menurut Sudiono *et al.*, (2003), degenerasi hidrofis merupakan jejas (kerusakan) sel yang *reversibel* dengan penimbunan intraselular yang lebih parah jika dibandingkan dengan degenerasi parenkim.

Degenerasi melemap atau *steatosis* adalah penimbunan abnormal dari trigliserida dalam parenkim. Proses terjadinya perlemakan pada sel hepar berawal dari timbulnya inklusi kecil terikat selaput (lisosom) terpaat erat pada retikulum endoplasma dan mungkin berasal dari lisosom. Mula-mula tampak di bawah mikroskop cahaya sebagai vakuola lemak kecil dalam sitoplasma di sekitar inti. Pada proses selanjutnya, vakuola melebar membentuk ruang jernih yang mendesak inti ke tepi sel (Mulyono *et al.*, 2009).

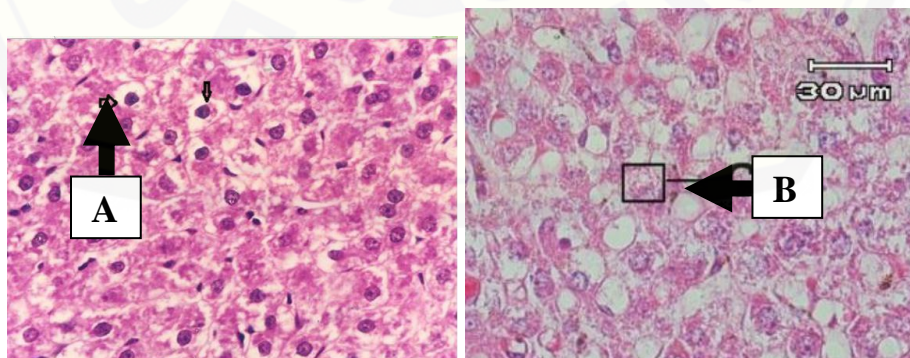


Gambar 2.6 Penampang melintang histologi hati tikus putih (*Rattus norvegicus*) abnormal, perbesaran 1000x. Terjadi degenerasi melemap pada sebagian sel hepar yang ditandai dengan vakuola membesar (Mulyono *et al.*, 2009).

2. Nekrosis

Nekrosis adalah kematian sel atau jaringan pada organisme hidup, ditandai dengan perubahan morfologi sebagai tindakan degradasi progresif oleh enzim-enzim pada sel yang terjejas. Kematian sel merupakan kerusakan yang bersifat *irreversibel*, sehingga hepatosit tidak dapat kembali ke bentuk normal. Nekrosis dapat bersifat lokal ataupun difus, yang disebabkan oleh beberapa keadaan, misalnya iksemia, anemia, kekurangan oksigen, bahan-bahan radikal bebas maupun gangguan peptida. Kematian sel dapat terjadi melalui dua proses, yaitu apoptosis dan nekrosis sel. Apoptosis merupakan proses kematian sel yang terencana atau terprogram, sedangkan nekrosis dicirikan dengan adanya sel radang (Oktarian *et al.*, 2017).

Salah satu penyebab terjadinya nekrosis adalah paparan bahan kimia yang bersifat toksik. Penyebab lain terjadinya nekrosis adalah hipoksia. Hipoksia merupakan penyebab umum dari jejas sel dan kematian sel, karena kegagalan sistem kardiovaskular dan keracunan karbon monoksida sehingga menghambat pengangkutan oksigen (Sudiono *et al.*, 2003). Secara mikroskopik perubahan yang terjadi pada nekrosis berupa sel terlihat hancur, inti sel dan bagian-bagian sel tidak terlihat jelas. Sebelum sel mengalami nekrosis, inti sel akan mengalami piknotik dimana pada preparat histologis terlihat warna inti gelap dibandingkan inti hepatosit normal. Hal ini terjadi karena kromosom di dalam inti yang mengalami piknotik mengalami homogenisasi dan banyak menyerap zat warna (Utomo *et al.*, 2012).



Gambar 2.7 (A) Degenerasi hidrofik, H&E 540x (Jarrar dan Taib., 2012), (B) Nekrosis, M 400x (Oktarian *et al.*, 2017).

2.3.3. Fisiologi Hati

Hati merupakan kelenjar tambahan dari saluran cerna yang terletak di kuadran kanan atas dari rongga abdomen, permukaan atas membulat. Hati memiliki peranan penting karena berfungsi sebagai pembentukan dan sekresi empedu (Ozougwu, 2017). Hati menyingkirkan atau mengekskresi obat-obatan, hormon dan zat-zat lain. Hati dikenal kemampuannya dalam mendetoksifikasi atau mengekskresi ke dalam empedu sebagai obat-obatan, meliputi *sulfonamid*, *penisilin*, *ampisilin* dan *eritromisin* ke dalam empedu (Guyton dan Hall, 2011). Hati juga berfungsi sebagai metabolisme nutrisi dan vitamin yang diserap dari saluran pencernaan, selanjutnya akan dipakai oleh bagian tubuh lainnya. Melihat banyak dan pentingnya fungsi hati, maka jika terjadi kerusakan pada hati akan mempengaruhi fungsi jaringan tubuh lainnya (Niranjan, 2016; Ozougwu, 2017).

2.3.4 Enzim SGOT dan SGPT pada Hati

Enzim SGOT dan SGPT termasuk dalam enzim *aminotransferase*. Enzim *aminotransferase* merupakan suatu enzim yang mengkatalis pemindahan gugus amino dan alfa-keto. Enzim ini yang mengkatalisis reaksi *transaminase*. Terdapat dua enzim yang sering dihubungkan dengan kerusakan sel hati yaitu *Aspartat Aminotransferase* (AST) yang biasa disebut SGOT dan *Alanine Aminotransferase* (ALT) yang biasa disebut SGPT. Gangguan fungsi hati dapat dideteksi dengan tes fungsi hati yang terdiri dari pengukuran aktivitas enzim AST (SGOT), dan ALT (SGPT). Peningkatan AST dan ALT terjadi jika ada kerusakan atau radang pada jaringan hati (Tjokroprawiro, 2007).

Pengukuran enzim SGOT dan SGPT dapat mengidentifikasi keamanan suatu zat yang masuk dan dimetabolisme oleh hati. Sekecil apapun aktivitas *aminotransferase* di dalam darah tetap dapat terdeteksi. Apabila terjadi gangguan dengan fungsi hati, enzim *aminotransferase* akan masuk ke peredaran darah karena telah terjadi perubahan permeabilitas membran sel sehingga kadar enzim *aminotransferase* dalam darah akan meningkat (Ashoka *et al.*, 2012).

Serum Glutamic Oxaloacetic Transaminase (SGOT) adalah suatu enzim dalam tubuh yang segera terdeteksi dalam sirkulasi perifer apabila terjadi trauma

atau nekrosis pada suatu jaringan. Kadar SGOT pada pemeriksaan laboratoris dapat digunakan untuk menilai seberapa luas kerusakan hati (Qodriyati, 2016).

Enzim SGPT lebih spesifik untuk mendeteksi kerusakan hati. SGPT adalah enzim yang dibuat dalam sel hati (hepatosit), jadi lebih spesifik untuk mendiagnosis penyakit hati dibandingkan dengan enzim lain. Setiap jenis peradangan hati dapat menyebabkan peningkatan SGPT (Ashoka *et al.*, 2012).

Qodriyati (2016), menyatakan bahwa peningkatan kadar SGOT yang kurang dari 300 μL menunjukkan belum terjadi nekrosis pada hati. Apabila terjadi kerusakan pada hati, kenaikan kadarnya dapat mencapai 100 kali dari harga normal. Menurut Spring (1998), nilai rujukan SGOT pada tikus yaitu 41-115 μL .

Kondisi yang dapat menyebabkan peningkatan SGOT dibedakan menjadi 3 menurut Tjokprawiro (2007), sebagai berikut:

1. Peningkatan tinggi (>5 kali normal), disebabkan karena kerusakan hepatoseluler akut, *infark miokard*, *kolaps* sirkulasi, pankreatitis akut, *mononucleosis infeksiosa*.
2. Peningkatan sedang (3-5 kali nilai normal), disebabkan karena obstruksi saluran empedu, aritmia jantung, gagal jantung kongestif, tumor hati (*melastasis*), *distrophia muscularis*.
3. Peningkatan rendah (sampai 3 kali normal), disebabkan karena *pericarditis*, *sirosis*, *infark paru*, *delirium tremens*, *cerebro vascular accident* (CVA).

Kadar SGPT (*Serum Glutamic Piruvic Transaminase*) menurut Spring (1998), kisaran normal untuk tikus adalah 20-81 μL . Kondisi yang dapat menyebabkan peningkatan SGPT dibedakan menjadi 3 menurut Tjokprawiro (2007), yaitu sebagai berikut:

1. Peningkatan tinggi (>20 kali normal), disebabkan oleh hepatitis viral akut, nekrosis hati (toksisitas subakut obat atau kimia).
2. Peningkatan sedang (3-10 kali normal), disebabkan oleh infeksi *mononuclear*, hepatitis kronis aktif, sumbatan empedu *ekstra hepatic*, *sindrome Reye*, dan *infark miokard* (SGOT $>$ SGPT).
3. Peningkatan rendah (2-3 kali normal), disebabkan oleh pankreatitis, perlemakan hati, *sirosis Laennec*, *sirosis biliaris*.

2.4 Toksisitas Subakut

Toksisitas merupakan salah satu uji yang digunakan untuk mengetahui keamanan suatu obat yang akan dijadikan produk obat. Uji toksisitas umum dirancang untuk mengevaluasi keseluruhan efek suatu senyawa pada hewan coba meliputi uji toksisitas akut, uji toksisitas subakut dan uji toksisitas kronik. Dalam pengujian toksisitas ini dapat diketahui perubahan berupa akumulasi, toleransi, metabolisme, dan kelainan khusus di organ atau sistem organ yang diteliti (Depkes RI, 2000).

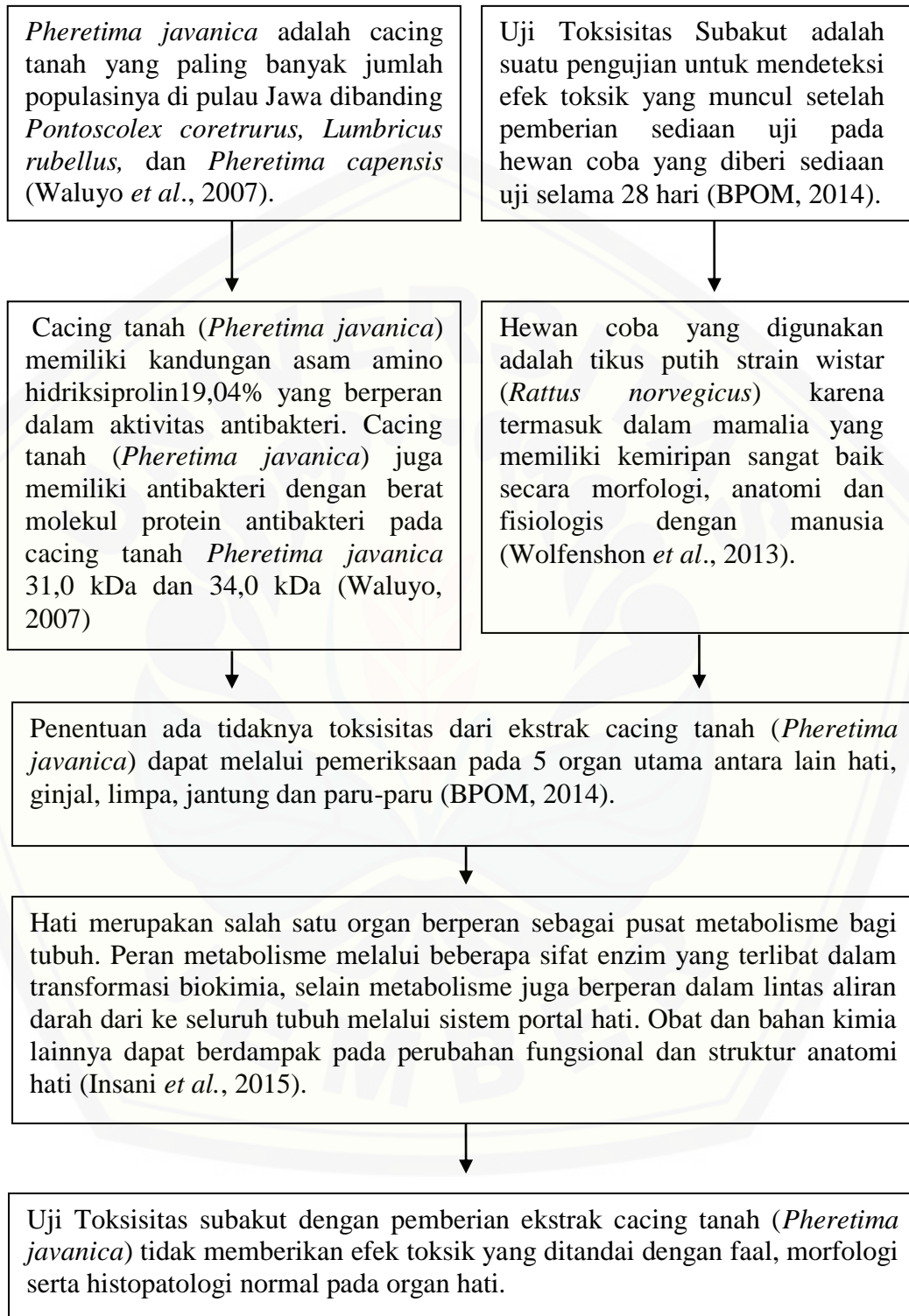
Toksisitas menunjukkan keadaan efek samping dengan adanya interaksi antara racun dan sel. Interaksi ini dapat bervariasi, tergantung pada sifat kimia dari racun dan membran sel, karena mungkin terjadi pada permukaan sel, dalam sel tubuh, atau di jaringan di bawahnya serta di matriks ekstraselular. Efek racun dapat terjadi sebelum pengikatan racun ke organ vital seperti hati. Oleh karena itu, evaluasi sifat beracun zat sangat penting ketika mempertimbangkan untuk perlindungan kesehatan masyarakat karena paparan bahan kimia dapat berbahaya dan menyebabkan efek buruk pada manusia (Jothy, 2011).

Tujuan uji toksisitas subakut 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. Tujuan lain untuk memperoleh informasi dosis yang tidak menimbulkan efek toksik atau NOAEL (*No Observed Adverse Effect Level*) dan mempelajari adanya efek kumulatif serta *reversibilitas* zat yang diuji (BPOM, 2014).

Pengaruh efek toksik atas makhluk hidup terjadi melalui beberapa tahap. Awalnya makhluk hidup terpejani racun tertentu, dan racun tersebut mengalami absorpsi ke dalam tubuh, yang nantinya akan terdistribusi ke tempat aksi (sel target atau reseptor) tertentu di dalam tubuh makhluk hidup. Setelah sampai di tempat aksi, akan terjadi interaksi antara racun dan komponen penyusun sel target di tempat aksi seperti organ hati. Kemudian pengaruh berbahaya atau efek toksik pun muncul dengan wujud dan sifat toksik tertentu (Donatus, 2005).

Pengamatan gejala toksik dilakukan setiap hari selama 28 hari (BPOM, 2014). Pengamatan berat badan juga turut dilakukan untuk mengetahui adanya efek toksik yang terjadi pada tikus putih. Pengamatan dilakukan seminggu dua kali selama 28 hari (BPOM, 2014). Jika pemberian bahan uji melebihi 7 hari maka dilakukan pengamatan pada berat relatif organ. Sellers *et al.*, (2007), menyatakan bahwa jika pemberian sediaan uji melebihi 7 hari maka dilakukan pengamatan pada berat relatif organ. Indeks berat relatif organ digunakan untuk melihat keadaan fisiologis serta patologis organ tubuh hewan coba setelah paparan sediaan uji. Pengamatan morfologi, histopatologi dan uji biokimia klinis dilakukan untuk mengetahui adanya perubahan struktur sel-sel serta fungsi organ akibat toksisitas dari suatu senyawa (Jothy *et al.*, 2011). Terdapat kelompok satelit yang terdiri dari kelompok satelit kontrol dan kelompok satelit dosis 1000 mg/Kgbb, hal ini bertujuan untuk mendeteksi efek toksik tertunda ataupun pemulihan efek toksik (*reversibel/irreversibel*) (Ibrahim, 2016). Uji *reversibilitas* dilakukan untuk mengetahui keterbalikan efek toksik yang terjadi setelah senyawa uji tidak diberikan, sehingga dapat melihat dampak efek toksik yang muncul, apakah memiliki sifat menetap atau kembali normal (Kuncarli dan Djunarko, 2014).

2.5 Kerangka Berpikir

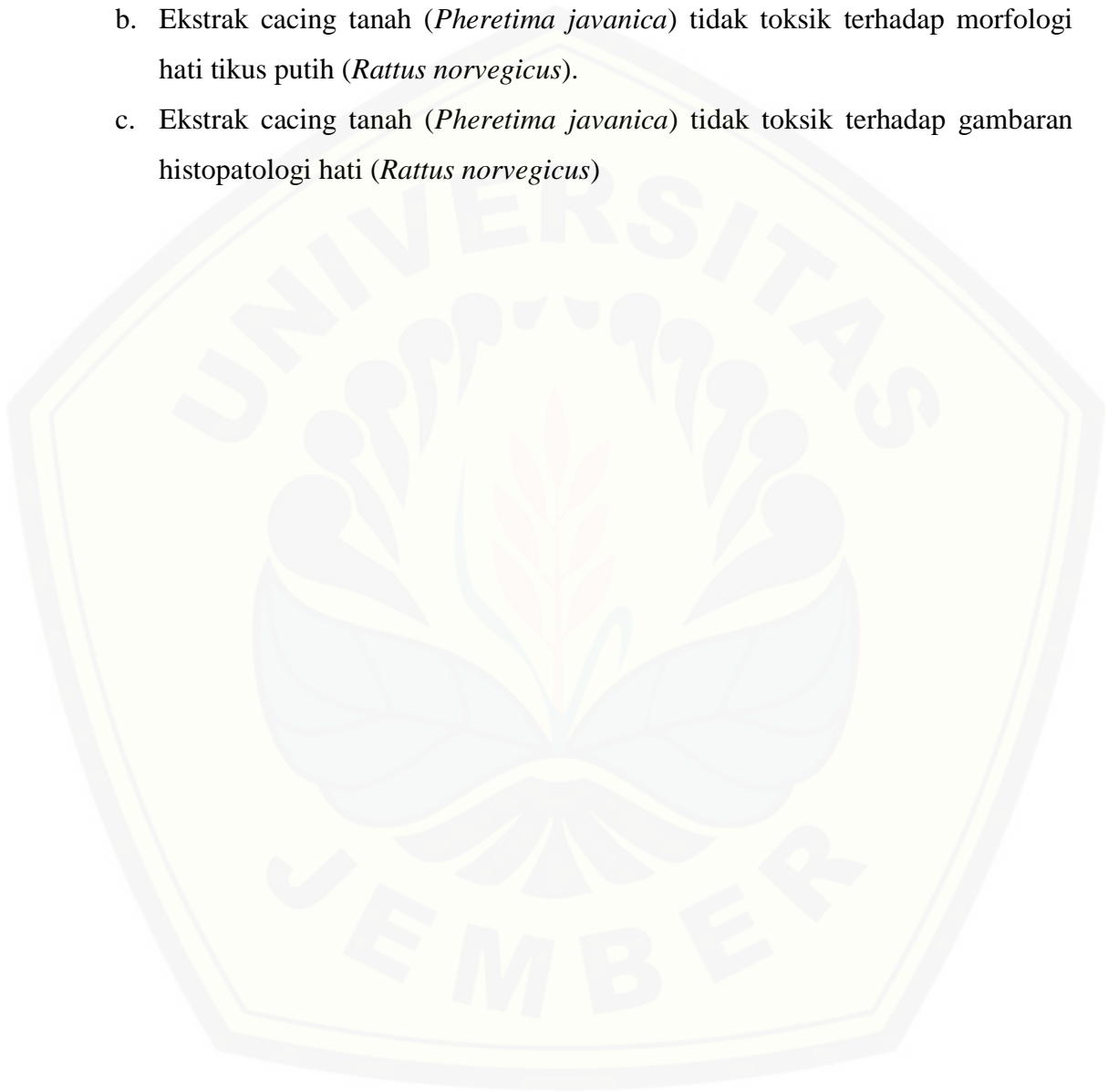


Gambar 2.8 Skema Kerangka Berpikir

2.6 Hipotesis

Hipotesis dari penelitian ini adalah sebagai berikut:

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



BAB 3. METODE PENELITIAN

3.1 Jenis Penelitian

Penelitian ini merupakan penelitian eksperimental laboratoris. Hal ini dikarenakan perlakuan dan lokasi penelitian bertempat di laboratorium. Rancangan percobaan yang digunakan adalah Rancangan Acak Lengkap (RAL).

3.2 Tempat dan Waktu Penelitian

Penelitian ini dilaksanakan di Laboratorium Biomedik Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Jember, Laboratorium Histologi SMK Analis TPA Jember dan Laboratorium Biologi Program Studi Pendidikan Biologi Universitas Jember. Penelitian ini dilakukan pada tanggal 27 Oktober tahun 2018 sampai tanggal 26 Januari tahun 2019.

3.3 Identifikasi Variabel Penelitian

3.3.1 Variabel Bebas

Variabel bebas adalah variabel yang mempengaruhi atau yang menyebabkan terjadinya perubahan atau timbulnya variabel terikat. Variabel bebas dalam penelitian ini yaitu dosis ekstrak cacing tanah (*Pheretima javanica*).

3.3.2 Variabel Terikat

Variabel terikat juga disebut sebagai variabel tergantung atau variabel dependen, variabel terikat adalah variabel yang dapat dipengaruhi atau menjadi akibat karena adanya variabel bebas. Variabel terikat dalam penelitian ini yaitu perubahan faal, morfologi dan histopatologi hati tikus putih (*Rattus norvegicus*) akibat pemberian ekstrak cacing tanah (*Pheretima javanica*).

3.3.3 Variabel Kontrol

Variabel kontrol adalah variabel yang dikendalikan sehingga keterkaitan dari variabel bebas dan variabel terikat tidak dipengaruhi oleh faktor dari luar yang tidak ikut diteliti.

Variabel kontrol dalam penelitian ini adalah:

- a. Umur hewan coba yang digunakan 3-4 bulan;
- b. Berat badan hewan coba 200–250 gram;
- c. Jenisnya adalah tikus putih (*Rattus norvegicus*) strain wistar;
- d. Jenis kelamin hewan coba adalah jantan;
- e. Hewan coba dalam keadaan sehat;
- f. Waktu penelitian 28 hari induksi kelompok kontrol dan perlakuan ditambah 14 hari pengamatan kelompok satelit.
- g. Pelarut ekstrak adalah etanol 70%.

3.4 Alat dan Bahan Penelitian

3.4.1 Alat Penelitian

Alat yang digunakan dalam penelitian ini antara lain: rotary evaporator, oven, kandang tikus, sonde lambung, squid, neraca analitik, kain saring, kain kasa, tempat makan tikus, tempat minum tikus, blender, nampan, ayakan, *autoclave*, gelas ukur, pipet volume, mikropipet, mikrotom, corong, bunsen, inkubator, gunting bedah, vortex, botol vial, papan bedah, alat bedah, gelas objek, gelas penutup, kertas label, mikroskop, meja kaki 3, pinset, kawat kasa, *water bath*, lampu bunsen dan kamera digital.

3.4.2 Bahan Penelitian

Bahan yang digunakan dalam penelitian ini antara lain: cacing tanah (*Pheretima javanica*), tikus putih jantan (*Rattus norvegicus*) strain wistar, pakan/pellet, aquades, *chloroform*, lateks, silika gel, aluminium foil, larutan bouin, alkohol 50%, 70%, 80% dan 95%, xylol, parafin, pewarna hematoxylin, pewarna eosin, entelan, eter dan NaCl fisiologis 0,09 %.

3.5 Kriteria jumlah dan Pemilihan Sampel

3.5.1 Kriteria sampel

Kriteria tikus putih (*Rattus norvegicus*) yang digunakan yaitu tikus putih (*Rattus norvegicus*) strain *wistar* dengan jenis kelamin jantan yang sehat, berat badan 200-250 gram dan berumur 3-4 bulan.

3.5.2 Jumlah sampel

Jumlah total sampel yang digunakan adalah 24 ekor tikus putih. Pengulangan dilakukan sebanyak 4 kali. Penentuan jumlah sampel minimal dengan menggunakan rumus besar sampel eksperimental dari Federer (1995), yakni $(t-1)(r-1) \geq 15$, dimana t adalah jumlah perlakuan dan r adalah jumlah hewan coba tiap kelompok perlakuan. Dalam penelitian ini menggunakan 3 kelompok perlakuan, 1 kelompok kontrol, 2 kelompok satelit sehingga $t=6$, maka:

$$\begin{aligned}(t-1)(r-1) &\geq 15 \\(6-1)(r-1) &\geq 15 \\5(r-1) &\geq 15 \\r-1 &\geq 3 \\R &\geq 4\end{aligned}$$

Jumlah tikus yang digunakan sebanyak 4 ekor untuk masing-masing kelompok penelitian (3 kelompok perlakuan, 1 kelompok kontrol dan 2 satelit), dengan 4 kali ulangan dimana setiap perlakuan terdapat 4 ekor tikus putih jantan, sehingga sampel yang digunakan dalam penelitian ini berjumlah total 24 ekor tikus putih (*Rattus norvegicus*).

3.5.3 Pemilihan sampel

Pemilihan sampel, sebelum digunakan dalam penelitian sebanyak 24 ekor tikus putih (*Rattus norvegicus*) sudah diaklimatisasi terlebih dahulu. Selama pemeliharaan tikus diberi makan dan minum. Cara untuk menghindari bias terhadap beratbadan pada tikus maka dilakukan penimbangan tikus putih (*Rattus*

norvegicus) sebelum mendapat perlakuan. Selanjutnya dibagi menjadi 6 kelompok secara acak, masing-masing terdiri dari 4 ekor jantan.

3.6 Definisi Operasional

Definisi operasional digunakan untuk menjelaskan gambaran mengenai judul dalam penelitian. Berikut rincian dari definisi operasional penelitian:

- a. Toksisitas subakut adalah uji yang dilakukan pada hewan coba dengan memberikan ekstrak cacing tanah (*Pheretima javanica*) sebanyak satu kali sehari, atau minimal 5 kali dalam 1 minggu selama 28 hari (BPOM, 2014).
- b. Tikus putih (*Rattus norvegicus*) yang digunakan adalah jenis strain wistar dengan ciri-ciri sehat, mata merah, usia 3-4 bulan.
- c. Ekstrak cacing tanah (*Pheretima javanica*) yaitu cacing tanah yang sudah dijemur dibawah sinar matahari, kemudian dikeringkan dengan suhu 40°C di oven selama 4 jam yang selanjutnya dijadikan ekstrak dengan rotary evaporasi. Setelah melalui rotary evaporasi, ekstrak dijadikan pasta dengan diletakkan dalam loyang dan dioven dengan suhu 40⁰ selama +/- 3 hari hingga menjadi pasta.
- d. Morfologi hati normal ditandai dengan ciri-ciri berwarna merah kecoklatan dan berat relatif organ tergolong normal, berat organ hati tikus putih antara 5-6 gram (NCBI).
- e. Histopatologi hati dilakukan untuk menggambarkan evaluasi dari pola jaringan dan gambaran kerusakan serta perubahan yang ditimbulkan akibat pemberian ekstrak cacing tanah (*Pheretima javanica*) selama 28 hari pada organ hati. Pada penelitian histopatologi hati yang diamati yaitu adanya kerusakan atau perubahan berupa degenerasi (degenerasi hidrofik dan degenerasi melemap) dan nekrosis.
- f. Pemeriksaan *Serum Glutamic Oxaloacetic Transaminase* (SGOT) dan *Serum Glutamic Piruvic Transaminase* (SGPT) yang merupakan enzim yang terdapat di dalam hati yang digunakan untuk mengetahui adanya suatu *acute hepato cellular*. SGOT dan SGPT merupakan enzim yang lebih dulu keluar ke dalam darah sehingga digunakan sebagai indikasi kerusakan hati. Pengukuran kadar

SGOT dan SGPT menggunakan serum dari darah hewan coba yang ditambahkan dengan reagen SGOT dan SGPT serta diperiksa dengan menggunakan alat fotometer sinositik, yang nantinya dapat dilihat hasilnya dengan nilai normal SGOT pada tikus putih (*Rattus norvegicus*) sebesar 41-115 μ /L dan nilai normal SGPT sebesar 20-81 μ /L. Pemeriksaan ini dilakukan diawal sebelum perlakuan dan diakhir setelah dilakukannya perlakuan untuk selanjutnya dibandingkan kadarnya.

3.7 Desain penelitian

Penelitian ini menggunakan rancangan acak lengkap adapun rinciannya adalah sebagai berikut:

Tabel 3.1 Rancangan Penelitian

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

- K(-) : Kontrol negatif dengan induksi aquades;
 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 kontrol dengan induksi aquades;
 S2 : Satelit perlakuan dengan dosis 1000mg/KgBB);
 U : Ulangan.

3.8 Prosedur Penelitian

Penelitian ini dilakukan dalam beberapa tahapan yaitu pembuatan ekstrak cacing tanah, pembagian kelompok kontrol dan kelompok perlakuan, pengujian tikus putih dengan pemberian ekstrak cacing tanah selama 28 hari, dan pengamatan terhadap faal hati serta histopatologi hati.

3.8.1. Persiapan pembuatan ekstrak cacing tanah (*Pheretima javanica*)

Pembuatan ekstrak cacing tanah (*Pheretima javanica*), pertama cacing tanah (*Pheretima javanica*) yang telah didapat dikeringkan selama 3-7 hari dibawah sinar matahari, kemudian cacing tanah yang telah benar-benar kering dioven dengan suhu 40°C selama 4 jam. Tahap selanjutnya cacing tanah (*Pheretima javanica*) yang telah dioven diblender hingga menjadi bubuk halus, berikutnya dilakukan maserasi selama 3 hari dengan perbandingan ekstrak cacing dengan etanol 70% ialah 1:3. Setelah 3 hari dilakukan penyaringan, tahap selanjutnya dirotary evaporasi. Hasil ekstrak rotary evaporasi yang didapat kemudian dioven agar menjadi ekstrak berbentuk pasta dengan suhu 40°C. Ekstrak ditimbang dengan 3 variasi dosis yakni 50 mg/KgBB, 500 mg/KgBB dan 1000 mg/KgBB.

3.8.2 Tahap pengujian tikus putih (*Rattus norvegicus*).

a. Tahap persiapan

Tikus putih (*Rattus norvegicus*) yang telah memenuhi criteria sampel ditempatkan didalam kandang. Sebelum perlakuan hewan coba diaklimatisasikan selama +/-7 hari. Hal ini bertujuan untuk mengamati keadaan awal tikus putih (*Rattus norvegicus*) sebelum dilakukan perlakuan, untuk kemudian ditempatkan pada masing-masing kandang secara acak.

b. Pemeliharaan dan perawatan

Pemeliharaan dan perawatan dilakukan di Laboratorium Biomedik Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Jember. Hewan coba dipelihara dalam kandang khusus dengan mengganti sekam selama 3 hari sekali. Tujuannya untuk menjaga kesehatan hewan coba. Selama diaklimatisasi, hewan coba diberi makan dan minum sesuai takaran.

c. Pengambilan darah dan pemeriksaan biokimia klinis

Pengambilan darah dilakukan setelah diberikan perlakuan, yakni pada hari ke-29 untuk melihat ada tidaknya efek toksik dari ekstrak cacing tanah (*Pheretima javanica*) setelah dilakukannya perlakuan. Sedangkan kelompok satelit tetap dipelihara sampai 14 hari setelah 28 hari perlakuan, yaitu pada hari ke-43

kelompok satelit diambil darah untuk melihat *reversibilitas*. Pengambilan darah ini dilakukan melalui *plexus orbitals* pada mata. Darah yang diambil ± 2 ml dengan menggunakan hematokrit. Pengambilan darah Pemeriksaan biokimia klinis dilakukan di laboratorium klinik Piramida Jember. Parameter yang diperiksa yaitu kadar enzim SGOT dan SGPT.

d. Dosis yang digunakan dalam penelitian

Batas dosis minimum yang digunakan dalam penelitian berdasarkan uji toksisitas akut sebesar 50mg/KgBB, sedangkan batas uji maksimum yang digunakan sebesar 1000mg/KgBB berdasarkan ketentuan dalam BPOM tahun 2014 mengenai pedoman uji toksisitas non klinik secara *in Vivo*. Variasi dosis digunakan dalam penelitian ini yaitu 50;500;1000 mg/KgBB.

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

Pemberian ekstrak cacing tanah (*Pheretima javanica*) diberikan secara oral kepada tikus putih (*Rattus norvegicus*) setiap hari atau minimal 5 hari dalam 1 minggu selama 28 hari, sedangkan kelompok satelit tetap dipelihara sampai 14 hari setelah 28 hari perlakuan untuk melihat *reversibilitas* (BPOM, 2014).

f. Penimbangan Organ

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

Berat relatif organ: $\frac{\text{Berat organ absolut}}{\text{Berat badan}}$ (Wahyuni *et al.*, 2017).

3.8.3 Pembuatan Preparat Histopatologi Hati

Pembuatan preparat hati dilakukan dengan langkah-langkah sebagai berikut :

- Tikus putih (*Rattus norvegicus*) yang telah diberikan perlakuan selama 28 hari, kemudian dibedah pada hari ke-29.
- Capturing* (Pengambilan hati), mengambil hati dari tikus putih yang telah dibedah, kemudian memotong dan dilanjutkan dengan mencuci dengan larutan NaCl 0,9 %.

- c. Fiksasi, hati yang telah dicuci menggunakan garam fisiologis kemudian difiksasi menggunakan alkohol. Tujuan dari fiksasi diantaranya untuk mempertahankan susunan jaringan agar mendekati kondisi jaringan sewaktu hidup dan menghambat pembusukan.
- d. Dehidrasi, proses dehidrasi dijalankan secara perlahan-lahan menggunakan alkohol bertingkat, dimulai dengan alkohol presentase rendah sampai dengan alkohol absolut, dalam hal ini secara berturut-turut dimulai dengan alkohol 50%, 70%, 80%, 95% dan alkohol absolut. Tujuan dehidrasi adalah agar seluruh ruang-ruang antar sel dalam jaringan dapat diisi dengan molekul parafin. Dehidrasi dilakukan menggunakan alkohol bertingkat dari presentase rendah ke tinggi, hal ini dilakukan untuk menjaga jaringan sehingga tidak rusak akibat perubahan konsentrasi drastis secara tiba-tiba.
- e. *Clearing*, proses pertama siapkan 2 wadah masing-masing berisi larutan *chloroform* dengan label *clearing 1* dan *clearing 2*. Kemudian ambil jaringan dari proses akhir dehidrasi dengan menggunakan pinset. Lalu masukkan ke dalam wadah *clearing 1* selama 30 menit, ambil jaringan dari wadah *clearing 1* dan masukkan ke wadah *clearing 2* selama 30 menit. Tujuan dari proses *clearing* adalah agar jaringan dapat dimasukkan ke dalam parafin. Proses pengeluaran alkohol dari jaringan ini sangat krusial karena jika di dalam jaringan masih tertinggal sedikit alkohol maka parafin tidak bisa masuk ke dalam jaringan sehingga jaringan menjadi matang di luar namun mentah di dalam dan menyebabkan jaringan menjadi sulit dipotong menggunakan mikrotom.
- f. Impregnasi, pertama mengambil jaringan dari proses akhir *clearing*, masukkan jaringan ke dalam wadah yang berisi parafin yang sudah mencair, kemudian masukkan ke dalam inkubator dengan suhu 56⁰C-59⁰C selama 2 jam. Tujuan dari proses impregnasi adalah agar jaringan benar-benar bebas dari cairan pembening karena sisa cairan pembening dapat mengkristal dan sewaktu dipotong dengan mikrotom akan menyebabkan jaringan menjadi mudah robek.
- g. *Blocking*, proses ini diawali dengan menuang sedikit cairan parafin ke dalam cetakan, secepatnya masukkan jaringan dengan menggunakan pinset yang

telah dipanaskan (agar parafin tidak membeku) dan atur posisinya dalam cetakan, tuangkan kembali parafin cair sehingga menutupi seluruh cetakan. Tujuan dari proses blocking untuk mempermudah saat proses pemotongan menggunakan microtome.

- h. *Sectioning* (pengirisan), proses ini merupakan tahap pengirisan dari blok parafin. Langkah kerja pertama rekatkan blok parafin yang mengandung preparat pada tempat duduknya di microtom. Tempat duduk blok parafin beserta blok parafin kemudian diletakkan pada pemegangnya (*holder*) pada microtom dan kunci dengan kuat. Atur ketebalan potongan antara 5-7 mikrometer. Gerakkan blok preparat kearah pisau sedekat mungkin dan memotong blok preparat secara ritmis. Memindahkan pita parafin yang mengandung jaringan menggunakan kuas ke dalam *waterbath* dengan temperatur 37⁰C-40⁰C dan dibiarkan beberapa saat hingga pita parafin tersebut mengembang. Kemudian menempelkan pita parafin pada gelas objek yang telah dicoated dengan cara memasukkan gelas objek pada water bath dan menggerakkannya pada pita parafin. Setelah itu menempelkan pita parafin pada gelas objek menggunakan kuas. Setelah melekat kemudian mengeluarkan gelas objek dari waterbath dengan hati-hati agar pita parafin tidak melipat dan setelah pita parafin melekat kuat, pita parafin dapat memasuki proses selanjutnya yakni proses pewarnaan (*Staining*).
- i. *Staining* (Pewarnaan), menggunakan Hematoksilin Eosin (HE)

Tabel 3.2 Tahap Pewarnaan

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 HE	15 Menit
9.	Larutan Eosin	15 Menit
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.

- j. *Labelling*, preparat diberi label sesuai dengan identitas preparat kemudian ditempelkan pada kaca benda (Widayat, 2017).
- k. Pengamatan Histopatologi, pengamatan histopatologi hati dilakukan setelah satu hari pembuatan preparat. Preparat histopatologi diamati dibawah mikroskop cahaya dengan perbesaran 400x.

3.9 Analisis Data

3.9.1 Analisis Data Gejala Toksisitas

Hasil pengamatan gejala toksisitas dianalisis menggunakan analisis deskriptif untuk menentukan ada tidaknya gejala toksik yang dialami tikus selama pengamatan. Pengamatan gejala toksisitas dilakukan setiap hari, yakni selama 28 hari kelompok kontrol dan perlakuan serta 42 hari kelompok satelit. Pengamatan yang dilakukan berupa pengamatan fisik dan pola aktivitas. Tanda-tanda toksik yang diamati dapat dilihat pada Tabel 3.3

Tabel 3.3 Penilaian gejala toksik pada tikus

No	Kategori	Parameter
1	Tidak ada indikasi sakit dan stress	Keadaan rambut baik (tidak kusam dan tidak berdiri), peka terhadap rangsang, kondisi baik (tenang), nafsu makan normal dan nilai kondisi tubuh 3, 4 atau 5
2	Sakit dan stress ringan	Rambut kusam dan berdiri, jalannya lambat dengan posisi tubuh sedikit membungkuk, terdapat luka, gelisah dan nilai kondisi tubuh 2
3	Sakit dan stress sedang	Rambut kusam dan berdiri, mata meyipit, berjalan membungkuk dan atau lambat, agresif dan terlihat tidak nyaman, tidak nafsu makan dan nilai skor kondisi tubuh 2
4	Sakit dan stress parah	Rambut kusam dan berdiri, mata cekung (menunjukkan tanda dehidrasi), bergerak lambat atau tidak merespon ketika dielus, membungkuk dan nilai kondisi tubuh 1

(Sumber: Burkholder *et al.*, 2012)

Skor kondisi tubuh merupakan penilaian yang cepat, mudah, dan memiliki hubungan dengan kondisi kesehatan tikus, total terdapat 5 kategori dengan tiap ciri-ciri yang ditunjukkan oleh tikus.

Tabel 3.4 Kondisi tubuh tikus

Skor	Ciri-ciri
1	Kurus, struktur tulang menonjol secara ekstrem, 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)

3.9.2 Analisis Data SGOT dan SGPT

Pengambilan sampel darah untuk uji bioklinis dilakukan setelah induksi, yakni pada hari ke-29 untuk kelompok perlakuan dan hari ke-43 untuk kelompok satelit. Pemeriksaan parameter biokimia dalam penelitian terdapat uji bioklinis SGOT dan SGPT. Nilai SGOT dan SGPT yang diperoleh kemudian dikonversi kedalam grafik regresi linier untuk mengetahui besarnya pengaruh variasi dosis terhadap kadar SGOT dan SGPT.

3.9.3 Analisis Pengamatan Makroskopis

Terdapat dua indikator pengamatan makroskopis organ hati, yaitu sebagai berikut :

a. Pengukuran berat relatif organ tikus putih (*Rattus norvegicus*)

Hasil pengukuran berat relatif organ hati tikus putih (*Rattus norvegicus*) dianalisis statistik *SPSS* menggunakan analisis *One Way ANOVA* untuk mengetahui ada tidaknya pengaruh ekstrak cacing tanah (*Pheretima javanica*) terhadap berat relatif organ hati tikus putih (*Rattus norvegicus*). Jika terdapat hasil berbeda nyata atau berpengaruh secara signifikan maka dilakukan uji lanjut menggunakan uji lanjut menggunakan *Duncan*.

b. Pengamatan warna organ hati tikus putih (*Rattus norvegicus*).

Pengamatan morfologi berupa warna organ hati tikus putih (*Rattus norvegicus*), hati yang sehat berwarna merah kecoklatan, hasil pengamatan dianalisis menggunakan analisis deskriptif untuk mengetahui ada tidaknya tanda-tanda senyawa toksik yang mengakibatkan warna hati tidak normal.

3.9.4 Analisis Data Histopatologi

Skor perhitungan lapang pandang terbagi menjadi 3, Skor 1 untuk kerusakan kurang dari 30%, skor 2 untuk kerusakan 30 sampai 50% dan skor 3 untuk kerusakan diatas 50% sel dalam setiap lapang pandang. Persentase kerusakan sel dapat dihitung menggunakan rumus $\frac{\text{Jumlah sel rusak}}{\text{Jumlah sel keseluruhan}} \times 100\%$ (Januar *et al.*, 2014).

Hasil pengamatan skor perhitungan lapang pandang dianalisis dengan aplikasi

SPSS menggunakan analisis Kruskal-Wallis untuk mengetahui ada atau tidaknya efek toksik cacing tanah (*Pheretima javanica*) terhadap gambaran histopatologi hati tikus putih (*Rattus norvegicus*).

Tabel 3.5 Skor derajat histopatologi hati

Skor	Tingkat Perubahan
0	Tidak terjadi perubahan histologi pada organ hati
1	Perubahan tingkat ringan, jika terjadi perubahan histopatologi kurang dari 30% lapang pandang
2	Perubahan tingkat sedang, jika terjadi perubahan histopatologi 30 sampai 50% lapang pandang
3	Perubahan tingkat berat, jika terjadi perubahan histopatologi lebih dari 50% lapang pandang

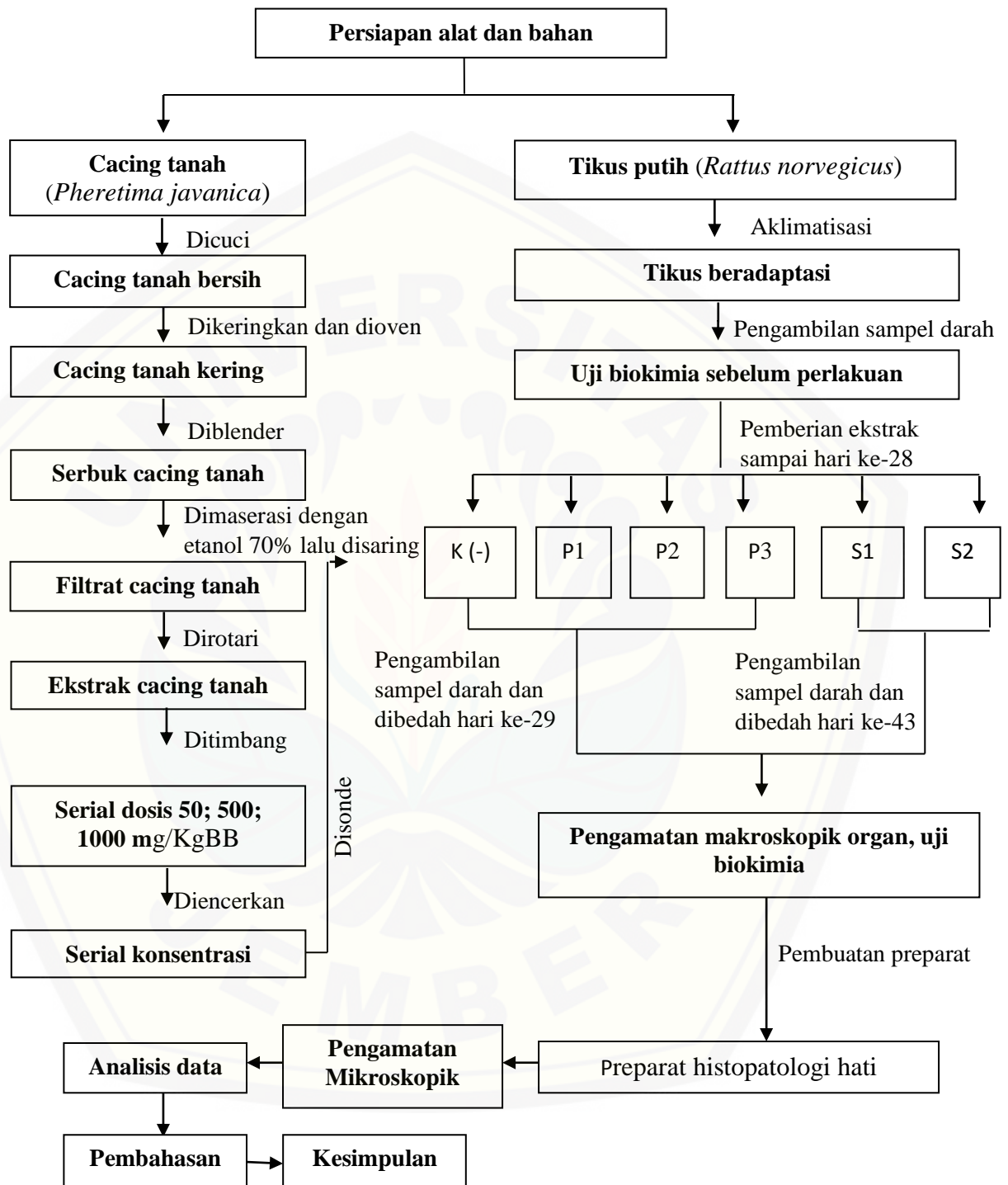
(Sumber: Arshad *et al.*, 2014)

Tabel 3.6 Parameter Histopatologi Hati

Organ	Perubahan histopatologi
Hati	Normal
	Degenerasi hidrofik
	Degenerasi melemak
	Nekrosis

(Sumber: Insani *et al.*, 2015)

3.10 Alur Penelitian



Gambar 3.1 Skema Alur Penelitian

BAB 5. PENUTUP

5.1 Kesimpulan

- a. Ekstrak cacing tanah (*Pheretima javanica*) tidak toksik terhadap faal tikus putih (*Rattus norvegicus*). Menurut literatur indikasi terjadinya kelainan adalah adanya peningkatan nilai SGOT dan SGPT sebesar 2-3 kali lipat dari nilai normal.
- b. Ekstrak cacing tanah (*Pheretima javanica*) tidak toksik terhadap morfologi hati. Hal ini dapat dilihat melalui morfologi hati kelompok kontrol maupun kelompok perlakuan bahwa hati berwarna merah kecoklatan sesuai dengan literatur, kemudian analisis berat relatif organ hati menunjukkan nilai probabilitas $p > 0,01$ dengan nilai signifikansi sebesar 0,202 yang berarti ekstrak cacing tanah (*Pheretima javanica*) berpengaruh secara tidak signifikan terhadap berat relatif organ hati tikus putih (*Rattus norvegicus*).
- c. Ekstrak cacing tanah (*Pheretima javanica*) tidak toksik terhadap gambaran histopatologi hati tikus putih (*Rattus norvegicus*). Hasil analisis degenerasi hidrofik menunjukkan nilai probabilitas $p > 0,01$ dengan nilai signifikansi sebesar 0,654 yang berarti pemberian ekstrak cacing tanah (*Pheretima javanica*) dengan berbagai variasi dosis berpengaruh secara tidak signifikan terhadap histopatologi hati tikus putih (*Rattus norvegicus*). Sel dikatakan rusak jika sudah terjadi jejas *irreversibel* berupa nekrosis (kematian sel). Data yang didapat menunjukkan jika histopatologi hati hanya terjadi jejas *reversibel* yaitu degenerasi hidrofik, tidak ditemukan degenerasi melemak dan nekrosis.

5.2 Saran

- a. Perlu dilakukan penelitian lebih lanjut mengenai ekstrak cacing tanah (*Pheretima javanica*) berupa uji klinik fase 1 untuk mengetahui keamanan ekstrak cacing tanah (*Pheretima javanica*).
- b. Pengujian faal hati berupa uji bioklinis SGOT dan SGPT sebaiknya minimal terdapat 3 kali ulangan agar dapat dianalisis menggunakan SPSS.

- c. Perlu dilakukan karakterisasi lebih lanjut mengenai senyawa antibakteri yang dihasilkan cacing tanah (*Pheretima javanica*) dan perlunya pemberian nama senyawa antibakteri tersebut.



DAFTAR PUSTAKA

- Al-Lawati, A., Crouch, N and Elhag. 2000. Antibiotic consumption and the development of resistance among Gram-negative bacilli in intensive care units in Oman. *Annals of Saudi medicine*. 20:325.
- Arshad, S., Esa, N and Hamzah. 2014. Histopathologic Changes in Liver and Kidney Tissues from Male Sprague Dawley Rats Treated with *Rhaphidophira Decursiva* (Roxb.). Schott Extract. *Journal of cytology and Histology*.1:1-6.
- Ashoka, V., Aruna chalam, K., Narasimha., Jayaveera., Varadharajan dan Banu. 2012. Hepatoprotective activity of methalonic extract of *Ecrobolium viride* (FOR SSK) alston roots against carbon tetrachloride induce hepatocyt. *IRJP*. 3 (8).
- Burkholder, T., Foltz1, C., Karlsson, E., Linton, C and Smith, M. 2013. Health Evaluation of Experimental Laboratory Mice. *Curr Protoc Mouse Biol*. doi:10.1002/9780470942390.mo110217.
- Candra, Agung dan Adi. 2013. Aktivitas Hepatoprotektor Temulawak pada Ayam yang Diinduksi Pemberian Parasetamol. *Jurnal Penelitian Pertanian Terapan*.vol 13 (2).
- Cho, J., Yoon, Y , Park C dan Kim, S. 1998. *Lumbricin I*, a novel proline-rich antimicrobial peptide from the earthworm: Purification, cDNA cloning and molecular characterization. *Biochimica et Biophysica Acta*. (1):67-76 .
- Depkes RI. 2003. *Buku Pedoman Tata Laksana Balita Gizi Buruk*. Jakarta: Dirjen Bina Kesehatan Masyarakat.
- Dondin, S.2005. *Efek Antipeuritik Cacing Tanah*. Bandung: FMIPAITSB.
- Ebere, A.G dan Akintonwa, A. 1995. Acute toxicity studies with earthworms, *Lumbricus terrestris*. *Bulletin of Environmental Contamination and Toxicology*. 55 (5).
- Erviani, A. 2013. Analisis Multidrug Resistensi Terhadap Antibiotik Pada *Salmonella typhi* Dengan Teknik Multiplex PCR. *Jurnal Ilmiah Biogenesis*. 1 (1).

- Fitmawati., Titrawani dan Safitri, W. 2018. Struktur Histologi hati Tikus Putih (*Rattus norvegicus* B. Berkenhout 1769) dengan Pemberian Ramuan Tradisional Masyarakat Melayu Lingga, Kepulauan Riau. *Jurnal Penelitian Botani, Zoologi dan Mikrobiologi*. 4 (1).
- Fortes, R, C. 2017. Nutritional Implications in Chronic Liver Diseases. *Journal of Liver Research, Disorders & Therapy*. 3(5). 00071. DOI: 10. 15406/ jlrtd. 2017.03.0007.
- Firdauzi, A. 2018. Toksisitas Sub Akut Serbuk Cacing Tanah (*Pheretima javanica* K.) Kering Terhadap Gambaran Histopatologi Hati Tikus Putih (*Rattus norvegicus*). *Skripsi*. Fakultas Keguruan dan Ilmu Pendidikan Universitas Jember.
- Gibson, J. 2003. *Fisiologi dan Anatomi Modern*. Jakarta: EGC.
- Guyton, A. Cand Hall, J.E. 2011. *Buku Ajar fisiologi Kedokteran*. Jakarta: Penerbit Buku Kedokteran EGC.
- Hickman, C. P., Larry S., Susan L., Allan L dan Hellen. 2007. *Intragated Priciples Zoology*. Saint Louis: C.V Mosby.
- Hodgson, E. 2010. *A Text Book of Modern Toxicology (fourth edition)*. Canada: A John Wiley & Sons, INC.Publication
- Ibrahim, Susania. 2016. Pengaruh Pemberian Berulang Ekstrak Etanol Kacang Koro Benguk (*Mucuna pruriens* (L.) DC.) Terhadap Darah/Hematologi Tikus Putih Galur Wistar. *Jurnal Farmako Bahari*. 7 (1).
- Ihedioha., Ugwuja., Noel., Udeani., dan Daniel. 2012. Reference Values for the Haematology Profile of Conventional Grade Outbred Albino Mice (*Mus musculus*) in Nsukka, Eastern Nigeria. *ARI*. 9 (2).
- Insani, A., Samsuri dan Berata, K. 2015. Gambaran Histopatologi Hati Tikus Putih yang diberikan Deksametason dan Vitamin E. *Indonesia Medicus Veterinus*. 4 (3).
- ITIS. 2018. *Integrated Taxonomic Information System*. https://itis.gov/servlet/SingleRpt/SingleRpt?search_topic=TSN&search_value=180363#null[1 November 2018].

- Jagadishkumar, K., Jain, P dan Manjunath. 2012. Hepatic Involvement in Dengue Fever in Children. *Iran J Pediatry*. 22 (2).
- Jannah, J. 2017. Toksisitas Akut Serbuk Cacing Tanah (*Pheretima javanica* K.) Kering Terhadap Gambaran Histopatologi Hati Tikus Putih (*Rattus norvegicus*) dan Pemanfaatannya Sebagai Poster. *Skripsi*. Fakultas Keguruan dan Ilmu Pendidikan Universitas Jember. Jember: Universitas Jember.
- Januar, R., Yusfiati dan Fitmawati. 2014. Struktur Mikroskopis Hati Tikus Putih (*rattus novergicus*) Akibat Pemberian Ekstrak Tanaman (*Tristaniopsis whiteana* Griff). *JOM FMIPA*. 1 (2).
- Jothy, L., Subramanion., Zakaria, Zuraini., Lau, L. 2011. Acute Oral Toxicity of Methanolic Seed Extract of Cassia fistula in Mice. *Molecules*. 16, 5268-5282., ISSN 1420-3049.
- Jubaidah, S., Indiani, R, Sa'adah, H dan Wijaya, H. 2018. Formulasi dan Uji Pertumbuhan Rambut Kelinci dari Sediaan *Hair Tonic* Kombinasi Ekstrak Daun Seledri (*Apium graveolens* Linn) dan Daun Mangkokan (*Polyscias scutellaria* (burm.f.) fosberg). *Jurnal Ilmiah Manuntung*. 4 (1).
- Kanter, R., Monshouwers, M., Meijer, D dan Groothuis, G. 2002. Precision-Cut Organ Slices as a Tool to Study Toxicity and Metabolism of Xenobiotics with Special Reference to Non-Hepatic Tissues. *Current Drug Metabolism*. 3 (1).
- Kepala Badan Pengawasan Obat dan Makanan. 2014. *Persyaratan Uji Toksisitas Nonklinik Secara In Vivo*. Nomor 12 Tahun 2014.
- Kuncarli, I dan Djunarko, I. 2014. Uji Toksisitas Subkronis Infusa Daun Sirih Merah (*Piper crocatum* ruiz & pav) Pada Tikus: Studi Terhadap Gambaran Mikroskopis Jantung dan Kadar Sgot Darah. *Jurnal Farmasi Sains Dan Komunitas*. 11 (2).
- Lailatul, F., Diana L, Y. dan Mudjiwijono, H. 2015. Efek pemberian asam alfa lipoat terhadap kadar MDA dan gambaran histologi pada hati tikus model diabetes melitus tipe 1. *Jurnal Kedokteran Brawijaya*. 28 (3).
- Lestari, R., Wahidin dan Triyanti, Y. 2014. *Metode Ekstraksi dan Metode Isolasi*. Bandung: Politeknik Negeri Bandung.

- Liwandouw, J., Simbala, H dan Bodhi, W. 2017. Pengaruh Ekstrak Etanol Buah Pinang Yaki (*Arecavestiarina*) Terhadap Gambaran Makroskopis Organ Hati Pada Tikus Putih Jantan Galur Wistar (*Rattus norvegicus*). *Pharmacon Jurnal Ilmiah Farmasi*. 6(3).
- Mescher, A.2000. *Junquiera's Basic Histology Texts And Atlas 12th Ed.*New York:The Mc Graw-Hill Comp.
- Mitchell, R. N., Kumar, V., Abbas, A dan Fausto, N. 2008. *Buku Saku Dasar Patologis Penyakit*. Jakarta: EGC.
- Muller, P dan Dieterle, F. 2009. Tissue-specific, non-invasive toxicity biomarkers: translation from preclinical safety assessment to clinical safety monitoring. *Expert Opin. Drug Metab. Toxicol.* 5 (9).
- Mulyono, A., Ristiyanto dan Soesanti. 2009. Karakteristik Histopatologi Hepar Tikus Got ((*Rattus norvegicus*) Infektif (*Leptospira* sp.). *Jurnal Vektora*. 2(1).
- Museum of comparative zoology-Harvard University. 2018. Klasifikasi *Pheretimajavanica*.<http://mczbase.mcz.harvard.edu/name/Pheretima%20javanica>. [Diakses pada 30 November2018].
- Niederman, M. 2003. Appropriate use of antimicrobial agents: Challenges and strategies for improvement. *Crit Care Med*. 31(2):608-16.
- Niranjan, R. 2016.Liver. *Journal of Liver*. 5(3).DOI:10.4172/21670889.1000e112.
- Novyan, E., Lamin, S dan Patriot, I. 2016. Effect of giving mixed insecticide carbofuran on cow feces toward consumption rate and assimilation efficiency earth worms *pheretima javanica* gates. *Biological Research Journal*. 2(2).
- Oktarian, A., Budiman, H dan Aliza, D. 2017. Histopatologi Hati Tikus Putih (*Rattus novergicus*) yang Diinjeksi Formalin. *JIMVET*.1(3).
- Ozougwu, J. 2017. Physiology of the liver. *International Journal of Research in Pharmacyand Biosciences*. 4(8): 13-24.

- Palungkun, R. 2010. *Usaha ternak Cacing Tanah Lumbricus rubellus*. Jakarta: Penebar Swadaya.
- Piao, Y., Liu, Y dan Xie, X. 2013. Change Trends of Organ Weight Background Data in *Sprague Dawley* Rats at Different Ages. *J Toxicol Pathol*. 26 (1).
- Pratiwi, A dan Murbawani, E. 2015. Pengaruh Pemberian Formula Enteral Berbahan Dasar Labu Kuning (*Curcubita moschata*) Terhadap Albumin Serum pada tikus diabetes melitus. *Journal of Nutrition College*. 4 (2).
- Prioseoeryanto. 2001. Aktivitas Antibakteri dan Efek Terapeutik Ekstrak Cacing Tanah (*Lumbricus rubellus*) Secara Invitro dan Invivo Pada Mencit Berdasarkan Gambaran Patologi Anatomidan Histopatologi. Bogor: *Jurnal Balai Penelitian Veteriner (BALITVET)*.
- Putra, A., Bogoriani, N., Diantariani, P dan Sumadewi, N. 2014. Ekstraksi Zat Warna Alam dari Bonggol Tanaman Pisang (*Musa paradisiaca* L.) dengan Metode Maserasi, Refluks dan Sokletasi. *Jurnal Kimia*. 8(1).
- Qodriyati., Yaumil., Sulistyani dan Yuwono. 2016. Kadar Serum *Glutamic Oxaloacetic Transaminase* (SGOT) pada Tikus Wistar (*Rattus norvegicus*) jantan yang di peroleh dari Rasa Sakit Electrical Foot Shock selama 28 hari. *Jurnal Pustaka Kesehatan*. 4 (1).
- Rampengan, H. 2013. Antibiotic Terapi Demam Tifoid tanpa Komplikasi pada Anak. *Sari Pediatric*. 14(5): 271-276.
- Robbins, S., Cotran, R., dan Kumar, V. 2007. *Buku Ajar Patologi 1*. Jakarta: EGC.
- Rondonuwu, S., Suryanto, E dan Sudewi. Kandungan Total Fenolik dan Aktivitas Antioksidan dari Fraksi Pelarut Sagu Baruk (*Arenga microcharpa*). *Chem Prog*. 10(10).
- Sarjadi. 2003. *Patologi Umum Ed 2*. Semarang: Badan Penerbit Universitas Diponegoro.
- Sari, M., dan Lestari. 2014. Kepadatan dan Distribusi Cacing Tanah Di Areal *Arboretum Dipterocaeaceae* 1.5 Ha Fakultas Kehutanan Universitas Lancang Kuning Pekanbaru. *Lectura*. 5(1).

- Sellers, R., Morton, D., Michael, B., Roome, N., Johnson, J., Yano, B., Perry, R dan Schaffer, K. 2007. Society of Toxicologic Pathology Position Paper: Organ Weight Recommendation for Toxicology Studies. *Toxicologic Pathology*. 35: 751-755.
- Setiawati, A., Suyatna, F., Gan, S. 2007. *Pengantar Farmakologi*. Jakarta: Departemen Farmakologi dan Terapeutik Fakultas Kedokteran Universitas Indonesia.
- Setyarahma, A., Kartasurya, I dan Aruben, R. 2016. Hubungan Asupan Makanan Dengan Penambahan Berat Badan Pada Remaja Hamil Usia 15-19 Tahun (Studi pada Kelurahan Rowosari Kota Semarang. *Jurnal Kesehatan Masyarakat*. 4 (3).
- Sitepoe M. 1992. *Kolesterol Fobia*. Jakarta: Gramedia Pustaka Utama.
- Smith, J dan Mangkoewidjojo, S. 1998. *Pemeliharaan pembiakan dan Penggunaan Hewan percobaan di Daerah Tropis*. Jakarta: Universitas Indonesia Press.
- Spring. 1998. *Baseline Hematology and Clinical Chemistry Values for Charles River Wistar Rats as A Function of Sex and Age*. Technical Bulletin: Charles River Laboratories.
- Sudatri, N., Iriani, S., Ni Made, S., Dwi, A., 2016, Penurunan Fungsi Hati Tikus Betina (*Rattus norvegicus*) yang diinjeksi White Vitamin Dosis Tinggi dalam Jangka Waktu Lama ditinjau dari Kadar SGPT, SGOT, serta Gambaran Histologi Hati. *Jurnal Metamorfosa*. 3(1): 44 – 51.
- Sudarmadji, S., Haryono, B dan Suhardi. 1989. *Analisis untuk Bahan Makanan dan Pertanian*. Yogyakarta: Liberty.
- Sudiono, J., Kurniadhi, A., Hendrawan, dan Djimantoro, B. 2003. *Ilmu Patologi*. Jakarta: Kedokteran EGC.
- Suhita, N., Sudira, dan Winaya. 2013. Histopatologi Ginjal Tikus Putih Akibat Pemberian Ekstrak Pegagan (*Centella asiatica*) Peroral. *Jurna Veteriner Udayana*. 5(2): 77.

- Susanty dan Bachmid, F. 2016. Perbandingan Metode Ekstraksi Maserasi dan Refluks Terhadap Kadar Fenolik Dari Ekstrak Tongkol Jagung (*Zea mays* L.). *KONVERSI*. 5(2): 2252-7311.
- Tjokroprawiro, A. 2007. *Buku Ajar Ilmu Penyakit Dalam*. Surabaya: Airlangga University Press.
- Utomo, Y., A. Hidayat, M., Dafip, dan Sasi. 2012. Hati Mencit (*Mus musculus* L.) yang Diinduksi Pemanis Buatan. *Jurnal Mipa*. 35 (2).
- Wahyuni, F., Putri, I dan Arisanti, D. 2017. Uji Toksisitas Subkronis Fraksi Etil Asetat Kulit Buah Asam Kandis (*Garcinia cowa* Roxb.) terhadap Fungsi Hati dan Ginjal Mencit Putih Betina. *Jurnal Sains Farmasi & Klinis*. 3 (2).
- Waluyo, J. 2006. Karakterisasi Protein Antibakteri dari cacing tanah *Pheretima javanica*. *Jurnal Saintifika*. 7(2): 165-178.
- Waluyo, J. 2007. Purifikasi dan Karakterisasi Protein Antibakteri dari *Pheretima javanica*. *Jurnal ILMU DASAR*. 8(1): 37-44.
- Waluyo, J., Supriyanto., dan Slamet. 2010. *Deteksi, Isolasi dan Karakteristik Senyawa anti Bakteri Pheretima javanica* (Horts) sebagai Obat Tipus (*secara in vivo*). Penelitian Hibah Bersaing DP2M Dikti.
- Wang, X., X, Wang., Zhang dan Qu, X. 2003. An antimicrobial peptide of the earthworm *Pheretima tschiliensis*: cDNA cloning, expression and immunolocalization. *Biotechnology Letters*. 25(1):1317–1323.
- Westbrook, R., Dusheiko, G dan Williamson. 2016. Pregnancy and Liver Disease. *Journal of Hepatology*. 64:933-945.
- Widayat, D. 2017. *Histologi*. Jakarta: EGC.
- Yuslinda, E., Hasti, S dan Wati, E. 2011. Efek Anti Inflamasi Fraksi Heksan dan Fraksi Etil Asetat Daun Alpokat (*Persea americana* Mill.) Pada Tikus (*Rattus norvegicus*) Putih Jantan. *Jurnal Sains dan Teknologi Farmasi*. 16(2).

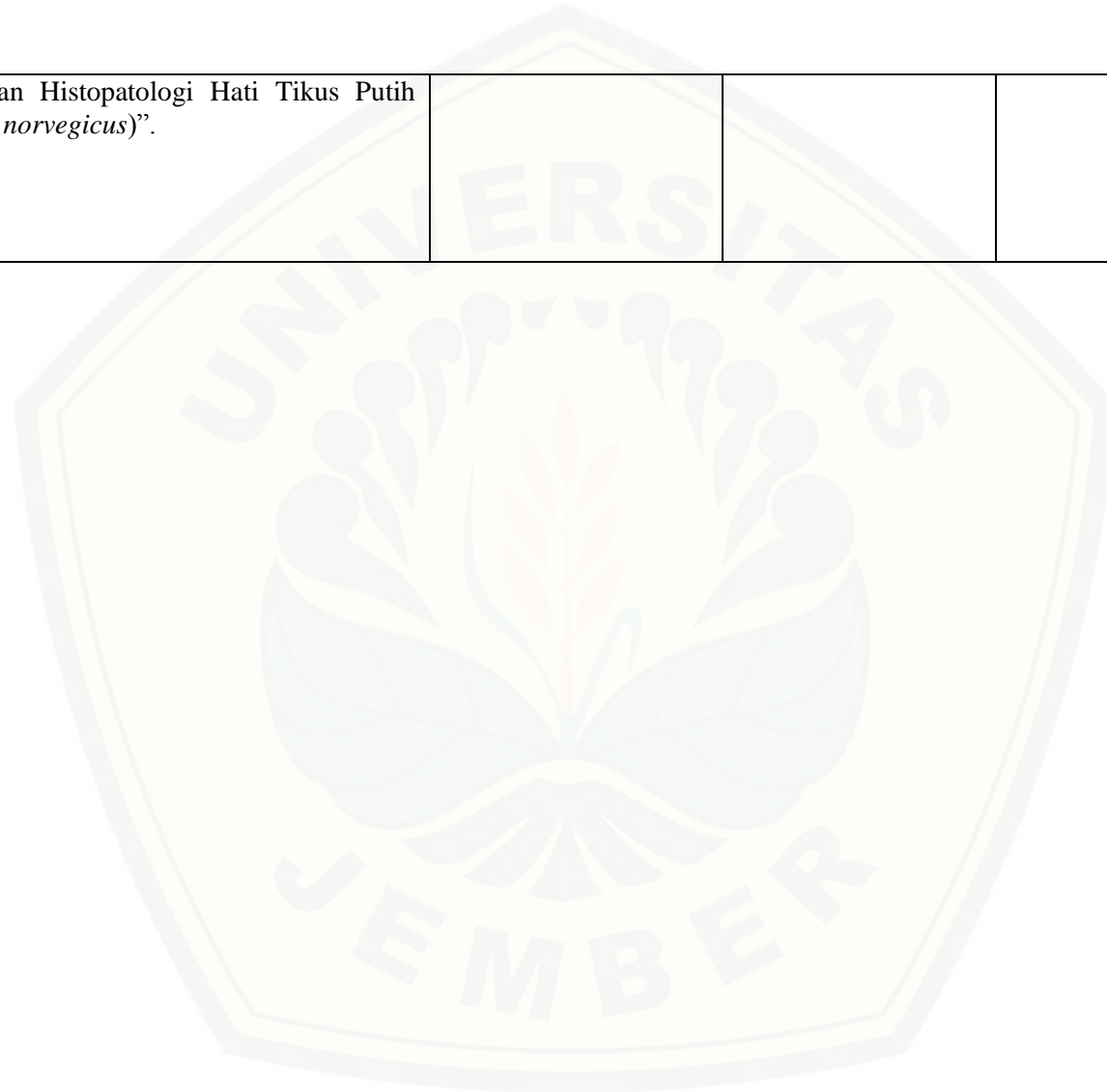
Lampiran A. Matriks Penelitian

MATRIKS PENELITIAN

Judul	Latar Belakang	Rumusan Masalah	Variabel	Metode Penelitian
Toksisitas Subakut Ekstrak Cacing Tanah (<i>Pheretima javanica</i>) Terhadap Faal, Morfologi Dan Gambaran Histopatologi Hati Tikus Putih (<i>Rattus norvegicus</i>)	Cacing tanah mengandung zat antipurin, antipretik, antidota, vitamin, dan beberapa enzim lumbrokinase, peroksidase, katalase, dan selsulosa yang berkhasiat untuk pengobatan (Priosoeryanto, 2011). Cacing tanah (<i>Pheretima javanica</i>) memiliki senyawa bioaktif antimikroba peptide, yang mengandung prolin 15% dari total berat kering dan tersusun dari 26 macam asam amino (Waluyo, 2010). <i>Pheretima javanica</i> menghasilkan antibakteri yang memiliki berat molekul 31,0 kDa dan 34,0 kDa (Waluyo, 2007). Penelitian yang telah dilakukan oleh Firdauzi (2017), mengenai toksisitas subakut serbuk cacing tanah terhadap faal dan gambaran histopatologi hati diperoleh hasil bahwa pemberian serbuk cacing tanah (<i>Pheretima javanica</i>) tidak memberikan efek toksik pada hati. Meskipun sudah ada penelitian tentang serbuk (<i>Pheretima javanica</i>) namun Peraturan Kepala BPOM nomor 12 tahun 2014 menyebutkan bahwa obat dalam berupa kapsul hanya dapat berisi ekstrak. Toksisitas subakut bertujuan	a. Bagaimana toksisitas subakut ekstrak cacing tanah (<i>Pheretima javanica</i>) terhadap faal hati tikus putih (<i>Rattus norvegicus</i>)? b. Bagaimana toksisitas subakut ekstrak cacing tanah (<i>Pheretima javanica</i>) terhadap morfologi hati tikus putih (<i>Rattus norvegicus</i>)? c. Bagaimana toksisitas subakut ekstrak cacing tanah (<i>Pheretima javanica</i>) terhadap gambaran histopatologi hati tikus putih (<i>Rattus norvegicus</i>)?	a. Variabel bebas : Ekstrak cacing tanah (<i>Pheretima javanica</i>) dengan variasi dosis yang telah ditentukan. b. Variabel terikat : Perubahan faal, morfologi dan gambaran histopatologi hati (<i>Rattus norvegicus</i>) akibat pemberian ekstrak cacing tanah (<i>Pheretima javanica</i>). c. Variabel kontrol: Variabel kontrol dalam penelitian ini meliputi Umur hewan coba yang digunakan adalah 3-4 bulan dengan berat	a. Jenis Penelitian Penelitian ini merupakan penelitian eksperimental laboratoris. Rancangan percobaan yang digunakan adalah Rancangan Acak Lengkap (RAL). b. Prosedur Penelitian ini dilakukan dalam beberapa tahapan, yaitu pembuatan ekstrak cacing tanah (<i>Pheretima javanica</i>), aklimatisasi, pembagian kelompok kontrol dan kelompok perlakuan, pengujian faal tikus putih sebelum pemberian ekstrak cacing tanah (<i>Pheretima javanica</i>), induksi ekstrak cacing tanah (<i>Pheretima javanica</i>) selama 28 hari, dan uji terhadap faal serta pembuatan histopatologi hati pada hari ke-29 untuk

	<p>untuk mendeteksi efek toksik yang muncul setelah pemberian sediaan uji dengan dosis berulang yang diberikan secara oral pada hewan coba selama sebagian umur hewan yang tidak terdeteksi dalam uji toksisitas akut (BPOM, 2014). Hewan uji yang sering digunakan adalah tikus putih (<i>Rattus norvegicus</i>) karena hewan ini termasuk dalam kelompok mamalia yang memiliki kemiripan secara fisiologis dengan manusia, sehingga pengaruh yang ditimbulkan terhadap tikus putih hampir sama dengan pengaruh yang akan diperoleh manusia nantinya (Wolfenshon <i>et al.</i>, 2013).</p> <p>Efek toksik obat-obatan sering terlihat dalam hati, dikarenakan hati berperan sentral dalam memetabolisme semua obat dan bahan-bahan asing yang masuk ke dalam tubuh (Setiawati <i>et al.</i>, 2007). Parameter hati yang dilihat yaitu berupa degenerasi dan nekrosis (Insani <i>et al.</i>, 2015). Pengamatan faal hati dilakukan dengan pengukuran enzim SGOT dan SGPT, enzim SGOT dan SGPT dapat mengidentifikasi keamanan suatu zat yang masuk dan dimetabolisme oleh hati. Berdasarkan latar belakang yang telah diuraikan, maka perlu dilakukan penelitian tentang “Toksistas Subakut Ekstrak Cacing Tanah (<i>Pheretima javanica</i>) terhadap</p>		<p>badan 200-250 gram, tikus putih yang digunakan adalah Tikus putih (<i>Rattus norvegicus</i>) galur wistar, jenis kelamin hewan coba adalah jantan, hewan coba dalam keadaan sehat, waktu penelitian 28 hari induksi kelompok perlakuan ditambah 14 hari pengamatan kelompok satelit, pelarut ekstrak adalah etanol 70%.</p>	<p>kemudian dilakukan pengamatan dan analisis data.</p> <p>c. Analisis data Teknik analisis data morfologi secara deskriptif, berat relatif organ dan faal menggunakan analisis <i>one way</i> ANOVA dan analisis histologi menggunakan teknik analisis Kruskal-Wallis.</p>
--	---	--	--	---

	Ganbaran Histopatologi Hati Tikus Putih (<i>Rattus norvegicus</i>)”.		
--	--	--	--



Lampiran B. 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	262	284	281
K(-).U2	245	248	239	234	231	237	273	247	236	246	240
K(-).U3	242	246	248	266	253	266	260	279	262	275	268
K(-).U4	250	250	258	259	259	257	258	256	260	266	264
Rata											
P1											
P1.U1	287	293	289	287	294	311	312	315	304	308	297
P1.U2	272	272	261	255	265	273	271	274	277	274	275
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
Mean	251,25	253	248,25	248,25	252,75	261,5	261,5	261	259,75	264,25	260,75
P2											
P2.U1	275	280	279	275	281	283	294	296	292	304	297
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

Mean	248,25	250,75	249,25	247,25	253,75	259,25	259,25	264,5	264,5	270	267,5
P3											
P3.U1	274	274	263	274	281	276	285	286	279	295	295
P3.U2	282	285	264	275	261	274	286	280	264	278	279
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
Mean	257,00	257,75	249,5	254,5	253,5	255,75	263,75	261,75	252,25	263,25	275,25
S1											
S1.U1	246	246	304	291	309	296	318	318	298	303	302
S1.U2	320	320	330	334	335	345	345	348	351	358	359
S1.U3	302	304	240	248	253	245	253	263	258	255	254
S1.U4	260	260	265	266	264	265	266	259	263	259	257
Mean	282,00	282,5	284,75	284,75	290,25	287,75	295,5	297	292,5	293,75	293
S2											
S2.U1	243	243	249	224	228	233	248	250	249	261	255
S2.U2	260	261	264	272	258	264	275	293	299	284	286
S2.U3	218	218	227	223	223	236	235	237	238	257	259
S2.U4	266	266	261	261	262	262	264	263	267	264	264
Mean	246,75	247	250,25	245	242,75	248,75	255,5	260,75	263,25	266,5	266

b. Setelah Induksi

Hari ke	29	31	34	37	40	43
S1						
S1.U1	308	213	207	212	214	213
S1.U2	269	265	268	272	269	272
S1.U3	225	231	222	217	220	223
S1.U4	243	240	239	245	241	239
Mean	236,25	237,25	234	236,5	236	236,75
S2						
S2.U1	214	209	216	212	217	215
S2.U2	246	251	249	253	250	252
S2.U3	168	170	169	172	168	173
S2.U4	232	231	226	228	230	231
Mean	215	215,25	215	216,25	216,25	217,75

2. Gejala Toksisitas

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

Perlakuan	Nilai Gejala Toksik													
	29	30	31	32	33	34	35	36	37	38	39	40	41	42
K(-)	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
P2	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
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 Hati

Perlakuan	Berat Absolut Hati (gram)	BB (gram)	Berat relatif organ (gram)	Perlakuan	Berat Relatif Organ Hati M±SD	
K(-).U1	7,001	281	0,0249	K-	0,0230	0,00183
K(-).U2	5,511	240	0,0230			
K(-).U3	5,699	268	0,0213			
P1.U1	5,340	257	0,0208	P1	0,0214	0,00077
P1.U2	5,190	245	0,0212			
P1.U3	5,100	229	0,0223			
P2.U1	5,34	267	0,0200	P2	0,0207	0,00112
P2.U2	5,21	258	0,0202			
P2.U3	5,99	272	0,0220			

P3.U1	5,18	255	0,0203	P3	0,0212	0,00078
P3.U2	5,222	239	0,0218			
P3.U3	5,881	276	0,0213			
S1.U1	7,326	313	0,0234	S1	0,0220	0,00137
S1.U2	5,991	272	0,0220			
S1.U3	5,23	253	0,0207			
S2.U1	5,334	255	0,0209	S2	0,0238	0,00272
S2.U2	7,1003	292	0,0243			
S2.U3	4,551	173	0,0263			

4. Hasil Uji Faal Hati

Uji	Nilai normal	K(-)	P1	P2	P3	S1	S2
SGOT	41-115	89	46	35	60	116	118
SGPT	20-81	121	134	43	67	88	97

Lampiran C. Hasil Analisis Statistik

1. Analisis Berat Badan Selama Induksi

Hasil Analisis Uji Normalitas

One-Sample Kolmogorov-Smirnov Test

		Hasilselisih
N		24
Normal Parameters ^a	Mean	21.6250
	Std. Deviation	19.76781
Most Extreme Differences	Absolute	.117
	Positive	.117
	Negative	-.089
Kolmogorov-Smirnov Z		.575
Asymp. Sig. (2-tailed)		.895
a. Test distribution is Normal.		

Hasil Analisis Uji Homogenitas

Test of Homogeneity of Variances

Hasilselisih

Levene Statistic	df1	df2	Sig.
1.711	5	18	.183

Hasil Analisis Uji Annova

ANOVA

Hasilselisih	Sum of Squares	Df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	863.375	5	172.675	.383	.854
Within Groups	8124.250	18	451.347		
Total	8987.625	23			

2. Analisis Berat Badan Kelompok Satelit

Hasil Analisis Uji Normalitas

One-Sample Kolmogorov-Smirnov Test

		Hasilselisih
N		8
Normal Parameters ^a	Mean	1.6250
	Std. Deviation	3.70087
Most Extreme Differences	Absolute	.194
	Positive	.136
	Negative	-.194
Kolmogorov-Smirnov Z		.549
Asymp. Sig. (2-tailed)		.924
a. Test distribution is Normal.		

Hasil Analisis Uji Homogenitas

Test of Homogeneity of Variances

Hasilselisih

Levene Statistic	df1	df2	Sig.
1.038	1	6	.347

Hasil Analisis Uji Annova

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

Hasil Analisis Uji Normalitas

One-Sample Kolmogorov-Smirnov Test

		BBrelatif
N		18
Normal Parameters ^a	Mean	.022039
	Std. Deviation	.0017379
Most Extreme Differences	Absolute	.176
	Positive	.176
	Negative	-.120
Kolmogorov-Smirnov Z		.745
Asymp. Sig. (2-tailed)		.636
a. Test distribution is Normal.		

Hasil Analisis Uji Homogenitas

Test of Homogeneity of Variances

BBrelatif			
Levene Statistic	df1	df2	Sig.
1.346	5	12	.311

Hasil Analisis Uji ANOVA

ANOVA

BBrelatif					
	Sum of Squares	Df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	.000	5	.000	1.729	.202
Within Groups	.000	12	.000		
Total	.000	17			

4. Analisis Histopatologi Hati
 - a. Degenerasi Hidrofik

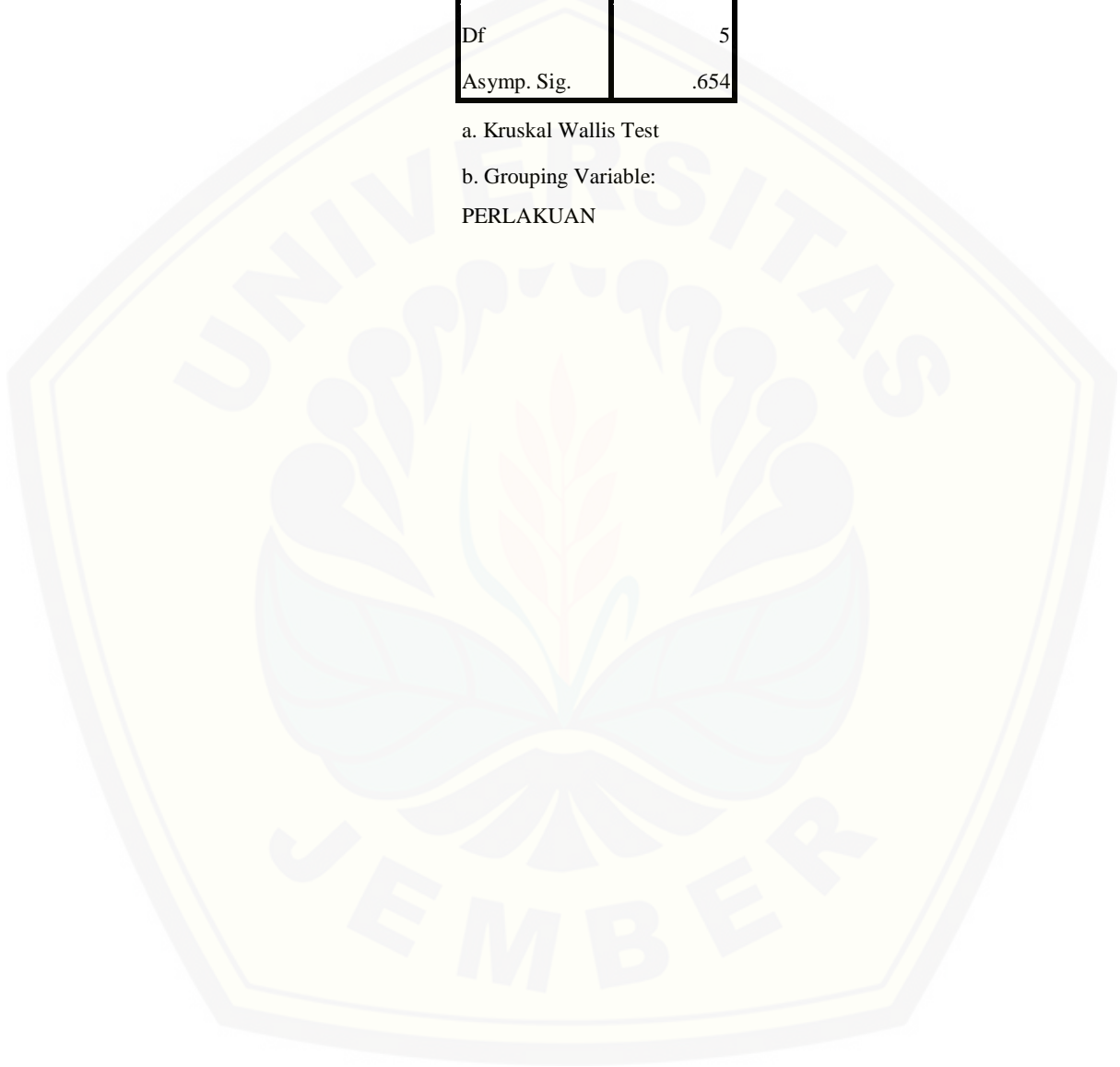
Test Statistics^{a,b}

	SKOR
Chi-Square	3.296
Df	5
Asymp. Sig.	.654

a. Kruskal Wallis Test

b. Grouping Variable:

PERLAKUAN



Lampiran D. 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

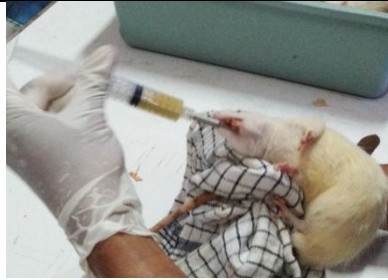
Tahap Pengujian Tikus Putih



Gambar 19. Aklimatisasi



Gambar 20. Penimbangan ekstrak



Gambar 21. Induksi

Pengamatan Gejala Toksisitas



Gambar 22. Pengamatan Gejala Toksisitas

Pengambilan Sampel Darah



Gambar 23. Proses pengambilan sampel darah

Pembedahan



Gambar 24. Proses pembiusan



Gambar 25. Pengambilan Organ

Penimbangan Organ

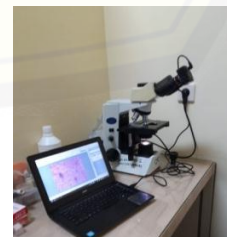


Gambar 26. Penimbangan organ

Preparat



Gambar 27. Pembuatan preparat



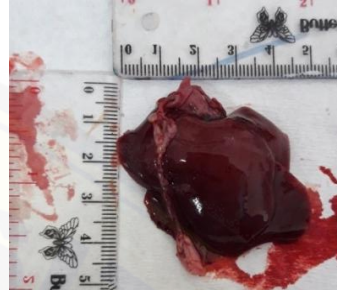
Gambar 28. Pengamatan preparat

Lampiran E. Foto Morfologi Hati

K(-)



P1



P2



P3



S1



S2



Lampiran F. 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.uncj.ac.id
	LEMBAR KONSULTASI PENYUSUNAN SKRIPSI

Pembimbing Utama

Nama : Nanda Bhekti Fadilla
 NIM/Angkatan : 150210103033/ 2015
 Jurusan/ Program Studi : Pendidikan MIPA/ Pendidikan Biologi
 Judul Skripsi : Toksisitas Subakut Ekstrak Cacing Tanah (*Pheretima javanica*) Terhadap Faal, Morfologi dan Gambaran Histopatologi Hati Tikus putih (*Rattus norvegicus*).
 Dosen Pembimbing I : Prof. Dr. Joko Waluyo, M.Si.

Kegiatan Konsultasi

No	Hari/Tanggal	Materi Konsultasi	Tanda Tangan Pembimbing
1	Jum'at 10 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, 11 Desember 2018	ACC proposal skripsi	
6	Senin, 21 Januari 2019	Konsultasi hasil penelitian	
7	Jum'at, 25 Januari 2019	Konsultasi hasil penelitian	
8	Jum'at, 1 Februari 2019	Konsultasi hasil penelitian	
9	Senin, 4 Februari 2019	Pengajuan bab 4	
10	Rabu, 6 Februari 2019	Pengajuan revisi bab 4	
11	Kamis, 7 Februari 2019	Pengajuan bab 1, 2, 3, 4, 5, dan lampiran	
12	Senin, 11 Februari 2019	ACC ujian skripsi	

Catatan:

**LEMBAR KONSULTASI PENYUSUNAN SKRIPSI****Pembimbing Anggota**

Nama : Nanda Bhakti Fadilla
 NIM/Angkatan : 150210103033/ 2015
 Jurusan/Program Studi : Pendidikan MIPA/ Pendidikan Biologi
 Judul Skripsi : Toksisitas Subakut Ekstrak Cacing Tanah (*Pheretima javanica*) Terhadap Faal, Morfologi dan Gambaran Histopatologi Hati Tikus putih (*Rattus norvegicus*).
 Dosen Pembimbing II : Dr. Dwi Wahyuni, M. Kes

Kegiatan Konsultasi

No	Hari/Tanggal	Materi Konsultasi	Tanda Tangan Pembimbing
1	Jum'at 10 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, 11 Desember 2018	ACC proposal skripsi	
6	Senin, 21 Januari 2019	Konsultasi hasil penelitian	
7	Jum'at, 25 Januari 2019	Konsultasi hasil penelitian	
8	Jum'at, 1 Februari 2019	Konsultasi hasil penelitian	
9	Senin, 4 Februari 2019	Pengajuan bab 4	
10	Rabu, 6 Februari 2019	Pengajuan revisi bab 4	
11	Kamis, 7 Februari 2019	Pengajuan bab 1, 2, 3, 4, 5, dan lampiran	
12	Kamis, 14 Februari 2019	ACC ujian skripsi	



KEMENTERIAN RISET, TEKNOLOGI, DAN PENDIDIKAN TINGGI
UNIVERSITAS JEMBER
FAKULTAS KEGURUAN DAN ILMU PENDIDIKAN
Jalan Kalimantan Nomor 37 Kampus Bumi Tegalboto Jember 68121
Telepon: 0331-334988, 330738 Fax: 0331-332475
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 : Nanda Bhekti Fadilla
NIM : 150210103033
Jurusan : Pendidikan MIPA
Program Studi : Pendidikan Biologi

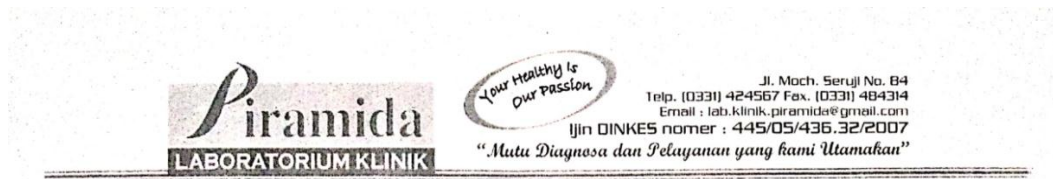
Menerangkan dengan sebenarnya bahwa mahasiswa yang bersangkutan betul-betul telah menyelesaikan penelitian tentang "Toksistas Subakut Ekstrak Cacing Tanah (*Pheretima javanica*) terhadap Faal, Morfologi dan Gambaran Histopatologi Hati (*Rattus norvegicus* B.)" bertempat di Laboratorium Biomedik Fakultas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

Demikian kami sampaikan terimakasih

Jember, Januari 2019
Teknisi Laboratorium Biomedik
Fakultas Kedokteran Gigi


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

1. Perlakuan





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
PYRAMIDA
Jl. Moch. Seruji 84 Jember
Telp. (0331) 424567

2. Satelit

		<p>Jl. Mach. Seruji 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"</p>
---	---	---

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. Mach. Seruji R4 Jember
Telp. (0331) 424567