



**TOKSISITAS SUBAKUT EKSTRAK CACING TANAH
(*Pheretima javanica*) TERHADAP HISTOPATOLOGI
JANTUNG DAN PARU-PARU TIKUS PUTIH
(*Rattus norvegicus*)**

SKRIPSI

Oleh

**Wardaniyatus Sholihah
NIM 150210103005**

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



**TOKSISITAS SUBAKUT EKSTRAK CACING TANAH
(*Pheretima javanica*) TERHADAP HISTOPATOLOGI
JANTUNG DAN PARU-PARU TIKUS PUTIH
(*Rattus norvegicus*)**

SKRIPSI

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

Oleh

**Wardaniyatus Sholihah
NIM 150210103005**

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

PERSEMBAHAN

Puji syukur penulis panjatkan kehadiran Allah yang Maha Pengasih dan Maha Penyayang, serta shalawat dan salam untuk Nabi Muhammad SAW, skripsi ini saya persembahkan untuk :

1. Ayahanda Didik Sudiarto, Ibunda Noeroel Ismiati, dan adikku El-tsa Niyah Rihlatul Widaad yang telah mendoakan, menopang, memberi kekuatan, dan meluangkan waktunya disetiap kesulitan yang ada;
2. Prof. Dr. Joko Waluyo. M, Si yang telah membimbing selama di bangku kuliah;
3. Bapak dan ibu dosen di Pendidikan Biologi Univesitas Jember yang telah bersedia membimbing dan mendidik;
4. Almamaterku, Program Studi Pendidikan Biologi, Jurusan Pendidikan MIPA, Fakultas Keguruan dan Ilmu Pendidikan, Universitas Jember sebagai tempat menimba ilmu selama ini.

MOTTO

“Dan apabila dikatakan, “Berdirilah kamu,” maka berdirilah, niscaya Allah akan mengangkat (derajat) orang-orang yang beriman di antarmu dan orang-orang yang diberi ilmu beberapa derajat. Dan Allah Mahateliti apa yang kamu kerjakan.”

(Terjemahan Surah *Al-Mujadilah*: 11*)

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

PERNYATAAN

Saya yang bertanda tangan dibawah ini:

nama : Wardaniyatus Sholihah

NIM : 150210103005

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

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

Jember, Maret 2019

Yang menyatakan,

Wardaniyatus Sholihah
150210103005



**TOKSISITAS SUBAKUT EKSTRAK CACING TANAH
(*Pheretima javanica*) TERHADAP HISTOPATOLOGI
JANTUNG DAN PARU-PARU TIKUS PUTIH
(*Rattus norvegicus*)**

SKRIPSI

Oleh

**Wardaniyatus Sholihah
NIM 150210103005**

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

PERSETUJUAN

TOKSISITAS SUBAKUT EKSTRAK CACING TANAH (*Pheretima javanica*) TERHADAP HISTOPATOLOGI JANTUNG DAN PARU-PARU TIKUS PUTIH (*Rattus norvegicus*)

SKRIPSI

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

Oleh

Nama Mahasiswa : Wardaniyatus Sholihah
NIM : 150210103005
Jurusan : Pendidikan MIPA
Program Studi : Pendidikan Biologi
Angkatan Tahun : 2015
Daerah Asal : Bondowoso
Tempat, Tanggal Lahir : Bondowoso, 31 Mei 1996

Disetujui oleh

Dosen Pembimbing Utama,

Dosen Pembimbing Anggota,

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

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

PENGESAHAN

Skripsi berjudul “Toksisitas Subakut Ekstrak Cacing Tanah (*Pheretima javanica*) terhadap Histopatologi Jantung dan Paru-Paru Tikus Putih (*Rattus norvegicus*)” telah diuji dan di sahkan pada :

hari, tanggal : Senin, 04 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

Erlia Narulita, S.Pd., M.Si., Ph.D
NIP. 19800705 200604 2 004

Mengesahkan,
Dekan FKIP Universitas Jember

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

RINGKASAN

Toksisitas Subakut Ekstrak Cacing Tanah (*Pheretima javanica*) terhadap Histopatologi Jantung dan Paru-Paru Tikus Putih (*Rattus norvegicus*); Wardaniyatus Sholihah; 150210103005; 2019; 52 halaman; Program Studi Pendidikan Biologi, Jurusan Pendidikan MIPA, Fakultas Keguruan dan Ilmu Pendidikan, Universitas Jember.

Penelitian cacing tanah sebagai obat tradisional sangat berkembang, cacing tanah (*Pheretima javanica*) mengandung asam arakidonat yang sangat efektif untuk menurunkan demam yang disebabkan oleh infeksi. *Pheretima javanica* memiliki kandungan asam amino hidroksiprolin 19,04% yang berperan dalam aktivitas antibakteri. Berat molekul protein antibakteri pada *Pheretima javanica* terhadap bakteri *Salmonella typhi* ialah 31,0 kDa dan 34,0 kDa. Penggunaan cacing tanah sebagai obat penyembuhan demam tifoid harus sesuai dengan persyaratan yang telah ditetapkan oleh BPOM bahwa obat dalam berupa kapsul hanya dapat berisi ekstrak. Obat juga harus melalui serangkaian uji salah satunya ialah uji toksisitas. Penelitian ini menggunakan uji toksisitas subakut oral dengan pemberian dosis bertingkat, diberikan setiap hari satu kali dengan jangka waktu 28 hari. Penggunaan hewan uji berupa tikus putih (*Rattus norvegicus*) agar dapat diketahui efek yang ditimbulkan oleh ekstrak cacing tanah pada tikus tersebut baik secara morfologi, anatomi, dan fisiologisnya pada organ tertentu.

Organ yang akan dilihat histopatologinya ialah jantung dan paru-paru, indikator kerusakan yang diamati pada histopatologi jantung meliputi ada tidaknya inti yang piknosis, vakuolisasi sitoplasma, degenerasi, dan nekrosis sel otot jantung. Sedangkan indikator kerusakan yang diamati pada histopatologi paru-paru meliputi kongesti, edema, inflamasi, dan hemoragi.

Penelitian toksisitas subakut ekstrak cacing tanah (*Pheretima javanica*) melalui pengamatan histopatologi jantung dan paru-paru tikus putih (*Rattus norvegicus*) telah dilakukan pada bulan Oktober 2018-Januari 2019. Pengamatan

dilakukan pada ada tidaknya gejala toksisitas, berat badan, berat relatif organ, morfologi dan histopatologi jantung serta paru-paru tikus putih. Penelitian ini menggunakan 24 ekor tikus putih (*Rattus norvegicus*) jantan strain wistar yang dibagi menjadi 6 kelompok, dengan jumlah tikus sebanyak 4 pada tiap kelompok perlakuan.

Pemberian ekstrak selama 28 hari tidak menimbulkan kematian pada tikus putih, berat badan tikus dikontrol dan dimonitor setiap tiga hari sekali, didapatkan data bahwa berat badan tikus prainduksi dan pasca induksi tidak terdapat perbedaan nyata, begitupun juga saat induksi dihentikan hingga hari ke-42, dimana nilai $p > 0,01$. Pengamatan gejala toksisitas tergolong dalam nilai 1 atau mengindikasikan tikus tidak stress dan kesakitan. Morfologi jantung pada semua kelompok termasuk ke dalam ciri-ciri jantung normal, begitupun untuk paru-paru. Tidak ada perbedaan nyata pada berat relatif organ jantung dan paru-paru berdasarkan hasil analisis statistik dengan metode *one way-Anova*, nilai signifikansi berat relatif organ jantung sebesar 0,221 dan paru-paru sebesar 0,271.

Perubahan histopatologi pada jantung ialah adanya degenerasi hidrofik baik pada kelompok kontrol, perlakuan, dan satelit dengan ciri selnya yang terlihat membengkak, degenerasi hidrofik merupakan perubahan histopatologi yang bersifat *reversible*. Nilai signifikansi uji Kruskal-Wallis histopatologi untuk jantung sebesar 0,981 ($p > 0,01$), tidak ditemukan adanya perubahan histopatologi pada paru-paru tikus putih. Pemberian ekstrak cacing tanah *Pheretima javanica* tidak berpengaruh terhadap histopatologi jantung dan paru-paru tikus putih (*Rattus norvegicus*). Kesimpulan yang didapat bahwa pemberian ekstrak cacing tanah *Pheretima javanica* tidak berpengaruh terhadap tikus putih (*Rattus norvegicus*), ekstrak cacing tanah tidak bersifat toksik terhadap jantung dan paru-paru tikus putih (*Rattus norvegicus*).

PRAKATA

Puji syukur kehadiran Allah SWT karena berkat rahmat-Nya penulis dapat menyelesaikan skripsi yang berjudul “Toksistas Subakut Ekstrak Cacing Tanah (*Pheretima javanica*) terhadap Histopatologi Jantung dan Paru-Paru Tikus Putih (*Rattus norvegicus*)” dengan baik.

Skripsi ini disusun guna memenuhi syarat untuk menyelesaikan pendidikan S1 di Program Studi Pendidikan Biologi, Fakultas Keguruan dan Ilmu Pendidikan, Universitas Jember. Penyusunan skripsi ini tidak lepas dari bantuan berbagai pihak, penulis mengucapkan terimakasih kepada :

1. Prof. Drs. Dafik, M.Sc., Ph.D., selaku Dekan Fakultas Keguruan dan Ilmu
2. Dr. Dwi Wahyuni, M.Kes., selaku Ketua Jurusan Pendidikan Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Fakultas Keguruan dan Ilmu Pendidikan, Universitas Jember, serta selaku dosen pembimbing anggota.
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 dan dosen pembimbing akademik yang telah meluangkan pikiran, waktu, dan dana dalam skripsi ini.
5. Drs. Slamet Hariyadi, M.Si dan Mom Erlia Narulita S.Pd., M.Si., Ph.D selaku dosen penguji yang telah memberikan saran agar skripsi saya lebih sempurna.
6. Ayah, Ibuk, Adek, dan segenap keluarga yang telah memberikan do’a, dukungan, dan materi kepada penulis selama ini.
7. Fitri, dan Ikik yang telah menemani proses kehidupan penulis dari Sekolah Menengah Atas sampai saat ini, yang selalu menyisihkan waktunya disela kesibukannya. Lutfiyah yang telah menjadi *roomate* selama di bangku kuliah

8. Amala, Eril, Yolanda, Ari, dan Rovita selaku support system yang telah mencurahkan banyak perhatian dan bantuan.
9. Anak cacing yang telah menemani dalam suka dan duka Nanda, Alfi, Angki, Anna, Haiva, Siti, Rifatul, Kris, dan Meili.
10. Teman-teman BioEdu 2015 yang telah memberikan banyak sekali pengalaman serta kenangan yang takkan pernah terlupakan selama melaksanakan studi.
11. *Last but not least* semua motivasi onlineku khususnya shinee, vixx, dan monsta x.
12. Semua pihak yang tidak bisa disebutkan satu persatu yang telah memberikan dukungan dan bantuan dalam proses penyusunan skripsi ini. Penulis berharap semoga skripsi ini dapat memberikan manfaat bagi peneliti selanjutnya.

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	3
1.3 Tujuan Penelitian	4
1.4 Manfaat Penelitian	4
Bab 2. Tinjauan Pustaka	5
2.1 Cacing Tanah (<i>Pheretima javanica</i>)	5
2.1.1 Morfologi Cacing Tanah	5
2.1.2 Anatomi Cacing Tanah.....	6
2.1.3 Senyawa pada Cacing Tanah.....	7
2.2 Ekstraksi	9
2.3 Tikus Putih (<i>Rattus norvegicus</i>)	10
2.4 Uji Toksisitas Subakut	11

2.5 Histopatologi Jantung	12
2.6 Histopatologi Paru-Paru	15
2.7 Cara Kerja Senyawa Aktif dalam Organ Hewan	17
2.8 Kerangka Berpikir	18
2.9 Hipotesis	19
Bab 3. Metode Penelitian	20
3.1 Jenis Penelitian	20
3.2 Tempat dan Waktu Penelitian	20
3.3 Identifikasi Variabel Penelitian	20
3.3.1 Variabel Bebas	20
3.3.2 Variabel Terkait.....	20
3.3.3 Variabel Kontrol.....	20
3.4 Alat dan Bahan Penelitian	21
3.4.1 Alat Penelitian	21
3.4.2 Bahan Penelitian.....	21
3.5 Kriteria, Jumlah, dan Pemilihan Sampel	21
3.5.1 Jumlah Sampel	21
3.5.2 Pemilihan Sampel.....	22
3.6 Definisi Operasional	22
3.7 Desain Penelitian	23
3.8 Prosedur Penelitian	23
3.8.1 Persiapan Pembuatan Ekstrak Cacing Tanah	23
3.8.2 Tahap Pengujian Tikus Putih	24
3.8.3 Pemberian Ekstrak Cacing Tanah	24
3.8.4 Pengamatan Gejala Toksisitas.....	25
3.8.5 Persyaratan dalam Melakukan Pengambilan Sampel	26
3.8.6 Penimbangan Organ	26
3.8.7 Pembuatan Preparat Histologi Paru-Paru dan Jantung	26
3.9 Analisis Data Hasil Penelitian	28

3.10 Alur Penelitian	29
Bab 4. Hasil dan Pembahasan	30
4.1 Hasil Penelitian	30
4.1.1 Hasil Pengamatan Gejala Toksisitas Tikus Putih	30
4.1.2 Hasil Pengamatan Berat Badan Tikus Putih	31
4.1.3 Hasil Pengamatan Berat Relatif Organ Jantung dan paru-paru	32
4.1.4 Hasil Pengamatan Morfologi Jantung dan paru-paru	33
4.1.5 Hasil Pengamatan Histopatologi Jantung dan paru-paru	35
4.2 Pembahasan	39
4.2.1 Toksisitas Subakut Ekstrak Cacing Tanah terhadap Histopatologi Jantung	41
4.2.2 Toksisitas Subakut Ekstrak Cacing Tanah terhadap Histopatologi Paru-Paru	43
Bab 5. Penutup	45
5.1 Kesimpulan	45
5.2 Saran	45
Daftar Pustaka	46
Lampiran	53

DAFTAR TABEL

	Halaman
2.1 Berat organ tikus putih strain wistar jantan umur 10 minggu	12
3.1 Rancangan penelitian.....	23
3.2 Penilaian gejala toksisitas pada tikus.....	25
3.3 Skor kondisi tubuh	25
3.4 Proses perendaman preparat	27
3.5 Skor derajat histopatologi	28
3.6 Parameter histopatologi jantung dan paru-paru.....	28
4.1 Pengamatan Gejala toksisitas	30
4.2 Rerata berat badan selama induksi	31
4.3 Rerata berat badan setelah induksi dihentikan.....	32
4.4 Berat absolut organ dan berat relatif organ	33
4.5 Morfologi organ jantung.....	34
4.6 Morfologi organ paru-paru	34
4.7 Skor Derajat Histopatologi Jantung dan Paru-Paru	38

DAFTAR GAMBAR

	Halaman
2.1 Anatomi cacing tanah	7
2.2 Tikus putih (<i>Rattus norvegicus</i>) strain wistar	10
2.3 Potongan melintang otot jantung tikus normal	13
2.4 Potongan melintang otot jantung tikus yang yang mengalami stres	14
2.5 Potongan melintang otot jantung tikus yang mengalami nekrosis	14
2.6 Potongan paru-paru tikus normal.....	15
2.7 Perbandingan paru-paru normal, kongesti, dan hemoragi	16
2.8 Paru-paru tikus yang mengalami infiltrasi sel radang	16
3.1 Diagram alur penelitian	29
4.1 Potongan melintang otot jantung	35
4.2 Potongan melintang paru-paru	37

DAFTAR LAMPIRAN

	Halaman
Lampiran A. Matriks penelitian	53
Lampiran B. Hasil penelitian	56
Lampiran C. Hasil analisis statistik	60
Lampiran D. Dokumentasi	66
Lampiran E. Dokumentasi morfologi organ	71
Lampiran F. Lembar Konsultasi	73
Lampiran G. Surat Penelitian	75

BAB 1. PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

Penggunaan antibiotik oleh masyarakat untuk pengobatan khususnya demam tifoid masih tinggi, antibiotik yang sering digunakan masyarakat seperti kloramfenikol masih kurang efektif, selain itu dalam penggunaannya terdapat efek samping berupa anemia splistik atau depresi sumsum tulang (Rahmasari dan Lestari, 2018). Penelitian oleh Sandika dan Jhons (2017) menunjukkan bahwa dari 30 sampel tiga diantaranya telah resisten terhadap kloramfenikol dan 22-25 sampel telah resisten terhadap trimetoprim dan gabungan trimethoprim dengan sulfametoksazol. Obat tradisional diterima sebagai pelayanan kesehatan utama yang mampu berkontribusi untuk meningkatkan hasil kesehatan dan meminta para pemerintah untuk memasukkan obat tradisional kedalam sistem kesehatan nasional (WHO, 2009).

Penelitian cacing tanah sebagai obat tradisional sangat berkembang, cacing tanah mengandung senyawa aktif golongan alkaloid yang mempunyai aktivitas antibakteri dan antipiretik (Busman *et al.*, 2018). Cacing tanah yang sering digunakan untuk obat tradisional ialah jenis *Lumbricus rubellus* dan *Pheretima* sp., *Lumbricus rubellus* pada penelitian Khairiskam (2015) tentang toksisitas akut pada mencit ditemukan bahwa serbuk cacing tanah (*Lumbricus rubellus*) berada di kategori 5 yaitu (>5000 mg/kg BB) atau tidak terklasifikasi. Hasil pengamatan histopatologis menunjukkan tidak ada perubahan gambaran histologis organ paru-paru, jantung, lambung, limpa, ginjal, usus dan uterus mencit yang disebabkan oleh pemberian serbuk cacing tanah. Radang terjadi pada organ hati mencit disebabkan pemberian serbuk cacing tanah.

Penelitian oleh Sari (2017) tentang toksisitas akut juga didapat hasil bahwa tidak ditemukannya nilai potensi ketoksikan akut oral (LD₅₀) serbuk cacing tanah (*Pheretima javanica*) dengan dosis >5000 mg/kgBB. Serbuk cacing tanah (*Pheretima javanica*) kering pada penelitian sebelumnya (Muzaiyanah, 2017) terbukti berpengaruh secara signifikan terhadap penyembuhan demam tifoid pada

tikus putih setelah infeksi *Salmonella thypi* dengan dosis efektif sebesar 1,6 g/0,2 kgBB. Selanjutnya pada uji toksisitas subakut serbuk cacing tanah (*Pheretima javanica*) kering oleh Putri (2018) selama 90 hari yang diinduksi pada tikus putih (*Rattus norvegicus*) menunjukkan bahwa tidak terjadi perubahan baik pada morfologi dan histopatologi jantung dibuktikan dengan tidak ditemukannya degenerasi dan nekrosis pada histopatologi jantung tikus putih baik pada kelompok kontrol dan kelompok perlakuan setelah pemberian serbuk kering cacing tanah. *Pheretima javanica* memiliki kandungan asam amino hidroksiprolin 19,04% yang berperan dalam aktivitas antibakteri. Berat molekul protein antibakteri pada *Pheretima javanica* terhadap bakteri *Salmonella typhi* ialah 31,0 kDa dan 34,0 kDa (Waluyo, 2004).

Penggunaan cacing tanah sebagai obat penyembuhan demam tifoid harus sesuai dengan persyaratan yang telah ditetapkan oleh BPOM yakni bahan baku dan produk jadi obat tradisional wajib memenuhi standar mutu, pasal 5 Peraturan Kepala BPOM nomor 12 tahun 2014 menyebutkan bahwa obat dalam berupa kapsul hanya dapat berisi ekstrak. Obat juga harus melalui serangkaian uji sehingga dapat dibuktikan secara ilmiah tentang khasiat dan keamanannya melalui penelitian yang dilakukan secara sistematis. Salah satu tahapan pengembangan obat tradisional adalah uji praklinik yakni uji toksisitas. Uji toksisitas adalah suatu uji yang mendeteksi efek toksik suatu zat pada sistem biologi dan untuk memperoleh data dosis-respon yang khas dari sediaan uji, data yang didapat dapat digunakan untuk memberi informasi tentang derajat bahaya sediaan uji bila terjadi pemaparan pada manusia, sehingga dapat digunakan demi keamanan manusia (BPOM, 2014).

Organ yang akan dilihat histopatologinya ialah jantung dan paru-paru yang termasuk kedalam 5 organ utama menurut (BPOM, 2014), jantung merupakan organ yang mudah rusak karena paparan berbagai jenis zat kimia, sebab jantung merupakan salah satu organ sasaran. Suatu toksikan berkerja secara langsung dan tidak langsung pada otot jantung melalui pembuluh darah, bila toksikan tersebut mempengaruhi salah satu pembuluh darah akibat yang ditimbulkan tergantung dari seberapa pentingnya organ yang disuplai oleh pembuluh darah tersebut (Lu,

1995). Organ yang erat kaitannya dengan suplai darah dari jantung ialah paru-paru. Permukaan organ pernapasan tipis, selalu basah untuk memungkinkan terjadinya difusi gas dan diselimuti atau dikelilingi dengan kapiler darah (Hickman *et al.*, 2008). Organ ini mempunyai jalinan kapiler yang paling berkembang di dalam tubuh dengan kapiler darah diantara semua alveoli termasuk kapiler dalam bronkiolus respiratori, apabila terjadi gagal jantung kongestif dapat mengakibatkan masuknya darah dan eritrosit ke dalam alveolus (Anthony, 2010).

Menimbang erat kaitannya antara kedua organ yakni jantung dan paru-paru, maka dilakukan pemeriksaan histopatologi kedua organ tersebut. Pemeriksaan histopatologi dilakukan untuk melihat ada tidaknya perubahan abnormal pada tingkat jaringan. Indikator kerusakan yang diamati pada histopatologi jantung meliputi ada tidaknya inti yang piknosis, vakuolisasi sitoplasma, degenerasi, dan nekrosis sel otot jantung (El-Desouki *et al.*, 2012). Sedangkan indikator kerusakan yang diamati pada histopatologi paru-paru meliputi kongesti, edema, inflamasi, dan hemoragi (Hor *et al.*, 2011).

Berdasarkan latar belakang tersebut, maka dilakukan penelitian tentang toksisitas subakut ekstrak ekstrak cacing tanah (*Pheretima javanica*) terhadap histopatologi tikus putih yang bertujuan untuk melihat efek toksik ekstrak cacing tanah (*Pheretima javanica*) pada histopatologi jantung dan paru-paru tikus putih (*Rattus norvegicus*) dengan pemberian ekstrak selama 28 hari.

1.2 Rumusan Masalah

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

- a. Bagaimana toksisitas subakut ekstrak cacing tanah (*Pheretima javanica*) terhadap histopatologi jantung tikus putih (*Rattus norvegicus*) ?
- b. Bagaimana toksisitas subakut ekstrak cacing tanah (*Pheretima javanica*) terhadap histopatologi paru-paru tikus putih (*Rattus norvegicus*) ?

1.3 Tujuan Penelitian

Berdasarkan rumusan masalah diatas dapat disusun tujuan dari penelitian ini sebagai berikut :

- a. Menguji toksisitas subakut ekstrak cacing tanah (*Pheretima javanica*) terhadap histopatologi jantung tikus putih (*Rattus norvegicus*)
- b. Menguji toksisitas subakut ekstrak cacing tanah (*Pheretima javanica*) terhadap histopatologi paru-paru tikus putih (*Rattus norvegicus*)

1.4 Manfaat Penelitian

Hasil dari penelitian ini diharapkan dapat membawa manfaat, antara lain :

- a. Bagi penulis, dapat membuktikan secara ilmiah mengenai uji toksisitas subakut ekstrak cacing tanah (*Pheretima javanica*) terhadap ciri fisik dan histopatologi jantung serta paru-paru pada tikus putih (*Rattus norvegicus*).
- b. Bagi masyarakat, dapat memberikan informasi untuk memanfaatkan ekstrak cacing tanah (*Pheretima javanica*) sebagai obat alternatif demam tifoid yang disebabkan *Salmonella thypi*.
- c. Bagi peneliti lainnya, dapat digunakan sebagai pertimbangan untuk melakukan penelitian terkait ekstrak cacing tanah (*Pheretima javanica*) sebagai obat alternatif demam tifoid yang disebabkan *Salmonella thypi*.

BAB 2. TINJAUAN PUSTAKA

2.1 Cacing tanah (*Pheretima javanica*)

Cacing tanah merupakan hewan yang tidak memiliki tulang belakang (invertebrata), hewan ini termasuk ke dalam filum annelida. Cacing tanah normalnya muncul pada malam hari namun saat cuaca hujan dan lembab mereka berada dekat dengan tanah permukaan dengan mulut atau anus yang menonjol keluar. Ketika cuaca panas dan kering mereka bersembunyi beberapa meter di dalam tanah, tubuhnya menggulung pada tanah yang lembab dan menjadi dorman. Tubuhnya tersusun atas segmen-segmen, pada umumnya setiap segmen memiliki empat pasang setae (Hickman *et al.*, 2008).

Klasifikasi cacing tanah (*Pheretima javanica*) menurut *database* koleksi zoologi oleh Universitas Harvard (2018) sebagai berikut :

Kingdom : Animalia

Phylum : Annelida

Class : Oligochaeta

Order : Haplotaxida

Family : Megascolecidae

Genus : *Pheretima*

Spesies : *Pheretima javanica*

2.1.1 Morfologi Cacing Tanah

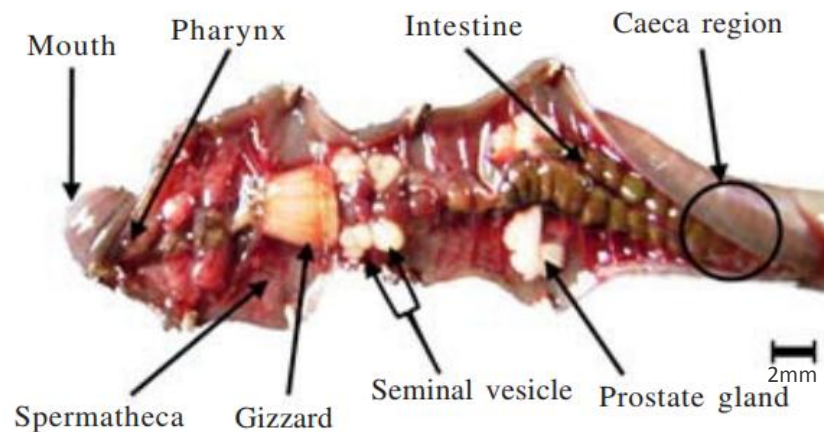
Cacing genus *Pheretima* memiliki panjang tubuhnya yang berkisar antara 150-185 mm dengan diameter 5-6 mm, mempunyai jumlah segmen antara 125-145. Bagian dorsal mempunyai warna coklat keunguan dengan bagian ventral yang berwarna pucat atau abu-abu keputihan. Ujung anterior berwarna coklat kekuningan dan ujung posterior coklat pucat/kuning. Prostomium epilobus, klitellium berbentuk annular dan tidak menebal, segmen terlihat jelas, mempunyai dua tipe *perichaetin*. Lubang jantan berjumlah sepasang terletak disegmen ke-18 dan satu lubang betina pada segmen ke-14 (Jayanthi *et al.*, 2014).

Pheretima merupakan cacing tanah endemik di Asia Tenggara, India bagian timur, dan Jepang, Ishizuka (1999) mengkarakterisasi cacing tanah ini di Jepang dan didapatkan data bahwa *Pheretima* memiliki badan yang silindris dengan seta berjumlah banyak pada setiap segmen. Klitelum berlokasi pada segmen XIV-XVI, sepasang atau satu lubang jantan dengan bukaannya pada permukaan segmen XVIII. Satu lubang betina di segmen XIV. Sepasang lubang *spermatheca* pada segmen V-IX (Darmawan, *et al.*, 2002).

Pheretima javanica berwarna kehitaman dengan panjang 145 mm-190 mm merupakan cacing tanah yang paling banyak jumlah populasinya dibanding *Pontoscolex coretrurus*, *Lumbricus rubellus*, dan *Pheretima capensis* khususnya di Pulau Jawa serta mempunyai tubuh relatif lebih besar dan panjang di antara cacing tanah tersebut (Waluyo *et al.*, 2007). *Pheretima javanica* memiliki sifat lebih liar, agresif, rakus, dan kulitnya lebih tebal dibanding cacing tanah lainnya. Sifat-sifat tersebut membuat cacing ini memiliki kekebalan tubuh dan antibakteri yang lebih kuat dibanding cacing tanah *Pontoscolex coretrurus*, *Lumbricus rubellus*, dan *Pheretima capensis* (Waluyo, 2004).

2.1.2 Anatomi Cacing Tanah

Cacing tanah genus *Pheretima* memiliki satu *gizzard* pada segmen 7/8 dan 9/10 dengan kutikula yang tebal untuk menghancurkan makanan. Usus halus dilengkapi dengan *typhlosole* yang berfungsi untuk memperluas daerah penyerapan. Usus besar pada segmen XXVII. Faring berdiameter sekitar 2 mm dan terletak di rongga mulut bagian posterior, epiteliumnya bersilia untuk membantu makanan lewat. Pembuluh darah dorsal mengalirkan darah dari bagian posterior ke bagian anterior sedangkan pembuluh darah ventral kebalikannya. Sehingga lapisan otot pembuluh darah dorsal lebih tebal dibanding dengan pembuluh darah ventral dan diameter pembuluh darah dorsal pun lebih besar dibanding dengan pembuluh darah ventral (Darmawan, *et al.*, 2002).



Gambar 2.1 Anatomi cacing tanah (Sumber: Darmawan *et al.*, 2002)

Terdapat vesikula seminalis dan *spermatheca* tempat menyimpan sperma ketika kopulasi dan menyimpannya hingga terjadi fertilisasi. Selama masa dewasa vesikula seminalis (Gambar 2.1) menyediakan tempat untuk perkembangan sperma dan kelenjar prostat akan menyekresikan semen untuk sperma (Darmawan, *et al.*, 2002).

2.1.3 Senyawa pada Cacing Tanah

Cacing tanah memiliki efek antibakteri terhadap bakteri gram negatif dan bakteri gram positif yang bersifat bakteriastatik dan bakterisid, hal ini disebabkan karena cacing tanah memiliki senyawa aktif antara lain golongan senyawa alkaloid (Suryani, 2010). Menurut Dales (1992) dalam Suryani (2010) cacing tanah mempunyai mekanisme imunitas terhadap patogen dengan cara cacing tanah akan menghasilkan hyalin dan granular *amoebocytes* yang mempunyai kemampuan dalam proses fagositosis, menghasilkan *chloragocytes* yang menghasilkan produk ekstraseluler yang bersifat sitotoksik dan antibacterial.

Saluran pencernaan cacing tanah mengandung enzim lumbrokinase, yakni enzim yang terdiri dari 6 isoenzim protease serin. Sebagian besar enzim ini mengandung asparagin atau asam aspartat, sebagian kecil mengandung prolin atau lisin. Enzim lumbrokinase berpotensi untuk digunakan sebagai fibrinolitik dan antitrombotik (Gayatri dan Purwastyastuti, 2013). Berat molekul enzim

lumbrokinase adalah 24,6 sampai 33.0 kDa. Suhu optimal untuk enzim ini adalah 50°C dengan pH optimal ialah 4-12 (Cho *et al.*, 2008).

Beberapa jenis cacing tanah telah diketahui mempunyai senyawa bioaktif dan terbukti dapat menghambat bakteri patogenik. seperti glikolipoprotein G-90 dan fetidin dari cacing *Eisenia foetida* (Liu *et al.*, 2004; Popovic *et al.*, 2005), lysozyme dari *E. foetida andrei* (Salzet *et al.*, 2006), hestidin dari cacing *Nereis diversicolor* (Tasiemski *et al.*, 2006) dan cacing tanah *Dendrobaena veneta* (Kalac *et al.*, 2002). *Pheretima javanica* memiliki kandungan asam amino hidroksiprolin 19,04% yang berperan dalam aktivitas antibakteri. Berat molekul protein antibakteri pada *Pheretima javanica* terhadap bakteri *Salmonella typhi* ialah 31,0 kDa dan 34,0 kDa (Waluyo, 2004).

Ekstrak protein cacing tanah jenis *Pheretima javanica* menunjukkan aktivitas antibakteri lebih tinggi dibandingkan ekstrak protein cacing tanah lain seperti ekstrak *Pheretima* sp. dan *Pheretima acatina* melalui metode difusi agar pada media nutrisi yang ditunjukkan dengan diameter zona hambat terbesar pada kultur bakteri gram negatif *Escherichia coli*, *Shigella dysenteriae*, *Staphylococcus aureus*, dan *Salmonella typhi* yang menghasilkan zona hambat masing-masing 12,67 mm; 10,45 mm; dan 8,0 mm (Waluyo, 2004).

Cacing tanah mengandung *Lumbricin-1* yakni peptida antimikroba kaya prolin dari 62 asam amino yang menunjukkan aktivitas antimikroba in vitro terhadap jamur, bakteri gram positif dan gram negatif tanpa adanya aktivitas hemolitik (Tasiemski, 2008). Senyawa *lumbricin* mampu merubah dan merusak mekanisme permeabilitas membran sehingga bakteri akan kehilangan metabolit sel (Indriati, 2012).

Lumbricin-1 merupakan antimikroba peptida yang berhasil diisolasi dan dikarakterisasi dari *Lumbricus rubellus*. *Lumbricin-1* diproses dari sebuah prekursor yang mengandung sebuah sinyal peptida diikuti langsung oleh molekul aktif yang mensugesti bahwa antimikroba peptida ini dapat ditemukan di lingkungan ekstraseluler (Tasiemski, 2008). Wang (2003) berhasil mengisolasi antimikroba peptida pada cacing *Pheretima tschiliensis* yang mirip dengan

lumbricin-1, dinamakan dengan PP-1. Bagaimanapun juga PP-1 ditemukan di mukus yang menyelimuti hewan tersebut dan bukan ada pada sel epidermis.

2.2 Ekstraksi

Ekstraksi adalah salah satu teknik pemisahan kimia yang bertujuan untuk memisahkan satu atau lebih senyawa (analit) dari suatu sampel dengan menggunakan pelarut tertentu yang sesuai (Leba, 2017). Ekstraksi menggunakan pelarut terdiri dari cara dingin meliputi maserasi, perkolasi dan cara panas meliputi refluks, soxhletasi, infus, dekok dan digesti (Depkes, 2000). Prinsip kerja maserasi ialah merendam sampel pada suhu kamar menggunakan pelarut yang sesuai sehingga dapat melarutkan analit dalam sampel. Proses perendaman umumnya berlangsung 3-5 hari sambil diaduk sesekali untuk mempercepat proses pelarutan analit. Perlokasi dilakukan dengan cara mengalirkan pelarut secara perlahan pada sampel dalam suatu perlokator. Pelarut ditambahkan secara terus menerus hingga analit dalam sampel terekstraksi secara sempurna. Sokletasi adalah jenis ekstraksi dengan menggunakan soklet, prinsipnya ialah pelarut dipanaskan dan uap pelarut yang dihasilkan didinginkan dalam kondensor hingga membasahi sampel dan secara teratur pelarut dimasukkan kembali ke dalam labu dengan membawa analit (Leba, 2017).

Faktor-faktor yang mempengaruhi kandungan senyawa hasil ekstraksi diantaranya : jenis pelarut, konsentrasi pelarut, metode ekstraksi, suhu yang digunakan dalam proses ekstraksi (Senja *et al.*, 2014), ukuran partikel sampel, kondisi dan waktu penyimpanan, lama waktu ekstraksi, dan perbandingan jumlah sampel terhadap jumlah pelarut yang digunakan (Salamah, 2015). Senyawa yang bersifat non polar akan larut dalam pelarut non polar sedangkan senyawa yang bersifat polar akan larut dalam pelarut polar. Contoh pelarut polar ialah air, metanol, dan asam asetat (Sayuti, 2017).

2.3 Tikus Putih (*Rattus norvegicus*)

Bahan obat yang penggunaannya pada manusia perlu diteliti terlebih dahulu baik keefektifitasannya dan keamanannya, namun menyertakan subjek manusia hanya boleh dilakukan bila bahan yang diuji telah lolos pengujian di laboratorium secara tuntas, dilanjutkan dengan menggunakan hewan percobaan untuk kelayakan dan keamanan. Umumnya respon manusia terhadap paparan obat secara kualitatif mirip dengan respon hewan. Salah satu kelebihan digunakannya hewan coba ialah dapat menggunakan satu atau beberapa dosis yang relatif tinggi yang menginduksi tanda-tanda toksisitas, tanda ini menunjukkan secara tepat organ sasaran dan efek khusus yang timbul (Lu, 1995).

Tikus (*Rattus norvegicus*) merupakan hewan yang umum digunakan dalam penelitian ilmiah. *Rattus norvegicus* memiliki berat 150-600 gram, hidung yang tumpul dan panjang badan 18-25 cm, memiliki kepala dan badan yang lebih pendek dari ekornya, serta telinga relatif kecil dengan panjang 20-23 mm (Malole dan Pramono, 2005).

Berikut merupakan klasifikasi dari tikus putih (*Rattus norvegicus*) menurut itis.gov (2018)

Kingdom : Animalia

Filum : Chordata

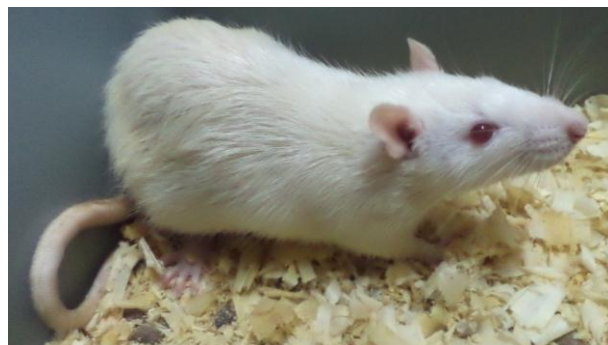
Kelas : Mamalia

Ordo : Rodentia

Famili : Muridae

Genus : *Rattus*

Species : *Rattus norvegicus*



Gambar 2.2 Tikus putih (*Rattus norvegicus*) strain wistar (Sumber: Dokumentasi Pribadi)

Tikus sering digunakan sebagai objek percobaan dalam sebuah penelitian khususnya penelitian yang berkaitan dengan biomedis karena mudah untuk diperkembang biakkan dan cepat untuk tumbuh dewasa, sehingga akan mempermudah peneliti. Tikus putih memiliki anatomi dan fisiologi yang mirip dengan manusia, manusia dan tikus memiliki organ yang membentuk sistem dimana letaknya dapat diketahui melalui terminologi anatomi. Organ-organ vital pada tikus dan manusia berada pada tempat yang dinamakan rongga tubuh (*body cavity*) yang berfungsi untuk melindungi dari gangguan eksternal sekaligus memungkinkan perubahan bentuk dan ukuran organ tanpa mengganggu fungsi organ yang lain (Jatmiko *et al.*, 2012).

2.3 Uji Toksisitas Subakut

Interaksi antara toksikan dan sel dapat berakibat munculnya efek-efek yang disebut dengan toksisitas (Jothy *et al.*, 2011). Uji toksisitas bertujuan untuk mengetahui efek yang ditimbulkan akibat interaksi toksikan dan sel tadi, uji ini berdasarkan pemaparan toksikan dibedakan menjadi toksisitas akut, toksisitas subakut, dan toksisitas subkronik (Bhardwaj dan Gupta, 2012).

Uji toksisitas subakut oral adalah suatu pengujian untuk mendeteksi efek toksik yang muncul setelah pemberian sediaan uji dengan dosis berulang yang diberikan melalui oral pada hewan uji selama sebagian umur hewan, tetapi tidak lebih dari 10% seluruh umur hewan. Hewan uji diberi sediaan setiap hari dan diamati setiap hari untuk menentukan adanya toksisitas. Tujuan uji toksisitas subakut oral untuk memperoleh informasi adanya efek toksis pada zat yang tidak terdeteksi pada uji toksisitas akut yang hanya dilakukan sekali pemberian sediaan uji, informasi didapat karena adanya kemungkinan efek toksis setelah pemaparan sediaan uji yang diberikan secara berulang selama 28 hari, tujuan lain untuk memperoleh informasi dosis yang tidak menimbulkan efek toksis atau NOAEL (*No Observed Adverse Effect Level*), dan mempelajari adanya efek kumulatif dan efek reversibilitas zat yang diuji (BPOM, 2014).

Cara pemberiaan sediaan pada hewan uji harus sama dengan jalur yang sama pada manusia, biasanya melalui oral. Suatu zat kimia yang mudah menguap

atau memiliki rasa tidak enak diberikan melalui sonde. Dosis dinyatakan dalam mg/KgBB, ketika hewan tumbuh dan terjadi perubahan berat badan maka dosis diubah sesuai dengan berat badan hewan tersebut. Pemeriksaan meliputi penampilan, perilaku, dan semua abnormalitas. Bila terdapat hewan yang sakit atau mati maka disingkirkan dari kandang dan diperiksa secara umum (Lu, 1995).

Pengamatan berat badan juga turut dilakukan untuk mengetahui adanya efek toksis yang terjadi pada tikus putih (Bhardwaj dan Gupta, 2012). Pengamatan histopatologi dilakukan untuk mengetahui adanya perubahan struktur sel-sel pada organ yang diamati akibat toksisitas dari suatu senyawa (Jothy *et al.*, 2011). Jika pemberian bahan uji melebihi 7 hari maka dilakukan pengamatan pada berat organ, menurut Sellers *et al.* (2007) efek toksik suatu senyawa dapat diamati melalui berat organ apabila pemberian bahan uji dilakukan minimal selama 7 hari.

Berat relatif organ merupakan indeks penting untuk melihat keadaan fisiologis dan patologi organ tubuh hewan coba setelah paparan sediaan uji, berat relatif organ merupakan dasar untuk mendiagnosis ada tidaknya kerusakan organ karena reaksi metabolisme bahan toksik (Jothy *et al.*, 2011). Jantung dan paru-paru sebagai organ yang diamati ditimbang terlebih dahulu sehingga didapatkan bobot organ absolut. Bobot relatif organ diperoleh dengan cara membagi bobot organ absolut dengan bobot badan (BPOM, 2014).

Tabel 2.1 Berat organ tikus putih strain wistar jantan umur 10 minggu

Berat organ					
Otak (g)	Jantung (g)	Paru-Paru (g)	Hati (g)	Ginjal (g)	Testis (g)
1,870	0,849	0,968	5,156	1,304	2,149

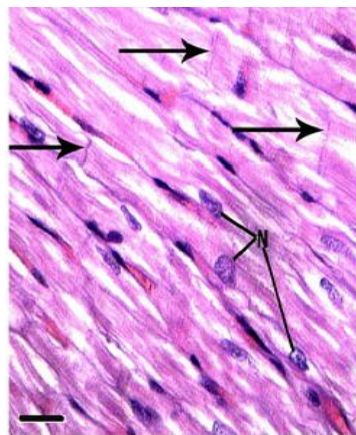
(Sumber: NBPR, 2018)

2.5. Histopatologi Jantung

Histopatologi dapat dilakukan dengan mengambil sampel jaringan. Pemeriksaan histopatologi bertujuan untuk memeriksa penyakit berdasarkan pada reaksi perubahan jaringan. Pemeriksaan ini hendaknya disertai dengan pengetahuan tentang gambaran histologi normal jaringan sehingga dapat dilakukan perbandingan antara kondisi jaringan normal terhadap jaringan sampel (abnormal). Melalui perbandingan kondisi jaringan tersebut maka dapat diketahui

apakah suatu penyakit yang diduga benar-benar menyerang atau tidak (Aisyah *et al.*, 2014).

Ciri-ciri otot jantung antara lain : sel bercabang memanjang, berbentuk silindris dengan diameter 10-29 μm dan panjang 50-100 μm , inti terletak di tengah berbentuk oval, terdapat diskus interkalaris, memiliki banyak sarkoplasma dan glikogen, retikulum sarkoplasma kurang berkembang dibanding otot rangka, dan bentuk serabut otot poligonal (Elbab dan Elhamd, 2017).



Gambar 2.3 Potongan melintang otot jantung tikus normal. Tanda panah menunjukkan diskus interkalaris, garis menunjukkan inti yang terletak ditengah. H&E. Bar = 6,25 μm (Sumber : El-Desouki *et al.*, 2012)

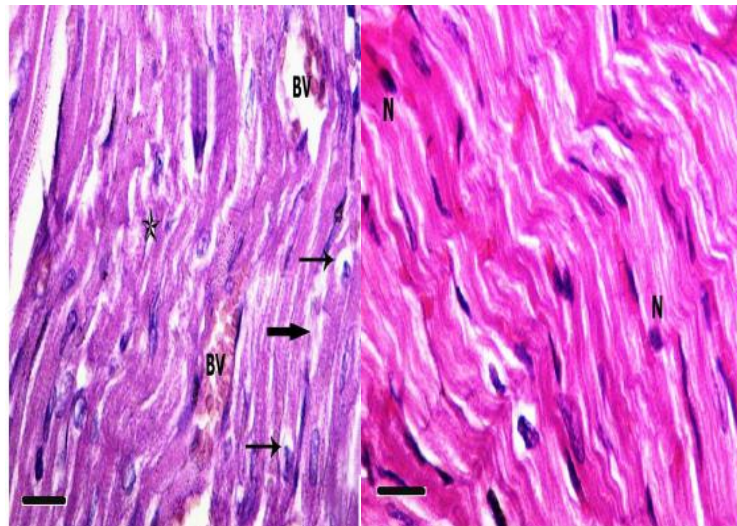
Perubahan struktur jantung akibat toksikan yang dapat tampak pada pemeriksaan mikroskopik antara lain :

a. Inti yang mengalami piknosis, piknosis dianggap sebagai kondensasi kromatin dan nukleus yang tidak dapat kembali. Biasanya terjadi di kedua jenis kematian sel yakni apoptosis dan nekrosis. Inti sel dalam sel-sel yang mengalami nekrosis terkumpul ke dalam gumpalan kromatin yang lebih kecil secara tidak teratur dan tersebar, yang nantinya akan lebur. Inti tampak lebih padat dan berwarna hitam (Hou *et al.*, 2016).

b. Vakuolisasi sitoplasma, terbentuknya vakuola atau disebut dengan vakuolisasi sitoplasma pada sel mamalia dibedakan menjadi dua macam yakni bersifat sementara dan bersifat tetap atau irreversible. Vakuolisasi bersifat sementara terjadi hanya saat pembukaan untuk sebuah *inducer* dan berefek reversibel terhadap siklus sel. Vakuolisasi yang bersifat irreversible merupakan tanda

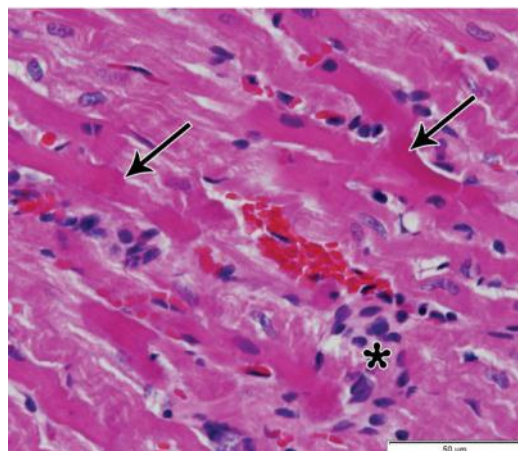
kondisi sitopatologi yang nantinya menyebabkan kematian sel, bila diikuti dengan munculnya tanda sitotoksik (Shubin *et al.*, 2016).

c. Degenerasi adalah keadaan dimana terjadi perubahan biokimia dan morfologi sel akibat cedera pada sel tersebut (Sriyanti, 2016)



Gambar 2.4 Potongan melintang otot jantung tikus yang mengalami stres. Vekuolisasi sarkoplasma (tanda panah tipis), degenerasi serabut otot (tanda panah tebal), pembuluh darah yang melebar dan padat (BV), dan inti yang mengalami piknosis (N). H&E. Bar = 6,25 μ m (Sumber : El-Desouki *et al.*, 2012)

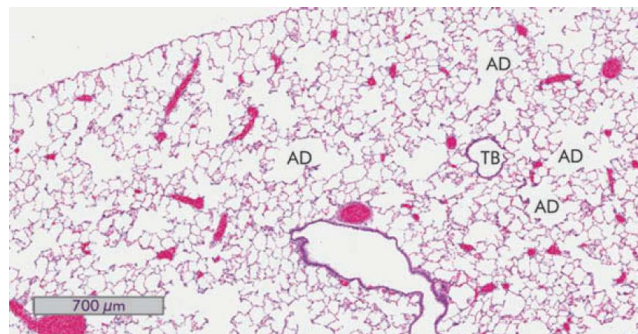
d. Nekrosis dapat disebabkan oleh mikroorganisme, virus, zat kimia, dan agen lainnya yang bersifat merusak. Sel-sel yang nekrotik akan membengkak, organelnya bertambah besar, dan akhirnya pecah, yang akan melepaskan isinya ke dalam ruang ekstrasel (Anthony, 2010).



Gambar 2.5 Potongan melintang otot jantung tikus yang mengalami nekrosis (tanda panah). H&E. Bar = 50 μ m (Sumber : Ahmed *et al.*, 2015)

2.6.Histopatologi Paru-Paru

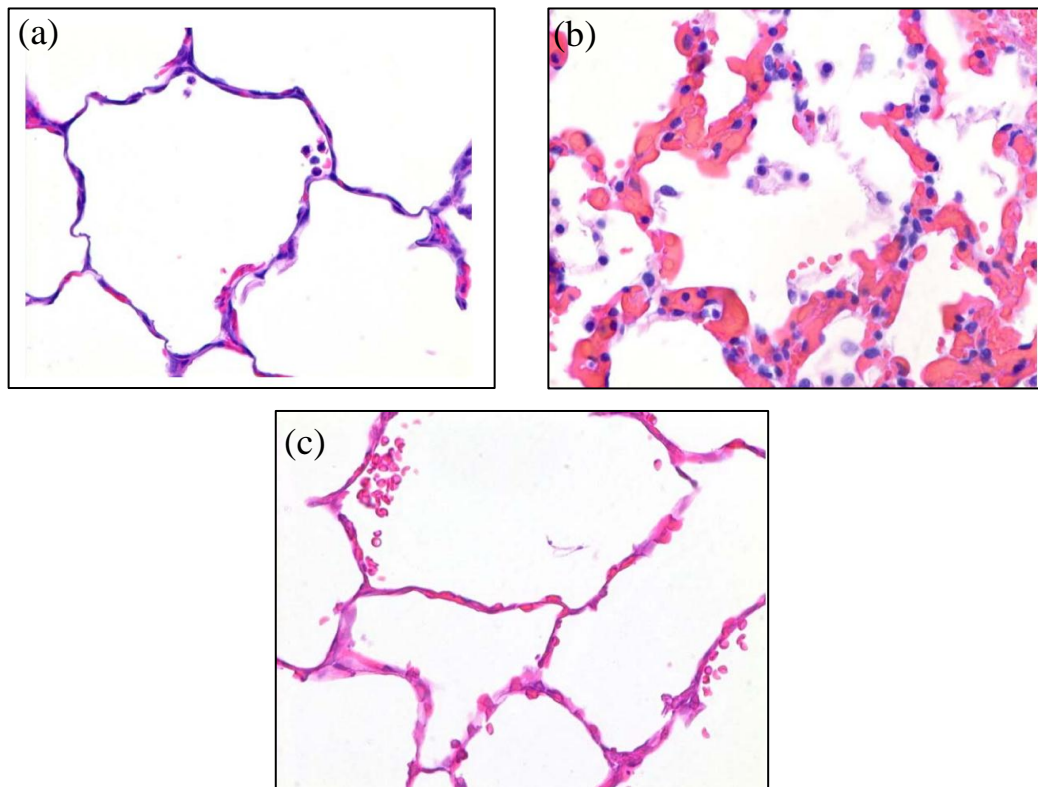
Teknik pemeriksaan histopatologi berguna untuk mendeteksi adanya komponen patogen yang bersifat infeksiif melalui pengamatan secara mikroanatomi (Hadjipour, 2011). Paru-paru merupakan organ yang berhubungan dengan lingkungan luar tubuh sehingga mudah terpapar agen infeksius atau non-infeksius melalui rute aerogenous, selain itu paru-paru merupakan organ dengan pembuluh darah kapiler terbanyak yang berarti paru-paru juga mudah terserang agen infeksius atau non-infeksius yang menyebar secara hematogenous (Aughey dan Frye, 2001). Ciri-ciri paru-paru normal dapat dilihat pada Gambar 2.6.



Gambar 2.6 Potongan paru-paru tikus normal, terdapat bronkiolus terminal (TB) dan beberapa ductus alveolaris (AD). H&E. Skala bar = 700 μm (Sumber : Sumber: Porter *et al.*, 2015)

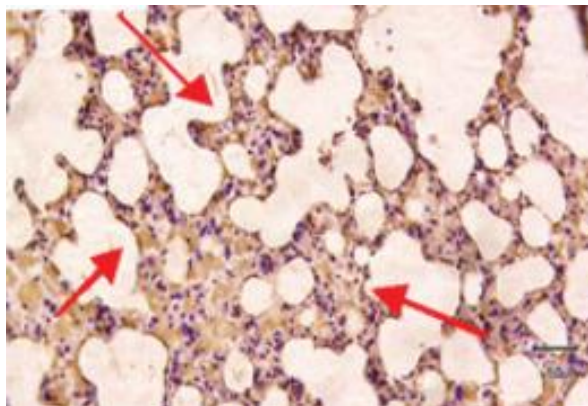
Edema paru terjadi bila cairan yang difiltrasi oleh dinding mikrovaskuler lebih banyak daripada yang bisa dikeluarkan yang berakibat alveoli penuh terisi cairan sehingga tidak memungkinkan terjadinya pertukaran gas. Pada edema paru terdapat penimbunan cairan serosa atau serosanguinosa secara berlebihan di dalam ruang interstisial dan alveoli paru (Rampengan, 2014).

Hemoragi dicirikan dengan adanya eritrosit didalam lumen alveolar, kongesti dicirikan dengan terisinya pembuluh kapiler dengan darah yang berlebih sehingga darah keluar ke ruang udara (Kubiak et al., 2010). Perbandingan paru-paru normal dan yang mengalami hemoragi serta kongesti dapat dilihat pada Gambar 2.7.



Gambar 2.7 Perbandingan paru-paru dalam kondisi normal, kongesti, dan hemoragi. (a) paru-paru dalam kondisi normal, (b) paru-paru mengalami kongesti, dan (c) paru paru yang mengalami hemoragi. H&E. (Sumber : Kubiak *et al.*, 2010)

Perubahan histopatologi paru-paru yang terakhir ialah infiltrasi sel radang. Gambaran paru-paru yang mengalami infiltrasi sel radang dapat dilihat pada Gambar 2.8.



Gambar 2.8 Paru-paru tikus yang mengalami infiltrasi sel radang pertambahan tebal septum alveolar (tanda panah). M= 200x (Sumber: Wang *et al.*, 2017)

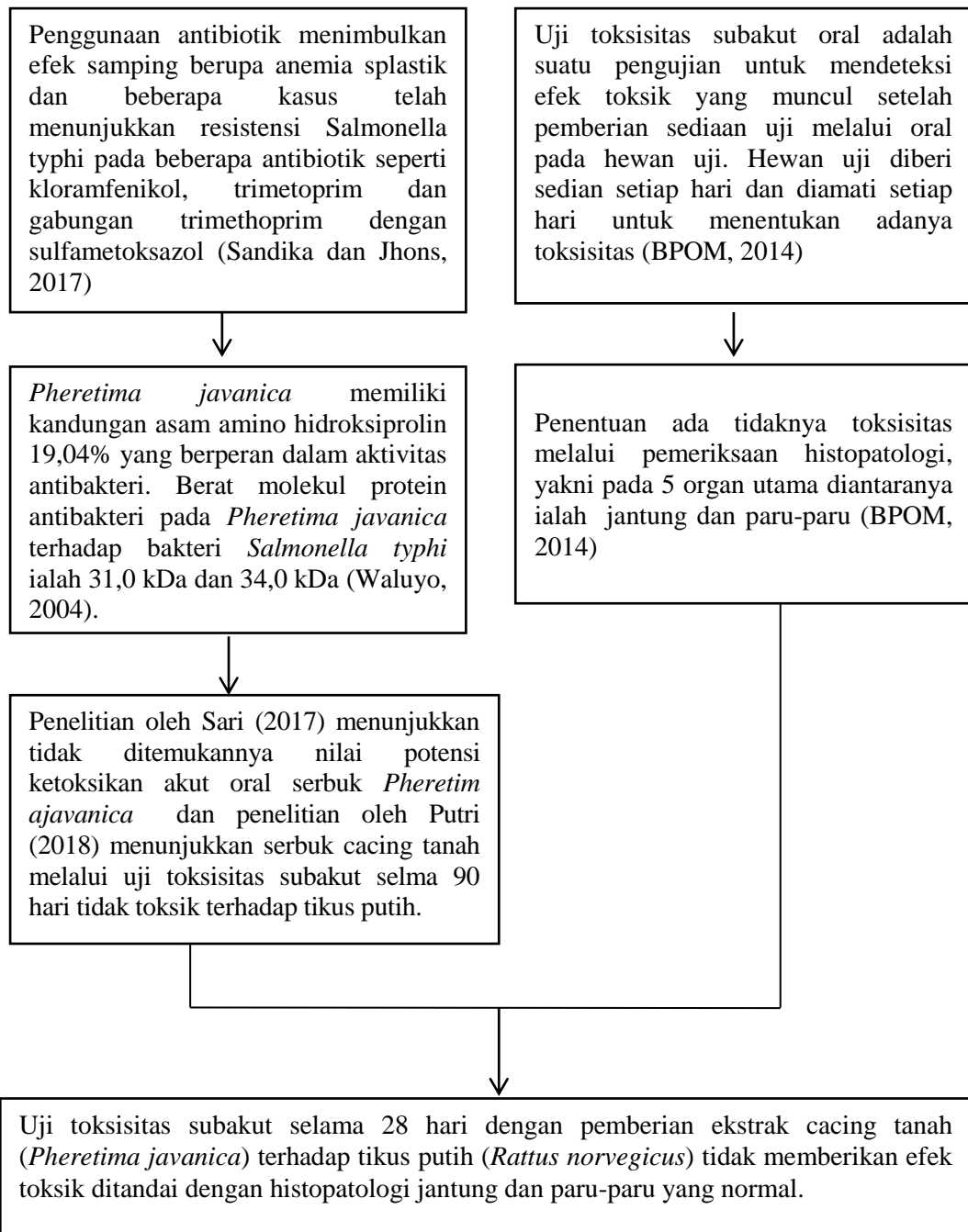
Paru-paru memiliki mekanisme pertahanan untuk melindungi diri dari partikel asing. Partikel asing dalam alveolus menyebabkan peradangan. Peradangan (inflamasi) adalah suatu reaksi kompleks terhadap agen atau bahan yang merugikan. Peradangan berfungsi untuk menghancurkan, mengencerkan, atau membatasi agen yang merugikan, dan memicu terjadinya serangkaian proses yang mencoba untuk memulihkan dan mengganti jaringan yang rusak (Herdiani dan Putri, 2018).

2.7 Cara Kerja Senyawa Aktif dalam Organ Hewan

Cacing tanah mengandung senyawa aktif golongan alkaloid, mekanisme kerja alkaloid dalam menghambat pertumbuhan bakteri dengan cara mengganggu komponen penyusun peptidoglikan pada sel bakteri, sehingga dinding sel tidak terbentuk atau tidak terbentuk secara sempurna (Busman *et al*, 2018). Selain itu terdapat pula senyawa *lumbricin* yang mampu merubah dan merusak mekanisme permeabilitas membran sehingga bakteri akan kehilangan metabolit sel (Indriati, 2012). Ekstrak cacing tanah sebagai obat tradisional yang dikonsumsi oleh tikus putih akan diedarkan ke seluruh tubuh melalui pembuluh darah, dimana pembuluh darah melakukan peredaran dari dan ke jantung (Aisyah *et al.*, 2014).

Lumbrokinase merupakan enzim dengan struktur berupa polipeptida. Penelitian *in vitro* menunjukkan bahwa 15% LrP-III-1 diabsorpsi melalui epitel usus. Sekitar 10% enzim ditranspor melalui peritoneum setelah injeksi intraperitoneal pada tikus. Aktivitas maksimum pada darah terdeteksi dalam 60 menit setelah injeksi. Lumbrokinase yang disekresi oleh spesies *Eisenia andrei* dengan berat molekul 33,6 dan 54,7 kDa dapat diabsorpsi oleh epitel intestinal tikus (Gayatri dan Purwastyastuti, 2013). Aktivitas antiiskemia lumbrokinase pada otak dengan cara meningkatkan kadar cAMP dan meningkatkan pelepasan kalsium dari simpanan kalsium dalam sel aktivitas antitrombosis akibat hambatan terhadap ekspresi ICAM-1 (*Intercellular adhesion molecule-1*), dan antiapoptosis akibat aktivasi jalur JAK1/ STAT1 (*Janus Kinase-1/Signal Transducers and Activators of Transcription-1*) (Ji *et al.*, 2008).

2.8 Kerangka Berpikir



2.9 Hipotesis

Hipotesis dari penelitian yang dilakukan adalah sebagai berikut :

- a. Ekstrak cacing tanah (*Pheretima javanica*) tidak toksik terhadap tikus putih ditandai dengan histopatologi jantung yang normal.
- b. Ekstrak cacing tanah (*Pheretima javanica*) tidak toksik terhadap tikus putih ditandai dengan histopatologi paru-paru yang normal.

BAB 3. METODE PENELITIAN

3.1 Jenis Penelitian

Jenis penelitian ini merupakan penelitian eksperimental laboratorium, karena perlakuan dan lokasi penelitian dilakukan di laboratorium yang disertai adanya kelompok kontrol, penelitian menggunakan rancangan acak kelompok lengkap.

3.2 Tempat dan Waktu Penelitian

Penelitian ini dilaksanakan di Laboratorium Farmakologi Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Jember dan Laboratorium Biologi Progam Studi Pendidikan Biologi Universitas Jember. Waktu penelitian dimulai pada bulan Oktober 2018-Januari 2019.

3.3 Identifikasi Variabel Penelitian

3.3.1 Variabel Bebas

Variabel bebas dalam penelitian ini yaitu besarnya dosis ekstrak cacing tanah (*Pheretima javanica*).

3.3.2 Variabel Terikat

Variabel terikat dalam penelitian ini adalah histopatologi jantung dan paru-paru tikus putih (*Rattus norvegicus*) akibat pemberian ekstrak cacing tanah (*Pheretima javanica*).

3.3.3 Variabel Kontrol

Variabel kontrol dalam penelitian antara lain:

- a. Jenis hewan coba adalah tikus putih (*Rattus norvegicus*) strain wistar;
- b. Hewan coba dalam keadaan sehat;
- c. Umur hewan coba 3-4 bulan;
- d. Berat hewan coba 200-250 gram;

- e. Jenis kelamin hewan coba ialah jantan;
- f. Pelarut adalah ethanol 70%;
- g. Waktu pemberian ekstrak selama 28 hari, sehari satu kali induksi.

3.4 Alat dan Bahan Penelitian

3.4.1 Alat Penelitian

Alat yang digunakan pada penelitian ini yaitu: oven, blender, ayakan, nampan, neraca analitik, kandang tikus, tempat makan dan minum tikus, kamera digital, rotary evaporator, tabung kapiler, mangkuk kecil, kawat kasa, gelas ukur, pipet volume, mikrotom, spatula, sonde lambung, bunsen, inkubator, gunting, papan bedah, alat bedah, gelas objek, gelas penutup, kertas label, mikroskop, srynge, dan meja kaki 3.

3.4.2 Bahan penelitian

Bahan yang digunakan antara lain: cacing tanah (*Pheretima javanica*), tikus putih (*Rattus norvegicus*) jantan, pakan dan minum tikus, sekam, ethanol 70%, formalin 10%, xylol, parafin, pewarna hematoxilyn eosin dan aquades.

3.5 Jumlah dan Pemilihan Sampel

3.5.1 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, 2 kelompok satelit, dan 1 kelompok kontrol negatif 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 (4 kelompok perlakuan, 2 kelompok satelit, dan 1 kelompok kontrol negatif). Terdapat 6 perlakuan dengan setiap perlakuan dilakukan 4 kali ulangan, sehingga sampel yang digunakan dalam penelitian ini berjumlah total 24 ekor tikus putih.

3.5.2 Pemilihan Sampel

Tikus putih (*Rattus norvegicus*) sejumlah 24 ekor diaklimatisasi terlebih dahulu selama 1 minggu sebelum digunakan dalam penelitian, selama dalam pemeliharaan tikus diberi makan dan minum sesuai takaran. Cara untuk menghindari bias terhadap berat badan 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 penelitian. Definisi operasional pada penelitian ini yaitu:

- a. Toksisitas subakut adalah uji yang dilakukan pada hewan uji dengan memberikan ekstrak cacing tanah (*Pheretima javanica*) sebanyak satu kali sehari selama 28 hari dan pengamatan 14 hari untuk kelompok satelit.
- b. 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. Cacing yang telah kering diblender hingga halus dan diayak, tahap berikutnya serbuk cacing tanah dimaserasi dengan ethanol 70% selama 3 hari. Tahap berikutnya dilakukan rotary evaporasi, hasil yang didapat dioven hingga menjadi pasta.
- c. Histopatologi digunakan untuk menggambarkan kerusakan serta perubahan yang timbul akibat dari pemberian ekstrak cacing tanah (*Pheretima javanica*) selama 28 hari pada organ jantung, dan paru-paru
- d. Pemeriksaan histopatologi pada jantung melihat adanya inti piknosis,

vakuolisasi sitoplasma, degenerasi, dan nekrosis.

- e. Pemeriksaan histopatologi pada paru-paru melihat kongesti, edema, inflamasi, dan hemoragi.

3.7 Desain Penelitian

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

Tabel 3.1 Rancangan penelitian toksisitas subakut ekstrak cacing tanah (*Pheretima javanica*) pada tikus putih (*Rattus norvegicus*) jantan.

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

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 :Kelompok satelit dengan induksi aquades yang dibiarkan selama 14 hari setelah 28 hari perlakuan untuk melihat reversibilitas

S2 :Kelompok satelit dengan induksi ekstrak cacing tanah dengan dosis 1000 mg/KgBB yang dibiarkan selama 14 hari setelah 28 hari perlakuan untuk melihat reversibilitas

U :Ulangan

3.8 Prosedur Penelitian

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

3.8.1 Persiapan Pembuatan Ekstrak Cacing Tanah (*Pheretima javanica*)

Pembuatan ekstrak cacing tanah yakni cacing tanah (*Pheretima javanica*) yang telah didapat dikeringkan selama 3-7 hari, kemudian cacing tanah yang telah benar-benar kering di oven dengan suhu 40°C selama 4 jam. Tahap selanjutnya

diblender hingga menjadi bubuk halus, berikutnya dilakukan maserasi selama 3 hari dengan perbandingan serbuk cacing:etanol 70% ialah 1:3 (Soedjoto, 2016). Setelah 3 hari dilakukan penyaringan dan dirotari evaporarasi. Hasil yang didapat dioven agar menjadi ekstrak berbentuk pasta. Ekstrak ini dan ditimbang dengan 3 variasi dosis yakni 50 mg; 500 mg; dan 1000 mg/ KgBB.

3.8.2 Tahap Pengujian Tikus Putih (*Rattus norvegicus*)

a. Tahap Persiapan

Tikus putih (*Rattus norvegicus*) yang telah memenuhi kriteria sampel ditempatkan di dalam kandang dengan penerangan 12 jam terang 12 jam gelap. Hewan sudah diaklimatisasikan sebelumnya, bertujuan untuk menyeragamkan dan mengamati keadaan tikus putih (*Rattus norvegicus*) awal sebelum dilakukan perlakuan kemudian ditempatkan pada masing-masing kandang.

b. Pemeliharaan dan Perawatan

Pemeliharaan dan perawatan dilakukan di Laboratorium Farmakologi fakultas Kedokteran Gigi Universitas Jember. Hewan coba dipelihara dalam kandang khusus dengan mengganti sekam selama 4 hari sekali, bertujuan untuk menjaga kesehatan hewan coba. Selama di aklimatisasi, hewan coba diberi makan dan minum.

c. Dosis yang Digunakan dalam Penelitian

Dosis yang digunakan dalam penelitian ini diperoleh berdasarkan dosis terkeci dari uji akut ekstrak cacing tanah (*Pheretima javanica*) sebesar 50 mg dan batas dosis sebesar 1000 mg/KgBB menurut ketentuan BPOM. Dosis yang digunakan ialah 50 mg; 500 mg; 1000 mg/KgBB.

3.8.3 Pemberian Ekstrak Cacing Tanah (*Pheretima javanica*)

Selama 28 hari tikus diberi ekstrak cacing tanah (*Pheretima javanica*) dengan dosis 50 mg; 500 mg; 1000 mg/KgBB. Induksi ekstrak dilakukan satu kali sehari.

3.8.4 Pengamatan Gejala Toksisitas

Setiap hari dilakukan pengamatan fisik dan pola aktivitas, untuk dilihat munculnya tanda-tanda gejala toksik. Tanda-tanda toksik yang diamati dapat dilihat pada Tabel 3.2.

Tabel 3.2 Penilaian gejala toksisitas pada tikus

Nilai	Kategori	Parameter
1	Tidak ada indikasi sakit dan tidak stress	Rambut terawat baik, peka terhadap rangsang, dalam kondisi yang baik (tenang atau tertidur), nafsu makan normal, dan nilai skor kondisi tubuh 3,4, atau 5
2	Sakit dan stress ringan	Rambut tidak terawat, gaya berjala canggung, sedikit membungkuk, adanya luka, agak gelisah, dan nilai skor kondisi tubuh 2
3	Sakit dan stress sedang	Rambut kasar atau berdiri, gigi seri kotor, mata menyipit, berjalan membungkuk dan atau lambat, tertekan atau gelisah, dehidrasi ringan, kurang istirahat, terlihat tidak nyaman, tidak nafsu makan, dan nilai skor kondisi tubuh 2
4	Sakit dan stress parah	Rambut sangat kasar atau berdiri, mata cekung (menunjukkan tanda dehidrasi), bergerak lambat atau tidak merespon ketika dielus, membungkuk, massa perut besar, reaksi berlebihan terhadap rangsang atau saat didekati, dan nilai skor kondisi tubuh 1

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

Skor kondisi tubuh merupakan penilaian yang cepat, mudah, dan memiliki hubungan dengan kondisi kesehatan tikus, terdapat 5 skor dengan ciri-ciri yang mudah diamati.

Tabel 3.3 Skor kondisi tubuh tikus

Skor	Ciri-ciri
1	Kurus, struktur tulang sangat menonjol secara ekstrem, sedikit atau tidak sama sekali tertutup oleh daging
2	Di bawah 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	Di atas kondisi baik, ruas tulang belakang terasa bila ditekan secara kuat
5	Obesitas, tikus terlihat besar merata, struktur tulang tersembunyi dibawah daging dan lemak subkutan

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

3.8.5 Persyaratan dalam Melakukan Pengambilan Sampel

- a. Sampel untuk pemeriksaan histopatologi harus segar, artinya hewan yang telah dikorbankan dilakukan otopsi sesegera mungkin. Organ jantung dan paru-paru diambil secepat mungkin setelah dilakukan pembedahan.
- b. Apabila di dalam kelompok hewan yang mati masih ada hewan lain yang sedang sakit, maka dianjurkan untuk mengambil sampel dari hewan tersebut. Pada jaringan yang mengalami perubahan maka diambil jaringan pada perbatasan antara jaringan yang sakit (mengalami perubahan) dengan jaringan yang sehat.

3.8.6 Penimbangan Organ

Organ jantung dan paru-paru yang akan ditimbang, dikeringkan dahulu menggunakan kertas penyerap. Kemudian dihitung berat relatif organ dengan rumus, berat relatif organ = $\frac{\text{berat organ absolut}}{\text{berat badan}}$

3.8.7 Pembuatan preparat histopatologi jantung dan paru-paru

- a. Pengambilan organ jantung dan paru-paru tikus putih.
- b. Fiksasi, organ dimasukkan ke dalam *cassete* kemudian diletakkan pada wadah yang berisi fomalina 10%. Selanjutnya diinkubasi selama 24 jam
- c. Dehidrasi, sampel didehidrasi dengan dimasukkan secara berurutan pada wadah berisi larutan alkohol 50%, 70%, 80%, dan alkohol absolut. Perendaman dilakukan selama 3 jam pada tiap konsentrasi alkohol, setiap 1 jam sekali alkohol diganti.
- d. *Clearing*, organ dimasukkan ke dalam *cholorofom* dalam wadah I selama 30 menit, kemudian dipindah ke dalam *cholorofom* dalam wadah I selama 30 menit.
- e. Impregnasi, organ dimasukkan ke dalam wadah yang berisi parafin cair, selanjutnya dimasukkan ke dalam inkubator dengan suhu 56°C-59°C selama 2 jam
- f. *Blocking*, parafin cair dituang ke dalam cetakan. Organ segera dimasukkan menggunakan pinset yang telah dipanaskan. Parafin cair kemudian dituang

kembali hingga menutup seluruh cetakan

- g. *Sectioning*, pemotongan dilakukan dengan menggunakan mikrotom, setelah mendapat potongan yang bagus, pita parafin yang mengandung jaringan dipindahkan secara hati-hati menggunakan kuas ke dalam *waterbath* yang temperaturnya 37°C-40°C dan dibiarkan beberapa saat hingga pita parafin mengembang. Pita parafin ditempelkan pada gelas objek menggunakan kuas.
- h. Pewarnaan, sampel diwarnai dengan menggunakan Hematoksin Eosin (H&E). Tahapan proses pewarnaannya beserta waktu perendaman pada masing-masing reagensia dapat dilihat pada Tabel 3.4.

Tabel 3.4 Proses perendaman preparat

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	3 menit
8.	Hematoksin	15 menit
9.	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

- i. *Coverslipping*, canada balsem diteteskan sebanyak 1-2 tetes pada kaca penutup. Diusahakan tidak terbentuk gelembung udara. *Labelling*, preparat diberi label sesuai perlakuan dan ditempelkan pada kaca benda (Widayat, 2017).
- j. Pengamatan preparat, dilakukan pengamatan dengan menggunakan mikroskop dengan mula-mula perbesaran 100x kemudian 400x

3.9 Analisis Data Hasil Penelitian

Berat badan dianalisis secara statistik dengan metode *one way-ANOVA* untuk melihat apakah terdapat perubahan berat badan pra induksi dan pasca induksi. Kemudian berat relatif organ yang didapat setelah pembedahan dihitung dengan cara membagi bobot organ absolut dengan berat badan. Hasil yang didapat dianalisis secara statistik dengan metode *one way-ANOVA* untuk melihat pengaruh pemberian ekstrak cacing tanah terhadap berat relatif organ.

Pengamatan mikroskopis diperoleh melalui pengamatan preparat organ jantung untuk mengetahui gambaran histopatologi jantung dan paru-paru tikus putih (*Rattus norvegicus*). Jaringan diamati dibawah mikroskop cahaya dimana mula-mula menggunakan perbesaran 100x kemudian 400x. Setiap lapang pandang diamati perubahan-perubahan yang terjadi, setiap preparat digeser minimal lima kali lapang pandang. Perubahan histopatologi kemudian diberi skor seperti yang tertera pada Tabel 3.5

Tabel 3.5 Skor derajat histopatologi

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

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

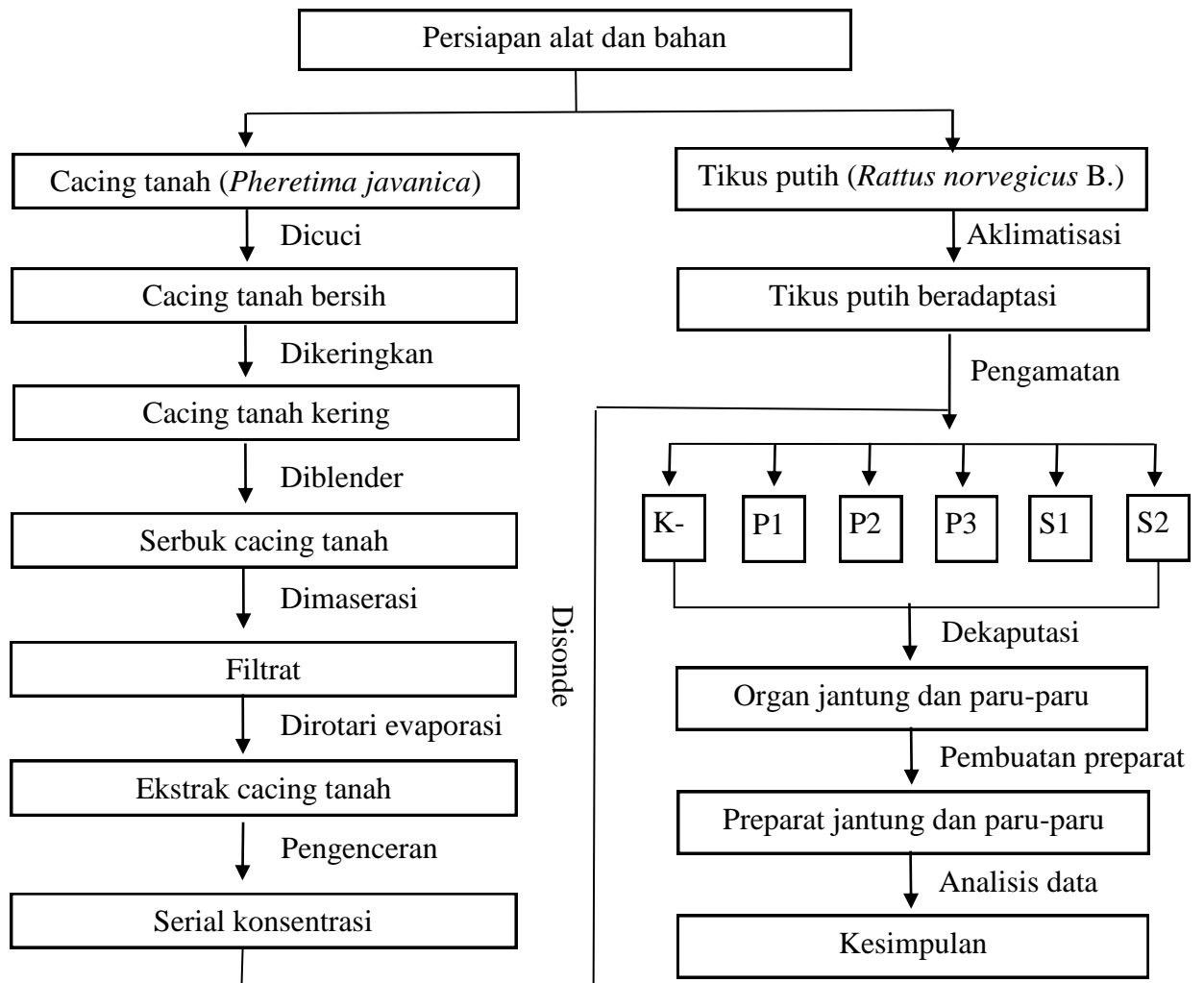
Tabel 3.6 Parameter histopatologi jantung dan paru-paru

Organ	Perubahan Histopatologi
Jantung	Inti piknosis
	Vakuolisasi sitoplasma
	Degenerasi otot jantung
	Nekrosis
Paru-paru	(Sumber : El-Desouki <i>et al.</i> , 2012)
	Kongesti
	Edema
	Inflamasi
	Hemoragi

(Sumber : Hor *et al.*, 2011)

Data perubahan histopatologi yang telah diberi skor kemudian dianalisis menggunakan uji statistik non parametrik dengan uji Kruskal-Wallis dengan taraf kepercayaan 99%.

3.10 Alur Penelitian



Gambar 3.1 Diagram alur penelitian

BAB 4. HASIL DAN PEMBAHASAN

4.1 Hasil Penelitian

Penelitian toksisitas subakut ekstrak cacing tanah (*Pheretima javanica*) terhadap histopatologi jantung dan paru-paru tikus putih (*Rattus norvegicus*) telah dilakukan pada bulan Oktober 2018-Januari 2019, toksisitas subakut bertujuan untuk memperoleh informasi adanya efek toksik zat yang tidak terdeteksi pada uji toksisitas akut dan efek toksik setelah pemaparan sediaan uji secara berulang dalam jangka waktu tertentu melalui pengamatan gejala toksisitas, berat badan, berat relatif organ, morfologi dan histopatologi jantung serta paru-paru tikus putih. Penelitian ini menggunakan 24 ekor tikus putih (*Rattus norvegicus*) jantan strain wistar yang dibagi menjadi 6 kelompok, dengan jumlah tikus sebanyak 4 pada tiap kelompok perlakuan. Adapun hasil penelitian adalah sebagai berikut.

4.1.1 Hasil Pengamatan Gejala Toksisitas pada Tikus

Pengamatan gejala toksisitas dilakukan setiap hari setelah induksi ekstrak selama 28 hari ditambah 14 hari pengamatan untuk kelompok satelit. Gejala toksisitas yang terjadi pada tikus selama uji toksisitas subakut disajikan pada Tabel 4.1.

Tabel 4.1 Pengamatan gejala toksisitas

Perlakuan	Nilai	Kategori
K(-)	1	Tidak ada indikasi sakit dan tidak stress
P1	1	Tidak ada indikasi sakit dan tidak stress
P2	1	Tidak ada indikasi sakit dan tidak stress
P3	1	Tidak ada indikasi sakit dan tidak stress
S1	1	Tidak ada indikasi sakit dan tidak stress
S2	1	Tidak ada indikasi sakit dan tidak stress

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 :Kelompok satelit dengan induksi aquades

S2 :Kelompok satelit yang diinduksi ekstrak cacing tanah dengan dosis 1000 mg/KgBB

Pengamatan gejala menunjukkan nilai 1 yakni, rambut terawat baik yaitu tidak kasar atau berdiri, peka terhadap rangsang, tikus dalam kondisi yang baik (tenang atau tertidur), nafsu makan normal, dan nilai skor kondisi tubuh 3,4, atau 5. Rentangan skor kondisi tubuh tikus berada di skor 3 dan 4. Skor 3 menunjukkan kondisi tubuh yang tidak kurus maupun obesitas, yakni ruas tulang belakang dan tulang panggul bagian dorsal tidak terlihat menonjol namun masih dapat diraba bila sedikit ditekan dengan tangan. Skor 4 memperlihatkan kondisi tikus yang sedikit gemuk, ciri-cirinya ialah ruas-ruas tulang belakang mulai tidak terlihat, bila ingin merasakan ruas tulang belakang maka harus ditekan dengan kuat dengan tangan.

4.1.2 Hasil Pengamatan Berat Badan Tikus Putih (*Rattus norvegicus*)

Berat badan tiap tikus dimonitor tiap tiga hari sekali selama 28 hari untuk melihat pengaruh ekstrak terhadap nafsu makan yang akan mempengaruhi berat badan nantinya.

Tabel 4.2 Rerata berat badan selama induksi

Perlakuan	Berat Pra Induksi (g) M±SD	Berat Pasca Induksi (g) M±SD	Selisih (g) M±SD
K(-)	237,25±17,15	263,25±17,11	26±31,38
P1	234±13,39	243,25±11,5	9,25±4,27
P2	242±8,52	260±12,73	18±16,95
P3	232±9,38	255,25±15,41	23,25±17,52
S1	243±6,22	270,5±25,09	27,5±25,59
S2	236,75±12,74	261±17,83	24,25±23,04

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 :Kelompok satelit dengan induksi aquades

S2 :Kelompok satelit yang induksi ekstrak cacing tanah dengan dosis 1000 mg/KgBB

Berat badan selama induksi dianalisis menggunakan *one-way ANOVA*, apabila $p < 0,01$ maka terdapat perbedaan nyata berat badan sebelum diinduksi dan setelah induksi. Nilai signifikansi *one-way ANOVA* yakni 0,846 ($p > 0,01$) dapat dikatakan bahwa ekstrak cacing tanah (*Pheretima javanica*) berpengaruh secara

tidak signifikan terhadap berat badan selama induksi. Selanjutnya berat badan kelompok satelit juga turut dianalisis untuk mengetahui apakah terdapat perbedaan berat badan bila induksi ekstrak dihentikan selama 14 hari.

Tabel 4.3 Rerata berat badan kelompok satelit setelah induksi dihentikan

Perlakuan	Rerata Berat Hari Ke-29 (g) M±SD	Rerata Berat Hari Ke-42 (g) M±SD	Selisih (g) M±SD
S1	268,75±28,24	269,5±32,60	0,75±4,57
S2	262,5±18,93	265,25±22,13	2,75±3,30

S1 :Kelompok satelit dengan induksi aquades

S2 :Kelompok satelit yang diinduksi ekstrak cacing tanah dengan dosis 1000 mg/KgBB

Kelompok satelit adalah kelompok tikus yang setelah pemberian ekstrak selama 28 hari tidak ikut dibedah dan tidak diberi ekstrak. Berdasarkan hasil analisis statistik menggunakan *one way-ANOVA* nilai signifikansi berat badan tikus kelompok satelit sebesar 0,505 ($p>0,01$), tidak ada perbedaan nyata berat badan pada kelompok satelit hal ini mengindikasikan bahwa pemberian ekstrak cacing tanah (*Pheretima javanica*) berpengaruh secara tidak signifikan terhadap berat badan tikus putih baik selama dan setelah induksi.

4.1.3 Hasil Pengamatan Berat Relatif Organ Jantung dan Paru-Paru

Tikus putih yang dibedah pada hari ke-29 adalah kelompok K(-), P1, P2, dan P3, sedangkan kelompok satelit dibedah pada hari ke-43. Setelah dilakukan pembedahan jantung dan paru-paru segera diambil untuk kemudian di hitung berat organ absolutnya. Pemberian sediaan uji yang melebihi 7 hari harus dilihat efek toksiknya melalui berat organ (Sellers *et al.*, 2007), karena pemberian sediaan uji pada penelitian ini dilakukan selama 28 hari maka dilakukan perhitungan berat organ. Berat relatif organ diperoleh dengan cara membagi bobot organ absolut dengan berat badan (BPOM, 2014).

Tabel 4.4 Berat absolut organ dan berat relatif organ jantung serta paru-paru

Perlak- kuan	Berat Absolut Jantung (g) M±SD	Berat Relatif Organ Jantung (g) M±SD	Berat Absolut Paru-Paru (g) M±SD	Berat Relatif Organ Paru-Paru (g) M±SD
K (-)	0,9353±0,07	0,0036±0,0004	0,9813±0,28	0,0037±0,0008
P1	0,9673±0,09	0,0040±0,0005	1,0903±0,13	0,0045±0,0003
P2	0,9573±0,13	0,0036±0,0004	1,1333±0,14	0,0042±0,0006
P3	0,7983±0,090	0,0031±0,0005	1,3067±0,28	0,0051±0,0008
S1	0,9597±0,06	0,0035±0,0003	1,1173±0,30	0,0040±0,0006
S2	0,8930±0,11	0,0033±0,0002	1,1327±0,18	0,0041±0,0008

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 :Kelompok satelit dengan induksi aquades

S2 :Kelompok satelit yang diinduksi ekstrak cacing tanah dengan dosis 1000 mg/KgBB

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

Data berat organ relatif yang telah didapat kemudian di analisis secara statistik dengan metode *one way-ANOVA* dengan taraf kepercayaan 99%, apabila $p < 0,01$ maka pemberian ekstrak cacing tanah berpengaruh secara signifikan terhadap berat relatif organ. Hasil analisis statistik untuk organ jantung menunjukkan nilai signifikansi *one way-ANOVA* sebesar 0,221 dan nilai signifikansi berat relatif organ paru-paru sebesar 0,271. Pemberian ekstrak cacing tanah *Pheretima javanica* berpengaruh secara tidak signifikan terhadap berat relatif organ jantung dan paru-paru pada uji toksisitas subakut.

4.1.4 Hasil Pengamatan Morfologi Jantung dan Paru-Paru

Pemeriksaan makroskopis morfologi organ dilakukan pada kelompok kontrol, perlakuan, dan satelit. Ciri-ciri morfologi jantung normal ialah berwarna merah segar, lembab, dan tidak berlendir (Novriyanti *et al.*, 2014).

Tabel 4.5 Hasil pengamatan morfologi organ jantung tikus putih (*Rattus norvegicus*)

Indikator Pengamatan	K-	P1	P2	P3	S1	S2
Warna	Merah segar	Merah segar	Merah segar	Merah segar	Merah segar	Merah segar
Struktur Permukaan	Lembab dan tidak berlendir	Lembab dan tidak berlendir	Lembab dan tidak berlendir	Lembab dan tidak berlendir	Lembab dan tidak berlendir	Lembab dan tidak berlendir

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 :Kelompok satelit dengan induksi aquades

S2 :Kelompok satelit yang diinduksi ekstrak cacing tanah dengan dosis 1000 mg/KgBB

Morfologi paru-paru yang normal memiliki ciri-ciri antara lain berwarna merah muda, permukannya halus dan mengkilap (Sun *et al.*, 2017), hasil pengamatan morfologi paru-paru tikus putih dapat dilihat pada Tabel 4.6.

Tabel 4.6 Hasil pengamatan morfologi organ paru-paru tikus putih (*Rattus norvegicus*)

Indikator Pengamatan	K-	P1	P2	P3	S1	S2
Warna	Merah muda	Merah muda	Merah muda	Merah muda	Merah muda	Merah muda
Struktur Permukaan	Halus dan mengkilap	Halus dan mengkilap	Halus dan mengkilap	Halus dan mengkilap	Halus dan mengkilap	Halus dan mengkilap

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)

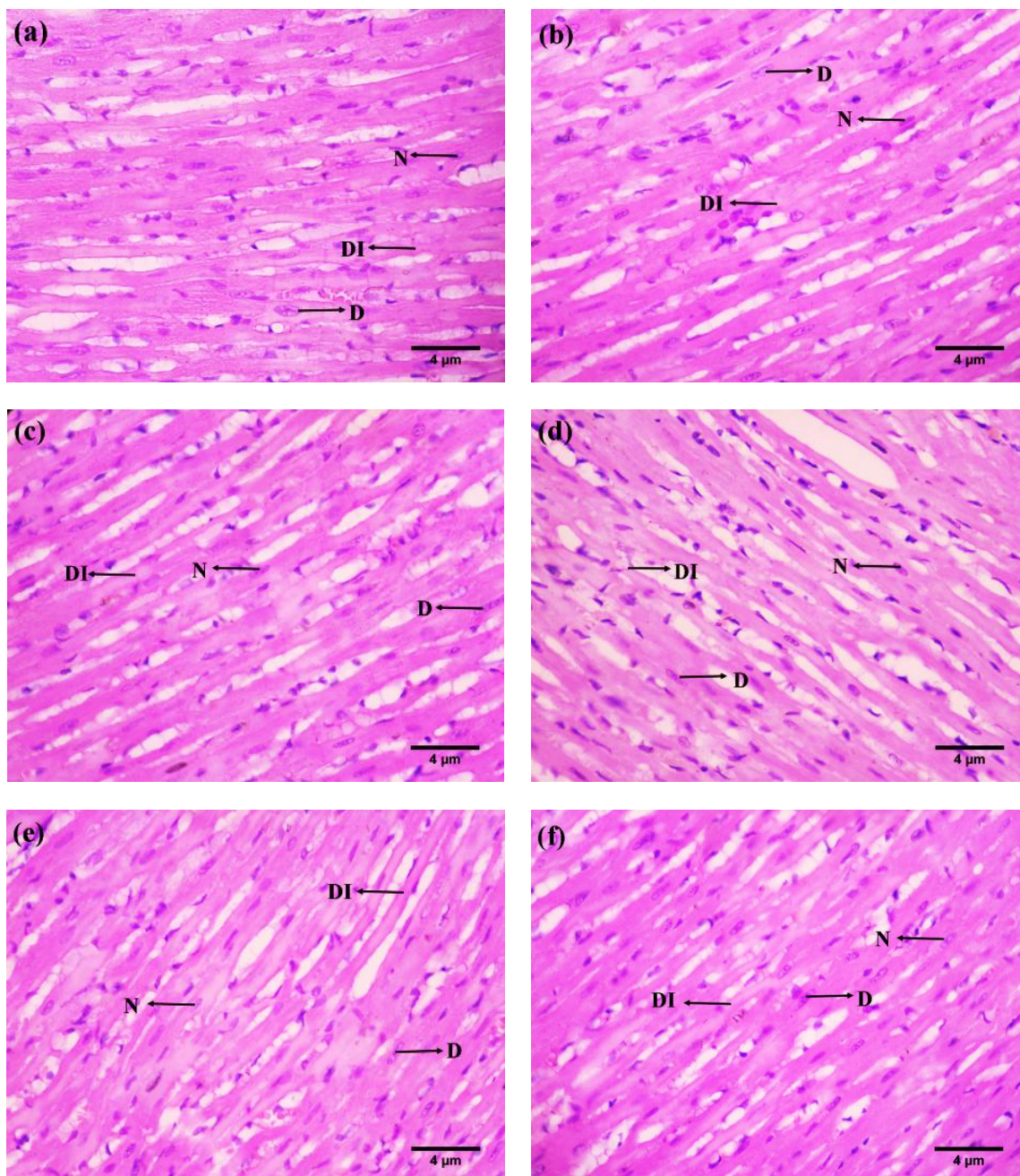
S1 :Kelompok satelit dengan induksi aquades

S2 :Kelompok satelit yang diinduksi ekstrak cacing tanah dengan dosis 1000 mg/KgBB

Hasil pengamatan morfologi pada jantung dan paru-paru termasuk dalam kategori normal, tidak adanya perubahan pada morfologi organ yang diamati baik pada kelompok kontrol, perlakuan, dan satelit. Hal ini menunjukkan bahwa pemberian ekstrak cacing tanah *Pheretima javanica* tidak mempengaruhi morfologi organ jantung dan paru-paru pada uji toksisitas subakut.

4.1.5 Hasil Pengamatan Histopatologi Jantung dan Paru-Paru

Pengamatan histopatologi dilakukan baik pada jantung dan paru-paru. Perubahan histopatologi yang diamati ialah ada tidaknya inti piknosis, vakuolisasi sitoplasma, degenerasi, dan nekrosis sel otot jantung (El-Desouki *et al.*, 2012).

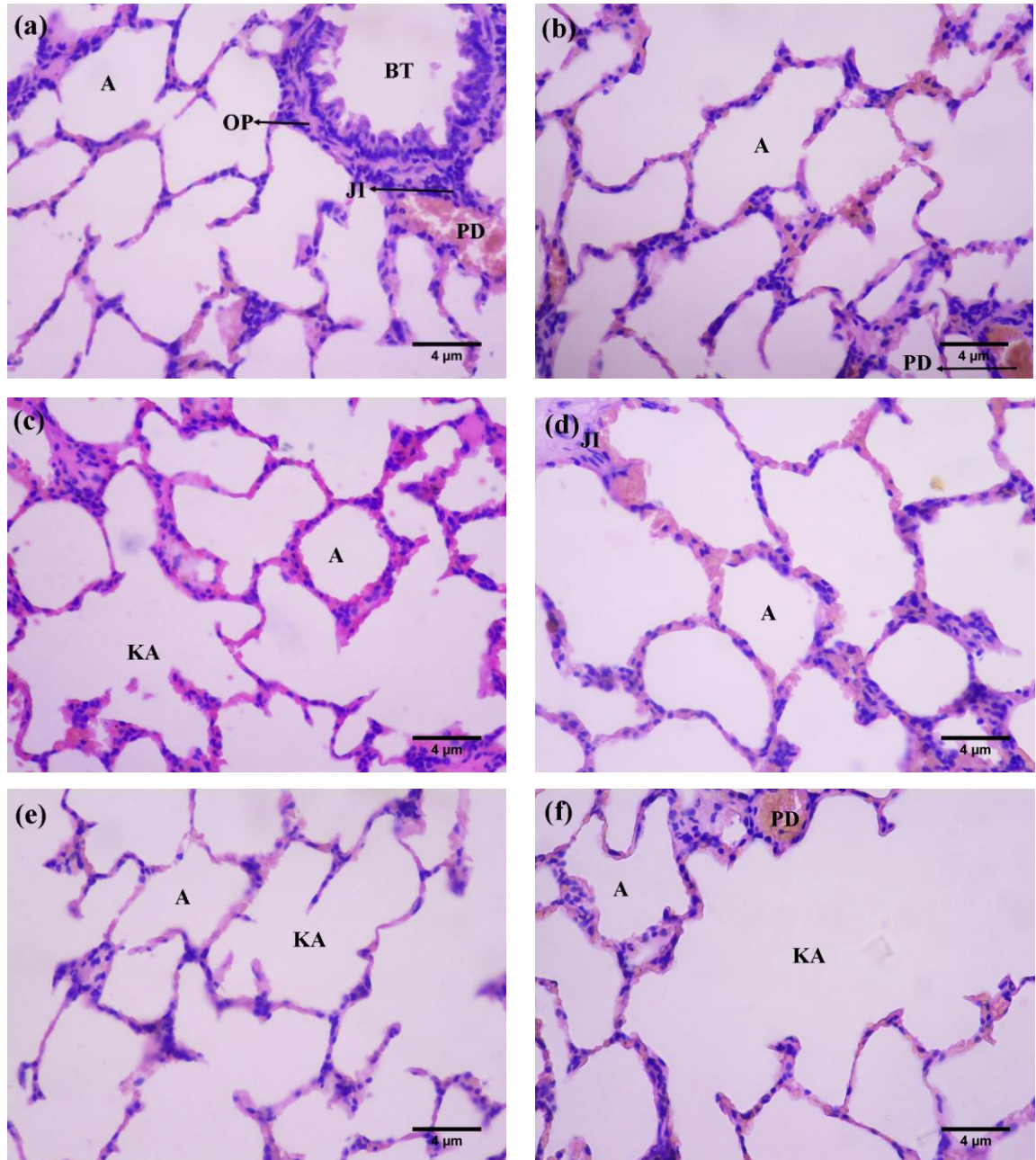


Gambar 4.1 Potongan melintang otot jantung. H&E. M=400x. (a) Kelompok kontrol negatif, (b) P1 (50 mg/kgBB), (c) P2 (500 mg/kgBB), (d) P3 (1000 mg/kgBB), (e) kelompok satelit kontrol, dan (f) kelompok satelit dosis 1000 mg/kgBB. Menunjukkan inti normal (N), diskus interkalaris (DI), dan adanya degenerasi (D)

Ciri-ciri otot jantung yang normal ialah setiap otot jantung hanya memiliki satu (atau dua) inti pucat yang terletak ditengah. Di sekeliling sel-sel otot terdapat jaringan ikat endomisium yang mengandung jejaring kapiler luas. Adanya garis gelap melintang yang melintasi sel-sel jantung dengan interval yang tidak teratur disebut diskus interkalaris. Diskus interkalaris merupakan kompleks pertautan yang terletak pada pertemuan antar sel-sel otot jantung yang bersebelahan, memiliki banyak desmosom dan *fascia adherentes* berfungsi untuk mengikat erat sel-sel jantung untuk mencegah sel tersebut tidak terpisah akibat aktivitas kontraksi yang berlangsung konstan. Bagian longitudinal setiap diskus mempunyai banyak *gap junction* yang berfungsi untuk pertukaran ion secara terus-menerus pada sel-sel yang bersebelahan (Anthony, 2010). Hasil pengamatan menunjukkan adanya nukelus yang terletak ditengah berbentuk oval, percabangan yang menjadi ciri khas otot jantung, dan terlihat juga diskus interkalaris. Perubahan histopatologi yang terjadi berupa degenerasi hidrofik pada kelompok kontrol, perlakuan, dan satelit. Terdapat inti yang lebih besar dan bengkak dari inti normal, degenerasi hidrofik memiliki ciri-ciri sel yang membengkak (Sriyanti, 2016).

Jaringan paru-paru mempunyai struktur mirip spons karena banyaknya jalur udara dan alveoli. Sayatan paru-paru biasanya memperlihatkan bronkiolus, saluran alveolar, dan kantong alveolar (Anthony, 2010). Parameter perubahan histopatologi pada paru-paru antara lain adanya kongesti, edema, inflamasi, dan hemoragi (Hor *et al.*, 2011). Hasil pengamatan paru-paru menunjukkan adanya kantong alveolar dengan beberapa bukaan alveoli serta alveoli tunggal, pembuluh darah pulmonari, otot polos yang mengelilingi bronkiolus terminal dan dinding alveoli yang tipis. Kantong alveolar pada Gambar F terlihat lebih besar dibanding yang lain sebab kantong alveolar pada Gambar F merupakan pertemuan dua kantong alveolar, setiap unit percabangan bronkiolus terminal akan bercabang menjadi dua kantong alveolar. Cabang itu kemudian bercabang kembali membentuk kantong alveolar yang lebih kecil, tegangan permukaan pada tiap cabang ini berbeda, area yang lebih sempit akan mengurangi tegangan permukaannya dibanding area yang lebih luas (Hwang *et al.*, 2013).

Hasil pengamatan histopatologi paru-paru tikus putih dapat dilihat pada Gambar 4.2.



Gambar 4.2 Potongan melintang paru-paru. H&E. M=400x. (a) Kelompok kontrol negatif, (b) P1 (50 mg/kgBB), (c) P2 (500 mg/kgBB), (d) P3 (1000 mg/kgBB), (e) kelompok satelit kontrol, dan (f) kelompok satelit dosis 1000 mg/kgBB. Menunjukkan alveoli (A), bronkiolus terminal (BT), kantong alveolar (KA), jaringan ikat (JI), pembuluh darah (PD), dan otot polos (OP)

Pengamatan histopatologi dilakukan secara mikroskopis dengan mula-mula menggunakan perbesaran mikroskop 100x kemudian 400x, pengamatan dilakukan sebanyak 5 lapang pandang. Histopatologi paru-paru tidak menunjukkan adanya perubahan pada semua lapang pandang sehingga skor derajat histopatologi untuk paru-paru ialah nol, sedangkan pada jantung terdapat perubahan histopatologi berupa degenerasi hidrofik, rata-rata skor derajat histopatologi jantung ditunjukkan pada Tabel 4.7.

Tabel 4.7 Skor derajat histopatologi Jantung

Perlakuan	Skor Derajat Histopatologi Jantung (M±SD)
K(-)	1,2±0,8
P1	1,4±0,5
P2	1,2±0,8
P3	1,4±0,5
S1	1,4±0,9
S2	1,6±0,5

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 :Kelompok satelit dengan induksi aquades

S2 :Kelompok satelit yang diinduksi ekstrak cacing tanah dengan dosis 1000 mg/KgBB

Data hasil pengamatan histopatologi jantung dan paru-paru dianalisis secara statistik non parametrik dengan uji Kruskal-Wallis, apabila $p > 0,01$ maka tidak ada pengaruh yang nyata. Nilai signifikansi histopatologi untuk jantung sebesar 0,981 ($p > 0,01$) yang artinya pemberian ekstrak cacing tanah *Pheretima javanica* berpengaruh secara tidak signifikan terhadap histopatologi jantung tikus putih (*Rattus norvegicus*).

Parameter kerusakan histopatologi pada paru-paru ialah kongesti, edema, inflamasi, dan hemoragi, hasil pengamatan pada paru-paru tidak menunjukkan tanda-tanda perubahan histopatologi, sehingga dapat dikatakan bahwa pemberian ekstrak cacing tanah tidak berpengaruh terhadap histopatologi paru-paru tikus putih.

4.2 Pembahasan

Obat organik memiliki keunggulan dibanding dengan obat anorganik antara lain efek samping yang ditimbulkan relatif lebih sedikit, memiliki efek yang sinergis dalam kandungannya, lebih sesuai untuk penyakit metabolik dan generatif (Ningsih, 2016). Penggunaan obat organik telah diterima hampir diseluruh negara, faktor terjadinya peningkatan penggunaan obat organik di negara maju ialah usia harapan hidup yang lebih panjang pada saat prevalensi penyakit kronik meningkat, adanya kegagalan penggunaan obat anorganik untuk penyakit tertentu di antaranya kanker serta semakin luas akses informasi mengenai obat organik di seluruh dunia. Namun penggunaannya harus secara tepat, yang meliputi kebenaran bahan, ketepatan dosis, ketepatan waktu penggunaan, ketepatan cara penggunaan, ketepatan telaah informasi, dan tanpa penyalahgunaan obat organik itu sendiri (Sari, 2006).

Penggunaan obat organik atau biasa disebut obat tradisional yakni cacing tanah sebagai penyembuhan demam tifoid harus melalui serangkaian uji agar hasil yang didapat sesuai dengan harapan dan dapat dipastikan keamanannya, salah satunya ialah uji praklinik. Uji toksisitas subakut merupakan salah satu uji praklinik yang bertujuan untuk melihat untuk melihat efek toksik yang ditimbulkan akibat pemberian ekstrak cacing tanah (*Pheretima javanica*) dengan jangka waktu yang lama. *Pheretima javanica* memiliki kandungan asam amino hidroksiprolin 19,04% yang berperan dalam aktivitas antibakteri. Berat molekul protein antibakteri pada *Pheretima javanica* terhadap bakteri *Salmonella typhi* ialah 31,0 kDa dan 34,0 kDa.

Pemberian ekstrak pada penelitian dilakukan selama 28 hari ditambah 14 hari untuk pengamatan kelompok satelit. Hewan coba yang digunakan ialah tikus putih (*Rattus norvegicus*) jantan strain wistar, tikus putih merupakan hewan coba yang sering digunakan dalam penelitian karena mudah dikembangbiakan, selain itu anatomi dan fisiologi yang dimiliki tikus putih mirip dengan manusia (Jatmiko *et al.*, 2012). Tikus putih strain wistar, umumnya digunakan untuk mempelajari tentang percobaan yang mendiagnosa suatu penyakit, tikus putih strain ini mudah

untuk dirawat, merupakan strain yang paling populer sebagai hewan coba dalam penelitian laboratorium, dan 99% gennya dapat dimanipulasi (Alexandra, 2011).

Pemilihan tikus putih berjenis kelamin jantan mengacu pada penelitian oleh Santmyre *et al.*(2010) yang menunjukkan bahwa siklus estrus pada tikus betina mempengaruhi fungsi ginjal dan aktivitas nitrat oksida. Siklus estrus pada tikus betina yang masih virgin berlangsung selama 4-5 hari yang terdiri dari proestrus, estrus, dan diestrus. Ketika proestrus estrogen mencapai level maksimal, pembuluh darah akan menyempit selama proses berkurangnya sirkulasi estradiol akibat penghambatan aromatase yang menyebabkan peningkatan total produksi nitrat oksida pada tikus betina. Menurut (Rahmad *et al.*, 2015) nitrat oksida akan menginisiasi respon inflamasi akut pada paru-paru, apabila terdapat senyawa radikal bebas berupa nitrat oksida ke dalam jaringan paru-paru akan menyebabkan peningkatan jumlah makrofag dan atau neutrofil yang berfungsi untuk menfagosit partikel asing. Hal tersebut akan membuat bias perubahan histopatologi dan fisiologis tikus putih apabila tikus putih betina ikut digunakan sebagai hewan coba.

Pemberian ekstrak selama 28 hari tidak menimbulkan kematian pada tikus putih, begitupun juga selama pengamatan kelompok satelit, menunjukkan bahwa sediaan uji berupa ekstrak cacing tanah tidak bersifat toksik. Setiap tikus juga diamati berat badannya, perubahan berat badan dapat menggambarkan toksisitas akibat pemberian sediaan uji (Najiha, 2016). Berat badan tikus dikontrol dan dimonitor setiap tiga hari sekali, didapatkan data bahwa terjadi peningkatan berat badan dan penurunan berat badan tikus secara tidak signifikan. Hasil *uji one way-ANOVA* menunjukkan bahwa nilai $p>0,01$ yakni sebesar 0,846. Setelah pengamatan 14 hari untuk kelompok satelit pun tidak ada penurunan dan peningkatan berat badan yang signifikan, nilai signifikansi uji *uji one way-ANOVA* berat badan tikus kelompok satelit sebesar 0,505, yang berarti tidak ada perbedaan nyata berat badan pada kelompok satelit hal ini mengindikasikan bahwa pemberian ekstrak cacing tanah (*Pheretima javanica*) tidak berpengaruh terhadap berat badan tikus putih baik selama dan setelah induksi. Nafsu makan tikus dapat dikatakan dalam kategori normal, nafsu makan yang normal mengindikasikan

bahwa tikus tidak dalam keadaan stress dan kesakitan. Selain nafsu makan ciri-ciri kondisi tikus apakah dalam kondisi stress atau tidak dapat dilihat dari pengamatan gejala toksisitas.

Gejala toksisitas merupakan parameter adanya efek toksis yang mudah diamati, Tikus yang stress dapat menunjukkan gejala rambut yang sangat kasar, mata cekung, bergerak lambat atau tidak responsif, membungkuk, massa perut yang besar, dan berlaku agresif. Sedangkan tikus yang tidak stress dan mengindikasikan tidak ada rasa sakit akan terlihat pada rambut yang terawat baik, dalam kondisi tenang atau tidur, nafsu makan yang normal, ruas-tuas tulang belakang dan pelvis dorsal tidak menonjol (Burkholder et al., 2012). Hasil pengamatan menunjukkan bahwa tikus menunjukkan ciri-ciri tidak stress dan tidak mengalami sakit pada semua kelompok perlakuan. Hal ini mengindikasikan pemberian ekstrak cacing tanah (*Pheretima javanica*) tidak berpengaruh terhadap tikus putih ditunjukkan dengan tidak adanya gejala toksisitas yang muncul baik pada kelompok kontrol, perlakuan, dan satelit.

Berat badan maupun gejala toksisitas merupakan parameter yang mudah diamati sebab pengamatan dapat dilakukan secara langsung, hasil kedua indikator menunjukkan bahwa ekstrak cacing tanah (*Pheretima javanica*) tidak bersifat toksik menguatkan hasil histopatologi jantung dan paru-paru. Teknik pemeriksaan histopatologi berguna untuk mendeteksi adanya komponen patogen yang bersifat infeksi melalui pengamatan secara mikroanatomi (Hadjipour, 2011). Histopatologi dapat dilakukan dengan mengambil sampel jaringan, pemeriksaan histopatologi bertujuan untuk memeriksa penyakit berdasarkan pada reaksi perubahan jaringan (Aisyah et al., 2014).

4.2.1 Toksisitas Subakut Ekstrak Cacing Tanah (*Pheretima javanica*) terhadap Histopatologi Jantung Tikus Putih (*Rattus norvegicus*)

Jantung merupakan pompa muskular untuk menggerakkan darah ke seluruh bagian tubuh. Pembuluh darah berperan seperti selang tempat mengalirnya darah, sedangkan darah adalah cairan yang mengalir dalam pembuluh (VanPutte et al., 2016), ekstrak cacing tanah yang diinduksi secara oral

akan diedarkan ke seluruh tubuh melalui pembuluh darah, dimana pembuluh darah melakukan peredaran dari dan ke jantung.

Tikus putih yang telah dibedah diambil organ jantungnya untuk ditimbang terlebih dahulu, berat organ merupakan indikator yang sensitif untuk melihat efek dari sediaan uji, apabila terjadi perubahan morfologi maka akan terlihat perbedaan signifikan antara kelompok kontrol dan perlakuan (Piao *et al.*, 2013). Berat organ relatif didapat dari berat organ absolut dibagi dengan berat badan, hasil yang didapat kemudian dibandingkan antara kelompok kontrol dan kelompok perlakuan. Berat relatif organ jantung dianalisis secara statistik dengan metode *one way-ANOVA* dengan nilai signifikansi sebesar 0,221. Hasil yang didapat menunjukkan bahwa pemberian ekstrak cacing tanah *Pheretima javanica* berpengaruh secara tidak signifikan terhadap berat relatif organ jantung pada uji toksisitas subakut.

Jantung yang telah ditimbang diamati morfologinya, gambaran morfologi jantung normal ialah berwarna merah segar, lembab, dan tidak berlendir (Novriyanti *et al.*, 2014). Apabila gambaran jantung tidak normal mengindikasikan bahwa kondisi histopatologinya pun tidak normal, misalnya pada jantung yang mengalami degenerasi lemak akan terlihat jantung yang kuning dan lembek. Hasil pengamatan pada semua kelompok jantung berwarna merah segar, kondisi permukaannya lembab dan tidak berlendir, kondisi ini memenuhi ciri-ciri jantung yang normal. Pemberian cacing tanah *Pheretima javanica* tidak mempengaruhi morfologi jantung, ditunjukkan dengan morfologi jantung yang normal pada kelompok kontrol, perlakuan, dan satelit.

Setiap sel otot jantung hanya memiliki satu (atau dua) inti pucat yang terletak ditengah. Di sekeliling sel-sel otot terdapat selubung halus jaringan ikat endomisium yang mengandung jejaring kapiler luas. Ciri khas otot jantung ialah adanya garis gelap melintang yang melintasi sel-sel jantung dengan interval yang tidak teratur disebut diskus interkalaris (Anthony, 2010). Pengamatan pada preparat jantung yang dipotong secara melintang menunjukkan inti yang terletak ditengah dan adanya diskus interkalaris. Perubahan histopatologi yang terjadi ialah degenerasi hidrofik dengan ciri adanya sel yang membengkak pada kelompok kontrol, perlakuan, dan satelit.

Menurut Mitchell (2008) dalam Januar dan Fitmawati (2014) degenerasi hidrofik bersifat *reversible* atau dapat kembali, apabila sel mengalami gangguan transport aktif yang mengakibatkan sel tidak mampu memompa ion Na^+ keluar sehingga ion Na^+ didalam sel naik, hal ini berpengaruh pada proses osmosis dimana air banyak masuk kedalam sel. Sel akan membengkak dan nukleus membesar serta tampak granul-granul di dalam nukleus. Adanya degenerasi pada kelompok kontrol menandakan bahwa penyebab degenerasi ini bukan efek pemberian ekstrak cacing tanah. Apabila sel terkena zat toksik terus menerus perubahan yang terjadi ialah nekrosis yang ditandai dengan adanya piknotik dan kariolisis. Ciri-ciri piknotik ialah inti mengerut atau mengecil sedangkan pada kariolisis inti akan menghilang (Suyanti, 2008), pemberian ekstrak cacing tanah tidak bersifat toksik sebab tidak ada sel yang mengalami nekrosis.

Skor derajat histopatologi yang didapat dianalisis secara statistik non parametrik, setelah dilakukan uji Kruskal Wallis didapat hasil bahwa nilai signifikansi histopatologi untuk jantung sebesar 0,981 yang artinya pemberian ekstrak cacing tanah *Pheretima javanica* berpengaruh secara tidak signifikan terhadap histopatologi jantung tikus putih (*Rattus norvegicus*).

4.2.2 Toksisitas Subakut Ekstrak Cacing Tanah (*Pheretima javanica*) terhadap Histopatologi Paru-Paru Tikus Putih (*Rattus norvegicus*)

Paru-paru adalah sepasang organ berbentuk kerucut di rongga toraks, dipisahkan satu sama lain oleh jantung dan struktur lainnya di mediastinum, yang membagi rongga toraks menjadi dua ruang anatomi yang berbeda. Setiap paru-paru ditutupi dan dilindungi oleh membran serosa berlapis ganda yang disebut membran pleura. Cairan pleura ini mengurangi gesekan antara membran, memungkinkan mereka untuk bergesekan dengan mudah satu sama lain selama proses pernafasan (Tortora dan Derrickson, 2009), ciri-ciri paru-paru yang normal berwarna merah muda, permukaannya halus dan mengkilap (Sun *et al.*, 2017).

Paru-paru yang didapat dari proses pembedahan diamati morfologinya, didapatkan data bahwa semua kelompok menunjukkan kondisi paru-paru dengan warna merah muda dan ketika diraba permukaannya halus tidak berbintil-bintil

serta mengkilap. Hal ini menunjukkan kondisi paru-paru hewan coba yang normal, pemberian ekstrak *Pheretima javanica* tidak mempengaruhi morfologi paru-paru tikus putih.

Paru-paru ditimbang untuk menghitung nilai berat relatif organ, jika dilakukan analisis berat organ hewan coba, umumnya juga dilakukan analisis baik pada berat organ absolut dan berat relatif organ (Nirogi *et al.*, 2014). Hasil yang didapat selanjutnya diuji secara statistik dengan metode *one way-ANOVA* nilai signifikansi berat relatif organ paru-paru sebesar 0,271, maknanya pemberian ekstrak *Pheretima javanica* berpengaruh secara tidak signifikan terhadap berat relatif organ paru-paru.

Hasil pengamatan histopatologi paru-paru memperlihatkan kondisi jaringan paru-paru yang normal, terlihat adanya kantong alveolar dengan beberapa bukaan alveoli serta alveoli tunggal yang mirip seperti sarang lebah, di alveoli akan terjadi pertukaran O₂ dan CO₂, terdapat juga pembuluh darah pulmonari yang membawa dan mengantarkan darah ke jantung, otot polos yang mengelilingi bronkiolus terminal dan dinding alveoli yang tipis. Bronkiolus terminal dicirikan dengan epitelnya bertipe kuboid, tidak ada kartilago, dan dijumpai lapisan otot polos, dapat dikatakan bahwa paru-paru tikus memperlihatkan kondisi normal yakni tidak adanya kongesti, edema, inflamasi, dan hemoragi. Sehingga pemberian ekstrak *Pheretima javanica* tidak berpengaruh pada histopatologi paru-paru.

BAB 5. PENUTUP

5.1 Kesimpulan

Berdasarkan penelitian yang telah dilaksanakan, didapat kesimpulan sebagai berikut :

- a. Ekstrak cacing tanah (*Pheretima javanica*) tidak menyebabkan efek toksik terhadap jantung tikus putih, ditunjukkan dengan morfologi jantung yang termasuk kategori normal dan tidak adanya perbedaan nyata perubahan histopatologi pada kelompok kontrol dibanding dengan kelompok perlakuan dan satelit
- b. Ekstrak cacing tanah (*Pheretima javanica*) tidak menyebabkan efek toksik toksik terhadap paru-paru tikus putih, ditunjukkan dengan morfologi paru-paru yang termasuk ciri-ciri paru-paru normal dan tidak adanya perubahan histopatologi pada kelompok kontrol, perlakuan, dan satelit.

5.2 Saran

Berdasarkan penelitian yang telah dilakukan, saran yang diberikan yaitu sebaiknya hewan coba betina juga diuji coba agar dapat mengetahui efek ekstrak bila diujikan pada tikus betina.

DAFTAR PUSTAKA

- Ahmed, A. M., A. F. El Fouhil, R. A. Mohamed, M. Atteya, N. A. Abdel-Baky, A. H. Alroalle, dan A. M. Aldahmash. 2015. Curcumin Ameliorates Experimental Autoimmune Acute Myocarditis in Rats as Evidenced by Decrease in Thioredoxin Immunoreactivity. *Folla Morphologica*. Volume 74(3): 318-324
- Aisyah, S., U. Balqis, dan E. K. Friyan. 2014. Histopatologi Jantung Tikus Putih (*Rattus norvegicus*) akibat Pemberian Minyak Jelantah. *Jurnal Medika Veterinaria*. Vol 8 (1):87-90
- Alexanda, I. 2011. Experimental use of animals in research. *Balneo-Research Journal*. Volume 2(1): 65-70
- Al-Hajj, N. Q. M., M. Algabr., H. R. Sharif., W. Aboshora, dan H. Wang. 2016. In Vitro and in Vivo Evaluation of Antidiabetic Activity of Leaf Essential Oil of *Pulicaria inuloides*-Asteraceae. *Journal of Food and Nutrition Research*. Vol. 4 (7) : 461-470
- Anthony, M. L. 2010. *Junqueira's Basic Histology 12th ed.* United States: McGraw-Hill.
- Arsad, S. S., N. M. Esa., dan H. Hamzah. 2014. Histopathological Change in Liver and Kidney Tissues from Male *Sparague Dawley* Rats Treated with *Raphidophora decursiva* (Roxb.) Schoot Extract. *Journal Cytology & Hystology*. S4: 2-6
- Aughey, E. dan F. L. Frye. 2001. *Comparative Veterinary Histology with Clinical Correlated*. London: Manson Publishing Ltd.
- Bhardwaj, R dan D. Gupta. 2012. Study of Acute, Subacute and Chronic Toxicity Test. *International Journal of Advanced Research in Pharmaceutical and Bio Sciences*. Vol. 1 (2): 103-129
- Burkholder, T., C. Foltz, E. Karlsson, C. G. Linton, dan J. M. Smith. 2012. Health Evaluation of Experimental Laboratory Mice. *Current Protocol Mouse Biol*. Volume 2: 15-165
- Busman, Y. Alamsyah, dan N. Saputri. 2018. Uji Aktivitas Antibakteri Ekstrak Cacing Tanah (*Lumbricus rubellus*) terhadap Pertumbuhan *Staphylococcus aureus*. *Menara Ilmu*. Volume XII (80): 1-6

- Cho, I. H., E. S. Choi, H. G. Lim, dan H. H. Lee. 2008. Purification and Characterization of Six Fibrinolytic Serine-Proteases from Earthworm *Lumbricus rubellus*. *Journal of Biochemistry and Molecular Biology*. Volume 37(2): 199-205
- Darmawan, A., R. Raffiudin, dan T. H. Widarto. 2012. Morpholoical Character and Histology of *Pheretima darnliensis*. *Hayati Journal Bioscience*. Volume 19: 44-48
- Departemen Kesehatan RI. 2000. *Parameter Standar Umum Ekstrak Tumbuhan Obat*. No 55 Tahun 2000. Cetakan Pertama. Jakarta: Depkes RI.
- El-Bab, M. R. F. dan A. S. A. Elhamd. 2017. *Fundamental of Histology*. www.researchgate.net/publication/320431791. [Diakses pada 1 November 2018]
- El-Desouki, N. I., A. I. El-Refaiy, D. F. A. Abou-Zaid, dan A. A. Abdel-Kader . 2012. Histological, Histochemical, and Immunohistochemical Studies of The Cardiac Muscle of The Albino Rat under Immobilization Stress and The Curative Role of Diazepam. *Egyp Journal Experimental Biology*. Vol. 8 (2) : 273-285
- Gayatri, A., dan Purwastyastuti. 2013. Penggunaan Lumbrokinase sebagai Fibrinolitik dan Antitrombotik Oral. *Continuing Medical Education*. Voume 4(3): 167-170
- Hadjipour, N. 2011. Histopathological Comparison of Gentamycin and Amikacin Nephrotoxicity in Rabbits. *Journal of Animal and Veteriary Advances*. Volume 10(9): 1003-1006
- Herdiani, N. dan E. B. P. Putri. 2018. Gambaran Histopatologi Paru Tikus Wistaar Setelah Diberi Paparan Asap Rokok. *Medical and Health Science Journal*. Volume 2(2): 7-14
- Hickman, C.P., L.S. Roberts., S. L. Keen, A. Larson, H. I'Anson, dan D. J. Eisenhour. 2001. *Integrated Principles of Zoology*. New York : McGraw Hill.
- Hor, S. Y., M. Ahmad, E. Farsi, C. P. Lim, M. Z. Asmawi, M. F. Yam. 2011. Acute and Subchronic Oral Toxicity of *Coriolus Versicolor* Standardized Water Extract in Sprague Dawley Rats. *Journal of Ethnopharmacology*. Volume 137(2017): 1067-1076
- Hou, L., K. Liu., Y. Li., S. Ma., X. Ji., dan L. Liu. 2016. Necrotic pyknosis is a morphologically and biochemically distinct event from apoptotic pyknosis. *Journal of Cell Science*. 129: 3084-3090

- Hwang, J., M. Kim, S. Kim, dan J. Lee. 2013. Quantifying Morphological Parameters of the Terminal Branching Units in a Mouse Lung by Phase Contrast Synchrotron Radiation Computed Tomography. *Journal Plos.* Volume 8(5): 1-8
- Indriati, G., M. Sumitri, dan R. Widiani. 2012. Pengaruh Air Rebusan Cacing Tanah (*Lumbricus rebellus*) terhadap Bakteri *Eschericia coli*. *Jurnal Prosiding Semmirata*. Volume 12(1)
- Januar, R. dan Y. Fitmawati. 2014. Struktur Mikroskopis Hati Tikus Putih (*Rattus novvergicus*) Akibat Pemberian Ekstrak Tanaman *Tristaniopsis whiteana* Griff. *JOM FMIPA*. Volume 1(2): 392-401
- Jatmiko, W., P. Mursanto, B. Hardian, A. Buwolaksono, B. Wiweko, M. A. Akbar, I. P. Satwika., Z. Immadudin, M. S. Alvissalim, I. Habibie, M. A. Ma;sum, dan M. N. Kurniawan. 2012. *Teknik Biomedis: Teori dan Aplikasi*. Jakarta: Fakultas Ilmu Koputer Universitas Indonesia
- Jayanthi, S., R. Widhiastuti, dan E. Jumilawaty. 2014. Komposisi Komunitas Cacing Tanah pada Lahan Pertanian Organik dan Anorganik di Desa Raya Kecamatan Berastagi Kabupaten Karo. *Jurnal Biotik*. Volume 2 (1) : 1-76
- Ji, H. L. Wang, H Bi, L. Sun, B. Cai, Y. Wang, J. Zhao, dan Z. Du. 2008. Mechanisms of Lumbrokinase in Protection of Cerebral Ischemia. *European Journal of Pharmacology*. Volume 590: 281–289
- Jothy, S. L., Z. Zakaria, Y. Chen, Y. L. Lau, L. Y. Latha, dan S. Sasidharan. 2011. Acute Oral Toxicity of Methanolic Seed Extract of *Cassia fistula* in Mice. *Journal Molecules*. Vol. 16: 5268-5282
- Kalac, Y., A. Kimiran, G. Ulakoglu, dan A. Cotuk. 2002. The role of opsonin in phagocytosis by coelomocytes of earthworm *Dendrobaenaveneta*. *Journal Cell Molecular Biology*. Vol 1: 7-14.
- Khairiskam, M. 2015. Uji Toksisitas Akut Serbuk Cacing Tanah (*Lumbricus rubellus*) pada Mencit Betina Galur Swiss. *Skripsi*. Fakultas Farmasi Universitas Gajah Mada.
- Kubiak, B. D., S. P. Albert, L. A. Gatto, K. P. Snyder, K. G. Maier, C. J. Vieau, S. Roy, dan G. F. Nieman. 2010. Peritoneal Negative Pressure Therapy Prevents Multiple Organ Injury in A Chronic Porcine Sepsis and Ischemia/Reperfusion Model. *SHOCK Journal*. Volume 34(5): 525-534
- Leba, M. A. U. 2017. *Ekstraksi dan Real Kromatografi*. Yogyakarta: Deepublish
- Liu, Y-Q., Z. J. Sun, C. Wang, S. J. Li, and Y. Z. Liu. 2004. Purification of a novel antibacterial short peptide in earthworm *Eisenia foetida*. *Acta Biochim. Biophys*. Vol 36: 297-302.

- Lu, Frank C. 1995. *Toksikologi Dasar*. Jakarta: Penerbit Universitas Indonesia
- Malole, M. B. M dan C. S. U. Pramono. 2005. *Penggunaan Hewan-Hewan Coba di Laboratorium*. Bogor: Institut Pertanian Bogor
- Museum of Comparative Zoology-Harvard University. 2018. Klasifikasi *Pheretima javanica*. <https://mczbase.mcz.harvard.edu/name/Pheretima%20javanica>. [Diakses pad 21 November 2018]
- Muzaiyanah. 2017. Pengaruh Serbuk Cacing Tanah (*Pheretima Javanica*) terhadap Penyembuhan Penyakit Tifus pada Tikus Putih (*Rattus norvegicus*) Jantan dan Pemanfaatannya sebagai Buku Ilmiah Populer. *Skripsi*. Fakultas Keguruan dan Ilmu Pendidikan Universitas Jember
- Najiha, A.L. 2016. Toksisitas Akut Tablet Fraksi Etil Asetat-96 Herba Sambiloto (*Andrographis paniculata* Nees) pada Hati dan Ginjal Tikus Wistar Jantan. *Skripsi*. Fakultas Farmasi Universitas Airlangga
- Ningsih, I. Y. 2016. Ethnopharmacy Study of Medicinal Plants Used by Tengger Tribe in Lumajang and Malang District, East Java. *Pharmacy*. Volume 13(1): 10-21
- Nirogi, R., V. K. Goyal, S. Jana, S. K. Pandey, dan A. Gothi. 2014. What Suits Best for Organ Weight Analysis: Review Of Relationship between Organ Weight And Body / Brain Weight for Rodent Toxicity Studies. *International Journal of Pharmaceutical Science and Reseach*. Volume 5(4): 1525-1532
- Novriyanti, I.D., Usnizar, F dan Irwan. 2014. Pengaruh Lama Hipertensi Terhadap Penyakit Jantung Koroner di Poliklinik Kardiologi RSUP. Dr. Mohammad Hoesin Palembang 2012. *Jurnal Kedokteran dan Kesehatan*. Volume 1(1): 55-60.
- Peraturan Kepala Badan Pengawas Obat dan Makanan Nomor 12 Tahun 2014. *Persyaratan Mutu Obat Tradisional*. 25 Agustus 2014 . Badan Pengawas Obat dan Makanan. Jakarta
- Peraturan Kepala Badan Pengawas Obat dan Makanan Nomor 7 Tahun 2014. *Pedoman Uji Toksisitas Nonklinik Secara In Vivo*. 17 Juni 2014. Badan Pengawas Obat dan Makanan. Jakarta
- Piao, Y., Y. Liu, dan X. Xie. 2013. nge Trends of Organ Weight Background Data in Sprague Dawley Rats at Different Ages. *Journal Toxicology Pathology*. Volume 26: 29–34
- Popovic, M., M. Grdisa, dan T. M. Hrzenjak. 2005. Glycolipoprotein G-90 obtained from the earthworm *Eisenia foetida* exerts antibacterial activity. *Veterinarski Arhiv*. Vol 75: 119-128.

- Porter, K. L., F. H. Y. Green, R. A. Harley, V. Vallyathan, V. Castranova, N. R. Waldron, S. S. Leonard, D. E. Nelson, J. A. Lewis, dan D. A. Jackson. 2015. Evaluation of the Pulmonary Toxicity of Ambient Particulate Matter From Camp Victory, Iraq. *Journal of Toxicology and Environmental Health*. Volume 00: 1-24
- Putri, N. T. 2018. Pengaruh Serbuk Cacing Tanah (*Pheretima Javanica*) Kering Terhadap Gambaran Morfologi, Histopatologi Jantung Dan Viskositas Darah Tikus Putih (*Rattus norvegicus*) Strain Wistar. *Skripsi*. Fakultas Keguruan dan Ilmu Pendidikan Universitas Jember
- Rahmad, L., N. U. Millah, A. Kusumawardani, N. Herliyani, K. Sarwendah, B. Sutrisno, H. Wuryastuti, dan R. Wasito. 2015. Pengaruh Pemberian Ekstrak Rimpang Kunyit (*Curcuma Domestica* Val.) terhadap Gambaran Histopatologis Paru-Paru yang Diinduksi Asap Rokok pada Tikus Putih Wistar. *Jurnal sains Veteriner*. Volume 33(1): 75-85
- Rahmasari, V. dan K. Lestari. 2018. Review: Manajemen Terapi Demam Tifoid: Kajian Terapi Farmakologis dan Non Farmakologis. *FARMAKA*. Volume 16(1): 184-195
- Rampengan, S. H. 2014. Edema Paru Kardiogenik Akut. *Jurnal Biomedik*. Volume 6(3): 149-156
- Salamah, N. 2015. Aktivitas Antioksidan Ekstrak Metanol Daun Kelengkeng (*Euphoria longan* (L) Steud.) dengan Metode Penangkapan Radikal 2,2'-Difenil-1-Pikrilhidrazil. *Pharmaciana*. Volume 5(1): 25-34.
- Salzet, M., A. Tasiemski, dan E. Cooper. 2006 Innate immunity in Lophotrochozoans: The Annelids. *Curr Pharmacy*. Vol 12: 1-8.
- Sandika, J. dan J. F. Suwandi. 2017. Sensitivitas *Salmonella thypi* Penyebab Demam Tifoid terhadap Beberapa Antibiotik. *Majority*. Volume 6(1): 41- 46
- Santmyire, B. R., V. Venkat, E. Beinder, dan C. Baylis. 2010. Impact of the Estrus Cycle and Reduction in Estrogen Levels with Aromatase Inhibition, on Renal Function and Nitric Oxide Activity in Female Rats. *Steroids Journal*. Volume 75(12): 1011-1015
- Sari, D. R. K. 2017. Toksisitas Akut Serbuk Cacing Tanah (*Pheretima javanica*) Kering terhadap Gambaran Histopatologi Ginjal Tikus Putih (*Rattus norvegicus*) dan Pemanfaatannya sebagai Poster. *Skripsi*. Fakultas Keguruan dan Ilmu Pendidikan Universitas Jember
- Sari, L. 2006. Pemanfaatan Obat Tradisional dengan Pertimbangan Manfaat dan Keamanannya. *Majalah Ilmu Kefarmasian*. Volume 3(1): 1-7

- Sayuti, M. 2017. Pengaruh Perbedaan Metode Ekstraksi, Bagian Dan Jenis Pelarut Terhadap Rendemen Dan Aktifitas Antioksidan Bambu Laut (*Isis Hippuris*). *Technology Science and Engineering Journal*. Volume 1 (3): 166-174
- Sellers. R. S., D. Morton, B. Michael, N. Roome, J. K. Johnson, B. R. Yano, R. Perry, dan K. Schaffer. 2007. Society of Toxicologic Pathology Position Paper: Organ Weight Recommendation for Toxicology Studies. *Toxicologic Pathology* .Vol. 35: 751-755
- Senja, R. Y., E. Issusilaningtyas, A. K. Nugroho, dan E. P. Setyowati. 2014. The Comparison of Extraction Method and Solvent Variation on Yield and Antioxidant Activity of Brassica oleracea L. var. capitata f. rubra Extract. *Traditional Medicine Journal*. Volume 19(1) : 43-49
- Shubin, A. V., I. V. Demyduk, A. A. Komissarov, L. M. Rafieva, dan S. V. Kostrov. 2016. Cytoplasmic vacuolization in cell death and survival. *Oncotarget Journal*. Vol 1:1-28
- Soedjoto, L. 2016. Pengaruh Konsentrasi Ekstrak Cacing Tanah (*Lumbricus rubellus*) terhadap Pertumbuhan Bakteri *Salmonella typhi*. *The Journal of Muhammadiyah Medical Laboratory Technologist*. Volume 2(2): 40-49
- Sriyanti, C. 2016. *Patologi*. Jakarta: Kementerian Kesehatan Republik Indonesia
- Sun , A., W. Wang, X. Ye, Y. Wang, X. Yang, Z. Ye, X. Sun, dan C. Zhang. 2017. Protective Effects of Methane-Rich Saline on Rats with Lipopolysaccharide-Induced Acute Lung Injury. *Oxidative Medicine and Cellular Longevity (Hindawi)*. Volume 2017:1-12
- Suryani, L. 2010. Aktivitas Antibakteri Ekstrak Cacing Tanah (*Lumbricus* sp) terhadap Berbagai Bakteri Patogen secara *Invitro*. *Jurnal Mutiara Medika*.Vol 10(1):16-21
- Suyanti, L. 2008. Gambaran Histopatologi Hati dan Ginjal Tikus Pada Pemberian Fraksi Asam Amino Non-Protein Lamtoro Merah (*Acacia villosa*) Pada Uji Toksisitas Akut. *Skripsi*. Fakultas Kedokteran Hewan. Institut Pertanian Bogor.Bogor.
- Tasiemski, A. 2008. Antimicrobial peptides in annelids. *Invertebrate Survival Journal*. Volume 5(1): 75-82
- Tasiemski, A., D. Schikorski, F. L. Marrec-Croq, C. P. V. Camp, C. Boidin-Wichlacz, dan P. E. Sautiere. 2006. Hestidin: A novel antimicrobial peptide containing bromotryptophan constitutively expressed in the NK cells-like of the marine annelid, *Nereis diversicolor*. *Comp. Immunol*. Vol 31: 749- 762.

- The National BioResource Project for The Rat in Japan. 2018. Rat Phenome Database. <http://www.anim.med.kyoto-u.ac.jp/nbr/phenome/>. [Diakses pada Tanggal 22 November 2018]
- Tortora, G. J. Dan B. Derrickson. 2009. *Principles of Anatomy and Physiology twelfth edition*. USA: John Wiley & Sons. Inc
- VanPutte, C., J. Regan, dan A. Russo. 2016. *Essential of Anatomy and Physiology Ninth Edition*. USA: Mc Graw Hill.
- Waluyo, J. 2004. Purifikasi dan Karakteristik Protein Antibakteri dari Cacing Tanah. *Disertasi*. Program Pascasarjana Universitas Airlangga
- Waluyo, J. B. Sugihartoko, dan N. C. Zaini. 2007. Purifikasi dan Karakterisasi Protein Antibakteri dari *Pheretima javanica*. *Jurnal Saintika*. Volume 7 (2): 165-178.
- Wang X, X. Wang, Y. Zhang, X. Qu, dan S. Yang. 2003. An antimicrobial peptide of the earthworm *Pheretima tschiliensis*: cDNA cloning, expression and immunolocalization. *Biotechnology Letters*. Volume 25: 1317-1323
- Wang, Y., Y. H. Gu, M. Liu, Y. Bai, dan H. L. Wang. 2017. Fluocetine Protects Against Methamphetamine-Induces Lung Inflammation by Suppressing Oxidative Stress Through The SERT/p38 MAPK/Nrf2 Pathway in rats. *Molecular Medicine Reports*. Volume 15: 673-680
- WHO. 2009. *WHO traditional medicine strategy: 2014-2023*. China; WHO
- Widayat, D. 2017. *HISTOLOGI Program Keahlian Teknologi Laboratorium Medik*. Jakarta: EGC

LAMPIRAN A. Matriks penelitian

MATRIKS PENELITIAN

Judul	Latar Belakang	Rumusan Masalah	Variabel	Metode Penelitian
Toksitas Subakut Ekstrak Cacing Tanah (<i>Pheretima Javanica</i>) Terhadap Histopatologi Jantung Dan Paru-Paru Tikus Putih (<i>Rattus norvegicus</i>)	<p>Penggunaan antibiotik oleh masyarakat seperti kloramfenikol, ampisilin, dan kontrimoksazol yang dikenal sebagai 3 garis utama dalam pengobatan sudah tidak dapat digunakan dalam mengobati demam tifoid, sebab <i>Salmonella typhi</i> penyebab demam tifoid telah resisten terhadap antibiotik tersebut Cacing tanah sebagai obat tradisional mengandung asam arakidonat yang sangat efektif untuk menurunkan demam yang disebabkan oleh infeksi, mampu memperlancar darah, dan terdapat kandungan zat antibakteri berupa Lumbricin-I serta mikroba <i>Streptomyces</i> sp. yang menghasilkan antibiotik streptomisin, aureomisin, kloramisetin, teramisin, eritromisin, dan magnamisin (Waluyo et al., 2007).</p> <p>Serbuk cacing tanah (<i>Pheretima javanica</i>) kering pada penelitian sebelumnya oleh Muzaiyanah (2017) terbukti berpengaruh secara signifikan terhadap penyembuhan demam tifoid pada tikus putih setelah infeksi <i>Salmonella thypi</i> dengan dosis efektif sebesar 1,6 g/0,2 kgBB. Tidak ditemukannya nilai potensi ketoksikan akut oral (LD₅₀) serbuk cacing tanah</p>	<p>a. Bagaimana toksitas subakut ekstrak cacing tanah (<i>Pheretima javanica</i>) terhadap histopatologi jantung tikus putih (<i>Rattus norvegicus</i> B.) ?</p> <p>b. Bagaimana toksitas subakut ekstrak cacing tanah (<i>Pheretima javanica</i>) terhadap histopatologi paru-paru tikus putih (<i>Rattus norvegicus</i> B.) ?</p>	<p>a. Variabel bebas ialah variasi dosis ekstrak cacing tanah (<i>Pheretima javanica</i>).</p> <p>b. Variabel kontrol antara lain : jenis hewan coba adalah tikus putih (<i>Rattus norvegicus</i> B.) strain wistar, hewan coba dalam keadaan sehat, umur hewan coba 3-4 bulan, berat hewan coba 200-250 gram, jenis kelamin hewan coba ialah jantan, pelarut adalah ethanol 70%,</p>	<p>a. Jenis Penelitian Experimental laboratorium</p> <p>b. Prosedur Penelitian Tahapan penelitian ini antara lain : persiapan pembuatan ekstrak cacing tanah, pengujian tikus putih (tahap persiapan, pemeliharaan dan perawatan, perhitungan dosis), pemberian ekstrak, pengamatan gejala toksitas, pengambilan sampel organ, penimbangan organ, dan pembuatan preparat histopatologi</p> <p>c. Analisis Data Teknik analisis data untuk berat badan, berat relatif organ menggunakan metode</p>

	<p>(<i>Pheretima javanica</i>) dengan dosis >5000 mg/kgBB (Sari, 2017). Selanjutnya pada uji toksisitas subakut serbuk cacing tanah (<i>Pheretima javanica</i>) kering oleh Putri (2018) selama 90 hari yang diinduksi pada tikus putih (<i>Rattus norvegicus</i> B.) menunjukkan bahwa tidak terjadi perubahan baik pada morfologi dan histopatologi jantung setelah pemberian serbuk kering cacing tanah. Tidak ditemukannya degenerasi dan nekrosis pada histologi jantung tikus putih baik pada kelompok kontrol dan kelompok perlakuan. Penggunaan ekstrak cacing tanah sebagai obat penyembuhan demam tifoid harus sesuai dengan persyaratan yang telah ditetapkan oleh BPOM. Salah satu tahapan pengembangan obat tradisional adalah uji praklinik yakni uji toksisitas (BPOM, 2014), nantinya dapat diketahui efek yang ditimbulkan oleh ekstrak cacing tanah pada tikus tersebut baik secara morfologi, anatomi, dan fisiologisnya pada organ tertentu (BPOM, 2014).</p> <p>Organ yang akan dilihat histopatologinya ialah jantung dan paru-paru yang termasuk kedalam 5 organ utama menurut (BPOM, 2014) organ lainnya ialah hepar, limpa, dan ginjal. Obat tradisional yang dikonsumsi oleh suatu organisme akan diedarkan keseluruh tubuh melalui pembuluh darah, dimana pembuluh darah melakukan peredaran dari dan ke jantung sehingga organ</p>		<p>waktu pemberian ekstrak selama 28 hari, sehari satu kali induksi.</p> <p>c. Variabel terikat adalah histopatologi jantung dan paru-paru tikus putih (<i>Rattus norvegicus</i> B.)</p>	<p><i>one way-ANOVA</i>, dan untuk histopatologi dianalisis secara statistik nonparametrik menggunakan uji Kruskal-Wallis</p>
--	---	--	--	---

	<p>jantung merupakan organ yang penting untuk melihat efek toksik dari satu obat (Aisyah <i>et al.</i>, 2014). Organ paru-paru mempunyai jalinan kapiler yang paling berkembang di dalam tubuh dengan kapiler darah diantara semua alveoli termasuk kapiler dalam bronkiolus respiratori, apabila terjadi gagal jantung kongestif dapat mengakibatkan masuknya darah dan eritrosit ke dalam alveolus (Anthony, 2010). Indikator kerusakan yang diamati pada histopatologi jantung meliputi ada tidaknya inti yang piknosis, vakuolisasi sitoplasma, degenerasi, dan nekrosis sel otot jantung (El-Desouki <i>et al.</i>, 2012). Sedangkan indikator kerusakan yang diamati pada histopatologi paru-paru meliputi ada tidaknya kongesti, edema, inflamasi, dan hemoragi (Hor <i>et al.</i>, 2011).</p> <p>Berdasarkan latar belakang tersebut, maka dilakukan penelitian tentang toksisitas subakut ekstrak ekstrak cacing tanah (<i>Pheretima javanica</i>) terhadap histopatologi tikus putih yang bertujuan untuk melihat efek toksik ekstrak cacing tanah (<i>Pheretima javanica</i>) pada histologi jantung dan paru-paru tikus putih (<i>Rattus norvegicus</i> B.) dengan pemberian ekstrak selama 28 hari.</p>			
--	--	--	--	--

LAMPIRAN B. Hasil Penelitian

B1. Berat badan Tikus Putih

Perlakuan	Pra induksi	Hari Ke-														
		1	4	7	10	13	16	19	22	25	28	29	31	34	37	40
K(-)																
K(-).U1	212	212	244	252	249	258	253	268	262	284	281	-	-	-	-	-
K(-).U2	245	248	239	234	231	237	233	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-Rata	237	239	247	253	248	255	251	263	255	268	263	-	-	-	-	-
P1																
P1.U1	247	247	249	247	2254	271	272	275	264	268	257	-	-	-	-	-
P1.U2	242	242	231	225	235	243	241	244	247	244	245	-	-	-	-	-
P1.U3	217	217	207	213	214	224	224	227	227	235	229	-	-	-	-	-
P1.U4	230	230	236	238	238	238	239	228	231	240	242	-	-	-	-	-
Rata-Rata	234	234	231	231	735	244	244	244	242	247	243	-	-	-	-	-
P2																
P2.U1	245	250	249	245	251	253	264	266	266	274	267	-	-	-	-	-
P2.U2	230	230	229	228	261	243	249	250	261	261	258	-	-	-	-	-
P2.U3	243	243	237	233	221	256	239	259	264	270	272	-	-	-	-	-
P2.U4	250	250	252	253	252	255	255	253	241	245	243	-	-	-	-	-
Rata-Rata	242	243	242	240	246	252	252	257	258	263	260	-	-	-	-	-

P3																	
P3.U1	234	234	223	234	241	236	245	246	239	255	255	-	-	-	-	-	-
P3.U2	222	225	234	235	231	235	246	240	234	238	239	-	-	-	-	-	-
P3.U3	228	228	220	217	221	221	232	224	217	227	276	-	-	-	-	-	-
P3.U4	244	244	251	252	251	252	252	257	249	253	251	-	-	-	-	-	-
Rata-Rata	232	233	232	235	236	236	244	242	235	243	255	-	-	-	-	-	-
S1																	
S1.U1	246	246	304	291	309	296	318	318	298	303	302	308	313	307	312	314	314
S1.U2	240	240	250	254	255	265	265	268	271	278	279	269	265	268	272	269	272
S1.U3	236	234	240	248	253	245	253	263	258	255	254	255	261	252	247	250	253
S1.U4	250	250	255	256	254	255	256	249	253	249	247	243	240	239	245	241	239
Rata-Rata	243	243	262	262	268	265	273	275	270	271	271	269	270	267	269	269	270
S2																	
S2.U1	243	243	249	224	228	233	248	250	249	261	255	254	249	256	252	257	255
S2.U2	240	241	244	252	258	264	275	293	299	284	286	286	291	289	293	290	292
S2.U3	218	218	227	223	223	236	235	237	238	257	259	268	270	269	272	268	273
S2.U4	246	246	241	241	242	242	243	247	244	244	244	242	241	236	238	240	241
Rata-Rata	237	237	240	235	238	244	250	257	258	262	261	263	263	263	264	264	265

B2. Nilai Gejala Toksik

Nilai Gejala Toksik Selama Induksi

Perlakuan	Nilai Gejala Toksik Hari Ke-																											
	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

Nilai Gejala Toksik Pasca Induksi

Perlakuan	Nilai Gejala Toksik Hari Ke-													
	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

Lampiran B3. Skor Derajat Histopatologi Jantung dan Paru-paru

Perlakuan	Ulangan	Skor Derajat Histopatologi Jantung	Skor Derajat Histopatologi Paru-Paru
K(-)	1	1	0
K(-)	2	2	0
K(-)	3	1	0
K(-)	4	0	0
K(-)	5	2	0
P1	1	1	0
P1	2	1	0
P1	3	2	0
P1	4	1	0
P1	5	2	0
P2	1	1	0
P2	2	2	0
P2	3	0	0
P2	4	1	0
P2	5	2	0
P3	1	2	0
P3	2	1	0
P3	3	1	0
P3	4	2	0
P3	5	1	0
S1	1	2	0
S1	2	2	0
S1	3	0	0
S1	4	2	0
S1	5	1	0
S2	1	2	0
S2	2	2	0
S2	3	1	0
S2	4	2	0
S2	5	1	0

Lampiran C. Hasil Analisis Statistik

C1. Hasil Analisis Berat Badan Selama Induksi

Uji Normalitas Berat Badan Selama Induksi

		Selisih
N		24
Normal Parameters ^{a,b}	Mean	21,3750
	Std. Deviation	20,07120
Most Extreme Differences	Absolute	,113
	Positive	,113
	Negative	-,079
Test Statistic		,113
Asymp. Sig. (2-tailed)		,200 ^{c,d}

- Test distribution is Normal.
- Calculated from data.
- Lilliefors Significance Correction.
- This is a lower bound of the true significance.

Uji Deskriptif Berat Badan Selama Induksi

Descriptives

Selisih

	N	Mean	Std. Deviation	Std. Error	95% Confidence Interval for Mean		Minimum	Maximum
					Lower Bound	Upper Bound		
K-	4	26,0000	31,37940	15,68970	-23,9316	75,9316	-5,00	69,00
P1	4	9,2500	4,27200	2,13600	2,4523	16,0477	3,00	12,00
P2	4	18,0000	16,95091	8,47545	-8,9727	44,9727	-7,00	29,00
P3	4	23,2500	17,51904	8,75952	-4,6267	51,1267	7,00	48,00
S1	4	27,5000	25,59297	12,79648	-13,2241	68,2241	-3,00	56,00
S2	4	24,2500	23,04163	11,52081	-12,4144	60,9144	-2,00	46,00
Total	24	21,3750	20,07120	4,09702	12,8997	29,8503	-7,00	69,00

Uji Homogenitas Berat Badan Selama Induksi

Test of Homogeneity of Variances

Selisih

Levene Statistic	df1	df2	Sig.
1,609	5	18	,208

Hasil Anova Berat Badan Selama Induksi

ANOVA

Selisih

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	916,375	5	183,275	,395	,846
Within Groups	8349,250	18	463,847		
Total	9265,625	23			

C2. Hasil Analisis Statistik Berat Badan Pasca Induksi

Uji Normalitas Berat Badan Pasca Induksi

One-Sample Kolmogorov-Smirnov Test

		Selisih
N		8
Normal Parameters ^{a,b}	Mean	1,7500
	Std. Deviation	3,84522
Most Extreme Differences	Absolute	,176
	Positive	,138
	Negative	-,176
Test Statistic		,176
Asymp. Sig. (2-tailed)		,200 ^{c,d}

a. Test distribution is Normal.

b. Calculated from data.

c. Lilliefors Significance Correction.

d. This is a lower bound of the true significance.

Uji Deskriptif Berat Badan Pasca Induksi

Descriptives

Selisih

	N	Mean	Std. Deviation	Std. Error	95% Confidence Interval for Mean		Minimum	Maximum
					Lower Bound	Upper Bound		
S1	4	,7500	4,57347	2,28674	-6,5274	8,0274	-4,00	6,00
S2	4	2,7500	3,30404	1,65202	-2,5075	8,0075	-1,00	6,00
Total	8	1,7500	3,84522	1,35949	-1,4647	4,9647	-4,00	6,00

Uji Homogenitas Berat Badan Pasca Induksi

Test of Homogeneity of Variances

Selisih

Levene Statistic	df1	df2	Sig.
1,333	1	6	,292

Hasil Analisis Uji Anova Berat Badan Pasca Induksi

ANOVA

Selisih

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	8,000	1	8,000	,503	,505
Within Groups	95,500	6	15,917		
Total	103,500	7			

C3. Hasil Analisis Statistik Berat Relatif Organ Jantung

Uji Normalitas Berat Relatif Organ Jantung

One-Sample Kolmogorov-Smirnov Test

		BRO
N		18
Normal Parameters ^{a,b}	Mean	,918500
	Std. Deviation	,1014183
Most Extreme Differences	Absolute	,120
	Positive	,099
	Negative	-,120
Test Statistic		,120
Asymp. Sig. (2-tailed)		,200 ^{c,d}

- Test distribution is Normal.
- Calculated from data.
- Lilliefors Significance Correction.
- This is a lower bound of the true significance.

Uji Homogenitas Berat Relatif Organ Jantung

Test of Homogeneity of Variances

BRO

Levene Statistic	df1	df2	Sig.
,557	5	12	,731

Hasil Anova Berat Relatif Organ Jantung

ANOVA

BRO

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	,000	5	,000	1,650	,221
Within Groups	,000	12	,000		
Total	,000	17			

C4. Hasil Analisis Statistik Berat Relatif Organ Paru-Paru

Uji Normalitas Berat Relatif Organ Paru-Paru

One-Sample Kolmogorov-Smirnov Test

		BRO
N		18
Normal Parameters ^{a,b}	Mean	,004441
	Std. Deviation	,0009981
Most Extreme Differences	Absolute	,122
	Positive	,122
	Negative	-,098
Test Statistic		,122
Asymp. Sig. (2-tailed)		,200 ^{c,d}

- Test distribution is Normal.
- Calculated from data.
- Lilliefors Significance Correction.
- This is a lower bound of the true significance.

Uji Homogenitas Berat Relatif Organ Paru-Paru

Test of Homogeneity of Variances

BRO

Levene Statistic	df1	df2	Sig.
1,015	5	12	,451

Hasil Anova Berat Relatif Organ Paru-Paru

ANOVA

BRO

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	,000	5	,000	1,468	,271
Within Groups	,000	12	,000		
Total	,000	17			

C5. Hasil Analisis Statistik Histopatologi jantung

Hasil Analisis Uji Normalitas Histopatologi Jantung

Tests of Normality				
		Shapiro-Wilk		
	Perlakuan	Statistic	df	Sig.
Histopatologi	K-	,881	5	,314
	P1	,684	5	,006
	P2	,881	5	,314
	P3	,684	5	,006
	S1	,771	5	,046
	S2	,684	5	,006
	*. This is a lower bound of the true significance.			
a. Lilliefors Significance Correction				

Hasil Analisis Uji Kruskal Wallis Histopatologi Jantung

Test Statistics^{a,b}	
Histopatologi	
Chi-Square	,419
Df	4
Asymp. Sig.	,981
a. Kruskal Wallis Test	
b. Grouping Variable: Perlakuan	

LAMPIRAN D. Dokumentasi

Pembuatan ekstrak	
 <p>A photograph showing several people in a grassy field, actively digging in the soil to search for earthworms. One person in the foreground is using a tool to turn over the earth.</p>	 <p>A close-up photograph of a single earthworm, <i>Pheretima javanica</i>, resting on a light-colored, textured surface. The worm is long, segmented, and has a reddish-brown color.</p>
 <p>A photograph showing a person's hands washing a large quantity of earthworms in a green plastic basket. Water is being poured from a pink bucket into the basket.</p>	 <p>A photograph showing a pile of earthworms in a green plastic bag, which is placed on a scale to measure their wet weight.</p>
 <p>A photograph showing a large number of earthworms spread out on a newspaper to dry. The newspaper has the word 'IKLAN' visible on it.</p>	 <p>A photograph showing a large quantity of earthworms that have been dried, appearing dark and shriveled, contained in a red plastic tray.</p>



Gambar 7. Penimbangan berat kering cacing tanah



Gambar 8. Pengovenan cacing tanah kering



Gambar 9. Pemplenderan 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. Pemandahan 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. Keadaan rambut



Gambar 23. Tekstur feses



Gambar 24. Penimbangan berat badan

Pengambilan Sampel



Gambar 25. Anestesi



Gambar 26. Dekaputasi

Penimbangan Organ



Gambar 27. Penimbangan organ Jantung

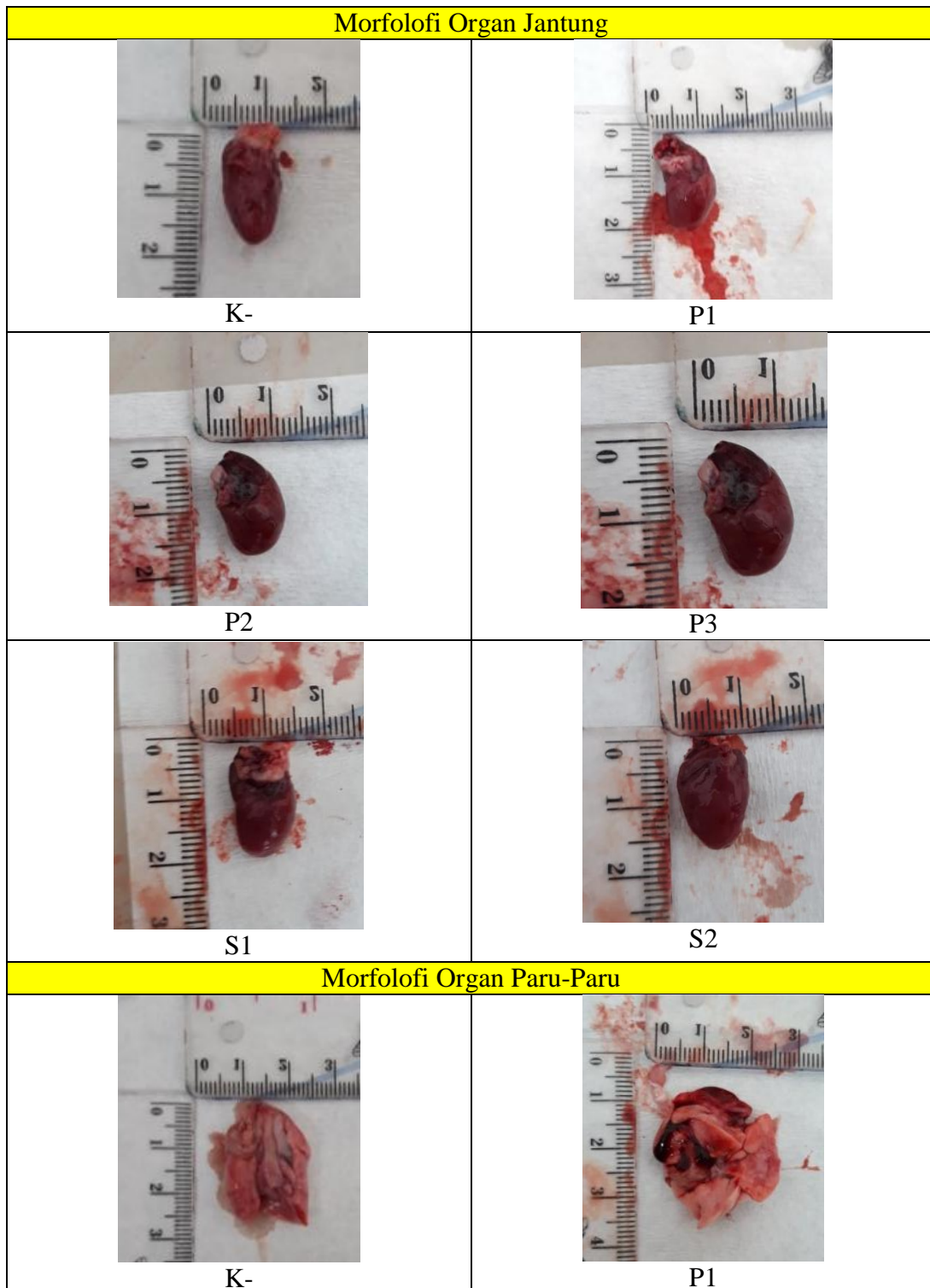


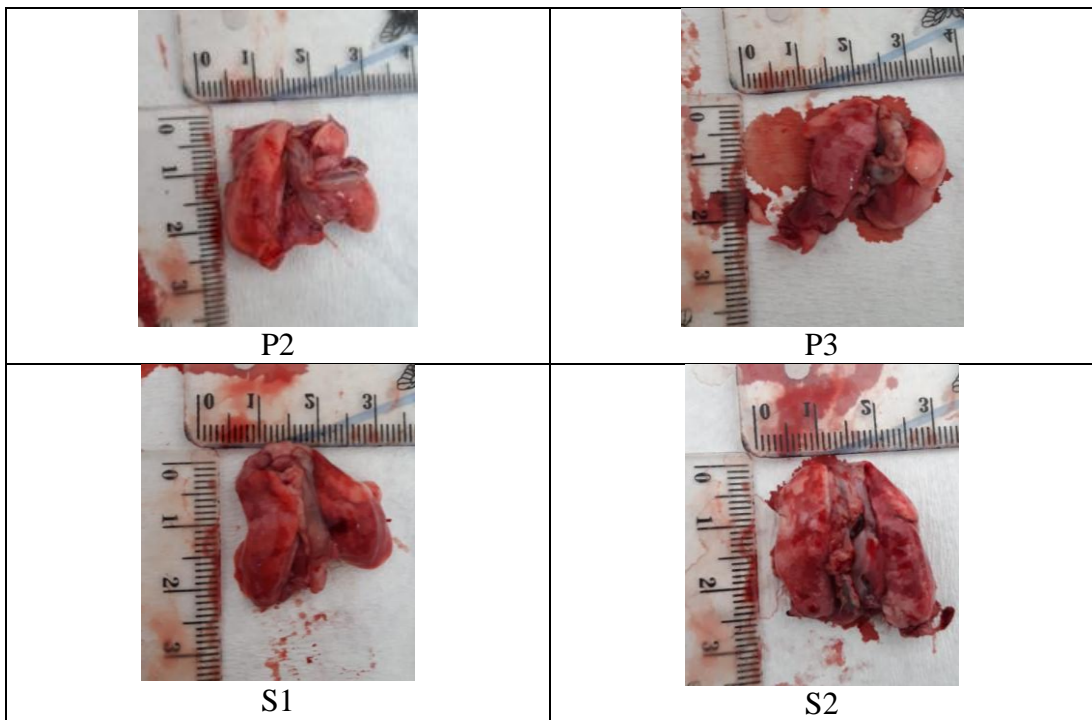
Gambar 28. Penimbangan organ Paru-Paru

Pembuatan Preparat

Gambar 29. Pembuatan preparat

LAMPIRAN E. Dokumentasi Morfologi Organ Jantung dan Paru-Paru





LAMPIRAN F. Lembar Konsultasi



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

LEMBAR KONSULTASI PENYUSUNAN SKRIPSI

Pembimbing Utama

Nama : Wardaniyatus Sholihah
NIM : 150210103005
Jurusan/Program Studi : Pendidikan MIPA/ Pendidikan Biologi
Judul : Toksisitas Subakut Ekstrak Cacing Tanah (*Pheretima javanica*) terhadap Histopatologi Jantung dan Paru-Paru Tikus Putih (*Rattus norvegicus*)

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

Kegiatan Konsultasi

No.	Hari/ Tanggal	Materi Konsultasi	Tanda Tangan Pembimbing
1.	11 Agustus 2018	Penentuan Judul	
2.	3 September 2018	Pengajuan BAB 1,2,dan 3	
3.	18 September 2018	Pengajuan revisi pertama BAB 1, 2, 3	
4.	2 Oktober 2018	Pengajuan revisi kedua BAB 1, 2, 3	
5.	30 November 2018	ACC proposal skripsi	
6.	20 Desember 2018	Seminar proposal	
7.	21 Januari 2019	Konsultasi hasil penelitian	
8.	1 Februari 2019	Konsultasi hasil penelitian	
9.	4 Februari 2019	Penyerahan hasil penelitian dan pengajuan BAB 1,2,3, 4, dan 5	
10.	7 Februari 2019	Revisi BAB 1,2,3,4, 5, dan lampiran serta penyerahan artikel	
11.	11 Februari 2019	ACC ujian skripsi	

Catatan:

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



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

LEMBAR KONSULTASI PENYUSUNAN SKRIPSI
 Pembimbing Utama

Nama : Wardaniyatus Sholihah
 NIM : 150210103005
 Jurusan/Program Studi : Pendidikan MIPA/ Pendidikan Biologi
 Judul : Toksisitas Subakut Ekstrak Cacing Tanah (*Pheretima javanica*) terhadap Histopatologi Jantung dan Paru-Paru Tikus Putih (*Rattus norvegicus*)

Pembimbing Anggota : Dr. Dwi Wahyuni, M. Kes

Kegiatan Konsultasi

No.	Hari/ Tanggal	Materi Konsultasi	Tanda Tangan Pembimbing
1.	11 Agustus 2018	Pentuan Judul	
2.	3 September 2018	Pengajuan BAB 1,2,dan 3	
3.	18 September 2018	Pengajuan revisi pertama BAB 1, 2, 3	
4.	2 Oktober 2018	Pengajuan revisi kedua BAB 1, 2, 3	
5.	11 Desember 2018	ACC proposal skripsi	
6.	20 Desember 2018	Seminar proposal	
7.	21 Januari 2019	Konsultasi hasil penelitian	
8.	1 Februari 2019	Konsultasi hasil penelitian	
9.	4 Februari 2019	Penyerahan hasil penelitian dan pengajuan BAB 1,2,3, 4, dan 5	
10.	7 Februari 2019	Revisi BAB 1,2,3,4, 5, dan lampiran serta penyerahan artikel	
11.	12 Februari 2019	ACC ujian skripsi	

Catatan:

- Lembar ini harus dibawa dan diisi setiap melakukan konsultasi
- Lembar ini harus dibawa sewaktu seminar proposal skripsi dan ujian skripsi

LAMPIRAN G. Surat Penelitian



KEMENTERIAN RISET, TEKNOLOGI, DAN PENDIDIKAN TINGGI
 UNIVERSITAS JEMBER
FAKULTAS KEGURUAN DAN ILMU PENDIDIKAN
 Jalan Kalimantan Nomor 37 Kampus Bumi 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 : Wardaniyatus Sholihah
 NIM : 150210103005
 Jurusan : Pendidikan MIPA
 Program Studi : Pendidikan Biologi

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

Demikian kami sampaikan terimakasih

Jember, 17 Januari 2019
 Teknisi Laboratorium Biomedik
 Fakultas Kedokteran Gigi

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