

**PENGARUH EKSTRAK BUAH TIN (*Ficus carica* L.) SEBAGAI
ANTIOKSIDAN TERHADAP KETEBALAN EPITEL DAN DIAMETER
LUMEN TUBULUS PROKSIMAL GINJAL MENCIT BETINA YANG
DIPAPAR RHODAMIN B**

SKRIPSI

Oleh:
MELY NAFIANDARY
NIM. 15670071



**PROGRAM STUDI FARMASI
FAKULTAS KEDOKTERAN DAN ILMU KESEHATAN
UNIVERSITAS ISLAM NEGERI MAULANA MALIK IBRAHIM
MALANG
2019**

**PENGARUH EKSTRAK BUAH TIN (*Ficus carica* L.) SEBAGAI
ANTIOKSIDAN TERHADAP KETEBALAN EPITEL DAN DIAMETER
LUMEN TUBULUS PROKSIMAL GINJAL MENCIT BETINA YANG
DIPAPAR RHODAMIN B**

SKRIPSI

Diajukan Kepada :

**Fakultas Kedokteran dan Ilmu Kesehatan
Universitas Islam Negeri Maulana Malik Ibrahim Malang
Untuk Memenuhi Salah Satu Persyaratan dalam
Memperoleh Gelar Sarjana Farmasi (S.Farm)**

**PROGRAM STUDI FARMASI
FAKULTAS KEDOKTERAN DAN ILMU KESEHATAN
UNIVERSITAS ISLAM NEGERI MAULANA MALIK IBRAHIM
MALANG
2019**

PENGARUH EKSTRAK BUAH TIN (*Ficus carica* L.) SEBAGAI ANTIOKSIDAN TERHADAP KETEBALAN EPITEL DAN DIAMETER LUMEN TUBULUS PROKSIMAL GINJAL MENCIT BETINA YANG DIPAPAR RHODAMIN B

SKRIPSI

Oleh:
MELY NAFIANDARY
NIM. 15670071

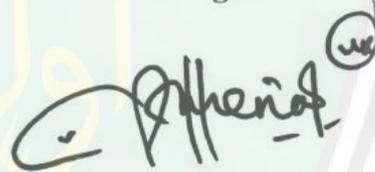
Telah Diperiksa dan Disetujui untuk Diuji:
Tanggal: 17 Desember 2019

Pembimbing I

Pembimbing II



Dr. Roihatul Muti'ah, M.Kes,Apt.
NIP. 19800203 200912 2 003



Meilina Ratna D, S. Kep., NS.,M,Kep
NIP. 19820523 200912 2 001

Mengetahui,
Ketua Program Studi Farmasi



Dr. Roihatul Muti'ah, M.Kes,Apt
NIP. 19800203 200912 2 003

**PENGARUH EKSTRAK BUAH TIN (*Ficus carica* L.) SEBAGAI
ANTIOKSIDAN TERHADAP KETEBALAN EPITEL DAN DIAMETER
LUMEN TUBULUS PROKSIMAL GINJAL MENCIT BETINA YANG
DIPAPAR RHODAMIN B**

SKRIPSI

Oleh:

MELY NAFIANDARY

NIM. 15670071

**Telah Dipertahankan di Depan Dewan Penguji Skripsi dan Dinyatakan
Diterima sebagai Salah Satu Persyaratan untuk Memperoleh Gelar Sarjana
Farmasi (S. Farm)**

Tanggal : 17 Desember 2019

**Ketua Penguji : Meilina Ratna Dianti, S. Kep., NS.,M,Kep.
NIP. 19820523 200912 2 001**

**Anggota Penguji: Roihatul Muti'ah, M.Kes,Apt.
NIP. 19800203 200912 2 003**

**: Ria Ramadhani Dwi Atmaja, S.Kep., NS., M.Kep.
NIP. 19850617 200912 2 005**

**: Achmad Nashichuddin, M.A
NIP. 19730705 200003 1 000**

Mengetahui,

Ketua Jurusan Farmasi

**Roihatul Muti'ah, M.Kes.Apt.
NIP. 19800203 200912 2 003**

MOTTO

يَرْجِعَ حَتَّىٰ اللَّهُ سَبِيلٌ فِي كَانِ الْعِلْمِ طَلَبٌ فِي خَرَجَ مَنْ

*“Barang siapa yang keluar dalam menuntut ilmu maka ia adalah seperti
berperang di jalan Allah hingga pulang”*

(H.R.Tirmidzi)

*Everyday we wake up is another blessing. Follow your dreams and don't
let anyone stop you. Never say never.*

(Justin Bieber)

Feel it. Believe it. Dream it. Be it

(Justin Bieber)

No challenge, no chage

(Choi Siwon)

LEMBAR PERSEMBAHAN

Alhamdulillahirobbil' aalamin

Sembah sujud serta syukur kepada Allah SWT.

Telah memberikan cinta dan kasih sayang sehingga memberikan kekuatan dan ilmu. Atas karunia dan kemudahan yang telah Engkau berikan sehingga skripsi ini dapat terselesaikan.

Sholawat serta salam selalu terucap keharibaan Rasullulah SAW.

Kepada orang yang saya cintai dan saya sayangi, dengan rasa syukur yang dalam saya mempersembahkan karya ini

Kepada kedua orang tua, Ibuk dan Ayah tercinta. Sebagai tanda terimakasih, hormat dan bakti saya persembahkan karya ini. Terimakasih telah memberikan doa, dukungan dalam segala bentuk, kasih sayang dan semangat yang tidak pernah putus. Terimakasih kepada kakak-kakak saya Mbak Evi, Mbak Luluk, Mas Madia, Mas Dendy dan adik saya Icana yang selalu memberikan dukungan, motivasi, dan semangat untuk saya.

Dosen pembimbing tugas akhir saya Ibu Dr. Roihatul Muti'ah, M. Kes., Apt., Ibu Meilina Ratna Dianti, S.Kep.,NS.,M.Kep. dan Bapak Weka Sidha Bhagawan, M.Farm, Apt. yang telah memberikan banyak pengalaman dan ilmu berharga serta waktu luang dalam memberikan masukan.

Terimakasih kepada teman-teman kos saya Nu, Kokom, Ana yang selalu menemani dan membantu saya selama kuliah, serta selalu memberikan semangat dan hiburan untuk saya. Terimakasih dukungannya selama ini sehingga saya bisa sampai dititik ini. Kepada teman-teman sekelompok dalam penelitian ini Inta M, Kartika D dan Elvira S, saya ucapkan terimakasih atas kerjasamanya dalam melakukan penelitian bersama saya.

Terimakasih kepada seluruh teman farmasi 2015 telah memberikan banyak pengalaman, telah mengajarkan perjuangan, kerja keras, kebersamaan dan kesederhanaan. Terimakasih telah memberikan pertemanan yang indah.

Selamat dan sukses untuk kalian semua.

Kepada semua pihak yang tidak bisa saya sebutkan satu persatu, terimakasih telah membantu menyelesaikan skripsi ini

(Mely Nafiandary/15670071)

PERNYATAAN KEASLIAN TULISAN

Saya yang bertanda tangan dibawah ini:

Nama : Mely Nafiandary

NIM : 15670071

Program studi : Farmasi

Fakultas : Kedokteran Dan Ilmu-Ilmu Kesehatan

Judul Penelitian: Pengaruh Ekstrak Buah Tin (*Ficus carica* L.) Sebagai Antioksidan Terhadap Ketebalan Epitel Dan Diameter Lumen Tubulus Proksimal Ginjal Mencit Betina Yang Dipapar Rhodamin B

menyatakan dengan sebenarnya bahwa skripsi yang saya tulis ini benar-banar merupakan hasil karya saya sendiri, bukan merupakan pengambilalihan data, tulisan atau pikiran orang lain yang saya akui sebagai hasil tulisan atau pikiran saya sendiri, kecuali dengan mencantumkan sumber cuplikan pada daftar pustaka. Apabila dikemudian hari terbukti atau dapat dibuktikan skripsi ini hasil jiplakan, maka saya bersedia menerima sanksi atas perbuatan tersebut.

Malang, 17 Desember 2019

Yang membuat pernyataan,



Mely Nafiandary

NIM. 15670071

KATA PENGANTAR

Assalamu'alaikum Warahmatullahi Wabarakatuh

Puji Syukur kehadirat Allah SWT atas rahmat, hidayah, dan karunia-Nya, sehingga penulis dapat menyelesaikan skripsi ini dengan judul “Pengaruh Ekstrak Buah Tin (*Ficus carica* L.) Sebagai Antioksidan Terhadap Ketebalan Epitel dan Diameter Lumen Tubulus Proksimal Ginjal Mencit Betina yang Dipapar Rhodamin B”. Skripsi ini dibuat sebagai salah satu syarat untuk kelulusan pada program Strata-1 di Jurusan Farmasi, Fakultas Kedokteran dan Ilmu Kesehatan, Universitas Islam Maulana Malik Ibrahim, Malang. Penulis menyadari dalam penyusunan skripsi ini tidak akan selesai tanpa bantuan dari berbagai pihak. Karena itu pada kesempatan ini penulis ingin mengucapkan terima kasih kepada:

1. Ibu Dr. Roihatul Muti'ah, M.Kes., Apt. selaku ketua Jurusan Farmasi, Fakultas Kedokteran dan Ilmu Kesehatan, Universitas Islam Maulana Malik Ibrahim, Malang, sekaligus sebagai Dosen Pembimbing I yang telah memberikan bimbingan dalam penulisan skripsi ini
2. Ibu Meilina Ratna Dianti, S.Kep., NS., M.Kep. selaku Dosen Pembimbing II yang telah memberikan bimbingan dalam penulisan skripsi ini.
3. Ibu Ria Ramadhani Dwi Atmaja, S.Kep., NS., M.Kep. selaku Dosen Penguji yang telah memberikan bimbingan dan saran dalam penyelesaian skripsi ini.
4. Segenap Dosen Jurusan Farmasi, Fakultas Kedokteran Dan Ilmu Kesehatan, Universitas Islam Maulana Malik Ibrahim, Malang yang telah memberikan ilmunya kepada penulis selama ini.

5. Orang tua serta saudara-saudara penulis atas doa, dukungan serta kasih sayang yang selalu tercurah selama ini.
6. Teman-teman satu angkatan yang selalu memberikan motivasi, dukungan, dan semangat untuk penulis.
7. Semua pihak yang tidak bisa penulis sebutkan satu-persatu yang telah membantu penulis baik langsung maupun tidak langsung dalam menyelesaikan skripsi ini.

Demikian skripsi ini penulis susun dengan sebaik-baiknya. Penulis menyadari sepenuhnya bahwa masih banyak kekurangan dalam penyusunan skripsi ini, oleh karena itu penulis mohon maaf atas kekurangan penulis. Penulis mengharapkan saran dan kritik demi kesempurnaan dan perbaikannya sehingga skripsi ini dapat bermanfaat bagi bidang pendidikan dan penerapan di lapangan serta bisa dikembangkan lagi lebih lanjut.

Wa'alaikumsalam Warahmatullahi Wabarakatuh

Malang, 17 Desember 2019

Penulis

DAFTAR ISI

HALAMAN JUDUL	i
HALAMAN PERSETUJUAN	ii
HALAMAN PENGESAHAN	iii
MOTTO	iv
HALAMAN PERSEMBAHAN	v
HALAMAN PERNYATAAN KEASLIAN TULISAN	vi
KATA PENGANTAR	vii
DAFTAR ISI	ix
DAFTAR GAMBAR	xii
DAFTAR TABEL	xiii
DAFTAR SINGKATAN	xiv
ABSTRAK	1
BAB I PENDAHULUAN	4
1.1 Latar Belakang	4
1.2 Rumusan Masalah	8
1.3 Tujuan Penelitian	8
1.4 Manfaat Penelitian	9
1.5 Batasan Masalah	9
BAB II TINJAUAN PUSTAKA	11
2.1 Buah Tin	11
2.1.1 Buah Tin Dalam Islam	11
2.1.2 Klasifikasi Buah Tin	15
2.1.3 Morfologi Buah Tin	15
2.1.4 Kandungan Antioksidan dan Manfaat Buah Tin	16
2.2 Radikal bebas	18
2.3 Rhodamin B	23
2.4 Antioksidan	27
2.4.1 Jenis-jenis antioksidan	27
2.4.2 Mekanisme antioksidan	29
2.5 Vitamin C	30
2.6 Ginjal	33
2.6.1 Anatomi Ginjal	34
2.6.2 Gambaran Histologis Ginjal	36

2.6.3	Fungsi ginjal.....	40
2.6.4	Kerusakan Tubulus Akibat Radikal Bebas	40
2.7	Mencit.....	42
2.8	Ekstrak.....	45
BAB III KERANGKA KONSEPTUAL.....		48
3.1	Kerangka Konseptual	48
3.2	Deskripsi Kerangka Konsep Penelitian	49
3.3	Hipotesis Penelitian	51
BAB IV METODE PENELITIAN		52
4.1	Jenis dan Rancangan Penelitian	52
4.2	Waktu dan Tempat Penelitian	52
4.3	Populasi dan Sampel	53
4.3.1	Populasi Penelitian	53
4.3.2	Sampel Penelitian.....	54
4.3.3	Cara Pengambilan Sampel	55
4.4	Variabel Penelitian dan Definisi Operasional	55
4.4.1	Variabel Penelitian	55
4.4.2	Definisi Operasional.....	57
4.5	Alat dan Bahan Penelitian	58
4.5.1	Alat Penelitian.....	58
4.5.2	Bahan Penelitian.....	58
4.6	Prosedur Penelitian.....	59
4.6.1	Alur Penelitian	59
4.6.2	Skema Kerja Proses Ekstraksi.....	60
4.6.3	Uji Kromatografi Lapis Tipis.....	61
4.6.4	Perlakuan.....	61
4.7	Analisis Data	62
BAB V HASIL PENELITIAN DAN PEMBAHASAN		64
5.1	Determinasi Tanaman.....	64
5.2	Proses Ekstraksi.....	65
5.2.1	Penyiapan Simplisia.....	65
5.2.2	Pembuatan Ekstrak	67
5.3	Uji Warna dan Uji Kromatografi Lapis Tipis (KLT).....	69
5.3.1	Uji Warna.....	69

5.3.2 Uji Kromatografi Lapis Tipis (KLT).....	71
5.4 Penanganan Hewan Coba.....	74
5.4.1 Persiapan Hewan Coba.....	74
5.4.2 Perlakuan Hewan Coba.....	75
5.5 Hasil Penelitian.....	77
5.5.1 Ketebalan Epitel.....	78
5.5.2 Diameter Lumen.....	84
5.6 <i>Effective Dose 50</i> (ED ₅₀).....	90
5.7 Pengaruh Ekstrak Buah Tin.....	91
5.8 Keistimewaan Buah Tin.....	94
BAB VI KESIMPULAN DAN SARAN.....	97
6.1 Kesimpulan.....	97
6.2 Saran.....	97
DAFTAR PUSTAKA.....	98
LAMPIRAN	

DAFTAR GAMBAR

Gambar 2. 1 Buah tin.....	15
Gambar 2. 2 Struktur fenol terhadap radikal bebas	17
Gambar 2. 3 Profil volatile <i>F. carica</i> L.	18
Gambar 2. 4 Struktur Kimia Rhodamin B	24
Gambar 2. 5 Struktur kimia Vitamin C	31
Gambar 2. 6 Anatomi ginjal manusia	35
Gambar 2. 7 Hubungan tubulus renal dengan pembuluh darah ginjal	36
Gambar 2. 8 Histologi ginjal manusia	36
Gambar 2. 9 Histologi tubulus proksimal manusia	39
Gambar 2. 10 Morfologi mencit	43
Gambar 2. 11 Cara memegang mencit	44
Gambar 5. 1 Buah tin yang sudah dirajang	65
Gambar 5. 2 Hasil uji warna	71
Gambar 5. 3 Hasil uji Kromatografi Lapis Tipis.....	74
Gambar 5. 4 Pemberian sediaan menggunakan sonde pada mencit	76
Gambar 5. 5 Proses pembedahan dan pengambilan organ ginjal mencit	77
Gambar 5. 6 Gambar epitel tubulus ginjal mencit pada setiap kelompok	79
Gambar 5. 7 Gambar lumen tubulus ginjal mencit pada setiap kelompok.....	85
Gambar 5. 8 Diagram Analisis Probit Ekstrak Buah Tin	90
Gambar 5. 9 Reaksi Penangkapan Elektron Oleh Polifenol	93

DAFTAR TABEL

Tabel 5. 1 Ketebalan epitel tubulus pada setiap sampel (μm).....	78
Tabel 5. 2 Hasil Pengujian Normalitas Saphiro Wilk Ketebalan Epitel.....	80
Tabel 5. 3 Hasil Pengujian Homogenitas Ragam Levene Ketebalan Epitel	81
Tabel 5. 4 Hasil Pengujian Kruskall-Wallis Pada Variabel Ketebalan Epitel.....	82
Tabel 5. 5 Ringkasan Nilai Signifikansi Uji Mann-Whitney Ketebalan Epitel ...	82
Tabel 5. 6 Hasil Uji Lanjut Respon Ketebalan Epitel	83
Tabel 5. 7 Diameter lumen tubulus pada setiap sampel (μm).....	84
Tabel 5. 8 Hasil Pengujian Normalitas Saphiro-Wilk Diameter Lumen.....	86
Tabel 5. 9 Hasil Pengujian Homogenitas Ragam Levene Diameter Lumen.....	87
Tabel 5. 10 Hasil Pengujian <i>Kruskall-Wallis</i> Pada Variabel Diameter Lumen ...	88
Tabel 5. 11 Ringkasan Nilai Signifikansi Uji Mann-Whitney Diameter lumen ..	88
Tabel 5. 12 Hasil Uji Lanjut Respon Diameter lumen	89



DAFTAR SINGKATAN

AKI	= <i>Acute Kidney Injury</i>
ATN	= <i>Acute Tubular Necrosis</i>
BHA	= <i>Butil Hdrosi Anisol</i>
BHT	= <i>Butil Hidroksi Toluen</i>
Cat	= <i>Katalase</i>
Cl	= <i>Klorin</i>
DNA	= <i>Deoxyribo Nucleic Acid</i>
GPx	= <i>Gluthation Peroxidase</i>
LD ₅₀	= <i>Letal dose 50</i>
ED ₅₀	= <i>Effective dose 50</i>
ROS	= <i>Reactive Oxygen Species</i>
SOD	= <i>Super Oxide Dismutase</i>
SOR	= <i>Senyawa Oksigen Reaktif</i>
TBHQ	= <i>Ter-Butil Hidroksi Quinon</i>
KLT	= <i>Kromatografi Lapis Tipis</i>



ABSTRAK

Nafiandary, Mely. 2019. **PENGARUH EKSTRAK BUAH TIN (*Ficus carica L.*) SEBAGAI ANTIOKSIDAN TERHADAP KETEBALAN EPITEL DAN DIAMETER LUMEN TUBULUS PROKSIMAL GINJAL MENCIT BETINA YANG DIPAPAR RHODAMIN B**. Skripsi. Program Studi Farmasi, Fakultas Kedokteran dan Ilmu Kesehatan Universitas Islam Negeri Maulana Malik Ibrahim Malang. Pembimbing I: Dr. Roihatul Muti'ah, M.Kes., Apt.; Pembimbing II: Meilina Ratna Dianti, S.Kep., NS., M.Kep.; Penguji: Ria Ramadhani Dwi Atmaja, S.Kep., NS., M.Kep.

Senyawa radikal bebas dalam rhodamin B tidak dapat termetabolisme di hati, sehingga mempengaruhi proses reabsorpsi di ginjal yang menyebabkan penebalan epitel tubulus dan penyempitan diameter lumen tubulus. Buah tin mengandung polifenol sebagai senyawa antioksidan yang mampu menghambat radikal bebas dengan cara menyumbangkan satu elektron kepada elektron yang tidak berpasangan dalam radikal bebas. Tujuan dari penelitian ini adalah untuk mengetahui pengaruh ekstrak buah tin (*Ficus carica L.*) sebagai antioksidan terhadap ketebalan epitel dan diameter lumen tubulus mencit betina yang dipapar rhodamin B, serta mengetahui *Effective Dose 50* (ED_{50}) dari ekstrak buah tin dalam mempengaruhi ketebalan epitel dan diameter lumen tubulus. Penelitian ini dilakukan dengan menggunakan 25 ekor mencit betina yang dibagi menjadi 5 kelompok yaitu kelompok kontrol negatif diberikan rhodamin B 0,08 mg/25gBB, kontrol positif diberikan rhodamin B 0,08 mg/25gBB dan vitamin C 1,3 mg/25g BB, kelompok perlakuan I (P1) diberikan rhodamin B 0,08 mg/25gBB dan ekstrak buah tin 1,75 mg/25gBB, kelompok perlakuan II (P2) diberikan rhodamin B 0,08 mg/25gBB dan ekstrak buah tin 3,5 mg/25gBB, kelompok perlakuan III (P3) diberikan rhodamin B 0,08 mg/25gBB dan ekstrak buah tin 7 mg/25gBB. Analisis data dilakukan dengan uji *Kruskal-wallis* dengan uji *Mann-whitney* sebagai uji lanjutan. Hasil penelitian menunjukkan pemberian ekstrak buah tin berpengaruh secara signifikan terhadap ketebalan epitel tubulus (nilai $p=0,000$) dan diameter lumen tubulus (nilai $p=0,000$) dengan menunjukkan pengecilan ketebalan epitel serta pembesaran diameter lumen tubulus ginjal mencit. Pengujian ED_{50} dari ekstrak buah tin didapatkan hasil 2,39 mg/25gBB.

Kata kunci: *Ficus carica L.*, rhodamin B, ketebalan epitel, diameter lumen, tubulus ginjal

ABSTRACT

Nafiandary, Mely. 2019. **EFFECT OF FIGS (*Ficus carica* L.) EXTRACT AS ANTIOXIDANT ON THE THICKNESS OF EPITHELIUM AND THE LUMEN DIAMETER OF FEMALE MICE KIDNEY PROXIMAL TUBULE EXPOSED RHODAMINE B.** Thesis. Pharmacy Department, Faculty of Medical and Health Sciences Maulana Malik Ibrahim State Islamic University of Malang. Advisor I: Dr. Roihatul Muti'ah, M. Kes., Apt.; Advisor II: Meilina Ratna Dianti, S.Kep., NS., M.Kep.; Examiners: Ria Ramadhani Dwi Atmaja, S.Kep., NS., M.Kep.

Free radical compounds in rhodamine B cannot be metabolized in the liver, so they enter the excretion system and affect the reabsorption process in the kidney which causes the thickening of the tubule epithelium and the narrowing of the tubule lumen diameter. Figs contain polyphenols as antioxidant compounds that can inhibit free radicals by donating one electron to unpaired electrons in free radicals, so that the number of free radicals decreases. The purpose of this study was to determine the effect of figs (*Ficus carica* L.) extract as an antioxidant on the thickness of the epithelium and lumen diameter of female mice exposed rhodamine B, and to determine the effective dose 50 (ED₅₀) of figs extract in influencing the thickness of epithelium and lumen diameter tubule. This research was conducted using 25 female mice which were divided into 5 groups, namely the negative control group which was given rhodamine B 0.08 mg/25gBW, the positive control group which was given rhodamine B 0.08 mg/25gBW and vitamin C 1.3 mg/25gBW, the treatment group I (P1) which was given rhodamine B 0.08 mg/25gBW and figs extract 1.75 mg/25gBW, the treatment group II (P2) which were given rhodamine B 0.08 mg/25gBW and figs extract 3.5 mg/25gBW, and the treatment group III (P3) which was given rhodamine B 0.08 mg/25gBW and figs extract 7 mg/25gBW. Data analysis was performed using the Kruskal-wallis test with the Mann-whitney test as a follow-up test. The results showed that the distribution of figs extracts had a significant effect on the thickness of tubule epithelium ($p=0,000$) and the lumen diameter of tubule ($p=0,000$) by showing a reduction in epithelial thickness and enlargement of lumen diameter of the kidney tubule. ED₅₀ test of figs extracts obtained 2.39 mg/25gBW.

Keywords: *Ficus carica* L., rhodamine B, epithelial thickness, lumen diameter, kidney tubule

المستخلص

نافيانداري، ميلي. 2019. تأثير مستخرج التين (*Ficus carica L.*) كمضاد أكسدة نحو تغليظ الظهارة وقطر لومين الكلوي النبيبي لإناث الفئران المتعرضة برودامين ب. بحث جامعي. قسم الصيدلة، كلية الطب والعلوم الصحية، جامعة مولانا مالك إبراهيم الإسلامية الحكومية مالانج. المشرفة الأولى: الدكتورة رائحة المطيعة؛ المشرفة الثانية: ميلينا رتنا ديانتني، الماجستير؛ المناقشة: ريا رمضاني دوي أتماجا، الماجستير

لم تستقبل مستحضر الجذور الحرة في رودامين ب داخل الكبد، حتى تدخل في قناة الإفراغ وتؤثر عملية إعادة الامتصاص في الكلوي وتؤدي إلى تغليظ الظهارة النبيبية وتضييق قطر لومين النبيبي. ويحتوي الطين (*Ficus carica L.*) على بوليفينول على مستحضر مضاد أكسدة المعرقل الجذور الحرة بتوزيع إلكترون نحو إلكترونات مستقلة فيها، حتى تكون جملة الجذور منخفضة. يهدف هذا البحث إلى معرفة . تأثير مستخرج التين (*Ficus carica L.*) كمضاد أكسدة نحو تغليظ الظهارة وقطر لومين الكلوي النبيبي لإناث الفئران المتعرضة برودامين ب ومعرفة جرعة مؤثرة وسيطة (ED_{50}) من مستخرج التين الذي يؤثر تغليظ الظهارة وقطر الكلوي النبيبي. تم البحث باستنائة 25 إناث الفئران التي تنقسم إلى خمس مجموعات، فهي المجموعة السلبية بتوفير رودامين ب 0.08 مليغرام/25 وزن غرام، المجموعة الإيجابية بتوفير رودامين ب 0.08 مليغرام/25 وزن غرام والفيتامين ج 1.3 مليغرام/25 وزن غرام، المجموعة المحكمة (P1) بتوفير رودامين ب 0.08 مليغرام/25 وزن غرام ومستخرج النخلة 1.75 مليغرام/25 وزن غرام، المجموعة المحكمة (P2) بتوفير 0.08 مليغرام/25 وزن غرام ومستخرج التين 3.5 مليغرام/25 وزن غرام، والمجموعة المحكمة (P3) بتوفير 0.08 مليغرام/25 وزن غرام ومستخرج التين 7 مليغرام/25 وزن غرام. وتم تحليل البيانات باختبار كروسكال واليس واختبار مان ويتني كالاختبار الاستمراري. فنتائج البيانات تدل على أن إعطاء مستخرج التين يؤثر بليغا نحو تغليظ الظهارة النبيبية (نتيجة $p = 0.000$) وقطر النبيبي (نتيجة $p = 0.000$) بعرض تصغير تغليظ الظهارة وتكبير قطر لومين الكلوي النبيبي لإناث الفئران. فاختبار من مستخرج التين ينتج 2.39 مليغرام/25 وزن غرام.

الكلمات الرئيسية: *Ficus carica L.*، رودامين ب، تغليظ الظهارة، قطر لومين.

BAB I

PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

Radikal bebas merupakan atom atau molekul yang sifatnya tidak stabil (mempunyai satu elektron atau lebih yang tanpa pasangan), sehingga untuk memperoleh pasangan elektron senyawa ini sangat reaktif dan merusak jaringan. Radikal bebas dapat mencuri elektron yang ada pada molekul lain seperti DNA dan sel, sehingga dapat merusak sel dan DNA tersebut. Dampak reaktivitas senyawa radikal bebas ini antara lain kerusakan sel atau jaringan, penyakit autoimun, penyakit degeneratif, hingga kanker. Salah satu contoh radikal bebas yang banyak ditemukan di masyarakat adalah rhodamin B (Rohmatussolihat, 2009).

Rhodamin B merupakan salah satu jenis pewarna tekstil yang sering disalahgunakan sebagai pewarna makanan. Rhodamin B mengandung senyawa logam berat seperti klorin (Cl) dan senyawa pengalkilasi (CH₃-CH₃) yang bersifat radikal dan dapat merusak jaringan (Anjasmara, 2017). Senyawa radikal yang dihasilkan rhodamin B pada proses metabolisme dapat masuk ke dalam aliran darah serta menyebabkan berbagai kerusakan jaringan. Contohnya, radikal bebas yang sampai pada ginjal dapat mengganggu proses reabsorpsi dan diakumulasi dalam tubulus sehingga dapat menyebabkan kerusakan sel pada tubulus. Radikal bebas dapat menyebabkan pembengkakan epitel dan penyempitan lumen tubulus ginjal karena terjadi pergeseran air ekstraseluler ke dalam sel. Pergeseran cairan ini terjadi karena adanya toksin yang menyebabkan

perubahan muatan listrik pada permukaan sel epitel tubulus yang akhirnya mengakibatkan tubulus rusak (Togatorop, 2016).

Tubuh memerlukan antioksidan yang dapat membantu melindungi tubuh dari serangan radikal bebas dengan meredam dampak negatif senyawa ini. Antioksidan mempunyai struktur molekul yang dapat memberikan elektronnya kepada molekul radikal bebas tanpa terganggu sama sekali serta dapat mengikat radikal bebas (Winarsi, 2007). Ada dua macam antioksidan, yaitu antioksidan internal dan eksternal. Antioksidan internal yaitu antioksidan yang secara alami dapat diproduksi oleh tubuh sendiri. Namun, kemampuan tubuh untuk memproduksi antioksidan alami dapat semakin berkurang seiring dengan bertambahnya usia. Yang termasuk antioksidan primer ini adalah *Super Oxide Dismutase* (SOD), *Gluthation Peroxidase* (GPx), dan *Katalase* (Cat). Antioksidan eksternal tidak dihasilkan oleh tubuh tetapi berasal dari makanan dan disebut juga antioksidan sekunder seperti vitamin A, beta karoten, vitamin C, vitamin E, selenium, flavonoid, dan lain-lain. Terdapat pula antioksidan sintetis seperti BHA (butil hidroksi anisol) dan BHT (butil hidroksi toluen) yang memiliki aktivitas antioksidan yang lebih tinggi dibandingkan vitamin C dan vitamin E tetapi antioksidan sintetis ini dapat menimbulkan karsinogenesis (Kikuzaki *et al*, 2002).

Antioksidan eksternal yang aman dapat diperoleh secara alami yaitu melalui tumbuhan. Senyawa antioksidan yang dapat diperoleh dari tumbuhan antara lain flavonoid, polifenol, dan tannin. Salah satu tumbuhan yang banyak mengandung senyawa antioksidan adalah buah tin (*Ficus carica* L.). Buah tin telah lama diketahui mengandung komponen yang berkhasiat untuk kesehatan dan sejak

berabad-abad manusia telah menggunakan buah ini sebagai sumber obat-obatan tradisional (Ghazi *et al*, 2010). Buah tin mengandung golongan senyawa polifenol seperti flavonoid, tannin, serta senyawa fenolik seperti catechin, epicatechin, dan rutin. Senyawa polifenol mampu menghambat radikal bebas melalui mekanisme penangkapan radikal dengan cara menyumbangkan satu elektron kepada elektron yang tidak berpasangan dalam radikal bebas, sehingga jumlah radikal bebas menjadi berkurang (Harborne, 1987).

Masyarakat saat ini, terutama di Indonesia, telah banyak menggunakan tanaman sebagai obat alternatif. Hal ini dikarenakan penggunaan obat tradisional lebih ekonomis serta memiliki efek samping yang lebih kecil dibandingkan obat kimia (Dwisatyadini, 2017). Penelitian yang melakukan uji fitokimia pada buah tin menunjukkan bahwa buah tin segar mengandung senyawa bioaktif golongan alkaloid, fenolik, flavonoid dan triterpenoid, dengan kadar tertinggi senyawa golongan fenolik (Wu, 2019). Penelitian yang melakukan uji metabolit pada tanaman *Ficus carica* L. dengan membandingkan kandungan senyawa *volatile* dalam daun, buah dan kulit buah menunjukkan hasil terdapat total 59 senyawa *volatile* yang terkandung. Pada buah dan kulit buah mengandung aldehid dan monoterpen lebih banyak dibandingkan daun (Oliveira, 2010).

Buah tin (*Ficus carica* L.) memiliki konsentrasi polifenol yang lebih tinggi dibandingkan dengan buah aprikot, anggur, dan *plum* yaitu sebesar 1,090-1,110 mg/100 gram buah segar (Vinson, 2005). Polifenol sendiri digolongkan dalam antioksidan sekunder yang berperan sebagai *radical scavenger*. Berdasarkan pengujian aktivitas antioksidan penangkap radikal DPPH diperoleh hasil bahwa

ekstrak buah tin yang diberikan kepada hewan coba memiliki nilai IC50 sejumlah 4,41 ppm dan terbukti memiliki aktivitas antioksidan (Vinson, 1999). Kandungan polifenol dalam buah tin dapat menekan stress oksidatif dan mengurangi terjadinya kerusakan lipid akibat hipoksia (Wu, 2019). Penelitian lain diungkapkan bahwa buah tin memiliki kemampuan antioksidan yang utama ketika dibandingkan dengan bawang, labu, dan ketimun (Qusti *et al*, 2010).

Buah tin sendiri telah disebutkan dalam ayat Alqur'an yang menunjukkan keutamaan buah tin sebagai tanaman yang kaya manfaat. Sebagaimana telah disebutkan dalam Alqur'an, Allah berfirman :

وَالزَّيْتُونَ

“*Demi (buah) tin dan (buah) zaitun*” (Qur'an Surat At Tiin).

Buah tin ini terdapat pada salah satu surah Alqur'an dengan nama buah itu sendiri, hal ini menunjukkan bahwa Allah menciptakan sesuatu pasti ada manfaatnya termasuk buah tin yang kaya akan manfaat. Buah ini telah dikenal luas sejak dulu dengan manfaat dan kegunaannya sebagai obat tradisional (Ni'mah, 2016). Oleh karena itu, penelitian lebih lanjut mengenai manfaat buah tin penting untuk dilakukan khususnya manfaatnya sebagai antioksidan dalam mengurangi efek negatif dari radikal bebas.

1.2 Rumusan Masalah

Rumusan masalah dalam penelitian ini antara lain adalah:

1. Apakah ekstrak buah tin (*Ficus carica* L.) berpengaruh terhadap ketebalan epitel tubulus ginjal mencit betina yang telah dipapar rhodamin B?
2. Apakah ekstrak buah tin (*Ficus carica* L.) berpengaruh terhadap diameter lumen tubulus ginjal mencit betina yang telah dipapar rhodamin B?
3. Berapakah dosis efektif 50% (ED₅₀) dari ekstrak buah tin (*Ficus carica* L.) terhadap perubahan ketebalan epitel dan diameter lumen tubulus ginjal mencit betina yang telah dipapar rhodamin B?

1.3 Tujuan Penelitian

Tujuan dari penelitian ini antara lain adalah:

1. Mengetahui pengaruh ekstrak buah tin (*Ficus carica* L.) terhadap ketebalan epitel tubulus ginjal mencit betina yang telah dipapar rhodamin B.
2. Mengetahui pengaruh ekstrak buah tin (*Ficus carica* L.) terhadap diameter lumen tubulus ginjal mencit betina yang telah dipapar rhodamin B.
3. Mengetahui dosis efektif 50% (ED₅₀) dari ekstrak buah tin (*Ficus carica* L.) terhadap perubahan ketebalan epitel dan diameter lumen tubulus ginjal mencit betina yang telah dipapar rhodamin B.

1.4 Manfaat Penelitian

Manfaat dari penelitian ini antara lain adalah:

1. Secara teoritis, dapat menambah ilmu pengetahuan, khususnya di dalam bidang farmasi tentang manfaat ekstrak buah tin sebagai antioksidan yang dapat mengurangi dampak negatif dari radikal bebas rhodamin B.
2. Secara praktis, dapat digunakan sebagai pertimbangan pemilihan *food suplement*, dalam hal ini adalah buah tin (*Ficus carica* L) untuk mengurangi dampak negatif dari radikal bebas.

1.5 Batasan Masalah

Batasan masalah pada penelitian ini adalah:

1. Ekstraksi buah tin (*Ficus carica* L.) dilakukan dengan metode maserasi menggunakan pelarut etanol dengan konsentrasi 96%.
2. Bagian tanaman yang digunakan sebagai bahan untuk ekstrak adalah seluruh bagian buah, termasuk kulit buah dan biji.
3. Buah yang digunakan adalah buah matang yang berwarna hijau kekuningan, memiliki daging yang empuk dan rasanya manis.
4. Mencit yang digunakan merupakan mencit BALB/c berjenis kelamin betina, berusia 3-4 bulan dengan berat badan 25-30 gram.
5. Perlakuan dilakukan selama 15 hari.
6. Sediaan diberikan secara per oral menggunakan sonde.

7. Ekstrak diberikan bersamaan dengan pemberian rhodamin B (dengan cara rhodamin B diberikan terlebih dahulu kemudian dilanjutkan dengan pemberian ekstrak).
8. Kandungan senyawa antioksidan dalam ekstrak diuji dengan uji warna dan uji KLT.
9. Pengaruh antioksidan dari ekstrak buah tin (*Ficus carica* L.) yang diamati adalah ketebalan epitel dan diameter lumen tubulus proksimal.



BAB II

TINJAUAN PUSTAKA

2.1 Buah Tin

2.1.1 Buah Tin Dalam Islam

Tin atau bahasa latinnya *Ficus carica* L. adalah sejenis tumbuhan penghasil buah yang dapat dimakan yang berasal dari Asia Barat. Ayat Alqur'an yang membahas buah tin yaitu pada surat At-tin surah 95 ayat 1, yang berbunyi:

وَالتِّينِ وَالزَّيْتُونِ

“*Demi (buah) tin dan (buah) zaitun*”. (QS Al-Tīn:1)

Dalam tafsir Al-Maragi dijelaskan bahwa التِّينِ menurut Imam Muhammad Abduh, “tīn” yang dimaksud adalah pohon tempat Nabi Adam bernaung tatkala di surga. Al-Maragi menjelaskan bahwa Allah bersumpah dengan masa Tin Nabi Adam. Yaitu zaman ketika Nabi Adam dan istrinya menutupi tubunya dengan pohon Tin. Ini seraya dengan pendapat yang dicantumkan Sayyid Quthb dalam Tafsir Fii Dzilal Alqur'an bahwa tin yang dimaksud mengandung isyarat yang menunjuk kepada pohon tin tempat nabi Adam dan istrinya (Hawa) pergi mengambil daun-daunnya untuk menutupi kemaluannya di surga yang mereka tempati sebelum turun ke kehidupan dunia. Sedangkan الزَّيْتُونِ yang dimaksud adalah pohon yang merupakan pertanda surutnya banjir pada zaman Nabi Nuh. Ketika itu, Nabi Nuh mengutus seekor burung dan kembali membawa daun pohon dan zaitun, hal ini menandakan banjir telah mulai surut dari permukaan bumi (Ni'mah, 2016).

Syaikh Imam Al-Qurthubi dalam tafsirnya “Al-Qurthubi” menyatakan bahwa ayat yang membahas firman Allah ini “Demi tin dan zaitun” maksudnya adalah buah tin yang kalian makan, dan buah zaitun yang kalian peras untuk dijadikan minyak. Diriwayatkan dari Ibnu Abbas r.a. bahwa tin adalah masjidnya Nabi Nuh as. yang beliau bangun di atas bukit Judiy, dan zaitun adalah masjid Baitul maqdis. Al-Dhahhak berkata, “tin adalah Masjid Al-Haram, dan zaitun adalah masjid Al-Aqsa. Menurut Ibnu Zaid, tin adalah Masjid Damaskus, dan zaitun adalah Baitul Maqdis. Menurut Qatadah, tin adalah gunung di Damskus yang banyak tumbuh pohon tin, dan zaitun adalah gunung di Baitul Maqdis yang banyak tumbuh zaitun. Muhammad bin Ka’ab berkata, “tin adalah masjid Ashabul Kahfi, dan zaitun adalah Eilia.” Ka’ab Al-Ahbar, Qatadah, Ikrimah, dan Ibnu Zaid berkata “tin adalah Damskus, dan zaitun adalah Baitul Maqdis,” pendapat ini merupakan pendapat yang dipilih oleh Al-Thabari (Ni’mah, 2016).

Di dalam Tafsir Al-Qurthubi juga dijelaskan bahwa dalam Jami’ Al Bayān di dalamnya tertulis: pendapat yang benar mengenai hal itu menurut kami pendapat yang mengatakan bahwa tin adalah buah yang dimakan, dan zaitun adalah buah yang diperas untuk dijadikan minyak, karena itu yang dikenal di kalangan bangsa Arab, dan tidak diketahui ada sebuah gunung yang bernama tin, dan tidak pula ada gunung yang dinamakan zaitun, melainkan seseorang hendaknya berkata, Tuhan kita yang maha terpuji telah bersumpah dengan tin dan zaitun, dan yang dimaksud dalam ayat adalah qasam (sumpah) dengan tanaman tin dan zaitun, maka pendapat itu menjadi sebuah kepercayaan, walaupun maksudnya tidak pasti shahih sebagai dalil atas jelas turunnya ayat, dan tidak diambil dari pendapat yang

tidak membolehkan pendapat lain, karena di Damaskus terdapat tanaman tin, begitu pula di Baitul Maqdis terdapat tanaman zaitun (Ni'mah, 2016).

Al Farra berkata, "Aku mendengar seorang adari penduduk Syam berkata, tin adalah gunung yang berada di antara Hulwan sampai Hamadzan, dan Zaitun adalah pegunungan Syam, ada yang mengatakan bahwa kedua gunung itu adalah dua gunung yang berada di Syam yang dikenal dengan Tur Zaitan dan Tur Tinan (di Al-Suryaniyyah), dinamakan dengan nama tersebut karena di dua gunung itu tumbuh dua pohon tersebut, demikian Abu Makin meriwayatkan dari Ikrimah, Sia berkata. "Tin dan Zaitun adalah dua gunung di Syam." Diantara pendapat yang ada, pendapat pertama adalah yang paling benar karena ia adalah hakikat, dan hakikat tidak dapat dipalingkan kepada majas kecuali dengan dalil, sesungguhnya Allah SWT bersumpah kepada tin, karena ia merupakan penutup aurat Nabi Adam as. di surga, berdasarkan firman Allah, "*Keduanya menutupinya dengan daun-daun surga.*" (Al A'raf: 22), daun itu adalah daun buah tin. Allah bersumpah dengannya untuk menerangkan sisi anugerah yang agung pada buah tersebut (Ni'mah, 2016).

Abu Darda' r.a meriwayatkan bahwasanya Rasulullah SAW bersabda:

لَوْ قُلْتُ إِنَّ فَاكِهَةً نَزَلَتْ مِنَ الْجَنَّةِ قُلْتُ التَّيْنِ

"Seandainya saya boleh mengatakan bahwa sesungguhnya ada buah yang turun dari surga, maka saya akan mengatakan (itu adalah) buah tin, karena buah surga tidak berbiji buah"

Dalam riwayat lain, Abu Dzarr r.a mengatakan: "Nabi Muhammada SAW dihadiahi sekeranjang buah tin, kemudian beliau bersabda menyilakan: Ayo,

makanlah! Beliau ikut mencicipinya, kemudian bersabda: Jika saya berkata tentang buah yang turun dari surga, maka saya akan mengatakan buah tin, karena buah surga tidak berbiji. Maka, makan buah tin, sesungguhnya ia dapat menyembuhkan wasir dan mengobati encok”. Tidak berlebihan jika buah tin (*ficus carica L.*) dipercayai sebagai buah surga, karena selain rasanya yang segar dan lezat, buah ini juga memiliki beragam manfaat bagi kesehatan manusia (Roswita, 2017).

Ibn Alqayyim dalam bukunya “*Ath-Thib Annabawi*” mengomentari riwayat hadits diatas: "Menguji kemanjuran pengobatan nabi tersebut dalam hadits ini, dapat dirilis beberapa teori. Pada jaman dahulu kala buah tin telah banyak dipakai untuk kepentingan medis, tokoh-tokoh kedokteran periode awal juga seperti Ibn Sina telah banyak mengetahui buah tin mempunyai banyak faedah medis..." Dan pengobatan traditional pada dekade terakhir ini juga mengenal kemujaraban tin, dimana dianggap secara medis menyembuhkan berbagai penyakit seperti mengobati luka-luka, borok, flu burung, mag, gangguan sirkulasi mensturasi dan luka bakar. Menurut Imam Ibnu al-Jawziyyah, Buah Tin memiliki khasiat dapat mengurangi penyakit sesak nafas, membersihkan hati dan limpa juga pengencer dahak serta memberi khasiat yang baik pada tubuh, sebagai langkah pencegahan untuk melawan racun di tubuh kita (Hatta, 2012).

2.1.2 Klasifikasi Buah Tin

Klasifikasi tanaman buah tin menurut Joseph (2011), adalah sebagai berikut:

Kerajaan: Plantae

Divisi: Magnoliophyta

Kelas: Magnolipsida

Ordo: Rosales

Famili: Moraceae

Genus: *Ficus*

Spesies: *Ficus carica* L.

2.1.3 Morfologi Buah Tin

Buah tin muncul di tunas lateral pada daun. Bunga muncul pada cabang tunas lateral daun (Dolgun dan Tekintas, 2008). Periode awal pertumbuhan adalah pertumbuhan ukuran diameter dan berat. Pada tahap ini hampir tidak terdapat perbedaan terhadap akumulasi gula. Tahap kedua adalah tingkat kematangan yang ditandai dengan akumulasi gula tanpa ada perubahan ukuran dan berat. Tahap ketiga dikarakteristikan oleh percepatan ukuran diameter buah, kematangan, serta air dan kandungan gula (Flaishman *et al.*, 2008).



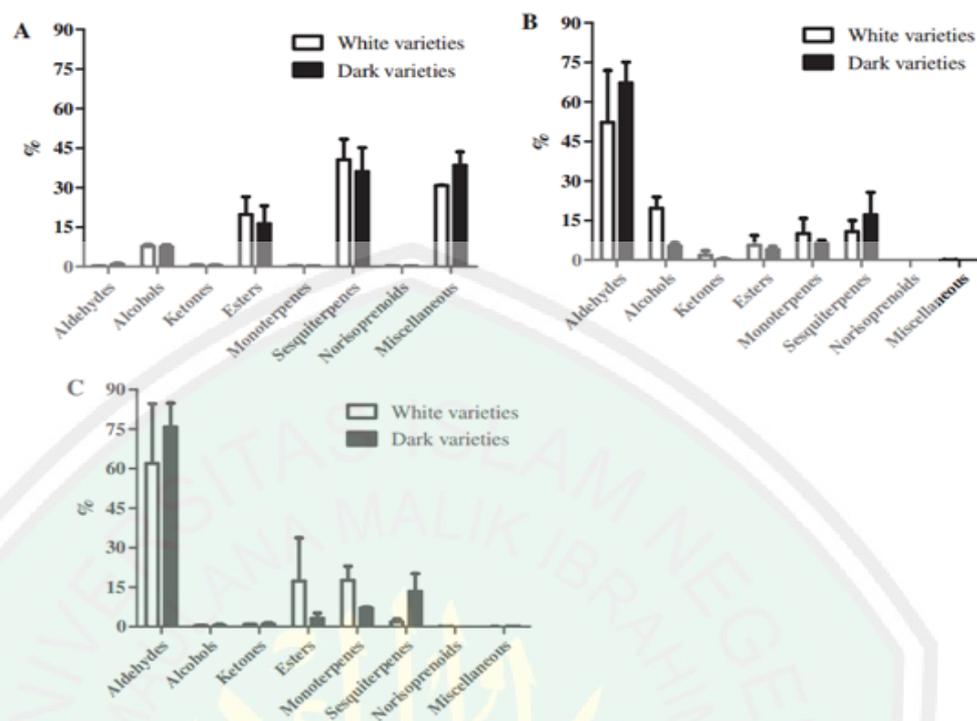
Gambar 2. 1 Buah tin

2.1.4 Kandungan Antioksidan dan Manfaat Buah Tin

Kandungan gizi dari tin antara lain serat, vitamin A, C, kalsium, magnesium dan potasium yang sangat diperlukan oleh tubuh. Buah tin mengandung serat (*dietary fiber*) yang sangat tinggi. Setiap 100 gr buah tin kering terkandung 10.95g serat sedangkan apel hanya mengandung serat 3.33g dan jeruk 3.4g. Tin juga mengandung 74.98% asam lemak tak jenuh, diantaranya omega-3 sekitar 25.58%, omega-6 sekitar 29.94%, dan omega-9 sekitar 20.99% (Mehmet *et.al.*, 2009). Selain itu, buah tin memiliki kandungan flavonoid, fenolik dan beberapa senyawa bioaktif seperti arabinose, β -amirin, β -karoten, glikosida, β -setosterol dan xanthol yang merupakan senyawa antioksidan (Joseph, 2011).

Buah tin mengandung antioksidan yang dapat mengikat senyawa karsinogen penyebab kanker. Buah tin merupakan sumber penting komponen bioaktif seperti fenol, benzaldehid, terpenoid, flavonoid, dan alkaloid yang memiliki sifat antioksidan. Kandungan terpenoid buah tin berupa linalool, β -bourbonene, β -caryophyllene, dan hotrienol. Komponen lainnya berupa eugenol, antosianin, dan flavanol (catechin dan epicatechin). Total antosianin pada kulit buah tin 32-97 $\mu\text{g/g}$ dan 1.5-15 $\mu\text{g/g}$ pada daging buah. Antosianin yang dominan pada kedua bagian tersebut berupa Cy 3-rutinoside yaitu 48–81% pada kulit dan 68–79% pada daging buah disertai oleh Cy 3-glucoside yaitu 5–18% pada kulit dan 10–15% pada daging buah (Fauza, 2016).

Senyawa polifenol dalam buah tin berkhasiat sebagai antioksidan. Senyawa polifenol dalam buah tin antara lain flavonoid, tannin dan terpenoid. Flavonoid merupakan golongan terbesar dari senyawa fenol. Senyawa-senyawa polifenol



Gambar 2. 3 Profil volatile *F. carica L.* (A) Daun, (B) Kulit buah, dan (C) Buah

2.2 Radikal bebas

Radikal bebas adalah atom atau molekul yang mengandung satu atau lebih elektron yang tidak berpasangan pada orbital terluarnya dan bersifat reaktif. Suatu atom atau molekul akan tetap stabil bila elektronnya berpasangan. Untuk mencapai kondisi stabil tersebut, radikal bebas dapat menyerang bagian tubuh seperti sel, sehingga dapat menyebabkan kerusakan pada sel tersebut dan berimbas pada kinerja sel, jaringan dan akhirnya pada proses metabolisme tubuh. Radikal bebas dapat berasal dari tubuh makhluk hidup itu sendiri sebagai akibat aktivitas tubuh seperti aktivitas autooksidasi, oksidasi enzimatik, organel subseluler, aktivitas ion logam transisi, dan berbagai sistem enzim lainnya (Fessenden, 2005). Radikal bebas juga terbentuk karena peradangan, kekurangan

gizi dan akibat respon terhadap pengaruh luar tubuh seperti polusi udara, sinar ultraviolet, asap kendaraan bermotor dan asap rokok. Makanan tertentu seperti makanan cepat saji (*fast food*), makanan kemasan, makanan kalengan juga berpotensi meninggalkan racun dalam tubuh karena kandungan lemak, pengawet serta sumber radikal bebas (Sibuea, 2004).

Pembentukan senyawa radikal bebas di dalam tubuh dipicu oleh bermacam-macam faktor. Radikal bebas bisa terbentuk, misalnya, ketika komponen makanan diubah menjadi bentuk energi melalui proses metabolisme. Pada proses metabolisme ini, seringkali terjadi kebocoran elektron. Dalam kondisi demikian, mudah sekali terbentuk radikal bebas, seperti anion superoksida, hidroksil dan lain-lain. Radikal bebas juga dapat terbentuk dari senyawa lain yang sebenarnya bukan radikal bebas, tetapi mudah berubah menjadi radikal bebas. Misalnya hidrogen peroksida (H_2O_2), ozon dan lain-lain. Kedua kelompok senyawa tersebut sering disebut sebagai Senyawa Oksigen Reaktif (SOR) atau *Reactive Oxygen Species* (ROS) (Minarsih, 2007).

Reaksi radikal bebas sebenarnya adalah suatu mekanisme biokimia yang normal terjadi dalam tubuh kita. Radikal bebas biasanya hanya bersifat perantara, dan kemudian cepat diubah menjadi substansi lain yang tidak lagi membahayakan tubuh kita, misalnya hormon-hormon prostaglandin yang dibentuk melalui suatu seri reaksi radikal bebas, atau reaksi detoksifikasi racun yang masuk ke dalam tubuh yang juga mengikutsertakan radikal bebas. Tetapi jika dalam kesempatan yang singkat ini, radikal bebas bertemu DNA atau enzim atau asam lemak

majemuk tak jenuh (*polyunsaturated fats*), maka suatu permulaan kerusakan sel dapat terjadi (Husaini, 1991).

Menurut Tapan (2005), berikut sebab-sebab yang dapat meningkatkan atau memicu pembentukan radikal bebas:

3. Sebab dari dalam tubuh
 - a. Proses oksidasi yang berlebihan
 - b. Proses olahraga yang berlebihan yang mana dapat menghasilkan radikal bebas tambahan sesuai dengan bertambahnya kebutuhan energi dan pembakaran biokimia dalam tubuh.
 - c. Proses peradangan akibat menderita sakit kronik atau tumor/kanker. Radikal bebas aktif diproduksi dari luka atau otot yang digunakan secara berlebihan. Termasuk juga pada penderita diabetes, bertahun-tahun terpapar kadar gula darah yang tinggi. Kondisi ini menghasilkan molekul oksigen yang tidak stabil terus menerus. Oleh karena itu sangat penting penderita kronik atau kanker dalam hal ini menambah jumlah antioksidannya
 - d. Dalam keadaan stres psikologis yang terus menerus mengakibatkan produksi radikal bebas yang berlebihan. Karena itu banyak studi yang mengaitkan serangan jantung dan kanker
4. Penyebab dari luar tubuh
 - a. Menghirup asap rokok. Radikal bebas dari asap rokok masuk ke dalam tubuh manusia melalui saluran pernapasan. Molekul oksigen yang tidak stabil dapat langsung merusak jaringan paru atau memicu lepasnya spesies oksigen reaktif dalam sel-sel tubuh termasuk sel darah putih.

- b. Menghirup udara/lingkungan tercemar. Sama seperti rokok udara yang begitu terpolusi dan tercemar akibat buangan kendaraan bermotor, hasil pabrik dan pembakaran sampah bisa masuk melalui paru manusia dan radikal bebas tersebut merusak sel-sel tubuh dengan cara menembus membran sel
- c. Radiasi matahari/kosmis. Sinar ultraviolet yang kuat ini dipancarkan matahari dan dapat merusak sel
- d. Radiasi foto terapi (penyinaran). Sinar X atau radio isotop merupakan radikal bebas yang sangat kuat.
- e. Konsumsi obat-obatan termasuk kemoterapi. Obat- obatan termasuk obat antikanker, selain menyerang sel-sel kanker, obat tersebut juga merupakan radikal bebas bagi sel-sel normal lainnya
- f. Pestisida dan zat kimia pencemaran lain. Masuk ke dalam tubuh melalui makanan dan minuman yang terpapar dengan pestisida atau zat kimia pencemaran lainnya. Keadaan ini terus menerus berlangsung di saluran cerna.

Radikal bebas yang beredar dalam tubuh berusaha mencuri elektron yang ada pada molekul lain seperti DNA dan sel. Pencurian ini jika berhasil akan merusak sel dan DNA tersebut. Dapat dibayangkan jika radikal bebas banyak beredar maka akan banyak pula sel yang rusak. Kerusakan yang ditimbulkan dapat menyebabkan sel tersebut menjadi tidak stabil yang berpotensi mempercepat proses penuaan dan kanker (Rohmatussolihat, 2009).

Meurut Muhilal (1991), kerusakan yang dapat ditimbulkan oleh serangan radikal bebas antara lain :

1. Membran sel

Terutama komponen penyusun membran berupa asam lemak tak jenuh yang merupakan bagian dari fosfolipid dan mungkin juga protein. Perusakan bagian dalam pembuluh darah akan mempermudah pengendapan berbagai zat pada bagian yang rusak tersebut, termasuk kolesterol, sehingga timbul atherosklerosis. Serangan radikal hidroksil pada asam lemak tak jenuh dimulai dengan interaksi oksigen pada rangkaian karbon pada posisi tak jenuh sehingga terbentuk lipid hidroperoksida, yang selanjutnya merusak bagian sel di mana hidroperoksida ini berada

2. Kerusakan protein

Terjadinya kerusakan protein termasuk oksidasi protein akan mengakibatkan kerusakan jaringan tempat protein itu berada; sebagai 26 contoh kerusakan protein pada lensa mata mengakibatkan terjadinya katarak.

3. Kerusakan DNA (*Deoxyribo Nucleic Acid*)

Radikal bebas hanya salah satu dari banyak faktor yang menyebabkan kerusakan DNA. Penyebab lain misalnya virus, radiasi dan zat kimia karsinogen. Sebagai akibat kerusakan DNA ini dapat timbul penyakit kanker. Kerusakan dapat berupa kerusakan awal, fase transisi dan permanen.

4. Kerusakan lipid peroksida

Lipida dianggap molekul yang paling sensitif terhadap serangan radikal bebas sehingga terbentuk lipid peroksida. Terbentuknya lipid peroksida yang

selanjutnya dapat menyebabkan kerusakan lain dianggap salah satu penyebab pula terjadinya berbagai penyakit degeneratif.

5. Dapat menimbulkan autoimun

Autoimun adalah terbentuknya antibodi terhadap suatu sel tubuh biasa. Pada keadaan normal antibodi hanya terbentuk bila ada antigen yang masuk dalam tubuh. Adanya antibodi untuk sel tubuh biasa dapat merusak jaringan tubuh dan sangat berbahaya.

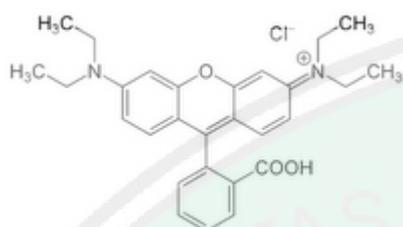
6. Proses ketuaan

Secara teori radikal bebas dapat dipunahkan oleh berbagai antioksidan, tetapi tidak pernah mencapai 100%. Karena itu secara pelan dan pasti terjadi kerusakan jaringan oleh radikal bebas yang tidak terpunahkan. Kerusakan jaringan secara pelan ini merupakan proses 27 terjadinya ketuaan. Yang ingin awet muda perlu banyak mengkonsumsi zat gizi yang dapat memunahkan radikal bebas.

2.3 Rhodamin B

Rhodamin B merupakan zat pewarna berupa serbuk kristal berwarna hijau atau ungu kemerahan, tidak berbau, serta mudah larut dalam air dan membentuk larutan warna merah terang berfluoresensi kuat, serta digunakan sebagai bahan pewarna tekstil atau pakaian. Nama lain dari zat ini adalah Tetraethyl rhodamin, Rheoninc B, O dan C Red No. 19, CI Basic Violet 10, CI No. 45179. Rhodamin B termasuk golongan pewarna xanthene basa, mengandung unsur-unsur yang toksik karena memiliki gugus klorin, poli aromatik hidrokarbon (PAH), dan senyawa

alkilating, mengandung residu logam berat serta terbuat dari metadietilaminofenol dan ftalik anhidrid merupakan unsur yang bersifat karsinogenik dan tidak boleh ada dalam produksi pangan (MSDS, 2009).



Gambar 2. 4 Struktur Kimia Rhodamin B (Cahyadi, 2008)

Penyalahgunaan Rhodamin B banyak ditemukan pada makanan jajanan seperti bubur delima, cendol, kolang-kaling, cincau, kerupuk, sirup, minuman kemasan, es doger, dan manisan. Alasan penggunaan Rhodamin B sebagai bahan tambahan makanan antara lain karena harganya yang jauh lebih murah dibandingkan dengan zat warna pangan yang aman bagi kesehatan dan juga kurangnya pengetahuan produsen industri rumah tangga tentang zat pewarna apa saja yang diperbolehkan dan yang tidak diperbolehkan pada makanan (Winarno, 2004).

Rhodamin B berbahaya bagi kesehatan manusia karena sifat kimia dan kandungan logam beratnya. Rhodamin B mengandung senyawa klorin (Cl). Senyawa klorin merupakan senyawa halogen yang berbahaya dan reaktif. Selain itu, Rhodamin B juga memiliki senyawa pengalkilasi (CH₃-CH₃) yang bersifat radikal sehingga dapat berikatan dengan protein, lemak, dan DNA dalam tubuh. Jika dikonsumsi dalam jangka panjang maka akan menyebabkan iritasi saluran cerna (Anjasmara, 2017). Rhodamin B yang bercampur bersama makanan memberikan gejala mual, muntah, gangguan fungsi dan iritasi kolon yang menyebabkan diare, konstipasi, kolon cathartic, dan melalui pemeriksaan

radiologi dan patologi tampak terjadi penipisan dinding dan hilangnya mukosa normal saluran cerna serta pendarahan pada gastrointestinal (MSDS, 2009).

Ciri-ciri bila terkontaminasi rhodamin B:

1. Jika tertelan dan terjadi muntahan dapat menimbulkan iritasi pada saluran pencernaan dan menimbulkan gejala keracunan dan air seni berwarna merah atau merah muda. Tindakan yang harus dilakukan letakkan posisi kepala lebih rendah dari pinggul untuk mencegah terjadinya muntahan masuk ke saluran pernapasan
2. Jika terkena kulit dapat menyebabkan iritasi pada kulit. Tindakan yang harus dilakukan, cuci kulit yang terkontaminasi dengan sabun dan air yang mengalir sampai bersih dari rhodamin B, selama kurang lebih 15 s.d. 20 menit, bila perlu hubungi dokter
3. Jika terkena mata akan mengalami iritasi pada mata, mata akan kemerah-merahan, oedema pada kelopak mata. Tindakan yang harus dilakukan, bilas dengan air yang mengalir atau larutan garam fisiologis, mata dikedip-kedipkan samapai dipastikan sisa rhodamin B sudah tidak ada lagi.

Rhodamin B dapat menjadi salah satu penyebab kerusakan organ secara sistemik disebabkan oleh sifatnya yang polar. Akibat sifat polarnya tersebut, Rhodamin B yang tidak dimetabolisme oleh hepar akan menyebar mengikuti aliran darah dengan berinteraksi dengan asam amino dalam darah, sehingga membentuk senyawa kompleks. Beberapa dari hasil penelitian uji toksisitas menunjukkan Rhodamin B memiliki LD₅₀ lebih dari 2000mg/kg, dan dapat

menimbulkan iritasi kuat pada membran mukosa. Rhodamin B bersifat karsinogenik dan genotoksik. Uji toksisitas Rhodamin B telah dilakukan terhadap mencit dan tikus dengan injeksi subkutan dan secara oral. Rhodamin B dapat menyebabkan karsinogenik pada tikus ketika diinjeksi subkutan, yaitu timbul sarcoma lokal. Sedangkan secara IV didapatkan LD₅₀ 89,5 mg/kg yang ditandai dengan gejala adanya pembesaran sel hati, ginjal, dan kolon diikuti perubahan anatomi berupa pembesaran organnya. Sedangkan dosis lethal LD₅₀ peroral sebesar 887mg/kg (Purnamasari, 2013).

Pengaruh toksisitas oleh rhodamin B dapat terjadi secara akut maupun kronis. Pengaruh akut dapat diketahui secara cepat sedangkan pengaruh yang bersifat kronis tidak dapat diketahui secara cepat karena manusia yang normal memiliki toleransi yang tinggi terhadap racun dalam tubuh dengan adanya mekanisme detoksifikasi. Efek negatif rhodamin B yang terjadi tergantung pada banyaknya *intake* dan daya tahan seseorang. Hasil penelitian membuktikan bahwa dari penggunaan zat pewarna ini pada makanan dapat menyebabkan kerusakan organ hati. Sel hati mengalami perubahan menjadi nekrosis dan jaringan disekitarnya mengalami disintegrasi. Kerusakan pada jaringan hati ditandai dengan terjadinya piknotik dan hiperkromatik dari nukleus, degenerasi lemak, dan sitoklis dari sitoplasma. Degenerasi lemak terjadi akibat terhambatnya pasokan energi dalam hati yang digunakan untuk memelihara fungsi struktur endoplasmik sehingga mengakibatkan penurunan proses sintesa protein yang menyebabkan sel hati kehilangan daya untuk mengeluarkan trigliserida dan mengakibatkan nekrosis hati (Djarismawati, 2004).

2.4 Antioksidan

Antioksidan merupakan inhibitor yang bekerja menghambat oksidasi dengan cara bereaksi dengan radikal bebas reaktif yang membentuk radikal bebas tidak reaktif yang tidak stabil. Antioksidan merupakan semua bahan yang dapat menunda atau mencegah kerusakan akibat oksidasi pada molekul sasaran. Dalam pengertian kimia antioksidan adalah senyawa-senyawa pemberi elektron, tetapi dalam pengertian biologis lebih luas lagi, yaitu semua senyawa yang dapat meredam dampak negatif oksidan, termasuk enzim-enzim dan protein-protein pengikat logam. Antioksidan merupakan senyawa yang dapat menghambat spesies oksigen reaktif dan juga radikal bebas sehingga antioksidan dapat mencegah penyakit-penyakit yang dihubungkan dengan radikal bebas seperti karsinogenesis, kardiovaskuler, dan penuaan (Siagian, 2002).

2.4.1 Jenis-jenis antioksidan

Antioksidan dapat diklasifikasikan menjadi dua jenis yaitu antioksidan sintetik dan antioksidan alami. Antioksidan sintetik adalah antioksidan yang diperoleh dari hasil sintesis reaksi kimia. Beberapa contoh antioksidan sintetik adalah butil hidroksi anisol (BHA), butil hidroksi toluene (BHT), dan tert-butil hidroksi quinon (TBHQ). Antioksidan alami adalah senyawa antioksidan yang diperoleh dari hasil ekstraksi bahan alami seperti tumbuh-tumbuhan dan buah-buahan. Contoh antioksidan alami antara lain tokoferol, lesitin, fosfatida, sesamol, gosipol, karoten, asam tanat, asam galik (senyawa fenolik), asam ferulik (senyawa fenolik), quercetin (flavonoid) dan sebagainya. Antioksidan sintesis memiliki efektifitas yang tinggi namun kurang aman bagi kesehatan sehinggapenggunaannya

diawasi secara ketat di berbagai negara. Sedangkan antioksidan alami memiliki sifat yang lebih aman apabila dikonsumsi oleh manusia (Miryanti, 2011).

Berdasarkan mekanisme kerjanya antioksidan digolongkan menjadi tiga kelompok, yaitu:

1. Antioksidan primer

Antioksidan primer bekerja dengan cara mencegah pembentukan senyawa radikal bebas baru atau mengubah radikal bebas yang telah terbentuk menjadi molekul yang kurang reaktif atau berkurang dampaknya. Radikal bebas dihambat dengan cara memutus reaksi berantai (polimerisasi), kemudian mengubahnya menjadi produk yang lebih stabil. Antioksidan primer contohnya seperti enzim superoksida dismutase dan kerjanya dipengaruhi oleh mineral.

2. Antioksidan sekunder

Antioksidan sekunder bekerja dengan cara menangkap radikal bebas dan menghentikan pembentukan radikal bebas (mencegah terjadinya reaksi berantai), sehingga tidak terjadi kerusakan yang lebih besar. Biasanya yang termasuk kelompok antioksidan sekunder adalah vitamin A, vitamin E, vitamin C, dan zat fitokimia seperti senyawa fenolik yang dapat diperoleh dari buah-buahan. Contoh buah yang mengandung zat fitokimia yaitu Buah tin.

3. Antioksidan tersier

Antioksidan tersier merupakan senyawa yang memperbaiki sel-sel dan jaringan yang rusak karena serangan radikal bebas dan bermanfaat juga untuk memperbaiki inti sel dan DNA pada penderita kanker. Kelompok yang termasuk

dalam antioksidan tersier merupakan jenis enzim seperti metionin sulfoksidan (Winarsi, 2007).

2.4.2 Mekanisme antioksidan

Menurut Siagian (2002), antioksidan bekerja melindungi sel dan jaringan sasaran dengan cara :

- a. Memusnahkan (*scavenge*) radikal bebas secara enzimatik atau dengan reaksi kimia langsung
- b. Mengurangi pembentukan radikal bebas
- c. Mengikat ion logam yang terlibat dalam pembentukan spesies yang reaktif (transferin, albumin)
- d. Memperbaiki kerusakan sasaran
- e. Menghancurkan molekul yang rusak dan menggantinya dengan baru.

Antioksidan bekerja dengan melindungi lipid dari proses peroksidasi oleh radikal bebas. Ketika radikal bebas mendapat elektron dari antioksidan, maka radikal bebas tersebut tidak lagi perlu menyerang sel dan reaksi rantai oksidasi akan terputus. Setelah memberikan elektron, antioksidan menjadi radikal bebas secara definisi. Antioksidan pada keadaan ini berbahaya karena mereka mempunyai kemampuan untuk melakukan perubahan elektron tanpa menjadi reaktif. Tubuh manusia mempunyai pertahanan sistem antioksidan. Antioksidan yang dibentuk di dalam tubuh dan juga didapat dari makanan seperti buah-buahan, sayur-sayuran, biji-bijian, kacang-kacangan, daging dan minyak. Ada dua garis pertahanan antioksidan di dalam sel. Garis pertahanan pertama, terdapat di

membran sel larut lemak yang mengandung vitamin A (betakaroten), E, dan koenzim Q (Clarkson, 2000).

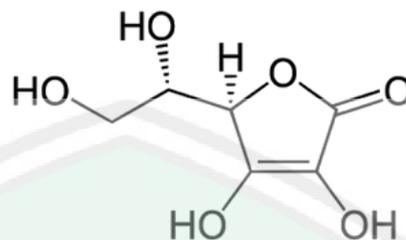
Dalam penggunaan antioksidan, terdapat keadaan atau zat tertentu yang dapat mempermudah terjadinya reaksi oksidasi, seperti panas, cahaya dan logam. Selain itu, terdapat pula zat antioksidan yang kehilangan daya antioksidannya setelah berikatan dengan oksigen sehingga tidak berfaedah bila digunakan, terutama di dalam pemrosesan makanan dalam sistem terbuka (Arisman, 2009).

Tubuh sendiri membuat tiga jenis antioksidan yakni, antioksidan primer (*superoxidedismutase (SOD)*, *glutathion peroxidase (GPx)*, dan protein pengikat (ferritin, ceruloplasmin). Tugasnya mencegah pembentukan radikal bebas baru dan mengubah radikal bebas menjadi bahan yang tidak berbahaya lagi. Ada juga antioksidan jenis sekunder. Ini berasal dari vitamin C, vitamin E dan *betacarotene*. Jenis antioksidan ini bertugas menangkap radikal bebas dan mencegah reaksi berantai yang akan merusak tubuh. Sedangkan antioksidan jenis tersier (*DNA-repair enzym; methionin sulfoxidereductase*) bertugas memperbaiki kerusakan tubuh yang timbul akibat radikal bebas (Nadesul, 2006).

2.5 Vitamin C

Vitamin C adalah nutrien dan vitamin yang larut dalam air dan penting untuk kehidupan serta untuk menjaga kesehatan. Vitamin ini juga dikenal dengan nama kimia dari bentuk utamanya yaitu asam askorbat (Frei, 1994). Vitamin C memiliki formula ($C_6H_8O_6$) dengan berat molekul (BM) sebesar 176,13. Vitamin C mampu

menangkap radikal bebas hidroksil. Hal ini dikarenakan vitamin C memiliki gugus pendonor elektron berupa gugus enadiol (Purwantaka, 2005).



Gambar 2. 5 Struktur kimia Vitamin C (Winarti, 2010)

Sebagai antioksidan, vitamin C bekerja sebagai donor elektron, dengan cara memindahkan satu elektron ke senyawa logam. Selain itu, vitamin C juga dapat menyumbangkan elektron ke dalam reaksi biokimia intraseluler dan ekstraseluler. Vitamin C mampu menghilangkan senyawa oksigen reaktif di dalam sel netrofil, monosit, protein lensa, dan retina. Vitamin ini juga dapat bereaksi dengan Fe-ferritin. Di luar sel, vitamin C dapat menghilangkan senyawa oksigen reaktif, mencegah terjadinya LDL teroksidasi, mentransfer elektron ke dalam tokoferol teroksidasi dan mengabsorpsi logam dalam saluran pencernaan (Levine, 1995).

Vitamin C langsung dapat menangkap radikal bebas oksigen, baik dengan atau tanpa katalisator enzim dengan reaksi yang cepat. Vitamin C juga melindungi makromolekul penting dari proses oksidatif. Sebagai zat penghambat radikal bebas, vitamin C dapat langsung bereaksi dengan anion superoksida, radikal hidroksil, oksigen singlet dan lipid peroksida. Sebagai reduktor vitamin C akan mendonorkan satu elektron membentuk semidehidroaskorbat yang tidak bersifat reaktif dan selanjutnya mengalami reaksi membentuk dehidroaskorbat yang bersifat tidak stabil. Dehidroaskorbat akan terdegradasi membentuk asam oksalat dan asam treonat. Oleh karena kemampuan vitamin C sebagai penghambat

radikal bebas, maka peranannya sangat penting dalam menjaga integritas membran sel (Suhartono et al., 2007).

Menurut Asada (1992), reaksi askorbat dengan superoksida secara fisiologis mirip dengan kerja enzim SOD, yaitu sebagai berikut:



Reaksi dengan hidrogen peroksida dikatalisis oleh enzim askorbat peroksidase adalah:



Askorbat ditemukan dalam kloroplas, sitosol, vakuola, dan kompartemen ekstraseluler. Kloroplas mengandung semua enzim yang berfungsi untuk meregenerasi askorbat tereduksi dan produk-produk teroksidasi. Hidrogen peroksida juga dihancurkan dalam kloroplas melalui reaksi redoks askorbat dan pemanfaatan kembali glutation. Superoksida diubah menjadi hidrogen peroksida secara spontan melalui reaksi dismutasi atau oleh enzim SOD. Hidrogen peroksida ditangkap oleh askorbat dan enzim askorbat peroksidase (Asada, 1992). Menurut Padayatty (2003), vitamin C dapat menjadi antioksidan untuk lipid, protein, dan DNA, dengan cara: (1) Untuk lipid, misalnya *Low-Density Lipoprotein* (LDL), akan beraksi dengan oksigen sehingga menjadi lipid peroksida. Reaksi berikutnya akan menghasilkan lipid hidroperoksida, yang akan menghasilkan proses radikal bebas. Asam askorbat akan bereaksi dengan oksigen sehingga tidak terjadi interaksi antara lipid dan oksigen, dan akan mencegah terjadinya pembentukan lipid hidroperoksida. (2) Untuk protein, vitamin C mencegah reaksi oksigen dan asam amino pembentuk peptide, atau reaksi oksigen

dan peptida pembentuk protein. (3) Untuk DNA, reaksi DNA dengan oksigen akan menyebabkan kerusakan pada DNA yang akhirnya menyebabkan mutasi.

Vitamin C tidak dapat dihasilkan oleh badan kita sendiri, maka untuk memperolehnya dapat melalui makanan atau dalam bentuk suplemen tambahan. Kebanyakan vitamin C yang diperoleh dari makanan hilang dalam air kencing. Vitamin C dapat diperoleh dari buah beri, buah-buahan sitrus, dan sayuran hijau. Sumber yang baik termasuk asparagus, alpukat, *black currants*, kobis bunga, anggur, kubis, lemon, biji sawi hijau, bawang, betik, nanas, bayam, strawberri, tomat, dan selada air.

2.6 Ginjal

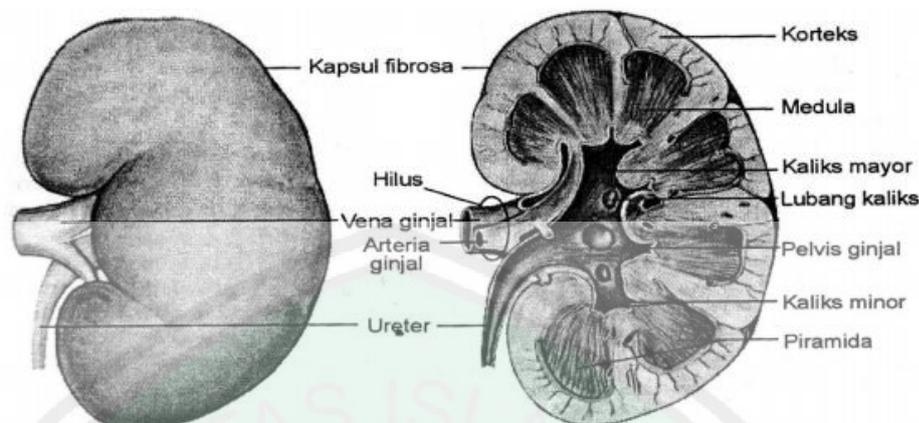
Ginjal adalah organ ekskresi dalam vertebrata yang berbentuk mirip kacang. Sebagai bagian dari sistem urin, ginjal berfungsi menyaring kotoran (terutama urea) dari darah dan membuangnya bersama dengan air dalam bentuk urin. Ginjal terletak di kedua sisi kolumna vertebralis. Ginjal kanan sedikit lebih rendah dibandingkan ginjal kiri karena tertekan kebawah oleh hati. Bila ginjal tidak bisa bekerja sebagaimana mestinya maka akan timbul masalah kesehatan yang berkaitan dengan penyakit ginjal seperti, gagal ginjal, batu ginjal, nefritis, pielonefritis, polisistik, yang akan mempengaruhi kesehatan, akibat ginjal tidak berfungsi dengan baik (Robbins dan Kumar, 2007).

Ginjal adalah organ utama untuk membuang produk sisa metabolisme yang tidak diperlukan oleh tubuh. Produk ini meliputi: urea (dari metabolisme asam amino), kreatinin (dari kreatin otot), asam urat (dari asam nukleat), produk akhir

dari pemecahan hemoglobin (bilirubin) dan metabolit dari berbagai hormon. Ginjal juga membuang toksin dan zat asing lainnya yang diproduksi oleh tubuh dan pencernaan seperti pestisida, obat-obatan dan makanan tambahan (Guyton dan Hall, 2007). Fungsi utama ginjal adalah menyingkirkan buangan metabolisme normal, mengekskresi xenobiotik dan metabolitnya dan fungsi non ekskretori. Urin adalah jalur utama ekskresi toksikan sehingga ginjal mempunyai volume aliran darah yang tinggi, mengkonsentrasikan toksikan pada filtrat, membawa toksikan melalui sel tubulus (Lu, 1994).

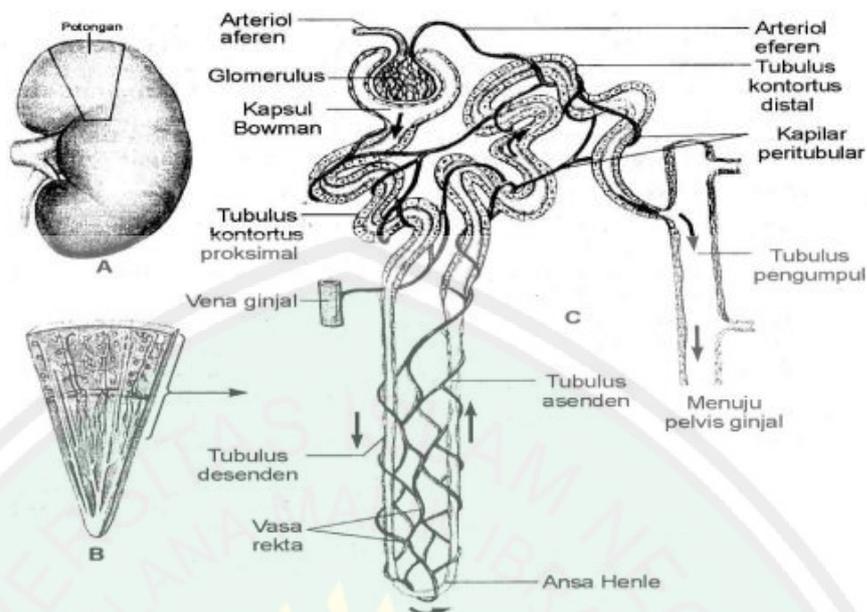
2.6.1 Anatomi Ginjal

Ginjal (*ren, nefros*) merupakan bagian dari *systema urinarium* yang terletak di dalam ruang retroperitoneum pada dinding belakang abdomen, di kedua sisi *columna vertebralis*. Ginjal kanan dan kiri berbentuk seperti kacang dengan bagian atas terlindung oleh *skeleton thoracis*. Ginjal mempunyai *facies anterior*, *margo medialis* dan *margo lateralis*, serta *polus superior* dan *polus inferior*. *Margo lateralis* berbentuk cembung, sedangkan *margo medialis* cekung pada daerah yang disebut *hilum renale*. Pada *hilum renale* didapatkan celah yang masuk ke dalam ginjal yang disebut *sinus renalis* dengan kedalaman sekitar dua setengah sentimeter. *Sinus renalis* berisi *pelvis renalis*, *calices*, pembuluh darah, serabut saraf, dan sedikit jaringan lemak. Pembuluh darah dan ureter akan masuk atau keluar ginjal melalui *hilum renale*. Pada manusia, terdapat *medula ginjal* terdiri atas 10-18 struktur berbentuk kerucut atau piramid, yaitu *piramid medula*. Dasar dari setiap *piramid medula*, terjulur berkas-berkas tubulus yang paralel, yaitu *berkas medula*, yang menyusup ke dalam korteks (Wibowo dan Widjaja, 2009).



Gambar 2. 6 Anatomi ginjal manusia (Sloane, 2004)

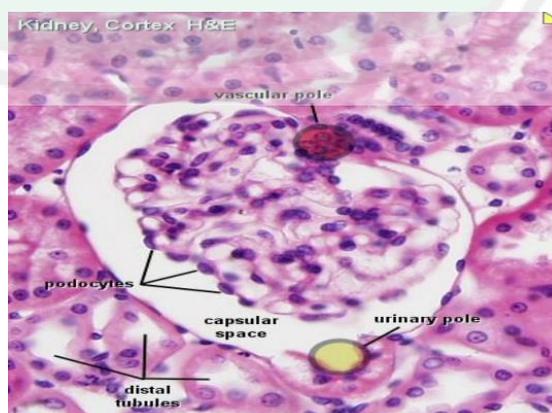
Struktur halus ginjal terdiri atas banyak nefron yang merupakan satuan-satuan fungsional ginjal, diperkirakan ada 1.000.000 nefron dalam setiap ginjal (Pearce, 2000). Ginjal tidak dapat membentuk nefron baru. Oleh karena itu, pada trauma ginjal, penyakit ginjal, atau penuaan normal, akan terjadi penurunan jumlah nefron secara bertahap. Penurunan jumlah nefron ini tidak mengancam jiwa karena perubahan adaptif sisa nefron menyebabkan nefron tersebut dapat mengekskresi air, elektrolit, dan produk sisa dalam jumlah yang tepat (Guyton dan Hall, 2007). Setiap nefron mulai sebagai berkas kapiler (Badan Malpighi atau Glomerulus) yang erat tertanam dalam ujung atas yang lebar pada uriniferus atau nefron. Dari sini tubulus berjalan sebagian berkelok-kelok dan sebagian lurus. Bagian tubula pertama berkelok-kelok dan dikenal sebagai kelokan pertama atau tubula proximal dan sesudah itu terdapat sebuah simpai (simpai Henle). Kemudian tubula itu berkelok-kelok lagi, disebut kelokan kedua atau tubula distal, yang bersambung dengan tubula penampung yang berjalan melintasi kortek dan medula untuk berakhir dipuncak salah satu piramida (Pearce, 2000).



Gambar 2. 7 Hubungan tubulus renal dengan pembuluh darah ginjal (Sloan, 2004)

2.6.2 Gambaran Histologis Ginjal

Satuan fungsi ginjal terdiri atas nefron dan duktus koligentes yang menampung curahan nefron, seperti yang telah dijelaskan sebelumnya bahwa di bagian korteks setiap ginjal terdapat jutaan nefron. Nefron ini terdiri atas dua komponen, yaitu korpuskulum renal dan tubuli distal (tubulus kontortus proksimal, ansa henle, tubulus kontortus distal dan tubulus koligentes) (Junqueira dan Carneiro, 2007).



Gambar 2. 8 Histologi ginjal manusia (Slomianka, 2009)

Korpuskulus renal berdiameter 200 μ m dan terdiri atas seberkas kapiler yaitu glomerulus, dikelilingi oleh kapsula epitel berdinding ganda yang disebut kapsula Bowman. Lapisan luar membentuk batas luar korpuskulus renal disebut lamina parietalis yang terdiri atas epitel selapis gepeng dan lamina basalis dan selapis tipis serat retikulin. Lapisan dalam (*lamina visceralis*) meliputi kapiler glomerulus yang terdiri dari sel-sel podosit (Bernike, 2008).

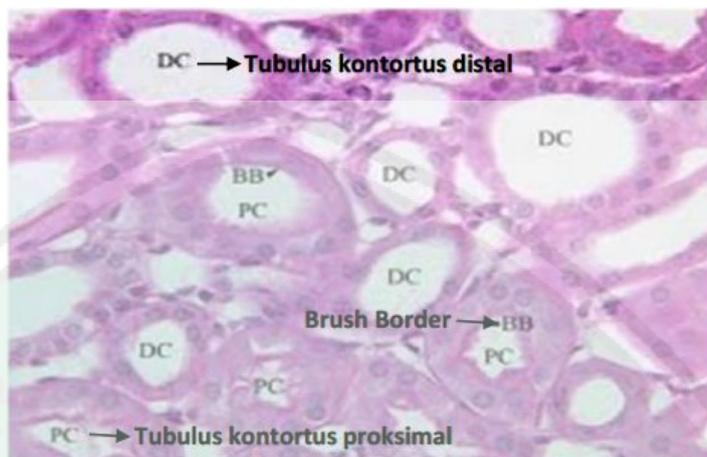
Tubulus kontortus proksimal selalu membentuk lengkung yang besar menghadap ke permukaan kapsula ginjal. Tubulus ini berakhir sebagai saluran yang lurus dan melanjutkan diri dengan ansa henle. Sel-sel tubulus proksimal bersifat eosinofilik dengan batas sikat dan garis-garis basal. Batas sel tidak jelas karena sistem interdigitasi yang rumit dari sisi-sisi membran plasma lateral sel. Pada tubulus kontortus proksimal terdapat 6 sampai 12 sel, tetapi yang tampak hanya 4 sampai 5 inti (Tambajong, 1995).

Tubulus kontortus proksimal lebih panjang dari tubulus kontortus distal dan karenanya tampak banyak di dekat korpuskel ginjal dalam korteks ginjal. Apeks sel memiliki banyak mikrovili dengan panjang kira-kira 1 μ m yang membentuk brush border yang mengakibatkan sel-selnya berukuran besar dan setiap potongan melintang dari tubulus proksimal hanya mengandung tiga sampai lima inti bulat. Pada hewan, tubulus kontortus proksimal memiliki lumen lebar dan dikelilingi oleh kapiler partibular. Pada sediaan histologi rutin brush border biasanya tidak teratur dan lumen kapiler partibular sangat kecil dan tampak kolaps (Junqueira dan Carneiro, 2007).

Lengkung *henle* adalah struktur berbentuk U terdiri atas ruas tebal *descenden* dengan struktur yang sangat mirip tubulus kontortus proksimal, ruas tipis *descenden*, ruas tipis *ascenden*, dan ruas tebal *ascenden*, yang strukturnya sangat mirip dengan tubulus kontortus distal. Lebih kurang sepertujuh dari semua nefron terletak dekat batas korteks medula yang disebut nefron jukstamedula. Nefron lainnya disebut nefron kortikal. Semua nefron turut serta dalam proses filtrasi, absorpsi dan sekresi. Ruas *ascenden* lengkung *henle* yang menerobos korteks, struktur histologisnya tetap terpelihara tetapi menjadi berkelok-kelok dan disebut tubulus kontortus distal, yaitu bagian terakhir nefron yang dilapisi oleh epitel selapis kuboid (Bernike, 2008).

Potongan histologis tubulus kontortus proksimal dan distal terdapat dalam korteks dan mempunyai epitel kubis. Perbedaan antara keduanya didasarkan pada sifat-sifat berikut: sel-sel tubulus proksimal lebih besar, mempunyai brush border, dan lebih asidofil karena banyak mengandung mitokondria. Lumen tubulus distal lebih besar, dan karena sel-sel tubulus distal lebih pendek dan lebih kecil dari pada sel-sel tubulus proksimal, pada potongan yang sama dinding tubulus distal terlihat lebih banyak sel dan lebih banyak inti. Sel-sel tubulus distal kurang asidofil dari pada sel-sel tubulus proksimal, dan tidak menunjukkan *brush border* atau mikrovili yang banyak. Di dalam tubulus kontortus distal terjadi pertukaran ion Na^+ dan ion K^+ yang dimana mekanisme ini mempengaruhi jumlah total garam dan air tubuh. Tubulus distal juga berperan dalam proses sekresi ion hidrogen dan ammonium ke dalam urin tubulus yang aktivitas ini

penting untuk mempertahankan keseimbangan asam dan basa dalam darah (Junqueira dan Carneiro, 2007).



Gambar 2. 9 Histologi tubulus proksimal manusia (Slomianka, 2009)

Urin mengalir dari tubulus kontortus distal menuju ke tubulus koligentes yang saling bergabung membentuk duktus koligentes yang lebih besar dan lebih lurus. Di medula, duktus koligentes merupakan komponen utama pada mekanisme pemekatan urin (Junqueira dan Carneiro, 2007). Tubulus koligentes dilapisi epitel sel kuboid dan bergaris tengah lebih kurang 40 μm , sewaktu tubulus masuk lebih dalam ke dalam medula, sel-selnya meninggi sampai menjadi sel silindris. Setiap tubulus pengumpul (koligentes) berdesenden di korteks, maka tubulus tersebut akan mengalir ke sejumlah tubulus kontortus distal. Tubulus pengumpul membentuk tuba yang lebih besar yang mengalirkan urin ke dalam kaliks minor. Kaliks minor bermuara ke dalam pelvis ginjal melalui kaliks mayor. Pelvis ginjal mengalirkan urin dan ke ureter yang mengarah ke kandung kemih (Sloane, 2004).

2.6.3 Fungsi ginjal

Menurut Syaifuddin (2000), ginjal mempunyai fungsi yang paling penting dalam tubuh yaitu menyaring plasma dan memindahkan zat dari filtrat pada kecepatan yang bervariasi tergantung pada kebutuhan tubuh. Ginjal membuang zat yang tidak diinginkan oleh tubuh dengan filtrasi darah dan mensekresinya dalam urin, sedangkan zat yang dibutuhkan tubuh akan kembali ke dalam darah. Fisiologi ginjal sebagai berikut:

- a. Mengatur volume air (cairan) dalam tubuh. Kelebihan air dalam tubuh akan diekskresikan oleh ginjal sebagai urin (kemih) yang encer dalam jumlah besar.
- b. Mengatur keseimbangan osmotik dan mempertahankan keseimbangan ion yang optimal dalam plasma (keseimbangan elektrolit).
- c. Mengatur keseimbangan asam basa cairan tubuh bergantung pada apa yang dimakan. Campuran makanan (*mixed diet*) menghasilkan urin yang bersifat asam. pH kurang dari 6 ini disebabkan hasil akhir metabolisme protein. Ekskresi sisa-sisa hasil metabolisme (ureum, asam urat, kreatinin), zat-zat toksik, obat-obatan, hasil metabolisme hemoglobin dan pestisida.
- d. Fungsi hormonal dan metabolisme. Ginjal menyekresi hormon renin yang mempunyai peranan penting dalam mengatur tekanan darah

2.6.4 Kerusakan Tubulus Akibat Radikal Bebas

Kerusakan tubulus akibat radikal bebas adalah epitel yang mengalami pembengkakan dan penyempitan lumen karena terjadi pergeseran air ekstraseluler ke dalam sel. Pergeseran cairan ini terjadi karena adanya toksin yang

menyebabkan perubahan muatan listrik pada permukaan sel epitel tubulus, perubahan transpor aktif ion dan asam organik, dan kemampuan mengkonsentrasikan dari ginjal yang akhirnya mengakibatkan tubulus rusak, aliran menurun. Gambaran pembengkakan sel ini disebut degenerasi albuminosa atau degenerasi parenkimatososa atau *cloudy swelling* (bengkak keruh), yang merupakan bentuk degenerasi yang paling ringan serta bersifat reversibel. Hal inilah yang mungkin menyebabkan lumen tubulus mengalami penyempitan hingga menutup (Togatorop, 2016)

Kerusakan tubulus menyebabkan terganggunya proses reabsorpsi dan sekresi. Jika proses reabsorpsi terganggu maka zat yang masih dibutuhkan oleh tubuh tidak dapat diserap kembali oleh tubuh sehingga zat tersebut dapat keluar melalui urin. Dan jika proses sekresi terganggu maka zat-zat yang tidak dibutuhkan oleh tubuh tidak dapat dikeluarkan melalui urin sehingga menjadi toksik yang dapat merusak organ ginjal. Suatu zat kimia yang disekresi secara aktif dari darah ke urin, maka zat kimia terlebih dahulu diakumulasikan dalam tubulus proksimal atau jika substansi kimia ini direabsorpsi dari urin maka akan melalui sel epitel tubulus dengan konsentrasi tinggi. Proses pemekatan tersebut mengakibatkan zat-zat toksik ini akan terakumulasi di ginjal dan menyebabkan kerusakan ginjal (Togatorop, 2016).

2.7 Mencit

Menurut Syafri (2010), sistem taksonomi mencit (*Mus musculus*) adalah sebagai berikut:

Kingdom : Animalia

Filum : Chordata

Sub filum : Vertebrata

Kelas : Mamalia

Ordo : Rodentia

Genus : Mus

Spesies : *Mus musculus*

Mencit memiliki beberapa data biologis, diantaranya:

- Lama hidup: 1-2 tahun
- Lama bunting: 19-21 hari
- Kawin sesudah beranak: 1-24 jam
- Umur disapih: 21 hari
- Umur dewasa: 35 hari
- Umur dikawinkan: 8 minggu
- Siklus kelamin: poliestrus
- Perkawinan: pada waktu estrus
- Berat dewasa: 20-40 gram (jantan) dan 18-35 gram (betina)

Mencit laboratorium merupakan turunan dari mencit liar yang telah mengalami pembiakan secara selektif. Mencit dikelompokkan ke dalam kingdom animalia, phylum chordata. Hewan ini termasuk hewan yang bertulang belakang

dan menyusui sehingga dimasukkan ke dalam subphylum vertebrata dan kelas mamalia. Selain itu hewan ini juga memiliki kebiasaan mengerat (ordo rodentia), dan merupakan famili muridae, dengan nama genus *Mus* serta memiliki nama spesies *Mus musculus* L. (Priyambodo, 2003).

Mencit secara biologis memiliki ciri umum, yaitu berupa rambut berwarna putih atau keabu-abuan dengan warna perut sedikit lebih pucat. Mencit merupakan hewan nokturnal yang sering melakukan aktivitasnya pada malam hari. Perilaku mencit dipengaruhi oleh beberapa faktor, diantaranya faktor internal seperti seks, perbedaan umur, hormon, kehamilan, dan penyakit; faktor eksternal seperti makanan, minuman, dan lingkungan disekitarnya (Smith dan Mangkoewidjojo, 1998).



Gambar 2. 10 Morfologi mencit (*Mus musculus* L.)

Mencit memiliki berat badan yang bervariasi. Berat badan ketika lahir berkisar antara 2-4 gram, berat badan mencit dewasa berkisar antara 20-40 gram untuk mencit jantan dan 25-40 gram untuk mencit betina dewasa. Sebagai hewan pengerat mencit memiliki gigi seri yang kuat dan terbuka. Susunan gigi mencit adalah indicisivus $\frac{1}{2}$, caninus 0/0, premolar 0/0, dan molar 3/3. Mencit dapat bertahan hidup selama 1-2 tahun dan dapat juga mencapai umur 3 tahun. Lama bunting 19-21 hari sedangkan umur untuk siap dikawinkan 8 minggu. Perkawinan

mencit terjadi pada saat mencit betina mengalami estrus. Satu induk dapat menghasilkan 6-15 ekor anak (Smith dan Mangkoewidjojo, 1998).

Penanganan umum hewan coba berbeda dengan bahan kimia yang merupakan bahan mati, percobaan dengan hewan percobaan yang hidup memerlukan perhatian dan penanganan/perlakuan yang khusus. Hal pertama yang perlu diperhatikan saat perlakuan pada hewan coba adalah cara memegang mencit yang benar. Mencit dapat dipegang dengan memegang ujung ekornya dengan tangan kanan, biarkan menjangkau/mencengkeram alas yang kasar (kawat kandang), kemudian menjinakkannya dengan cara mengelus-elus bagian tengkuk mencit menggunakan jari telunjuk. Stress pada mencit ditandai dengan mekarnya rambut pada tubuh mencit lalu tubuhnya bergetar, mencit pun jadi liar. Kemudian setelah mencit tenang, tangan kiri dengan ibu jari dan jari telunjuk menjepit kulit tengkuknya seerat/setegang mungkin. Ekor dipindahkan dari tangan kanan, dijepit antara jari kelingking dan jari manis tangan kiri. Dengan demikian, mencit telah terpegang oleh tangan kiri dan siap untuk diberi perlakuan (Malole, 1989).



Gambar 2. 11 Cara memegang mencit

Hal kedua yang perlu diperhatikan adalah cara pemberian sediaan pada mencit. Pada penelitian ini pemberian sediaan dilakukan secara oral. Pemberian secara oral pada mencit dilakukan dengan alat suntik yang dilengkapi jarum/kanula oral (berujung tumpul) atau disebut juga dengan sonde. Sonde ini

dimasukkan ke dalam mulut, kemudian perlahan-lahan diluncurkan melalui langit-langit ke arah belakang sampai esophagus kemudian masuk ke dalam lambung. Perlu diperhatikan bahwa cara peluncuran/pemasukan sonde yang mulus disertai pengeluaran cairan sediaan yang mudah adalah cara pemberian yang benar. Cara pemberian yang keliru, masuk ke dalam saluran pernafasan atau paru-paru dapat menyebabkan gangguan pernafasan dan kematian (Thomson, E.B, 1985).

2.8 Ekstrak

Ekstrak adalah sediaan pekat yang diperoleh dengan mengekstraksi zat aktif dari simplisia nabati atau simplisia hewani menggunakan pelarut yang sesuai, kemudian semua atau hampir semua pelarut diuapkan dan massa atau serbuk yang tersisa diperlakukan sedemikian hingga memenuhi baku yang telah ditetapkan (Depkes RI, 1995). Ada beberapa jenis ekstrak yakni: ekstrak cair, ekstrak kental dan ekstrak kering. Ekstrak cair jika hasil ekstraksi masih bisa dituang, biasanya kadar air lebih dari 30%. Ekstrak kental jika memiliki kadar air antara 5-30%. Ekstrak kering jika mengandung kadar air kurang dari 5% (Voight, 1994).

Faktor yang mempengaruhi ekstrak yaitu faktor biologi dan faktor kimia. Faktor biologi meliputi: spesies tumbuhan, lokasi tumbuh, waktu pemanenan, penyimpanan bahan tumbuhan, umur tumbuhan dan bagian yang digunakan. Sedangkan faktor kimia yaitu: faktor internal (jenis senyawa aktif dalam bahan, komposisi kualitatif senyawa aktif, komposisi kuantitatif senyawa aktif, kadar total rata-rata senyawa aktif) dan faktor eksternal (metode ekstraksi, perbandingan

ukuran alat ekstraksi, ukuran kekerasan dan kekeringan bahan, pelarut yang digunakan dalam ekstraksi, kandungan logam berat, kandungan pestisida) (Depkes RI, 2000). Selain faktor yang mempengaruhi ekstrak, ada faktor penentu mutu ekstrak yang terdiri dari beberapa aspek, yaitu: kesahihan tanaman, genetik, lingkungan tempat tumbuh, penambahan bahan pendukung pertumbuhan, waktu panen, penanganan pasca panen, teknologi ekstraksi, teknologi pengentalan dan pengeringan ekstrak.

Ekstraksi suatu tanaman obat adalah pemisahan secara kimia atau fisika suatu bahan padat atau bahan cair dari suatu padatan, yaitu tanaman obat. Metode ekstraksi dengan menggunakan pelarut dibedakan menjadi dua yaitu cara dingin dan cara panas. Cara dingin terbagi menjadi dua yaitu; maserasi dan perkolasi, sedangkan cara panas terbagi menjadi lima jenis yaitu; refluks, Soxhlet, digesti, infus dan dekok (Depkes RI, 2000).

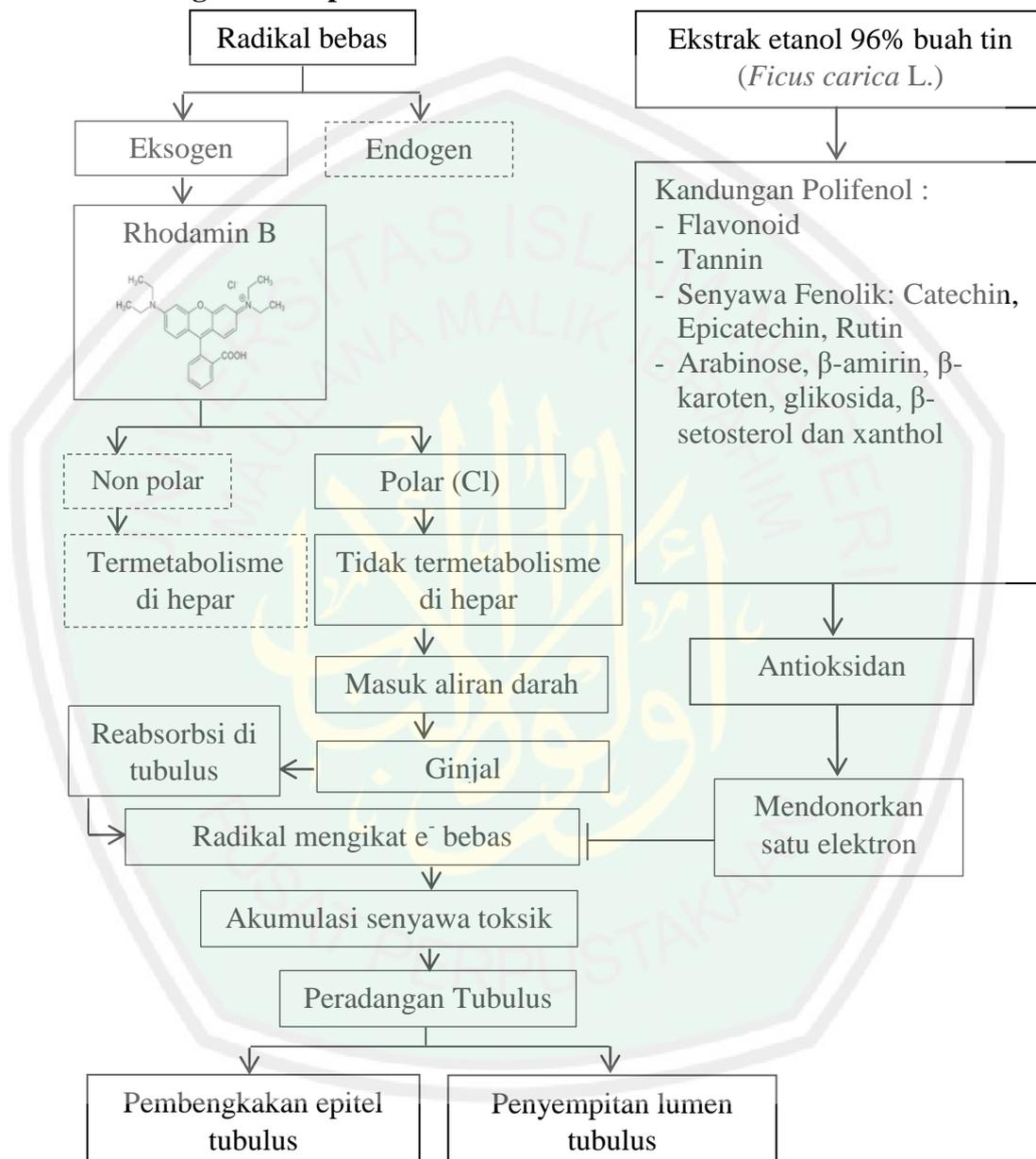
Maserasi adalah proses pengestrakan simplisia dengan menggunakan pelarut dengan beberapa kali pengocokan atau pengadukan pada temperatur ruangan (kamar). Maserasi berasal dari bahasa latin *macerare* berarti mengairi dan melunakkan. Maserasi merupakan cara ekstraksi yang paling sederhana. Dasar dari maserasi adalah melarutnya bahan kandungan simplisia dari sel yang rusak, yang terbentuk pada saat penghalusan, ekstraksi (difusi) bahan kandungan dari sel yang masih utuh. Setelah selesai waktu maserasi, artinya keseimbangan antara bahan yang diekstraksi pada bagian dalam sel dengan yang masuk ke dalam cairan telah tercapai maka proses difusi berakhir (Voight, 1994).

Selama maserasi atau proses perendaman dilakukan pengocokan berulang-ulang, upaya pengocokan ini dapat menjamin keseimbangan konsentrasi bahan ekstraksi yang lebih cepat di dalam cairan. Sedangkan keadaan diam selama maserasi menyebabkan turunnya perpindahan bahan aktif. Secara teoritis pada suatu maserasi tidak memungkinkan terjadinya ekstraksi absolut. Semakin besar perbandingan simplisia terhadap cairan pengestraksi, akan semakin banyak hasil yang diperoleh (Voight, 1994). Prinsip dari maserasi adalah ekstraksi dengan metode pencapaian konsentrasi pada keseimbangan. Maserasi kinetik berarti dilakukan pengadukan yang kontinu (terus-menerus). Maserasi berarti dilakukan pengulangan penambahan pelarut setelah dilakukan penyaringan maserasi pertama, dan seterusnya (Depkes RI, 2000).

BAB III

KERANGKA KONSEPTUAL

3.1 Kerangka Konseptual



Keterangan :

□ = diteliti

□ (dashed) = tidak diteliti

→ = berhubungan

—| = menghambat

3.2 Deskripsi Kerangka Konsep Penelitian

Radikal bebas adalah atom atau molekul yang mengandung satu atau lebih elektron yang tidak berpasangan pada orbital terluarnya dan bersifat reaktif. Untuk mencapai kondisi stabil, radikal bebas dapat menyerang bagian tubuh seperti sel, sehingga dapat menyebabkan kerusakan pada sel tersebut. Radikal bebas dapat berasal dari dalam tubuh yang disebut dengan radikal bebas endogen. Radikal bebas endogen terbentuk karena aktivitas tubuh seperti aktivitas autooksidasi, oksidasi enzimatik, organel subseluler, aktivitas ion logam transisi, dan berbagai sistem enzim lainnya (Fessenden, 2005). Sedangkan radikal bebas yang berasal dari luar tubuh disebut radikal bebas eksogen. Radikal bebas eksogen dapat dihasilkan oleh polusi udara, sinar ultraviolet, asap kendaraan bermotor, asap rokok, serta makanan.

Radikal bebas dari makanan salah satu contohnya adalah rhodamin B. Rhodamin B merupakan zat pewarna tekstil yang sering disalahgunakan sebagai bahan pewarna makanan. Rhodamin B termasuk senyawa radikal bebas karena mengandung logam berat dan klorin yang bersifat radikal dalam tubuh, sehingga dapat berikatan dengan protein, lemak, dan DNA dalam tubuh. Rhodamin B dapat menjadi salah satu penyebab kerusakan organ secara sistemik disebabkan oleh sifatnya yang polar. Akibat sifat polaritasnya tersebut, rhodamin B yang tidak dimetabolisme oleh hepar akan menyebar mengikuti aliran darah dengan berinteraksi dengan asam amino dalam darah, sehingga membentuk senyawa kompleks. Senyawa kompleks tersebut bersama aliran darah akan menuju ginjal untuk melalui proses absorpsi dan reabsorpsi. Senyawa kompleks tersebut akan

diakumulasi dalam tubulus atau akan melewati sel epitel tubulus dengan konsentrasi tinggi. Proses pemekatan oleh zat toksik yang terakumulasi dalam ginjal menyebabkan kerusakan ginjal. Kerusakan yang terjadi dapat berupa pembengkakan epitel tubulus dan penyempitan lumen tubulus (Togatorop *et al.*, 2016).

Senyawa yang dapat mengurangi efek negatif dari radikal bebas disebut antioksidan. Antioksidan merupakan inhibitor yang bekerja menghambat oksidasi dengan cara bereaksi dengan radikal bebas reaktif yang membentuk radikal bebas tidak reaktif yang tidak stabil. Senyawa antioksidan dapat diperoleh secara alami yaitu dari tumbuh-tumbuhan. Salah satu tanaman yang mengandung senyawa antioksidan tinggi adalah buah tin (*Ficus carica* L). Di dalam buah tin mengandung senyawa polifenol yang bersifat antioksidan. Senyawa polifenol tersebut terdiri dari flavonoid; tannin; terpenoid yang terdiri dari linalool, β -bourbonene, β -caryophyllene, dan hotrienol; senyawa fenolik yaitu catechin, epicatechin, rutin; serta senyawa bioaktif seperti arabinose, β -amirin, β -karoten, glikosida, β -setosterol dan xanthol (Joseph, 2011).

Senyawa antioksidan dalam ekstrak buah tin tersebut mampu mengurangi efek negatif dari rhodamin B melalui mekanisme penangkapan radikal dengan cara menyumbangkan satu elektron kepada elektron yang tidak berpasangan dalam radikal bebas, sehingga jumlah radikal bebas menjadi berkurang (Harborne, 1987). Dalam penelitian ini dilakukan percobaan pada mencit betina yang dipapar rhodamin B, kemudian diamati perubahan sel tubulus ginjal setelah diberikan ekstrak buah tin. Ekstrak buah tin dapat mengurangi efek negatif dari rhodamin B

ditunjukkan dengan perubahan pada diameter lumen tubulus dan ketebalan epitel tubulus pada mencit.

3.3 Hipotesis Penelitian

1. Ekstrak buah tin (*Ficus carica* L.) berpengaruh terhadap ketebalan epitel tubulus mencit betina yang telah dipapar rhodamin B.
2. Ekstrak buah tin (*Ficus carica* L.) berpengaruh terhadap diameter lumen tubulus mencit betina yang telah dipapar rhodamin B.



BAB IV

METODE PENELITIAN

4.1 Jenis dan Rancangan Penelitian

Penelitian ini menggunakan jenis penelitian *True Experimental* skala laboratorium menggunakan metode rancangan penelitian *Post Test Only Control Group Design*, dimana telah dilakukan intervensi kepada variabel kemudian dilakukan pengukuran atau *post test*. Pada kelompok eksperimen dan kelompok kontrol telah dilakukan randomisasi atau kelompok-kelompok tersebut dianggap sama sebelum dilakukan perlakuan. Metode ini dilakukan untuk mempelajari toleransi sebab akibat, dengan cara memberikan suatu perlakuan pada hewan coba sebagai subjek penelitian, kemudian melihat apa efek dari perlakuan tersebut (Notoadmodjo, 2012). Penelitian ini menggunakan hewan coba yaitu mencit BALB/c betina yang dibagi menjadi 5 kelompok dimana masing-masing kelompok dipapar dengan radikal bebas (rhodamin B), kemudian diberikan ekstrak buah tin. Setelah diberi perlakuan kemudian hewan coba diterminasi dan selanjutnya dilakukan pengukuran variabel terikat pada masing-masing kelompok dan dibandingkan.

4.2 Waktu dan Tempat Penelitian

Penelitian dilakukan selama 3 bulan yaitu pada bulan Maret sampai Mei 2019. Tempat pelaksanaan penelitian yaitu:

1. Laboratorium Biomed-Farmakokinetik, Jurusan Farmasi, Fakultas Kedokteran Dan Ilmu Kesehatan, Universitas Islam Negeri Maulana Malik Ibrahim Malang untuk tempat adaptasi dan perlakuan pada mencit.
2. Laboratorium Fitokimia, Jurusan Farmasi, Fakultas Kedokteran Dan Ilmu Kesehatan, Universitas Islam Negeri Maulana Malik Ibrahim Malang untuk tempat pembuatan ekstrak buah tin.
3. Laboratorium Patologi Anatomi Fakultas Kedokteran Universitas Brawijaya, Malang untuk tempat pembuatan preparat tubulus ginjal.
4. Laboratorium Botani Farmasi, Jurusan Farmasi, Fakultas Kedokteran Dan Ilmu Kesehatan, Universitas Islam Negeri Maulana Malik Ibrahim Malang untuk tempat pengamatan struktur histopatologi tubulus ginjal mencit.

4.3 Populasi dan Sampel

4.3.1 Populasi Penelitian

Populasi penelitian adalah keseluruhan objek yang diteliti. Populasi yang digunakan yaitu mencit Balb/C berjenis kelamin betina. Mencit BALB/c dipilih karena karena mencit merupakan hewan yang paling umum digunakan pada penelitian laboratorium sebagai hewan percobaan, yaitu sekitar 40-80%. Mencit memiliki banyak keunggulan sebagai hewan percobaan, yaitu siklus hidup yang relatif pendek, jumlah anak per kelahiran banyak, variasi sifat-sifatnya tinggi dan mudah dalam penanganannya (Moriwaki, 1994). Betina dipilih karena lebih rentan terpapar zat toksik. Hal ini karena mencit betina mudah mengalami perubahan hormonal pada masa-masa siklus estrus, hamil, dan menyusui

dimana kondisi tersebut dapat mempengaruhi psikologi mencit (Suhendi *et al.*, 2011). Sebuah penelitian menunjukkan bahwa kematian pada hewan coba jantan yang diberikan perlakuan mengalami kematian muda sebesar 50% sedangkan mencit betina mengalami kematian muda sebesar 70% (CancerHelps, 2014).

4.3.2 Sampel Penelitian

Sampel penelitian adalah sebagian atau seluruh anggota yang diambil dari seluruh objek yang diteliti dan dianggap mewakili seluruh populasi (Notoatmodjo, 2003). Besar sampel yang digunakan dihitung menggunakan rumus Federrer (1991) dimana (t) adalah jumlah kelompok perlakuan dan (n) adalah jumlah subjek untuk setiap kelompok perlakuan dengan perhitungan sebagai berikut:

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

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

$$(4) (n-1) \geq 15$$

$$4n-4 \geq 15$$

$$4n \geq 19$$

$$n \geq 4,75$$

$$n \geq 5$$

Berdasarkan perhitungan diatas, maka jumlah sampel hewan coba pada setiap kelompok perlakuan adalah 5 ekor. Total kelompok yang digunakan pada penelitian adalah 5 sehingga diperoleh jumlah keseluruhan 25 ekor hewan coba. Selanjutnya adalah skrining hewan coba yang dilakukan dengan kriteria sebagai berikut:

A. Kriteria Inklusi

1. Mencit betina Balb/C
2. Berat badan 25-30 gram
3. Usia 3-4 bulan
4. Mencit dalam keadaan sehat

B. Kriteria Eklusi

1. Bunting
2. Sakit dan tidak aktif
3. Memiliki cacat fisik

4.3.3 Cara Pengambilan Sampel

Mencit yang digunakan dipilih secara acak sederhana (*simple random sampling*) karena telah memenuhi kriteria inklusi. Pemenuhan kriteria inklusi dapat dianggap telah homogen. Mencit dapat diletakkan langsung pada tiap kelompok yang telah dibuat dan dilakukan adaptasi selama 7 hari.

4.4 Variabel Penelitian dan Definisi Operasional

4.4.1 Variabel Penelitian

Variabel yang digunakan dalam penelitian ini antara lain variabel bebas, tergantung dan kontrol:

- Variabel bebas merupakan variabel yang menjadi penyebab terjadinya perubahan variabel yang lain yaitu faktor-faktor yang diukur, dimanipulasi, atau dipilih oleh peneliti untuk menentukan hubungan antara fenomena yang

diamati. Variabel bebas pada penelitian ini adalah dosis ekstrak buah tin (*Ficus carica* L.).

- Variabel tergantung merupakan variabel yang mengalami perubahan dari variabel bebas atau faktor-faktor yang diamati dan diukur untuk menentukan adanya pengaruh variabel bebas. Variabel tergantung pada penelitian ini adalah ketebalan epitel dan diameter lumen tubulus.
- Variabel kontrol adalah variabel yang perlu dikendalikan, dipertahankan tetap, atau diacak sedemikian rupa sehingga pengaruhnya dinetralisir, dikeluarkan atau disamakan bagi semua kondisi. Variabel kontrol pada penelitian ini adalah dosis rhodamin B.

4.4.2 Definisi Operasional

Jenis Variabel	Variabel	Definisi Operasional	Skala
Variabel Bebas	Ekstrak buah tin (<i>Ficus carica</i> L.)	Buah tin yang digunakan adalah buah yang matang berwarna kuning kehijauan dengan rasa yang manis. Ekstrak buah tin diperoleh melalui proses maserasi menggunakan pelarut etanol 96%. Ekstrak buah tin diberikan secara peroral pada mencit betina BALB/c pada kelompok perlakuan I (1,75 mg/25gBB), II (3,5 mg/25gBB), dan III (7 mg/25gBB)	Rasio
Variabel Tergantung	Ketebalan epitel	Epitel adalah bagian tepi dari tubulus ginjal yang berbentuk bulat atau oval yang memiliki inti bulat. Diamati histopatologi tubulus proksimal ginjal mencit menggunakan aplikasi <i>OlyVIA</i> dan <i>Image Raster</i> , kemudian diukur tebal epitel dengan pengambilan 4 lapang pandang lalu di rata-rata.	Rasio
Variabel Tergantung	Diameter lumen	Lumen adalah ruangan kecil di tengah epitel. Diamati histopatologi tubulus proksimal ginjal mencit menggunakan aplikasi <i>OlyVIA</i> dan <i>Image Raster</i> , kemudian diukur diameter lumen tubulus dengan pengambilan 4 lapang pandang lalu di rata-rata.	Rasio
Variabel Kontrol	Rhodamin B	Rhodamin B adalah zat pewarna sintesis uuntuk pewarna tekstil. Rhodamin B pada penelitian ini dilarutkan dengan aquadest dan diberikan secara per oral dengan dosis 0,08mg/25gBB menggunakan sonde pada mencit betina BALB/c selama 15 hari.	Rasio

4.5 Alat dan Bahan Penelitian

4.5.1 Alat Penelitian

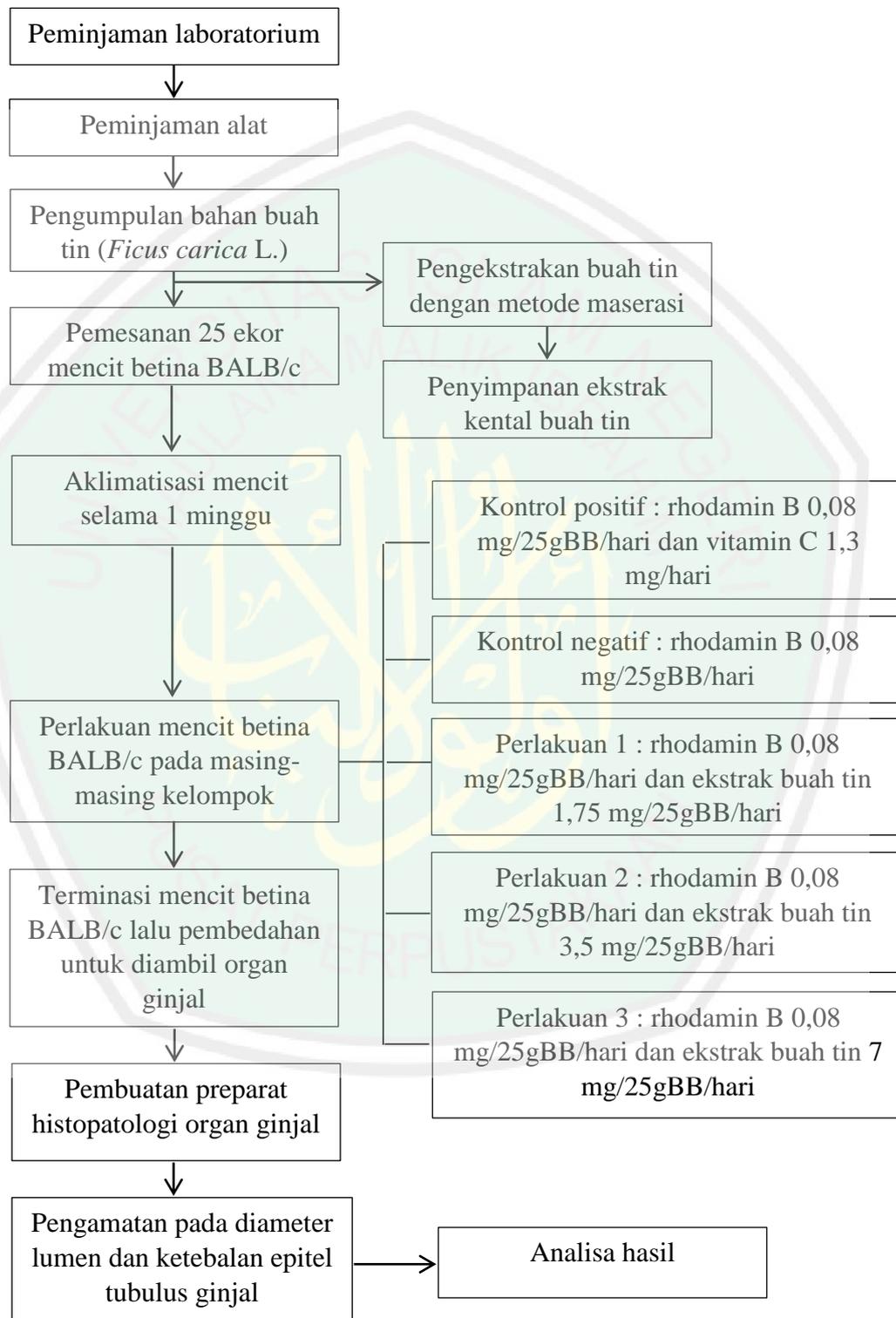
Alat-alat yang digunakan dalam penelitian ini antara lain kandang mencit, *beaker glass* 25 ml dan 500 ml, kaca arloji, batang pengaduk, pipet volume 10 ml, *push ball*, neraca analitik, kaki tiga, bunsen, kasa, *sputit* 3cc, spatula, label, sonde mencit, pisau bedah, gunting, botol kaca 60 ml, rotary evaporator (merk *Heidolph Instrument*), *oven* (merk Memmert), *moisture content* (merk Metteler Toledo), *object glass*, *cover glass*, dan mikroskop.

4.5.2 Bahan Penelitian

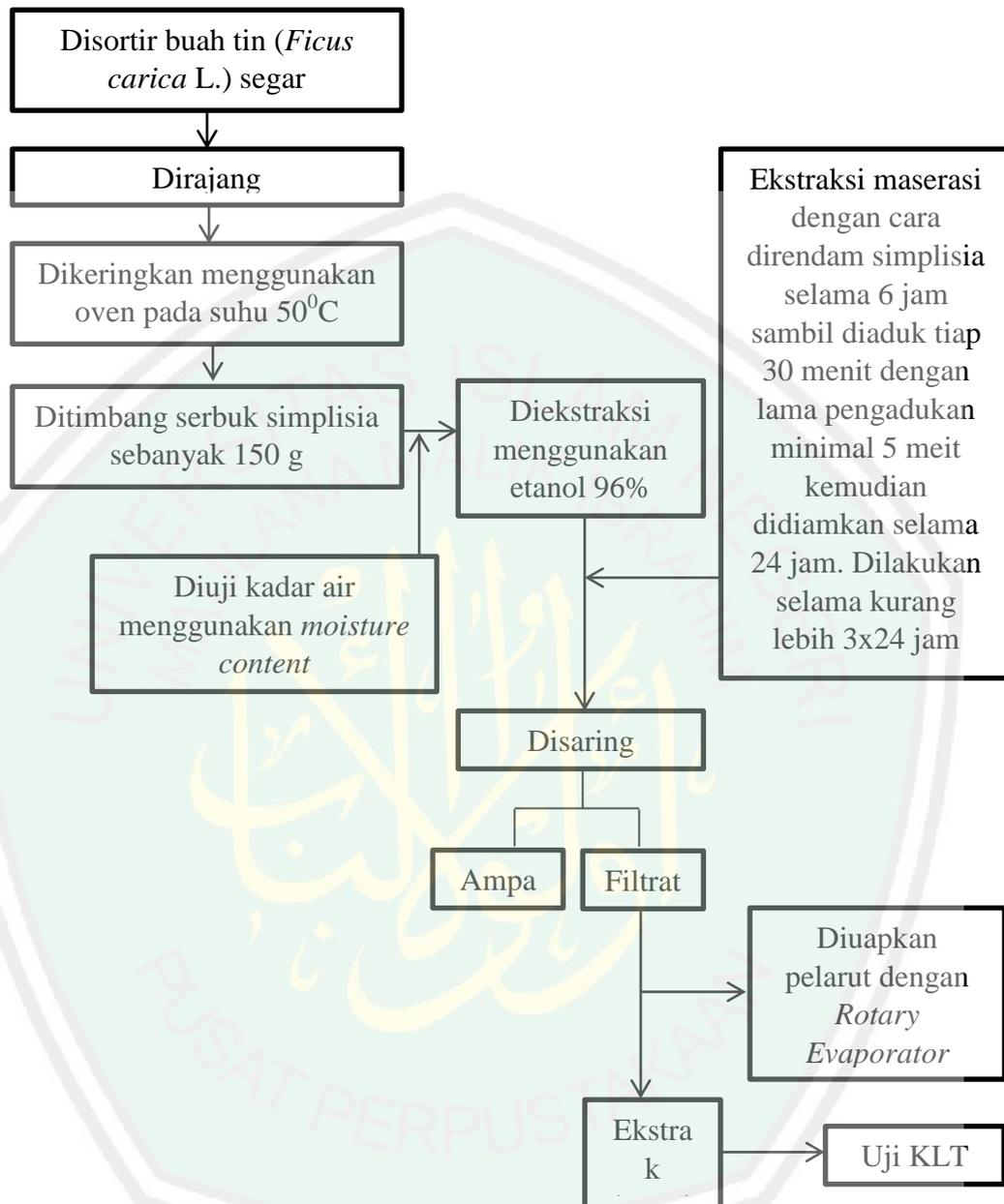
Bahan-bahan yang digunakan dalam penelitian ini antara lain mencit betina, rhodamin B (*Tokyo Chemical Industry CO., LTD*), buah tin (*Ficus carica L.*) (Malang), vitamin C (*Tokyo Chemical Industry CO., LTD*), etanol 96%, CMC-Na, kloroform, aquadest, pakan mencit BR1, air mineral (Cleo), formalin 10%.

4.6 Prosedur Penelitian

4.6.1 Alur Penelitian



4.6.2 Skema Kerja Proses Ekstraksi



4.6.3 Uji Kromatografi Lapis Tipis



4.6.4 Perlakuan

- a. Mencit yang telah terbagi dalam 5 (lima) kelompok dilakukan aklimatisasi selama 7 (hari) dalam laboratorium
- b. Ditimbang masing-masing berat badan mencit, kemudian dihitung rata-rata berat badan mencit. Didapatkan hasil rata-rata berat badan mencit 25 g.
- c. Tiap kelompok diberi tanda:
 - 1) Kontrol negatif (K-): mencit diberikan rhodamin B dosis 0,08 mg/25gBB/hari

- 2) Kontrol positif (K+): mencit diberikan rhodamin B dosis 0,08 mg/25gBB/hari dan vitamin C dosis 1,3 mg/hari
 - 3) Perlakuan 1 (P1): mencit diberikan rhodamin B dosis 0,08 mg/25gBB/hari dan ekstrak buah tin dosis 1,75 mg/25gBB/hari
 - 4) Perlakuan 2 (P2): mencit diberikan rhodamin B dosis 0,08 mg/25gBB/hari dan ekstrak buah tin dosis 3,5 mg/25gBB/hari
 - 5) Perlakuan 3 (P3): mencit diberikan rhodamin B dosis 0,08 mg/25gBB/hari dan ekstrak buah tin dosis 7 mg/25gBB/hari
- d. Perlakuan dilakukan selama 15 hari
 - e. Mencit diterminasi dengan menggunakan kloroform
 - f. Organ ginjal diambil dan diberi formalin 10% untuk disimpan dalam botol kaca kemudian dibuat preparat
 - g. Preparat diamati dengan mikroskop dan diamati bagian histologi tubulus proksimal mencit. Selanjutnya dilakukan analisis data

4.7 Analisis Data

Analisis statistik untuk mengolah data yang diperoleh menggunakan program pengolahan data brivariat. Analisis brivariat adalah analisis yang digunakan untuk mengetahui hubungan antara variabel bebas dengan variabel tergantung dengan menggunakan uji statistik. Pada penelitian ini dilakukan uji data dengan aplikasi SPSS 17,0. SPSS (*Statistical Packagr for The Social Sciences*) merupakan aplikasi yang digunakan untuk mengolah data statistik dari hasil penelitian.

1. Uji Normalitas dan Homogenitas Data

Uji normalitas bertujuan untuk menganalisis apakah sebuah data menyebar mengikuti atau mendekati distribusi normal atau tidak. Data yang baik mempunyai pola distribusi normal tanpa adanya condong ke salah satu sisi (Santoso, 2010). Pengujian dilakukan dengan uji *Shapiro-Wilk* karena sampel kurang dari 50 (25 sampel). Distribusi normal baku akan ditransformasikan ke dalam bentuk α dan diasumsikan normal. Jika nilai diatas 0,05 maka telah memenuhi asumsi normalitas, dan jika nilai dibawah 0,05 maka belum memenuhi nilai normalitas. Kemudian dilakukan uji homogenitas menggunakan *levene's test* untuk menganalisis apakah data penelitian memiliki keragaman yang identik. Jika nilai diatas 0,05 maka dinyatakan memenuhi asumsi homogenitas dan jika nilai di bawah 0,05 maka belum memenuhi asumsi homogenitas.

1. Uji Non Parametrik

Uji non parametrik bertujuan untuk menguji perbedaan histologi tubulus proksimal ginjal antara pemberian ekstrak buah tin dengan pemberian vitamin C terhadap sampel yang telah dipapar rhodamin B. Uji *Kruskall-Wallis* merupakan pengujian statistik non-parametrik yang digunakan untuk menguji perbedaan tiga atau lebih objek/perlakuan dengan variabel ukur berupa data nominal, ordinal, maupun rasio yang tidak memenuhi seluruh atau salah satu asumsi normalitas dan homogenitas.

BAB V

HASIL PENELITIAN DAN PEMBAHASAN

5.1 Determinasi Tanaman

Buah tin (*Ficus carica* L.) diperoleh dari kota Malang Jawa Timur. Buah tin yang digunakan adalah buah tin matang yang berwarna hijau kekuningan dan memiliki daging buah yang empuk. Buah tin dideterminasi di Laboratorium Materia Medika Batu. Determinasi tanaman bertujuan untuk memastikan kebenaran identitas tanaman yang digunakan. Determinasi dilakukan dengan mencocokkan ciri-ciri morfologi yang ada pada tanaman tin terhadap kepustakaan. Kunci determinasi buah tin adalah sebagai berikut: 1b-2b-3b-4b-6b-7b-9b-10b-11b-12b-13b-14b-15a-109b-119b-120a-121b-124a-1a-1a. Berdasarkan hasil determinasi tersebut, berikut adalah tingkatan taksonomi dari tanaman tin:

Kingdom : Plantae (tumbuhan)

Subkingdom : Tracheobionta (tumbuhan berpembuluh)

Super Divisi : Spermatophyta (menghasilkan biji)

Divisi : Magnoliophyta (tumbuhan berbunga)

Kelas : Magnoliopsida (berkeping dua/dikotil)

Sub kelas : Dilleniidae

Ordo : Urticales

Famili : Moraceae

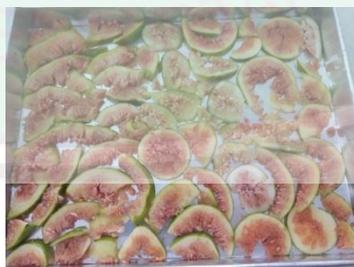
Genus : Ficus

Spesies : *Ficus carica* L.

5.2 Proses Ekstraksi

5.2.1 Penyiapan Simplisia

Bahan baku simplisia yang digunakan pada penelitian ini diperoleh dari petani buah tin di daerah Poncokusumo Malang. Buah tin (*Ficus carica* L.) yang dipilih adalah buah matang dalam keadaan baik dan tidak cacat. Tahapan ekstraksi dimulai dari proses penyortiran simplisia untuk menghilangkan kotoran atau benda asing pada simplisia. Sebanyak 2 kg buah tin dicuci dengan air mengalir sampai bersih kemudian ditiriskan untuk menghilangkan air dari sisa pencucian pada buah tin. Selanjutnya dilakukan perajangan pada buah tin menggunakan pisau *stainless steel* yang bertujuan agar proses pengeringan yang akan dilakukan berlangsung lebih cepat. Perajangan dilakukan dengan ketebalan ± 3 mm (Ningsih, 2016). Apabila terlalu tebal maka proses pengeringan akan terlalu lama dan kemungkinan dapat membusuk atau berjamur. Perajangan yang terlalu tipis akan berakibat rusaknya kandungan kimia karena oksidasi atau reduksi. Alat perajang atau pisau yang digunakan sebaiknya bukan dari besi (misalnya *stainless steel* atau baja nirkarat) (Ditjen POM, 1990).



Gambar 5. 1 Buah tin yang sudah dirajang

Buah tin (*Ficus carica* L.) yang telah dirajang kemudian dikeringkan dengan menggunakan oven pada suhu 50°C. Tujuan dari pengeringan ini adalah untuk menghentikan proses enzimatik yang mungkin masih bisa terjadi sehingga dapat

mengurangi degradasi zat aktif. Selain itu proses pengeringan juga berguna untuk mengurangi kandungan air dari simplisia, sehingga tidak dapat ditumbuhi jamur. Keberadaan air dalam jumlah yang tinggi akan mempengaruhi polaritas pelarut (Suhendi *et al.*, 2007).

Menurut persyaratan obat tradisional pengeringan dilakukan sampai kadar air tidak lebih dari 10%. Cara penetapan kadar air dilakukan menurut yang tertera dalam Materia Medika Indonesia. Pengeringan sebaiknya jangan di bawah sinar matahari langsung, melainkan dengan almari pengering yang dilengkapi dengan kipas penyedot udara sehingga terjadi sirkulasi yang baik. Bila terpaksa dilakukan pengeringan di bawah sinar matahari maka perlu ditutup dengan kain hitam untuk menghindari terurainya kandungan kimia dan debu. Agar proses pengeringan berlangsung lebih singkat bahan harus dibuat rata dan tidak bertumpuk. Ditekankan di sini bahwa cara pengeringan diupayakan sedemikian rupa sehingga tidak merusak kandungan aktifnya (Dijten POM, 1990).

Setelah dilakukan pengeringan, dilanjutkan dengan sortasi kering. Sortasi kering bertujuan untuk memisahkan benda-benda asing seperti bagian-bagian tanaman yang tidak diinginkan dan pengotor-pengotor lain yang masih tertinggal pada simplisia kering. Simplisia buah tin (*Ficus carica* L.) yang telah dikeringkan kemudian dihaluskan melalui proses *grinding* untuk mendapatkan partikel yang jauh lebih kecil sehingga pelarut lebih mudah kontak dengan bahan dan berdifusi lebih banyak ke dalam partikel sehingga proses ekstraksi berlangsung lebih baik. Partikel sampel yang halus akan memperluas daya pelarutan sehingga pelarutan komponen pada sampel dapat lebih merata (Suhendi *et al.*, 2007). Serbuk buah tin

(*Ficus carica* L.) yang dihasilkan sebanyak 150 g yang kemudian akan diekstraksi menggunakan metode maserasi.

5.2.2 Pembuatan Ekstrak

Ekstraksi merupakan peristiwa pemindahan masa zat aktif yang semula berada di dalam sel, ditarik keluar oleh cairan penyari sehingga terjadi larutan zat aktif dalam larutan tersebut (Depkes RI, 2009). Serbuk buah tin (*Ficus carica* L.) kemudian diekstraksi menggunakan metode maserasi. Maserasi merupakan proses penyarian dengan cara merendam sampel menggunakan pelarut sampai dengan beberapa kali pengocokan atau pengadukan pada temperatur kamar (Harborne, 1987). Pemilihan metode maserasi berdasarkan pertimbangan kesederhanaan prosedur dan peralatan yang digunakan. Metode ini dapat menghindari kerusakan senyawa yang bersifat termolabil (Mukhriani, 2014).

Menurut Joseph (2011) buah tin (*Ficus carica* L.) memiliki senyawa yang termolabil seperti senyawa fenolik. Ekstraksi dilakukan dengan menggunakan pelarut etanol 96%. Pelarut etanol dipilih karena etanol merupakan pelarut polar yang penggunaannya cenderung lebih universal, lebih selektif, tidak beracun, netral, absorpsinya baik, dapat bercampur dengan air, serta panas yang diperlukan untuk pemekatan lebih sedikit sehingga ketika proses pemekatan ekstrak cair menjadi ekstrak kental waktu yang diperlukan relatif lebih sedikit (Gandjar dan Rohman, 2007). Selain itu, buah tin mengandung senyawa polifenol yang cenderung bersifat polar karena mengandung banyak gugus hidroksi sehingga dapat larut dalam pelarut seperti etanol (Luper, 1999). Diharapkan senyawa polifenol yang ada dalam buah tin dapat tersari dengan optimal.

Proses ekstraksi dimulai dengan merendam serbuk buah tin (*Ficus carica* L.) ke dalam pelarut etanol 96% selama 6 jam dengan dilakukan pengadukan setiap 15 menit. Tujuan pengadukan adalah agar maserat homogen dan komponen senyawa aktif dapat tertarik oleh pelarut secara merata. Kemudian didiamkan selama 24 jam. Endapan dan filtrat dipisahkan dengan menggunakan kertas saring. Endapan yang terbentuk selanjutnya diremaserasi sebanyak 2x. Tujuan dilakukannya remaserasi adalah untuk menyari senyawa-senyawa yang masih tertinggal atau tidak tersari. Remaserasi berarti dilakukan pengulangan penambahan pelarut setelah dilakukan penyaringan maserat pertama dan selanjutnya (Depkes, 2000). Prinsip dari proses ekstraksi ini adalah ketika pelarut organik menembus dinding sel dan masuk ke dalam rongga sel yang mengandung zat aktif, zat aktif akan terlarut sehingga terjadi perbedaan konsentrasi antara larutan zat aktif di dalam sel dan pelarut organik di luar sel, maka larutan terpekat akan berdifusi ke luar sel, dan proses ini akan berulang terus sampai terjadi keseimbangan antara konsentrasi zat aktif di dalam dan di luar sel (Tobo F, 2001).

Maserat kemudian diuapkan menggunakan rotary evaporator pada suhu 50°C dengan kecepatan 70 rpm dengan tekanan 175 Psi. Fungsi dari evaporasi adalah untuk menghilangkan pelarut etanol 96% dalam ekstrak. Suhu yang digunakan pada proses evaporasi yaitu 50°C karena kandungan senyawa fenol pada buah tin (*Ficus carica* L.) akan rusak apabila dievaporasi diatas suhu 50°C. Untuk mendapat ekstrak kental dilakukan penguapan kembali menggunakan penangas air, sehingga diperoleh ekstrak kental berwarna coklat. Prinsip rotary evaporator yaitu proses pemisahan ekstrak dari cairan penyaringnya dengan

pemanasan yang dipercepat oleh putaran dari labu alas bulat, cairan penyari dapat menguap 5-10° C di bawah titik didih pelarutnya disebabkan oleh karena adanya penurunan tekanan. Dengan bantuan pompa vakum, uap larutan penyari akan menguap naik ke kondensor dan mengalami kondensasi menjadi molekul-molekul cairan pelarut murni yang ditampung dalam labu alas bulat penampung (Sudjadi, 1986).

5.3 Uji Warna dan Uji Kromatografi Lapis Tipis (KLT)

5.3.1 Uji Warna

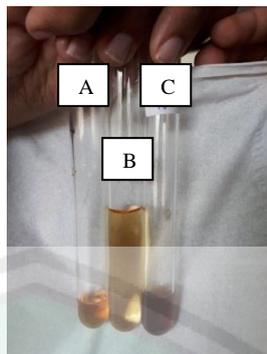
Skrining fitokimia dilakukan untuk mengetahui kandungan senyawa fitokimia pada ekstrak etanol buah tin (*Ficus carica* L.). Identifikasi senyawa dalam tanaman secara kualitatif dapat dilakukan dengan uji warna. Pengujian dengan reaksi warna bertujuan mengidentifikasi senyawa dalam tanaman dengan mengamati perubahan warna sampel setelah ditambah dengan pereaksi tertentu. Hal pertama yang perlu dilakukan sebelum melakukan beberapa pengujian dengan reaksi warna yaitu preparasi sampel. Tujuannya untuk menyiapkan larutan sampel sehingga mudah diamati pada uji selanjutnya.

Preparasi sampel dilakukan dengan menyiapkan 0,3 gram ekstrak buah tin (*Ficus carica* L.) dan ditambahkan 10 ml aquadest. Kemudian diaduk sampai larut dan dibiarkan sampai temperatur kamar. Setelah itu ditambahkan 3-4 tetes larutan NaCl 10%, diaduk dan disaring dengan kertas saring untuk memisahkan filtrat dengan residunya. Filtrat yang diperoleh dibagi menjadi tiga bagian masing-masing sebanyak 3 ml. Ketiga larutan tersebut diberi label dengan nama larutan

A, B, dan C. Ketiga larutan sampel ini selanjutnya akan digunakan untuk uji gelatin dan uji ferri klorida.

Uji gelatin dilakukan untuk mengidentifikasi kandungan senyawa tannin dalam tanaman. Larutan sampel A digunakan sebagai blanko. Larutan B ditambah dengan 2 ml larutan gelatin dan 2 ml larutan NaCl 10%. Jika terjadi endapan putih, maka menunjukkan adanya tannin dalam ekstrak. Hasil dari pengujian ini adalah negatif, dimana tidak terbentuk endapan pada larutan uji yang mengindikasikan bahwa ekstrak buah tin (*Ficus carica* L.) tidak mengandung tannin.

Uji selanjutnya adalah uji ferri klorida untuk mengetahui adanya kandungan polifenol dan tannin dalam larutan sampel. Larutan sampel C diberi beberapa tetes larutan FeCl_3 , kemudian diamati terjadinya perubahan warna. Hasil dari pengujian ini adalah terjadi perubahan warna menjadi hitam pada larutan sampel C. Hal ini menunjukkan bahwa ekstrak buah tin (*Ficus carica* L.) yang diuji mengandung senyawa polifenol. Perubahan warna terjadi ketika penambahan FeCl_3 bereaksi dengan salah satu gugus hidroksil yang ada pada senyawa polifenol. Hasil positif polifenol pada pengujian menghasilkan warna merah atau hijau kehitaman (Aini, 2014). Ekstrak buah tin yang diuji ini menunjukkan hasil negatif pada uji gelatin dan hasil positif pada uji ferri klorida. Maka dapat disimpulkan bahwa ekstrak yang diuji mengandung golongan senyawa polifenol ditandai dengan perubahan warna larutan menjadi hitam pada uji ferri klorida.



Gambar 5. 2 Hasil uji warna

Keterangan:

- Larutan A: blanko
- Larutan B: hasil negatif uji gelatin (tidak terbentuk endapan)
- Larutan C: hasil positif uji ferri klorida (perubahan warna menjadi hitam)

5.3.2 Uji Kromatografi Lapis Tipis (KLT)

Uji KLT umumnya digunakan untuk mengetahui kemurnian kandungan senyawa (Harborne, 1987) dan dapat digunakan untuk tujuan identifikasi senyawa (Farmakope Herbal Indonesia, 2009). Analisis KLT pada penelitian ini dilakukan untuk pemeriksaan kandungan kimia senyawa sehingga memperoleh gambaran mengenai golongan kandungan senyawa yang terdapat dalam ekstrak etanol buah tin (*Ficus carica* L.). Keuntungan KLT adalah waktu yang dibutuhkan lebih cepat, hasil pemisahan yang diperoleh lebih baik, dan diperlukan jumlah sampel yang sedikit. Uji pendahuluan KLT dilakukan untuk mencari fase gerak yang tepat agar pemisahannya baik.

Uji pendahuluan KLT atau disebut juga optimasi eluen dilakukan dengan mencoba beberapa fase gerak dengan berbagai perbandingan. Eluen yang digunakan dalam uji ini yaitu butanol : aquadest (6:1) dan metanol : aquadest (9:1) yang telah diujikan sebelumnya dalam sebuah *chamber*. Pada tahap ini 10 mg ekstrak buah tin (*Ficus carica* L.) dilarutkan ke dalam 1 ml etanol 96%.

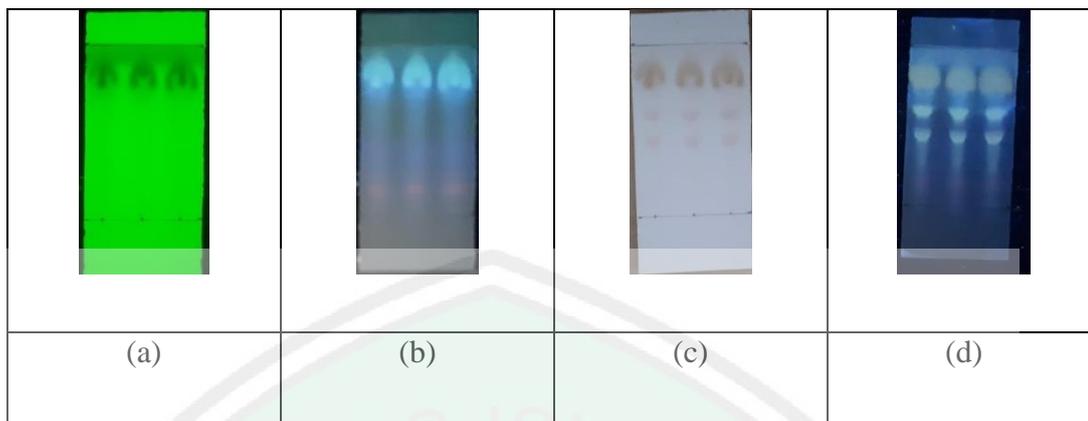
Larutan ekstrak kemudian ditotolkan dengan pipa kapiler 2 μ l pada plat silica gel F₂₅₄ yang memiliki sifat polar dengan ukuran 1 x 10cm. Selanjutnya plat tersebut dimasukkan ke dalam *chamber* berisi eluen yang telah jenuh dan didiamkan sampai fase gerak mencapai batas atas dari plat. Kemudian dilakukan pengamatan dengan lampu UV pada panjang gelombang 254 dan 356 nm. Dari uji ini diketahui bahwa hasil pemisahan golongan senyawa yang paling baik adalah menggunakan eluen methanol : aqudest (9:1).

Pemisahan dalam uji KLT ini sesuai dengan prinsip kromatografi lapis tipis yaitu pemisahan komponen kimia berdasarkan prinsip adsorpsi dan partisi, yang ditentukan oleh fase diam (adsorben) dan fase gerak (eluen), komponen kimia bergerak naik mengikuti fase gerak karena daya serap adsorben terhadap komponen-komponen kimia tidak sama sehingga komponen kimia dapat bergerak dengan kecepatan yang berbeda berdasarkan tingkat kepolarannya, hal inilah yang menyebabkan terjadinya pemisahan (Sudjadi, 1986).

Plat KLT dari hasil optimasi dengan pemisahan yang paling baik kemudian diamati menggunakan pereaksi semprot atau penampak noda. Pereaksi yang digunakan adalah H₂SO₄ 10%. Prinsip penampakan noda pereaksi semprot H₂SO₄ 10% adalah berdasarkan kemampuan asam sulfat yang bersifat reduktor dalam merusak gugus kromofor dari zat aktif simplisia sehingga panjang gelombangnya akan bergeser ke arah yang lebih panjang (UV menjadi VIS) sehingga noda menjadi tampak oleh mata (Stahl, 1985). Setelah plat disemprot dengan H₂SO₄ 10% selanjutnya dilakukan pengamatan kembali dengan lampu UV pada panjang gelombang 254 dan 356 nm.

Prinsip dari UV *cabinet* adalah pada UV 254 nm, lempeng akan berfluoresensi sedangkan sampel akan tampak berwarna gelap. Penampakan noda pada lampu UV 254 nm adalah karena adanya daya interaksi antara sinar UV dengan indikator fluoresensi yang terdapat pada lempeng. Fluoresensi cahaya yang tampak merupakan emisi cahaya yang dipancarkan oleh komponen tersebut ketika elektron yang tereksitasi dari tingkat energi dasar ke tingkat energi yang lebih tinggi kemudian kembali ke keadaan semula sambil melepaskan energi. Pada UV 366 nm noda akan berfluoresensi dan lempeng akan berwarna gelap. Penampakan noda pada lampu UV 366 nm adalah karena adanya daya interaksi antara sinar UV dengan gugus kromofor yang terikat oleh auksokrom yang ada pada noda tersebut. Fluoresensi cahaya yang tampak merupakan emisi cahaya yang dipancarkan oleh komponen tersebut ketika elektron yang tereksitasi dari tingkat energi dasar ke tingkat energi yang lebih tinggi kemudian kembali ke keadaan semula sambil melepaskan energi. Sehingga noda yang tampak pada lampu UV 366 terlihat terang karena silika gel yang digunakan tidak berfluoresensi pada sinar UV 366 nm (Alam, 2007).

Hasil pengamatan plat KLT dengan UV *cabinet* yang tampak adalah spot warna coklat tua. Spot warna tersebut menunjukkan kandungan golongan senyawa dalam ekstrak. Berdasarkan pengamatan ini dapat diketahui ekstrak buah tin (*Ficus carica* L.) mengandung golongan senyawa polifenol. Hasil positif polifenol pada uji KLT ditandai dengan adanya spot/bercak berwarna gelap (hitam, ungu, biru tua atau coklat tua) (Suhaenah, 2017).



Gambar 5. 3 Hasil uji Kromatografi Lapis Tipis dengan fase diam plat KLT F₂₅₄ dan fase gerak metanol:air (9:1)

Keterangan :

- (a) panjang gelombang 254 nm sebelum disemprot
- (b) panjang gelombang 366 nm sebelum disemprot
- (c) visual setelah disemprot (tampak noda berwarna coklat)
- (d) panjang gelombang 366 nm setelah disemprot (tampak noda berwarna coklat)

5.4 Penanganan Hewan Coba

Hewan coba adalah hewan yang khusus diternakan untuk keperluan penelitian biologis. Hewan laboratorium tersebut di gunakan sebagai uji praktik untuk penelitian pengaruh bahan kimia atau obat pada manusia. Dalam penelitian kali ini menggunakan mencit sebagai hewan percobaan. Mencit merupakan hewan yang mudah ditangani, sehingga hewan tersebut sering dan banyak digunakan di dalam laboratorium farmakologi dalam berbagai bentuk percobaan (Malole, 1989)

5.4.1 Persiapan Hewan Coba

Hewan coba yang digunakan dalam penelitian ini adalah 25 ekor mencit (*Mus musculus*) betina jenis Balb/C yang berumur 2-4 bulan dengan berat badan 25-30 gram. Mencit yang dipilih adalah mencit yang sehat, tidak cacat fisik dan tidak hamil maupun menyusui. 25 mencit dibagi ke dalam 5 kelompok perlakuan,

yaitu : kontrol negatif (K-), kontrol positif (K+), perlakuan 1 (P1), perlakuan 2 (P2), dan perlakuan 3 (P3). Setiap kelompok ditempatkan dalam 5 kandang berbeda. Masing-masing kandang berisi 5 ekor mencit. Kandang yang dipersiapkan berupa bak plastik berukuran 30cm x 16cm x 10cm yang dilengkapi dengan penutup kandang berupa kawat. Kandang diberi alas berupa serbuk gergaji sebagai penghangat bagi mencit serta disediakan botol berisi air minum untuk mencit. Sebelum masuk ke tahap perlakuan, seluruh hewan percobaan terlebih dahulu diaklimatisasi selama 7 hari.

Keadaan selama aklimatisasi dan perlakuan dikontrol pada kisaran lingkungan yang tetap dengan tujuan agar hewan uji mampu beradaptasi dengan kondisi yang akan ditempati selama percobaan. Selama percobaan suhu ruangan berkisar antara 23⁰C -27⁰C. Makanan yang diberikan berupa BR1 sebanyak 5 gram/ ekor mencit (*Mus musculus*) dan minum berupa air merk Cleo yang diberikan secara *ad libitum*. Setelah melalui proses aklimatisasi selama 7 hari maka hewan coba siap untuk diberi perlakuan.

5.4.2 Perlakuan Hewan Coba

Perlakuan kepada hewan coba dalam penelitian ini dilakukan selama 15 hari setelah proses aklimatisasi. 25 ekor hewan coba yang telah melewati proses aklimatisasi dibagi ke dalam 5 kelompok perlakuan. Setiap mencit diberi perlakuan sebanyak satu kali sehari secara oral menggunakan sonde. Dosis sediaan yang diberikan telah melalui perhitungan konversi dosis manusia ke mencit, sehingga diperoleh dosis sebagai berikut:

- 1) Kontrol negatif (K-): mencit diberikan rhodamin B dosis 0,08 mg/25gBB/hari
- 2) Kontrol positif (K+): mencit diberikan rhodamin B dosis 0,08 mg/25gBB/hari dan vitamin C dosis 1,3 mg/hari
- 3) Perlakuan 1 (P1): mencit diberikan rhodamin B dosis 0,08 mg/25gBB/hari dan ekstrak buah tin dosis 1,75 mg/25gBB/hari
- 4) Perlakuan 2 (P2): mencit diberikan rhodamin B dosis 0,08 mg/25gBB/hari dan ekstrak buah tin dosis 3,5 mg/25gBB/hari
- 5) Perlakuan 3 (P3): mencit diberikan rhodamin B dosis 0,08 mg/25gBB/hari dan ekstrak buah tin dosis 7 mg/25gBB/hari



Gambar 5. 4 Pemberian sediaan menggunakan sonde pada mencit

Setelah perlakuan selama 15 hari seluruh mencit diterminasi untuk kemudian dibedah agar dapat diamati perubahan pada sel tubulusnya. Dengan tujuan mengetahui pengaruh pemberian ekstrak buah tin pada kerusakan tubulus akibat paparan rhodamin B yang diberikan. *Euthanasia* atau cara kematian tanpa rasa sakit perlu dilakukan sedemikian sehingga hewan akan mati dengan seminimal mungkin rasa sakit. Pada penelitian ini kematian mencit dilakukan dengan pemberian kloroform. Cara kematian hewan coba dapat dilakukan dengan cara fisik yaitu dengan melakukan dislokasi leher ataupun dapat juga dilakukan dengan

pemberian zat anestetik secara inhalasi salah satunya adalah kloroform (Isbagio, 1992).

Seluruh mencit dibedah untuk dapat diambil organ ginjalnya. Pembedahan dilakukan oleh peneliti menggunakan gunting bedah dan pinset. Organ ginjal yang telah diambil dibersihkan dengan larutan *Normal Saline* 0,9% kemudian dimasukkan ke dalam wadah berisi cairan formalin 10% untuk mengawetkan organ agar tidak rusak.



Gambar 5. 5 Proses pembedahan dan pengambilan organ ginjal mencit

5.5 Hasil Penelitian

Masing-masing organ ginjal yang telah diperoleh dibuat irisan melintang kemudian dijadikan sebuah preparat. Pembuatan preparat dilakukan di Laboratorium Patologi Anatomi Fakultas Kedokteran Universitas Brawijaya Malang. Preparat yang telah jadi kemudian diamati dengan mikroskop. Masing-masing preparat tersebut diamati tubulus proksimalnya. Tubulus proksimal dilapisi oleh sel-sel selapis kuboid atau silindris. Sel-sel ini memiliki sitoplasma asidofilik yang disebabkan oleh adanya mitokondria panjang dalam jumlah besar, apeks sel memiliki banyak mikrovili dengan panjang kira-kira satu μm yang membentuk suatu brush border (Junqueira dan Carneriro, 2007). Sel-sel tubulus

proksimal bersifat eosinofilik dengan batas sikat dan garis-garis basal. Batas sel tidak jelas karena sistem interdigitasi yang rumit dari sisi-sisi membran plasma lateral sel. Pada tubulus kontortus proksimal terdapat 6 sampai 12 sel, tetapi yang tampak hanya 4 sampai 5 inti (Tambajong, 1995). Diamati jaringan epitel dan lumen dari tubulus proksimal, kemudian diukur ketebalan epitel dan diameter lumen dari masing-masing sampel. Pengamatan preparat dan pengukuran variabel dilakukan menggunakan aplikasi *OlyVIA* dan *Image Raster 3.0*.

5.5.1 Ketebalan Epitel

5.5.1.1 Hasil Pengukuran Ketebalan Epitel

Hasil dari pengukuran ketebalan epitel tubulus dari setiap sampel adalah:

Tabel 5. 1 Ketebalan epitel tubulus pada setiap sampel (μm)

Kelompok	Replikasi	Ukuran Ketebalan Epitel Tubulus (μm)					Rata-rata (μm) \pm SD
	1	2	3	4	5		
K-		32.24	32.70	35.37	32.69	36.82	33.96 \pm 2.02
K+		17.77	18.32	17.10	20.49	20.92	18.92 \pm 1.69
P1		18.73	21.89	20.88	21.23	20.29	20.60 \pm 1.20
P2		15.52	16.14	17.48	18.86	16.97	16.99 \pm 1.29
P3		14.98	15.89	13.78	14.38	14.39	14.68 \pm 0.80

Keterangan:

K- (Kontrol negatif): mencit diberikan rhodamin B dosis 0,08 mg/25gBB/hari

K+ (Kontrol positif): mencit diberikan rhodamin B dosis 0,08 mg/25gBB/hari dan vitamin C dosis 1,3 mg/hari

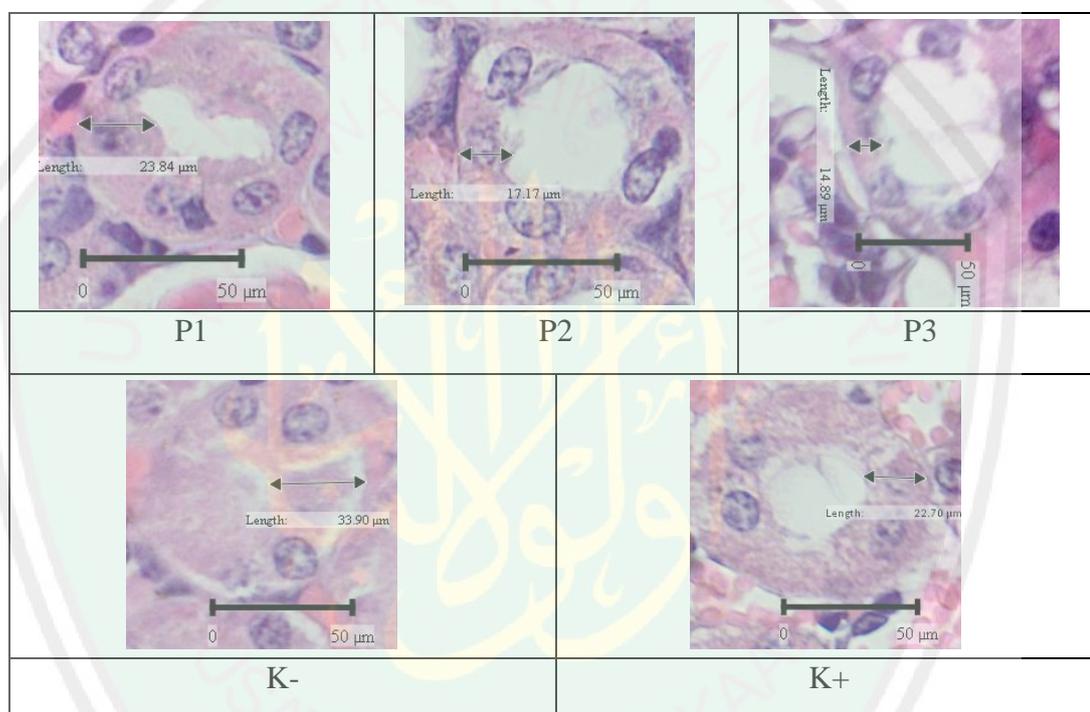
P1 (Perlakuan 1): mencit diberikan rhodamin B dosis 0,08 mg/25gBB/hari dan ekstrak buah tin dosis 1,75 mg/25gBB/hari

P2 (Perlakuan 2): mencit diberikan rhodamin B dosis 0,08 mg/25gBB/hari dan ekstrak buah tin dosis 3,5 mg/25gBB/hari

P3 (Perlakuan 3): mencit diberikan rhodamin B dosis 0,08 mg/25gBB/hari dan ekstrak buah tin dosis 7 mg/25gBB/hari

Dari tabel 5.1 dapat diketahui bahwa nilai ketebalan epitel terbesar adalah kelompok kontrol negatif dimana mencit hanya diberikan rhodamin B, sehingga

terjadi peradangan pada epitel tubulus yang disebabkan adanya senyawa radikal rhodamin B (Togatorop, 2016). Nilai ketebalan epitel terkecil adalah kelompok perlakuan 3 dimana mencit diberikan rhodamin B dan ekstrak buah tin dosis 3 (7 mg/25gBB/hari). Hal ini menunjukkan bahwa pemberian ekstrak buah tin dapat memberikan perubahan terhadap ketebalan epitel pada mencit yang dipapar rhodamin B.



Gambar 5. 6 Gambar epitel tubulus ginjal mencit pada setiap kelompok (400x)

Keterangan gambar:

P1 (Perlakuan 1): mencit diberikan rhodamin B dosis 0,08 mg/25gBB/hari dan ekstrak buah tin dosis 1,75 mg/25gBB/hari

P2 (Perlakuan 2): mencit diberikan rhodamin B dosis 0,08 mg/25gBB/hari dan ekstrak buah tin dosis 3,5 mg/25gBB/hari

P3 (Perlakuan 3): mencit diberikan rhodamin B dosis 0,08 mg/25gBB/hari dan ekstrak buah tin dosis 7 mg/25gBB/hari

K- (Kontrol negatif): mencit diberikan rhodamin B dosis 0,08 mg/25gBB/hari

K+ (Kontrol positif): mencit diberikan rhodamin B dosis 0,08 mg/25gBB/hari dan vitamin C dosis 1,3 mg/hari

←→ = ketebalan epitel

5.5.1.2 Hasil Analisis Data Ketebalan Epitel

A) Uji Normalitas

Pengujian asumsi normalitas dilakukan dengan menggunakan uji *saphiro-wilk*. Asumsi uji normalitas terpenuhi jika data penelitian menyebar mengikuti sebaran normal. Uji normalitas tidak terpenuhi jika data penelitian tidak menyebar mengikuti sebaran normal. Data penelitian dikatakan normal apabila nilai signifikansi untuk setiap variabel lebih besar dari 5% ($> 0,05$).

Tabel 5. 2 Hasil Pengujian Normalitas Saphiro Wilk Ketebalan Epitel

Replikasi	Rata-rata (μm) \pm SD	Signifikansi	Keterangan
Kelompok			
K-	33.96 \pm 2.02	0,000	Tidak normal
K+	18.92 \pm 1.69		
P1	20.60 \pm 1.20		
P2	16.99 \pm 1.29		
P3	14.68 \pm 0.80		

Hasil dari uji normalitas pada data ketebalan epitel tubulus ginjal mencit betina adalah nilai signifikansi sebesar 0,000 yang artinya nilai signifikansi *saphiro-wilk* $< 0,05$, sehingga dinyatakan bahwa data ketebalan epitel dalam penelitian ini tidak menyebar mengikuti distribusi normal.

B) Uji Homogenitas

Uji homogenitas ragam adalah sebuah uji untuk melihat apakah variabel yang diteliti mempunyai ragam yang homogen antar kelompok atau tidak. Metode yang digunakan dalam pengujian ini yaitu metode *Levene*. Adapun uji homogenitas terpenuhi apabila kelompok perlakuan dalam data penelitian memiliki ragam yang homogen. Uji homogenitas tidak terpenuhi apabila kelompok perlakuan dalam data penelitian memiliki ragam yang tidak homogen. Data penelitian dikatakan

homogen apabila nilai signifikansi untuk setiap variabel lebih besar dari α 5% ($>0,05$).

Tabel 5. 3 Hasil Pengujian Homogenitas Ragam Levene Ketebalan Epitel

Replikasi	Rata-rata (μm) \pm SD	Signifikansi	Keterangan
Kelompok			
K-	33.96 \pm 2.02	0,072	Homogen
K+	18.92 \pm 1.69		
P1	20.60 \pm 1.20		
P2	16.99 \pm 1.29		
P3	14.68 \pm 0.80		

Hasil uji homogenitas ragam pada variabel ketebalan epitel adalah nilai signifikansi sebesar 0,072. Berdasarkan hasil analisis dapat diketahui bahwa untuk variabel ketebalan epitel nilai signifikansi $>0,05$, artinya untuk data pada variabel ketebalan epitel dalam penelitian ini memiliki ragam yang homogen.

Berdasarkan hasil uji asumsi normalitas dan homogenitas didapatkan bahwa pada variabel ketebalan epitel tidak memenuhi asumsi normalitas dan memenuhi asumsi homogenitas ragam. Hasil uji ini menunjukkan bahwa variabel ketebalan epitel tidak memenuhi keseluruhan uji asumsi. Dengan demikian untuk variabel ketebalan epitel, uji beda dilakukan dengan menggunakan uji *kruskal-wallis*.

C) Uji *Kruskal-Wallis*

Uji *Kruskal-Wallis* dilakukan untuk mengetahui adanya perbedaan nilai variabel pada masing-masing kelompok perlakuan. Kriteria pada pengujian ini yaitu apabila nilai *p-value* (signifikansi) hasil uji *kruskal-wallis* kurang dari α 5% (0,05) maka dinyatakan terdapat perbedaan signifikan pada data penelitian. Hasil pengujian dari uji *kruskal-wallis* adalah sebagai berikut:

Tabel 5. 4 Hasil Pengujian Kruskal-Wallis Pada Variabel Ketebalan Epitel

Replikasi Kelompok	Rata-rata (μ) \pm SD	Signifikansi	Keterangan
K-	33.96 \pm 2.02	0,000	Berbeda signifikan
K+	18.92 \pm 1.69		
P1	20.60 \pm 1.20		
P2	16.99 \pm 1.29		
P3	14.68 \pm 0.80		

Berdasarkan uji *Kruskal–Wallis* pada ketebalan epitel tubulus mencit dengan kontrol negatif, kontrol positif dan perlakuan 1, 2, dan 3 didapatkan nilai signifikansi 0,000 ($p < 0,05$), maka berarti terdapat perbedaan yang signifikan ketebalan epitel tubulus ginjal pada mencit dengan kontrol negatif, kontrol positif dan yang mendapat perlakuan 1, 2, dan 3. Karena ditemukan terdapat perbedaan yang signifikan pada ketebalan epitel tubulus ginjal pada mencit dengan kontrol negatif, kontrol positif dan yang mendapat perlakuan 1, 2, dan 3, maka dilakukan uji lanjut untuk mengetahui perbedaan ketebalan epitel tubulus ginjal yang dimiliki mencit pada masing-masing perlakuan digunakan uji *mann-whitney*.

Uji multikomparasi *post-hoc Mann Whitney* bertujuan untuk mengetahui perbedaan masing–masing kelompok pada respon yang diamati. Perbedaan kelompok dianggap bermakna apabila $p < 0,05$. Ringkasan uji *Mann Whitney* ditampilkan pada tabel berikut :

Tabel 5. 5 Ringkasan Nilai Signifikansi (p) Uji Mann-Whitney Pada Respon Ketebalan Epitel

Perlakuan	K-	K+	P1	P2	P3
K-	-	0,009*	0,009*	0,009*	0,009*
K+	0,009*	-	0,117	0,076	0,009*
P1	0,009*	0,117	-	0,016*	0,009*
P2	0,009*	0,076	0,016*	-	0,016*
P3	0,009*	0,009*	0,009*	0,016*	-

Keterangan : * = berbeda signifikan

Hasil pengujian pada tabel 5.5 kemudian dapat disederhanakan untuk mempermudah membaca hasil analisis. Tabel 5.6 menunjukkan hasil penyederhanaan pengujian *mann-whitney* yang telah dilakukan

Tabel 5. 6 Hasil Uji Lanjut Respon Ketebalan Epitel

Konsentrasi	Rata-Rata	Notasi
Perlakuan 3	14,68	a
Perlakuan 2	16,99	bc
Kontrol (+)	18,92	cd
Perlakuan 1	20,60	d
Kontrol (-)	33,96	e

Keterangan: notasi huruf yang berbeda menunjukkan adanya perbedaan yang signifikan antar perlakuan

Berdasarkan hasil uji lanjut pada tabel 5.6 dapat diketahui bahwa terdapat perbedaan rata-rata ketebalan epitel tubulus ginjal yang signifikan pada mencit betina yang dipapar rhodamin b (kontrol negatif) dengan mencit betina yang dipapar rhodamin b dan diberikan vitamin c (kontrol positif), ekstrak buah tin dosis 1,75 mg/hari (P1), ekstrak buah tin dosis 3,5 mg/hari (P2), dan ekstrak buah tin dosis 7 mg/hari (P3). Nilai rata-rata ketebalan epitel tubulus ginjal mencit pada kontrol negatif yaitu kondisi mencit yang terpapar rhodamin B tanpa diberi perlakuan apapun menunjukkan nilai rata-rata ketebalan epitel terbesar yaitu sebesar 33,96 μm sedangkan nilai rata-rata ketebalan epitel tubulus ginjal mencit yang mendapat perlakuan 3 yaitu kondisi mencit yang terpapar rhodamin B dosis 0,08 mg/25gBB/hari dan diberi ekstrak buah tin dosis 7 mg/25gBB/hari menunjukkan nilai rata-rata ketebalan epitel terkecil yaitu sebesar 14,68 μm . Hasil penelitian ini menunjukkan bahwa semakin besar dosis buah tin yang diberikan kepada mencit betina yang dipapar rhodamin B, maka ketebalan epitel tubulus ginjal mencit akan semakin berkurang.

5.5.2 Diameter Lumen

5.5.2.1 Hasil Pengukuran Diameter Lumen

Hasil dari pengukuran ketebalan epitel tubulus dari masing-masing sampel adalah sebagai berikut:

Tabel 5. 7 Diameter lumen tubulus pada setiap sampel (μm)

Kelompok	Replikasi	Ukuran Diameter Lumen Tubulus (μm)					Rata-rata (μm) \pm SD
		1	2	3	4	5	
K-		24.58	24.71	35.56	29.94	18.53	26.66 \pm 6.41
K+		52.91	49.65	45.98	48.91	55.19	50.53 \pm 3.59
P1		48.89	45.34	47.34	45.21	48.51	47.06 \pm 1.73
P2		54.50	53.49	53.04	53.15	52.48	53.33 \pm 0.75
P3		54.66	65.75	59.90	54.99	60.34	59.13 \pm 4.56

Keterangan:

K- (Kontrol negatif): mencit diberikan rhodamin B dosis 0,08 mg/25gBB/hari

K+ (Kontrol positif): mencit diberikan rhodamin B dosis 0,08 mg/25gBB/hari dan vitamin C dosis 1,3 mg/hari

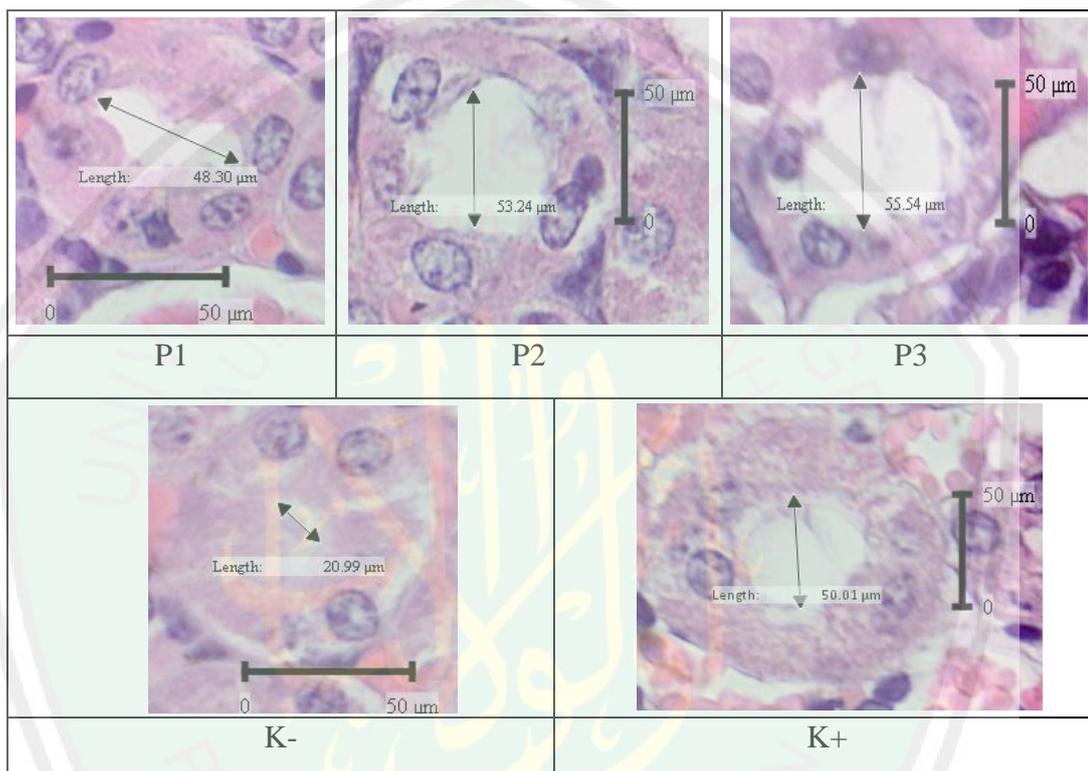
P1 (Perlakuan 1): mencit diberikan rhodamin B dosis 0,08 mg/25gBB/hari dan ekstrak buah tin dosis 1,75 mg/25gBB/hari

P2 (Perlakuan 2): mencit diberikan rhodamin B dosis 0,08 mg/25gBB/hari dan ekstrak buah tin dosis 3,5 mg/25gBB/hari

P3 (Perlakuan 3): mencit diberikan rhodamin B dosis 0,08 mg/25gBB/hari dan ekstrak buah tin dosis 7 mg/25gBB/hari

Dari tabel 5.7 dapat diketahui bahwa nilai diameter lumen yang terkecil adalah pada kelompok kontrol negatif dimana mencit hanya diberikan rhodamin B dan nilai diameter lumen terbesar adalah pada kelompok perlakuan 3 dimana mencit diberikan rhodamin B dan ekstrak buah tin (*Ficus carica* L.) dengan dosis 7 mg/25gBB/hari. Hal ini menunjukkan bahwa pemberian ekstrak buah tin dapat memberikan perubahan terhadap diameter lumen pada mencit yang dipapar rhodamin B. Urutan nilai diameter lumen dari yang paling kecil adalah pada kelompok kontrol negatif, perlakuan 1, kontrol positif, perlakuan 2, dan yang

paling besar adalah pada kelompok perlakuan 3. Pada kelompok kontrol negatif, nilai diameter lumen paling kecil disebabkan karena peradangan pada epitel tubulus yang disebabkan adanya senyawa radikal rhodamin B, sehingga menyebabkan lumen tubulus menyempit.



Gambar 5. 7 Gambar lumen tubulus ginjal mencit pada setiap kelompok dengan perbesaran 400x

Keterangan:

P1 (Perlakuan 1): mencit diberikan rhodamin B dosis 0,08 mg/25gBB/hari dan ekstrak buah tin dosis 1,75 mg/25gBB/hari

P2 (Perlakuan 2): mencit diberikan rhodamin B dosis 0,08 mg/25gBB/hari dan ekstrak buah tin dosis 3,5 mg/25gBB/hari

P3 (Perlakuan 3): mencit diberikan rhodamin B dosis 0,08 mg/25gBB/hari dan ekstrak buah tin dosis 7 mg/25gBB/hari

K- (Kontrol negatif): mencit diberikan rhodamin B dosis 0,08 mg/25gBB/hari

K+ (Kontrol positif): mencit diberikan rhodamin B dosis 0,08 mg/25gBB/hari dan vitamin C dosis 1,3 mg/hari

←→ = diameter lumen

5.5.2.2 Hasil Analisis Data Diameter Lumen

A) Uji Normalitas

Pengujian asumsi normalitas dilakukan dengan menggunakan uji *saphiro-wilk*. Asumsi uji normalitas terpenuhi jika data penelitian menyebar mengikuti sebaran normal. Uji normalitas tidak terpenuhi jika data penelitian tidak menyebar mengikuti sebaran normal. Data penelitian dikatakan normal apabila nilai signifikansi untuk setiap variabel lebih besar dari 5% ($> 0,05$).

Tabel 5. 8 Hasil Pengujian Normalitas Saphiro-Wilk Diameter Lumen

Replikasi Kelompok	Rata-rata (μm) \pm SD	Signifikansi	Keterangan
K-	26.66 \pm 6.41	0,000	Tidak normal
K+	50.53 \pm 3.59		
P1	47.06 \pm 1.73		
P2	53.33 \pm 0.75		
P3	59.13 \pm 4.56		

Hasil uji normalitas pada data diameter lumen tubulus ginjal mencit betina yang telah dipapar rhodamin B adalah nilai signifikansi sebesar 0,005. Berdasarkan hasil analisis dapat diketahui bahwa untuk variabel diameter lumen, nilai signifikansi *saphiro-wilk* $< 0,05$, sehingga dinyatakan bahwa data diameter lumen dalam penelitian ini tidak menyebar mengikuti distribusi normal.

B) Uji Homogenitas

Uji homogenitas ragam adalah sebuah uji untuk melihat apakah variabel yang diteliti mempunyai ragam yang homogen antar kelompok atau tidak. Metode yang digunakan dalam pengujian ini yaitu metode *Levene*. Adapun uji homogenitas terpenuhi apabila kelompok perlakuan dalam data penelitian memiliki ragam yang homogen. Uji homogenitas tidak terpenuhi apabila kelompok perlakuan dalam

data penelitian memiliki ragam yang tidak homogen. Data penelitian dikatakan homogen apabila nilai signifikansi untuk setiap variabel lebih besar dari α 5% ($>0,05$).

Tabel 5. 9 Hasil Pengujian Homogenitas Ragam Levene Diameter Lumen

Replikasi Kelompok	Rata-rata (μm) \pm SD	Signifikansi	Keterangan
K-	26.66 \pm 6.41	0,027	Tidak homogeny
K+	50.53 \pm 3.59		
P1	47.06 \pm 1.73		
P2	53.33 \pm 0.75		
P3	59.13 \pm 4.56		

Hasil uji homogenitas ragam pada variabel diameter lumen adalah 0,027. Berdasarkan hasil analisis dapat diketahui bahwa untuk variabel diameter lumen nilai signifikansi $< 0,05$. Artinya untuk data pada variabel diameter lumen dalam penelitian ini memiliki ragam yang tidak homogen (Heterogen).

Berdasarkan hasil uji asumsi normalitas didapatkan bahwa pada variabel diameter lumen tidak memenuhi asumsi normalitas dan homogenitas. Dengan demikian untuk variabel diameter lumen, uji beda dilakukan dengan menggunakan uji *kruskal-wallis*.

C) Uji *Kruskal-Wallis*

Uji *Kruskal-Wallis* dilakukan untuk mengetahui adanya perbedaan nilai variabel pada masing-masing kelompok perlakuan. Kriteria pada pengujian ini yaitu apabila nilai *p-value* (signifikansi) hasil uji *kruskal-wallis* kurang dari α 5% (0,05) maka dinyatakan terdapat perbedaan signifikan pada data penelitian. Berikut adalah hasil pengujian *kruskal-wallis* pada variabel diameter lumen:

Tabel 5. 10 Hasil Pengujian *Kruskal-Wallis* Pada Variabel Diameter Lumen

Replikasi Kelompok	Rata-rata (μ) \pm SD	Signifikansi	Keterangan
K-	26.66 \pm 6.41	0,000	Berbeda signifikan
K+	50.53 \pm 3.59		
P1	47.06 \pm 1.73		
P2	53.33 \pm 0.75		
P3	59.13 \pm 4.56		

Berdasarkan hasil uji *Kruskal-Wallis* didapatkan nilai signifikansi 0,000 ($<0,05$) pada variabel diameter lumen, maka berarti terdapat perbedaan yang signifikan diameter lumen tubulus ginjal mencit antara kelompok perlakuan kontrol negatif, kontrol positif dan yang mendapat perlakuan 1, 2, dan 3. Karena ditemukan terdapat perbedaan yang signifikan pada diameter lumen tubulus ginjal pada mencit dengan kontrol negatif, kontrol positif dan yang mendapat perlakuan 1, 2, dan 3, maka dilakukan uji lanjut untuk mengetahui perbedaan diameter lumen tubulus ginjal yang dimiliki mencit pada masing-masing perlakuan digunakan uji *Mann Whitney*.

Uji multikomparasi *post-hoc Mann Whitney* bertujuan untuk mengetahui perbedaan masing – masing kelompok pada respon yang diamati. Perbedaan kelompok dianggap bermakna apabila $p < 0,05$.

Tabel 5. 11 Ringkasan Nilai Signifikansi (p) Uji Mann-Whitney Pada Respon Diameter lumen

Perlakuan	K-	K+	P1	P2	P3
K-	-	0,009*	0,009*	0,009*	0,009*
K+	0,009*	-	0,047*	0,175	0,028*
P1	0,009*	0,047*	-	0,009*	0,009*
P2	0,009*	0,175	0,009*	-	0,009*
P3	0,009*	0,028*	0,009*	0,009*	-

Keterangan : * = berbeda signifikan

Hasil pengujian pada tabel 5.11 kemudian dapat disederhanakan untuk mempermudah membaca hasil analisis. Tabel 5.12 menunjukkan hasil penyederhanaan pengujian *mann-whitney* yang telah dilakukan.

Tabel 5. 12 Hasil Uji Lanjut Respon Diameter lumen

Konsentrasi	Rata-Rata (μm)	Notasi
Kontrol (-)	26,66	a
Perlakuan 1	47,06	b
Kontrol (+)	50,53	c
Perlakuan 2	53,33	c
Perlakuan 3	59,13	d

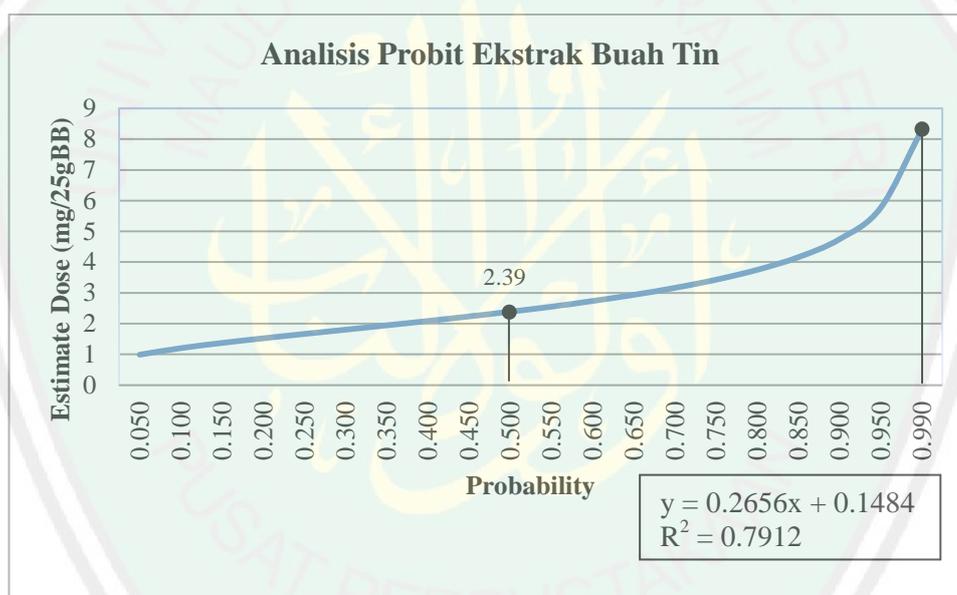
Keterangan : notasi huruf yang berbeda menunjukkan adanya perbedaan yang signifikan antar perlakuan

Berdasarkan hasil uji lanjut pada tabel 5.12 dapat diketahui bahwa terdapat perbedaan yang signifikan diameter lumen tubulus ginjal pada mencit betina yang dipapar rhodamin B (K-) dengan mencit betina yang dipapar rhodamin B dan diberikan vitamin c (K+), ekstrak buah tin dosis 1,75 mg/hari (P1), ekstrak buah tin dosis 3,5 mg/hari (P2), dan ekstrak buah tin dosis 7 mg/hari (P3). Tabel 5.12 juga menunjukkan bahwa rata-rata diameter lumen tubulus ginjal mencit betina yang dipapar rhodamin B dan diberi vitamin c (K+) dengan rata-rata diameter lumen tubulus ginjal mencit betina yang dipapar rhodamin b dan mendapat ekstrak buah tin dosis 3,5 mg/hari (P2) tidak berbeda signifikan. Nilai rata-rata diameter lumen tubulus ginjal mencit pada kontrol negatif yaitu kondisi mencit yang terpapar rhodamin B tanpa diberi perlakuan apapun menunjukkan nilai rata-rata diameter lumen terendah yaitu sebesar 26,66 μm sedangkan nilai rata-rata diameter lumen tubulus ginjal mencit yang mendapat perlakuan 3 yaitu kondisi mencit yang terpapar rhodamin B dosis 0,08 mg/25gBB/hari dan diberikan ekstrak buah tin dosis 7 mg/25gBB/hari menunjukkan nilai rata-rata diameter

lumen tertinggi yaitu sebesar 59,13 μm . Hasil penelitian ini menunjukkan bahwa semakin besar dosis buah tin yang diberikan kepada mencit betina yang dipapar rhodamin B, maka diameter lumen akan semakin melebar.

5.6 Effective Dose 50 (ED₅₀)

Dosis efektif rata-rata (ED₅₀) adalah jumlah obat yang mencapai efek separuh maksimum, atau mencapai efek 50% pada kelompok hewan coba (Mughtarida et al, 2018). Pengujian ED₅₀ menggunakan spss dengan metode uji probit. Hasil analisis adalah sebagai berikut:



Gambar 5. 8 Diagram Analisis Probit Ekstrak Buah Tin

Berdasarkan diagram diatas diketahui bahwa nilai ED₅₀ sebesar 2,39 mg/25gBB/hari, yang berarti bahwa kemampuan ekstrak buah tin untuk memperbaiki sel tubulus sebesar 50% adalah pada dosis 2,39 mg/25gBB/hari. Sedangkan untuk mencapai efek 99% (ED₉₉) dalam memperbaiki sel tubulus adalah pada dosis 8,30 mg/25gBB/hari.

5.7 Pengaruh Ekstrak Buah Tin

Radikal bebas adalah atom atau molekul yang mengandung satu atau lebih elektron yang tidak berpasangan pada orbital terluarnya dan bersifat reaktif. Rhodamin B termasuk dalam senyawa radikal bebas karena mengandung senyawa logam berat seperti klorin (Cl) dan senyawa pengalkilasi (CH₃-CH₃) yang bersifat reaktif (Anjasmara, 2017). Senyawa radikal yang dihasilkan rhodamin B pada proses metabolisme dapat masuk ke dalam aliran darah dan berinteraksi dengan asam amino dalam darah membentuk senyawa kompleks serta menyebabkan berbagai kerusakan jaringan (Purnamasari, 2013).

Ginjal merupakan salah satu organ ekskresi yang berfungsi menyaring kotoran dari darah dan membuangnya dalam bentuk urin (Robbins dan Kumar, 2007). Rhodamin B yang bersifat polar akan disekresi secara aktif dari darah ke urin, sehingga senyawa radikal akan melalui sel epitel tubulus dengan konsentrasi tinggi. Proses pemekatan tersebut mengakibatkan zat-zat toksik ini akan terakumulasi di tubulus ginjal sehingga terjadi pergeseran air ekstraseluler ke dalam sel. Pergeseran cairan ini terjadi karena adanya toksin yang menyebabkan perubahan muatan listrik pada permukaan sel epitel tubulus yang akhirnya mengakibatkan pembengkakan epitel pada tubulus. Epitel tubulus yang membengkak ini selanjutnya menyebabkan penyempitan lumen tubulus (Togatorop, 2016).

Salah satu cara meredam dampak negatif dari senyawa radikal bebas adalah dengan menggunakan antioksidan. Antioksidan mempunyai struktur molekul yang dapat memberikan elektronnya kepada molekul radikal bebas tanpa terganggu

sama sekali serta dapat mengikat radikal bebas (Winarsi, 2007). Antioksidan dapat diperoleh secara alami melalui tumbuhan. Salah satu tumbuhan yang banyak mengandung senyawa antioksidan adalah buah tin (*Ficus carica* L.) yang memiliki konsentrasi polifenol yang tinggi (Lukitasari, 2014). Hasil penelitian yang melakukan uji fitokimia pada buah tin menyatakan buah tin segar mengandung senyawa bioaktif golongan alkaloid, fenolik, flavonoid dan triterpenoid, dengan kadar tertinggi senyawa golongan fenolik (Wu, 2019).

Penelitian ini dilakukan untuk mengetahui pengaruh ekstrak buah tin terhadap tubulus yang telah dipapar rhodamin B. Dari hasil pengamatan dan pengukuran pada preparat sampel dapat diketahui bahwa ekstrak buah tin dapat mempengaruhi ketebalan epitel dan diameter lumen tubulus ginjal mencit yang dipapar rhodamin B. Pada tubulus ginjal mencit kelompok kontrol negatif mengalami kerusakan ditandai dengan membengkaknya epitel tubulus ginjal sehingga membuat diameter lumen menyempit. Pada kelompok kontrol positif dengan pemberian vitamin c terlihat perubahan bentuk tubulus yang ditandai dengan ketebalan epitel yang berkurang serta diameter lumen yang membesar. Hal ini menunjukkan bahwa vitamin c dapat mengurangi kerusakan tubulus ginjal akibat rhodamin B. Vitamin c bersifat antioksidan yang mampu menangkap radikal bebas dan mencegah reaksi berantai yang akan merusak tubuh (Nadesul, 2006). Vitamin C bekerja sebagai donor elektron, dengan cara memindahkan satu elektron ke senyawa logam (Levine, 1995).

Pada kelompok perlakuan 1, 2, dan 3 dengan pemberian ekstrak buah tin dosis bertingkat terlihat pula perubahan bentuk tubulus yang ditandai dengan

paling baik dalam memperbaiki kerusakan tubulus ginjal. Hal ini menunjukkan bahwa semakin tinggi dosis ekstrak maka efek yang dihasilkan akan semakin baik. Dan dosis efektif 50% (ED₅₀) ekstrak buah tin dalam mengurangi kerusakan tubulus ginjal akibat rhodamin B adalah 2,39 mg/25gBB/hari.

Kerusakan tubulus proksimal menyebabkan terganggunya proses rearsorpsi dan sekresi. Jika proses rearsorpsi terganggu maka zat yang masih dibutuhkan oleh tubuh tidak dapat diserap kembali oleh tubuh sehingga zat tersebut dapat keluar melalui urin. Dan jika proses sekresi terganggu maka zat-zat yang tidak dibutuhkan oleh tubuh tidak dapat dikeluarkan melalui urin sehingga menjadi toksik yang dapat merusak organ ginjal (Togatorop, 2016). Senyawa antioksidan telah dikenal mampu untuk mengurangi efek negatif dari radikal bebas. Dari penelitian ini dapat diketahui bahwa efek yang dihasilkan ekstrak buah tin dalam mengurangi kerusakan tubulus ginjal akibat rhodamin B lebih baik dari vitamin C. Sehingga ekstrak buah tin dapat dijadikan alternatif *food suplement* untuk mencegah efek negatif dari radikal bebas yang dapat digunakan sehari-hari. Penggunaan obat tradisional dari tumbuh-tumbuhan lebih baik digunakan daripada bahan kimia karena lebih ekonomis serta memiliki efek samping yang lebih kecil dibanding obat kimia (Dwisatyadini, 2017).

5.8 Keistimewaan Buah Tin

Dalam prespektif Islam, buah tin disebutkan pada surah Alqur'an yang mengatasnamakan dirinya sendiri dan dalam bentuk sumpah. Berdasarkan tafsir A. Gani menjelaskan di dalam surah At-tin ayat 1 Allah bersumpah dengan "tin"

yaitu semacam buah-buahan untuk makanan manusia. Allah SWT bersumpah demi buah ‘*At-tin*’. Ahli tafsir sendiri dalam mengomentari kasus ini berbeda pendapat menafsirkan buah yang disumpahkan itu, sebagian berpendapat bahwa yang dimaksud adalah buah tin itu sendiri yang dapat dimakan oleh manusia. Ada pula menafsirkan tin sebagai tempat-tempat tertentu seperti: gunung, masjid atau kota (Roswita, 2017).

Dalam banyak kajian tafsir Alqur’an dikatakan bahwa sesuatu yang dipergunakan oleh Allah SWT untuk bersumpah, pasti ada keistimewaan didalamnya. Buah tin dipercayai sebagai buah surga, karena selain rasanya yang segar dan lezat, buah ini juga memiliki beragam manfaat bagi kesehatan manusia (Roswita, 2017). Menurut tafsir Al-Qurthubiy menjelaskan bahwa sesungguhnya buah tin dapat menyembuhkan wasir, mengobati encok, mengobati luka-luka, borok, flu burung, maag, gangguan sirkulasi mensturasi dan luka bakar. Menurut Imam Ibnu al-Jawziyyah, Buah tin memiliki khasiat dapat mengurangi penyakit sesak nafas, membersihkan hati dan limpa juga pengencer dahak serta memberi khasiat yang baik pada tubuh, sebagai langkah pencegahan untuk melawan racun di tubuh kita (Hatta, 2012). Karena keistimewaan buah tin ini maka perlu untuk dilakukannya penelitian lebih lanjut mengenai manfaat buah tin.

Hasil penelitian menunjukkan bahwa pada uji fitokimia buah tin segar mengandung senyawa bioaktif golongan alkaloid, fenolik, flavonoid dan triterpenoid, dengan kadar tertinggi senyawa golongan fenolik (Wu, 2019). Dalam penelitian ini menunjukkan kandungan senyawa dalam ekstrak buah tin dapat mengurangi efek negatif dari radikal bebas rhodamin B. Efek dari ekstrak

buah tin tersebut dapat dilihat dari pengaruhnya terhadap ketebalan epitel dan diameter lumen tubulus proksimal ginjal mencit yang dipapar oleh rhodamin B. Hasil penelitian menunjukkan bahwa ekstrak buah tin dapat mencegah peradangan pada tubulus proksimal ginjal mencit betina yang telah dipapar senyawa radikal bebas rhodamin B. Hal ini menunjukkan bahwa buah tin sebagai buah surga dapat digunakan sebagai *food suplement* yang bermanfaat untuk mencegah efek negatif dari rhodamin B yang dapat dikonsumsi sehari-hari.



BAB VI

KESIMPULAN DAN SARAN

6.1 Kesimpulan

Berdasarkan penelitian yang telah dilakukan dapat disimpulkan bahwa:

1. Ekstrak buah tin (*Ficus carica* L.) berpengaruh terhadap ketebalan epitel tubulus ginjal mencit betina yang telah dipapar rhodamin B, ditandai dengan nilai $p=0,000$ ($p<0,05$) yang menunjukkan adanya nilai yang signifikan terhadap kelompok K(-).
2. Ekstrak buah tin (*Ficus carica* L.) berpengaruh terhadap diameter lumen tubulus ginjal mencit betina yang telah dipapar rhodamin B, ditandai dengan nilai $p=0,000$ ($p<0,05$) yang menunjukkan adanya nilai yang signifikan terhadap kelompok K(-) .
3. Dosis efektif 50% (ED_{50}) dari ekstrak buah tin (*Ficus carica* L.) terhadap perubahan ketebalan epitel dan diameter lumen tubulus ginjal mencit betina yang telah dipapar rhodamin B adalah 2,39 mg/25gBB/hari.

6.2 Saran

Saran yang dapat disampaikan adalah sebagai berikut:

1. Disarankan untuk dilakukan penelitian lebih lanjut dengan menggunakan variabel penelitian dengan sistim organ yang berbeda agar dapat diketahui efek buah tin sebagai antioksidan pada organ tubuh yang lainnya.
2. Untuk penelitian selanjutnya, disarankan untuk dilakukan pengujian lebih lanjut dengan menggunakan bagian tanaman yang lain dari tanaman tin agar dapat dibandingkan efek antioksidannya.

DAFTAR PUSTAKA

- Aini, K., Lukiati, B., dan Balqis. 2014. *Skrining Fitokimia Dan Penentuan Aktivitas Antioksidan Serta Kandungan Total Fenol Ekstrak Buah Labu Siam (Sechium edule (Jacq.) Sw.)*. Malang. Universitas Negeri Malang.
- Anjasmara, P. A., Romdhoni, M. F., dan Ratnaningsih, M. 2017. *Pengaruh Pemberian Rhodamin B Peroral Subakut Terhadap Perubahan Ketinggian Mukosa Gaster Tikus Putih Galur Wistar (Rattus norvegicus Strain Wistar)*. Vol. 13. No. 2.
- Arisman, 2009, *Keracunan Makanan*, Jakarta: EGC.
- Asada, K. 1992. *Ascorbate Peroxidase-Hydrogen Peroxydescavenging Enzym in Plants*. *Physiologia Plantarum*. 85: 23241.
- Bernike. 2008. *Pengaruh Proteksi Vitamin C Terhadap Kadar Ureum, Kreatinin Dan Gambaran Histopatologis Ginjal Mencit Yang Dipapar Plumbum*. Fakultas Kedokteran Univesitas Sumatera Utara.
- Cahyadi, W. 2008. *Analisa Dan Aspek Kesehatan Bahan Tambahan Pangan*. Jakarta: Penerbit Bumi Aksara.
- Clarkson, P. M., Thompson, H. S. 2000, Antioxidants: what role do they play in physical activity and health, *J. Clin Nutr. Biochem*, 72.: 637S-46S.
- Departemen Kesehatan Republik Indonesia. 1995. *Material Medika Indonesia*. Jilid VI. Jakarta.
- Departemen Kesehatan Republik Indonesia. 1995. *Farmakope Indonesia*. Jilid IV. Jakarta.
- Departemen Kesehatan Republik Indonesia. 2000. *Parameter standar umum ekstrak tumbuhan obat*. Jakarta.
- Devarajan, P. 2006. Update on mechanisms of ischemic acute kidney injury. *J Am Soc Nephrol*. 17:1503-20
- Djarismawati. 2004. Pengetahuan dan Prilaku Pedagang Cabe Merah Giling dalam Penggunaan Rhodamin B di Pasar Tradisional di DKI Jakarta. *Jurnal Ekologi Kesehatan* Vol 3. No.1.

- Fauza, S. 2016. Pengaruh Komposisi Media Tanam Dan Aplikasi Azobacter Chroococcum Terhadap Pertumbuhan Stek Tanaman Tin (*Ficus carica* L.) [Tesis]. Sumatra Utara. Universitas Sumatra Utara.
- Fessenden, R. J. dan Fessenden J. S. 2005. *Kimia Organik*. Bandung: ITB.
- Gani, Y., dan Munir, W. 1992. Pengaruh Tamoxifen terhadap Struktur Ginjal dan Hipofisa Mencit (*Mus musculus*). *Jurnal Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam*. Vol.2 No.1.
- Ghazi, F., Rahmat, A., Yassin, Z., Ramli, N. S., dan Buslima, N. A. 2012. Determination of total polyphenols and nutritional composition of two different types of *Ficus carica* leaves cultivated in Saudi Arabia. *Pakistan Journal of Nutrition*. Vol.11 No.11: 1061-1065, 2012 ISSN 1680-5194.
- Guyton and Hall. 2007. *Buku Ajar Fisiologi Kedokteran Edisi 9*. Jakarta: EGC.
- Harbone, J.B. 1996. *Metode Fitokimia: Penuntun Cara modern menganalisa Tumbuhan*. Bandung: Institut Teknologi Bandung.
- Hatta, M., 2012, *Mukjizat Pengobatan Herbal dalam Alqur'an*, Jakarta: Mirqat.
- Hariyatmi, 2004. Kemampuan Vitamin E Sebagai Antioksidan Terhadap Radikal Bebas Pada Lanjut Usia. *Jurnal MIPA UMS*. No.14 No.1.
- Hewitt, S. M., Dear, J., Star, R. A. 2004. Discovery of protein biomarkers for renal diseases. *J Am Soc Nephrol*. 15:1677-89.
- Husain, M. A., 1991, *Proses Penuaan dan Umur Panjang*, Jakarta: Cermin Dunia Kedokteran.
- Isbagio, D. W. 1992. *Euthanasia Pada Hewan Percobaan*. Vol.11 No.01. Media Litbangkes.
- Junquiera, L., Carneiro, J., dan Kelley, O. 2007. *Teks dan Atlas Histologi Dasar*. Edisi 10. Jakarta: EGC.
- Joseph, B., dan Raj, S.J. 2011. Pharmacognostic and phytochemical properties of *Ficus carica* Linn-An overview. *International journal of pharmtech research*, Vol.3 No.1.
- Kikuzaki, H., Hisamoto, M., Hirose, K., Akiyama, K., and Taniguchi, H., 2002, Antioxidant Properties of Ferulic Acid and Its Related Compounds, *J. Agric. Food Chem.*, Vol.50 No.1.
- Levine, M. Cantilena, C.C. Wang, Y. Welch, R.W. Waskho, P.W. Dhariwal, K.R. et al. 1995. Vitamin C pharmacokinetics in healthy volunteers: Evidence for

- a recommended dietary allowance. *Journal of PNAS*. Bethesda. 93: 3704-09.
- Lukitasari, N., Ratnawati, R., Lyrawati, D., 2014, Polifenol Buah Tin (*Ficus carica* Linn) Menghambat Peningkatan Kadar MCP-1 pada Tikus dengan Diet Tinggi Lemak, *Jurnal Kedokteran Brawijaya*, Vol. 28, No. 1., Malang: Universitas Brawijaya Malang.
- Malole, M. B. M. dan C. S. Pramono. (1989). *Penggunaan Hewan-hewan percobaan Laboratorium*. Departemen Pendidikan dan Kebudayaan. Direktorat Jendral Pendidikan Tinggi Pusat Antar Universitas Bioteknologi. Institut Pertanian Bogor, Bogor.
- Minarsih, H, 2007, *Antioksidan Alami dan Radikal Bebas*, Yogyakarta: Kanisius.
- Miryanti, Y.A., Sapei, L., Budiono, K., dan Indra, S. 2011. Ekstraksi antioksidan dari kulit buah manggis (*Garcinia mangostana*L.). *Research report Engineering Science*. 2.
- Moriwaki, K.T., Shiroishi, H., Yonekawa. 1994. *Genetic in Wild Mice*. Its Application to Biomedical Research. Tokyo: Japan Scientific Societies Press. Karger.
- Muhilal, 1991, *Teori Radikal Bebas dalam Gizi dan Kedokteran*, Jakarta : Cermin Dunia Kedokteran.
- MSDS. 2009. Rhodamin B. Material Safety Data Sheet. Santa Cruz. Canada.
- Nadesul, H, 2006, *Sehat Itu Murah*, Jakarta: PT Kompas Media Nusantara.
- Ni'mah, F., 2016, Studi Penafsiran Al-Qāsimī Terhadap Surat Al-Tīn dalam Tafsir Maḥāsin Al-Ta'wīl, *Skripsi*, Semarang: UIN Walisongo.
- Oliveira, A.P., Silva, R.L., Pinho, P.G., *et.al*. 2010. Volatile profiling of *Ficus carica* varieties by HS-SPME and GC-IT-MS. *Food Chemistry*. 123. Portugal.
- Padayatty, S.J. Katz, A. Wang, Y. Eck, P. Kwon, O. Lee, J.H. *et al*. 2003. Vitamin C as an antioxidant: Evaluation of its role in disease prevention. *Journal of American College of Nutrition*. No. 22. Maryland.
- Pearce, E. C. 2006. *Anatomi dan fisiologi untuk paramedik*. Jakarta: PT Gramedia Pustaka Utama.
- Priyambodo, S. 2003. *Pengendalian Hama Tikus Terpadu Seri Agrikat*. Vol. 6. Jakarta: Penebar Swadaya.

- Purnamasari, D.S. and Saebani. 2013. Pengaruh rhodamin B Peroral Dosis Bertingkat Selama 12 Minggu Terhadap Gambaran Histomorfometri Limpa: Studi Pada Diameter Folikel Pulpa Putih, Diameter Centrumgerminativum Dan Jarak Zona Marginalis Limpa Tikus Wistar. *Undergraduate Thesis*. Dipenogoro University.
- Purwantaka. 2005. Validasi Metode Deoksiribosa Sebagai Uji Penangkapan Radikal Bebas Hidroksil Oleh Vitamin C Secara In-vitro. *Jurnal Penelitian*. Yogyakarta: Universitas Sanata Dharma.
- Qusti, SY , Ahmed, Abo-khatwa AN, and Lahw MA. 2010. Screening of Antioxidant Activity and Phenolic Content of Selected Food Items Cited in The Holy Quran. *Journal of Biological Sciences*. Vol.2 No.1.
- Redha, A. 2010. Flavonoid: Struktur, Sifat Antioksidatif Dan Peranannya Dalam Sistem Biologis. *Jurnal Belian*. Vol. 9 No. 2. Pontianak: Politeknik Negeri Pontianak.
- Robbins, S.L. dan Kumar, V. 2007. *Buku Ajar Patologi I*. Penerjemah Staff Pengajar Laboratorium Anatomi, Fak. Kedokteran. Edisi 4, Universitas Airlangga, Jakarta.
- Rohmatussolihat. 2009. Antioksidan, Penyelamat Sel-Sel Tubuh Manusia. *BioTrends*. Vol. 4. No. 1.
- Roswita, F., 2017, Keistimewaan Buah Tin Dalam Alqur'an, *Prosiding Seminar Nasional Mipa III*, Langsa-Aceh: SN-MIPA.
- Sherwood. 2011. *Fisiologi Manusia: dari sel ke sistem*. Jakarta: EGC.
- Siagian, A., 2002. *Bahan Tambahan Makanan*. Medan: Fakultas Kesehatan Masyarakat, Universitas Sumatera Utara.
- Sibuea, P., 2004, *Antioksidan Senyawa Ajaib Penangkal Penuaan Dini*, Yogyakarta: Sinar Harapan.
- Sloane, E. 2004. *Anatomi dan Fisiologi*. Jakarta: Penerbit Buku Kedokteran EGC.
- Slomianka, L. 2009. *Blue-histologi urinary system*. School of anatomy and human biology - The University of Western Australia. Australia.
- Smith, B. J. B. dan Mangkoewidjojo, S. 1998. *Pemeliharaan Pembiakan dan Penggunaan Hewan Percobaan di Daerah Tropis*. Jakarta: Universitas Indonesia.

- Suhaenah, A., dan Nuryanti, S., 2017, Skrining Fitokimia Ekstrak Jamur Kancing (*Agaricus bisporus*), *Jurnal Fitofarmaka Indonesia*, Vol. 4 No. 1, Universitas Muslim Indonesia.
- Suhartono, E. Fachir, H. and Setiawan, B. 2007. *Kapita Sketsa Biokimia Stres Oksidatif Dasar dan Penyakit*. Universitas Lambung Mangkurat, Banjarmasin: Pustaka Benua.
- Syaifuddin. 2000. *Fungsi Sistem Tubuh Manusia*. Jakarta: Widya Medika.
- Tambajong, J. 1995. *Sinopsis Histologi*. Jakarta: ECG.
- Tapan. 2005. *Kanker Antioksidan dan Terapi Komplementer*. Jakarta: PT. Elex Media Komputindo.
- Tobo, F. 2001. *Buku Pengangan Laboratorium Fitokimia I*. Makassar: Universitas Hasanuddin.
- Togatorop, D., Pasiak, T.F., Wongkar, J., Kaseke, M.M. 2016. Gambaran histologik ginjal tikus Wistar yang diberikan jus tomat setelah diinduksi dengan monosodium glutamat. *Jurnal e-Biomedik (eBm)*, Volume 4, Nomor 2.
- Vinson, J. A., 1999, The Functional Food Properties Of Figs, *American Association Of Cereal Chemist*, Vol. 44. No. 1.
- Vinson, J. A., Zubik, L., Bose, P., Samman, N., Proch, J. 2005. Dried Fruits: Excellent in Vitro and in Vivo Antioxidants. *Journal of the American College of Nutrition*. Vol.24 No.1
- Voigt, R., 1994, *Buku Pelajaran Teknologi Farmasi*, Diterjemahkan oleh Soendani N. S., Yogyakarta: UGM Press.
- Wijaya 2003. *Sistem Ekskresi Pada Manusia*. Pusat Penelitian dan Pengembangan Peternakan, Bogor.
- Winarno, F.G. 2004. *Kimia Pangan dan Gizi*. Jakarta: PT Gramedia Pustaka.
- Winarsi, H. 2007. *Antioksidan Alami Dan Radikal Bebas*. Yogyakarta: Kanisius.
- Winarti, S. 2010. *Makanan Fungsional*. Yogyakarta: Graha Ilmu.
- Wu, V., Rusli, T. R., 2019, Uji Fitokimia dan Efek Buah Ara (*Ficus carica* L.) Terhadap Kadar Malondialdehid (MDA) Darah dan Otak Tikus *Sprague dawley* yang Diinduksi Hipoksia Sistemik Kronik, *Tarumanagara Medical Journal*, Vol. 1, No. 2. Jakarta: Universitas Tarumanagara.

Lampiran 1 Hasil Uji Determinasi Tanaman



PEMERINTAH PROVINSI JAWA TIMUR
DINAS KESEHATAN
UPT MATERIA MEDICA BATU
Jalan Lahor No.87 Telp. (0341) 593396
KOTA BATU 65313

Nomor : 074/375A/102.7/2018
Sifat : Biasa
Perihal : **Determinasi Tanaman Tin**

Memenuhi permohonan saudara :

Nama : ELVIRA SUKMADEWI
NIM : 15670044
Fakultas : FAKULTAS KEDOKTERAN DAN ILMU KESEHATAN
UNIVERSITAS ISLAM NEGERI MAULANA MALIK IBRAHIM MALANG

1. Perihal determinasi tanaman tin

- Kingdom : Plantae (Tumbuhan)
Subkingdom : Tracheobionta (Tumbuhan berpembuluh)
Super Divisi : Spermatophyta (Menghasilkan biji)
Divisi : Magnoliophyta (Tumbuhan berbunga)
Kelas : Magnoliopsida (berkeping dua / dikotil)
Sub Kelas : Dilleniidae
Ordo : Urticales
Famili : Moraceae (suku nangka-nangkaan)
Genus : Ficus
Spesies : *Ficus carica* L.
Nama Umum : Buah tin, ara, loh mekah, fig (common fig).
Kunci Determinasi : 1b-2b-3b-4b-6b-7b-9b-10b-11b-12b-13b-14b-15a-109b-119b-120a-121b-124a-1a-1a.
2. Morfologi : Habitus: pohon besar dan dapat tumbuh hingga 10 meter. Batang: batang lunak berwarna abu-abu. Daun: berukuran cukup besar dan berlekuk dalam, 3 atau 5 cuping. Bunga: bunga tidak tampak karena terlindung oleh dasar bunga yang menutup sehingga dikira buah. Buah: buah semu, yang disebut buah sebetulnya adalah dasar bunga yang membentuk bulatan, berukuran 3 – 5 cm, berwarna hijau, beberapa kultivar berubah warna menjadi ungu jika masak.
3. Nama Simplisia : Fici caricae folium/ daun tin.
4. Kandungan : Daun tin mengandung flavonoid, terpenoid dan tanin. Daun juga mengandung α -tocopherol, flavonoid, dan senyawa fenolik yang mempunyai efek sebagai antioksidan.
5. Penggunaan : Penelitian.
6. Daftar Pustaka
- Anonim. 2012. <http://www.plantamor.com/index.php?plant=1590>.
 - Sibel Konyaloğlu, Hüsnüye Sağlam & Bijen Kıvçak. 2005. α -Tocopherol, Flavonoid, and Phenol Contents and Antioxidant Activity of Ficus carica Leaves. *Pharm. Biology* Vol. 43 (8): 683 – 688.
 - Van Steenis, CGGJ. 2008. *FLORA: untuk Sekolah di Indonesia*. Pradnya Paramita, Jakarta.

Demikian surat keterangan determinasi ini kami buat untuk dipergunakan sebagaimana mestinya.



14 November 2018
Kepala UPT. Materia Medica Batu
DINDA HUDA, M. Drs., Apt., M.Kes.
NIP. 19611102 199103 1 003

Lampiran 2 Hasil Uji Kode Etik



KOMISI ETIK PENELITIAN KESEHATAN
HEALTH RESEARCH ETHICS COMMITTEE
POLITEKNIK KESEHATAN KEMENKES MALANG
STATE POLYTECHNIC OF HEALTH MALANG

KETERANGAN LOLOS KAJI ETIK
DESCRIPTION OF ETHICAL APPROVAL
"ETHICAL APPROVAL"
Reg.No.:386 / KEPK-POLKESMA/ 2019

Protokol penelitian yang diusulkan oleh / The research protocol proposed by Meilina Ratna Dianti S.Kep.,NS.,M.Kep
Peneliti Utama / Principal In Investigator **Meilina Ratna Dianti S.Kep.,NS.,M.Kep**

Nama Institusi / Name of the Institution UIN Maulana Malik Ibrahim Malang
Dengan Judul /
Pengaruh Ekstrak Buah Tin (*Ficus carica* L.) dan Buah Kurma (*Phoenix dactilyfera*) Sebagai Antioksidan Terhadap Ginjal Mencit yang Dipapar Rhodamin B
*Study of Effect Tin (*Ficus carica*) and Dates (*Phoenix dactilyfera*) Extract as Antioxidant to Mice's Kidney which Exposed by Rhodamin B*

Dinyatakan layak etik sesuai 7 (tujuh) Standar WHO 2011, yaitu 1) Nilai Sosial, 2) Nilai Ilmiah, 3) Pemerataan Beban dan Manfaat, 4) Risiko, 5) Bujukan/Eksploitasi, 6) Kerahasiaan dan Privacy, dan 7) Persetujuan Setelah Penjelasan, yang merujuk pada Pedoman CIOMS 2016. Hal ini seperti yang ditunjukkan oleh terpenuhinya indikator setiap standar.

Declared to be ethically appropriate in accordance to 7 (seven) WHO 2011 Standards, 1) Social Values, 2) Scientific Values, 3) Equitable Assessment and Benefits, 4) Risks, 5) Persuasion/Exploitation, 6) Confidentiality and Privacy, and 7) Informed Consent, referring to the 2016 CIOMS Guidelines. This is as indicated by the fulfillment of the indicators of each standard.

Pernyataan Laik Etik ini berlaku selama kurun waktu tanggal 01 Agustus 2019 sampai dengan 01 Agustus 2020
This declaration of ethics applies during the period August 1, 2019 until August 1, 2020

Malang, 01 Agustus 2019
Head of Committee



Dr. SUSI MILWATI, S.Kp, M.Pd
NIP.196312011987032002

Lampiran 3 Perhitungan Dosis

1. Rhodamin B

Dosis yang digunakan untuk tikus putih adalah 22,5 mg/kgBB/hari (Roosdiana, 2017). Kemudian dikonversikan ke mencit:

$$\begin{aligned} \text{Dosis mencit} &: 22,5 \text{ mg} \times 0,14 = 3,15 \text{ mg/kgBB} \\ &= 0,003 \text{ mg/kgBB} \end{aligned}$$

$$\text{Berat badan mencit rata-rata} = 25 \text{ g}$$

Sehingga dosis pada mencit menjadi 0,08 mg/25gBB/hari

$$\text{Penimbangan untuk 35 ekor mencit} = 0,08 \text{ mg} \times 35 = 2,8 \text{ mg}$$

$$\text{Aquadest untuk melarutkan rhodamin B} = 0,2 \text{ ml} \times 35 = 7 \text{ ml}$$

2. Vitamin C

Kebutuhan vitamin c sebagai antioksidan manusia dalam sehari adalah 500 mg/hari (Lukitasari, 2017). Kemudian dikonversikan ke mencit:

$$\text{Dosis mencit: } 500 \text{ mg} \times 0,026 = 1,3 \text{ mg}$$

$$\text{Penimbangan untuk 7 ekor mencit} = 1,3 \text{ mg} \times 35 = 9,1 \text{ mg}$$

$$\text{Aquadest untuk melarutkan vitamin c} = 0,2 \text{ ml} \times 7 = 1,4 \text{ ml}$$

3. Ekstrak buah tin (*Ficus carica* L.)

Menurut Dewi (2014), yang melakukan uji antioksidan tanaman pada tikus menggunakan dosis bertingkat 250, 500, dan 1000 mg/kgBB menunjukkan hasil dosis optimum antioksidan tanaman pada tikus adalah 1000 mg/kgBB.

Kemudian dikonversikan ke mencit:

$$\begin{aligned} \text{Dosis mencit: } 1000 \times 0,14 &= 140 \text{ mg/kgBB} \\ &= 0,14 \text{ mg/gBB} \end{aligned}$$

Berat badan rata-rata mencit = 25 g

Dosis mencit : $0,14 \text{ mg} \times 25 \text{ g} = 3,5 \text{ mg}/25\text{gBB}$ (n)

Pada penelitian ini menggunakan tiga dosis ekstrak buah tin (*Ficus carica* L.) yaitu:

Dosis $\frac{1}{2}n$: 1,75 mg/25gBB

Dosis n : 3,5 mg/25gBB

Dosis 2n : 7 mg/25gBB

Ekstrak buah tin diberikan satu kali sehari selama 15 hari dengan cara peroral.

Larutan ekstrak dibuat dengan menambahkan larutan pendispersi CMC Na 0,1% ad 0,2 ml.

Penimbangan untuk 7 ekor mencit :

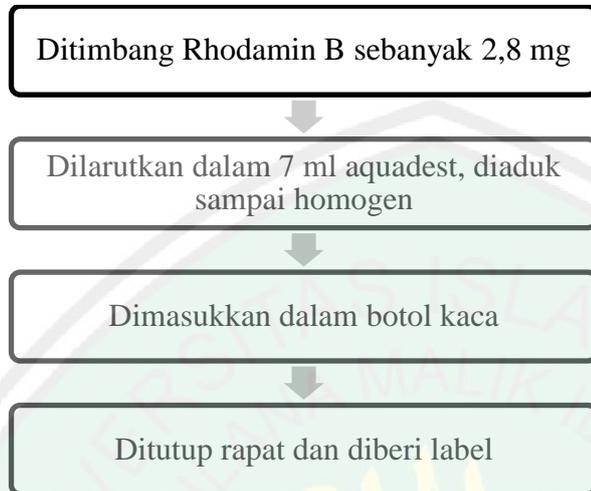
Dosis $\frac{1}{2}n$: $1,75 \text{ mg} \times 7 = 12,25 \text{ mg}$

Dosis n : $3,5 \text{ mg} \times 7 = 24,5 \text{ mg}$

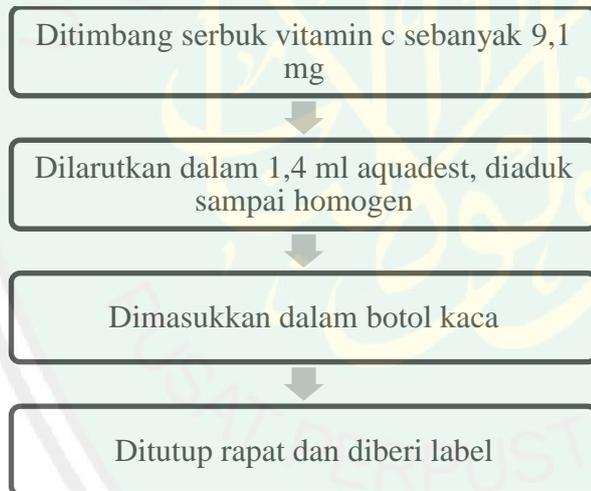
Dosis 2n : $7 \text{ mg} \times 7 = 49 \text{ mg}$

Lampiran 4 Skema Kerja Pembuatan Larutan Uji

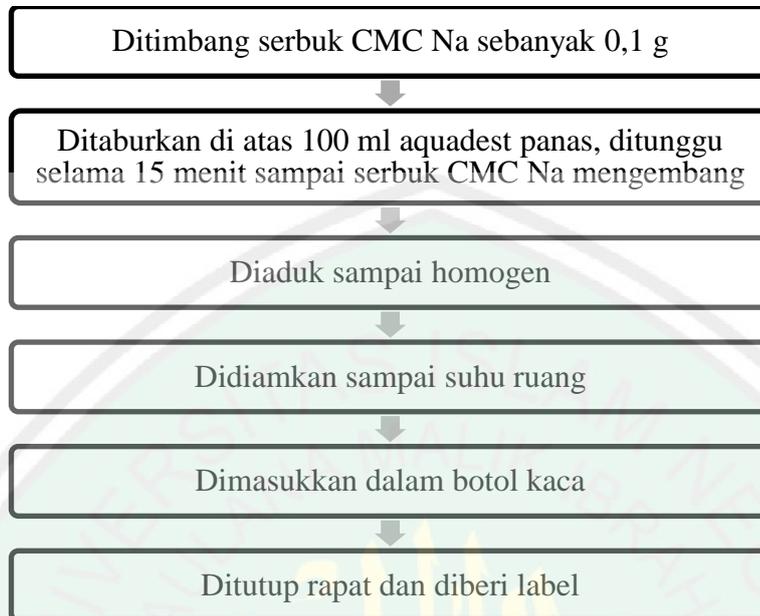
a. Pembuatan Larutan Rhodamin B



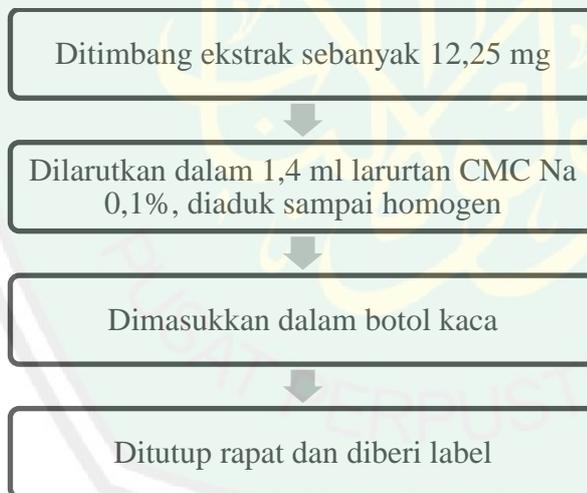
b. Pembuatan Larutan Vitamin C



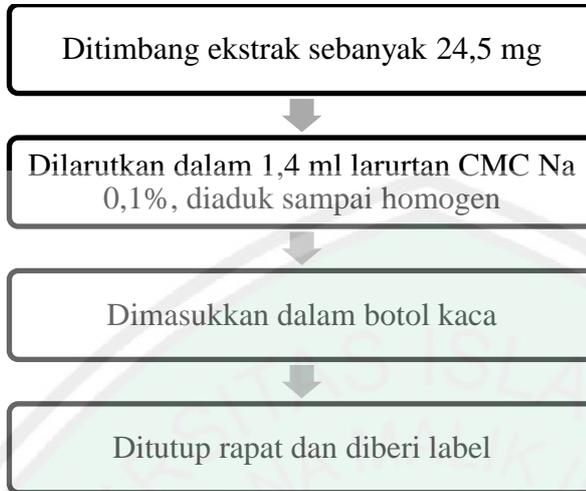
c. Pembuatan Larutan CMC Na 0,1%



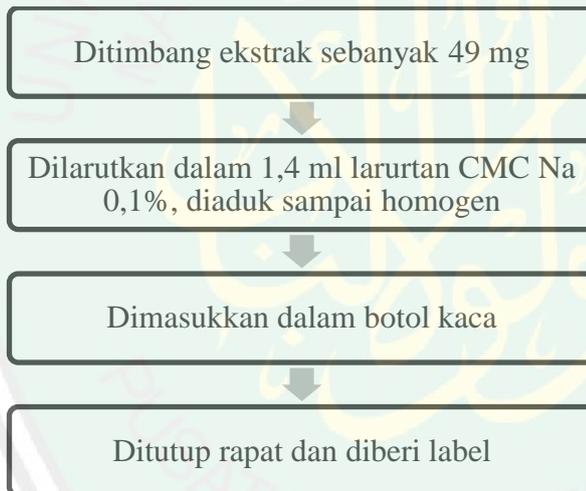
d. Pembuatan Larutan Ekstrak Buah Tin (*Ficus Carica L*) Dosis 1



e. Pembuatan Larutan Ekstrak Buah Tin (*Ficus Carica L.*) Dosis 2



f. Pembuatan Larutan Ekstrak Buah Tin (*Ficus Carica L.*) Dosis 3



Lampiran 5 Hasil Uji SPSS

1. Uji Normalitas Data

Tests of Normality

	Kolmogorov-Smirnov ^a			Shapiro-Wilk		
	Statistic	Df	Sig.	Statistic	df	Sig.
Lumen	,229	25	,002	,874	25	,005
Epitel	,253	25	,000	,802	25	,000

a. Lilliefors Significance Correction

2. Uji Homogenitas Ragam

Test of Homogeneity of Variances

	Levene Statistic	df1	df2	Sig.
Lumen	3,452	4	20	,027
Epitel	2,543	4	20	,072

3. Uji Kruskal Wallis

NPar Tests

Descriptive Statistics

	N	Mean	Std. Deviation	Minimum	Maximum
Lumen	25	47,3421	11,86053	18,53	65,76
Epitel	25	21,0325	7,02671	13,78	36,82

Kruskal-Wallis Test

Ranks

	Perlakuan	N	Mean Rank
Lumen	Kontrol (-)	5	3,00
	Kontrol (+)	5	14,00
	Perlakuan 1	5	8,60
	Perlakuan 2	5	16,80
	Perlakuan 3	5	22,60
	Total		25
Epitel	Kontrol (-)	5	23,00

Kontrol (+)	5	13,20
Perlakuan 1	5	16,80
Perlakuan 2	5	8,80
Perlakuan 3	5	3,20
Total	25	

Test Statistics^{a,b}

	Lumen	Epitel
Chi-Square	20,950	21,061
df	4	4
Asymp. Sig.	,000	,000

- a. Kruskal Wallis Test
- b. Grouping Variable: Perlakuan

4. Uji Lanjut Mann-Whitney

NPar Tests

Mann-Whitney Test

		Ranks		
		N	Mean Rank	Sum of Ranks
Lumen	Kontrol (-)	5	3,00	15,00
	Kontrol (+)	5	8,00	40,00
	Total	10		
Epitel	Kontrol (-)	5	8,00	40,00
	Kontrol (+)	5	3,00	15,00
	Total	10		

Test Statistics^a

	Lumen	Epitel
Mann-Whitney U	,000	,000
Wilcoxon W	15,000	15,000
Z	-2,611	-2,611
Asymp. Sig. (2-tailed)	,009	,009
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	,008 ^b	,008 ^b

- a. Grouping Variable: Perlakuan
- b. Not corrected for ties.

NPar Tests

Mann-Whitney Test

		Ranks		
Perlakuan		N	Mean Rank	Sum of Ranks
Lumen	Kontrol (-)	5	3,00	15,00
	Perlakuan 1	5	8,00	40,00
	Total	10		
Epitel	Kontrol (-)	5	8,00	40,00
	Perlakuan 1	5	3,00	15,00
	Total	10		

Test Statistics^a

	Lumen	Epitel
Mann-Whitney U	,000	,000
Wilcoxon W	15,000	15,000
Z	-2,611	-2,611
Asymp. Sig. (2-tailed)	,009	,009
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	,008 ^b	,008 ^b

a. Grouping Variable: Perlakuan

b. Not corrected for ties.

NPar Tests

Mann-Whitney Test

		Ranks		
Perlakuan		N	Mean Rank	Sum of Ranks
Lumen	Kontrol (-)	5	3,00	15,00
	Perlakuan 2	5	8,00	40,00
	Total	10		
Epitel	Kontrol (-)	5	8,00	40,00
	Perlakuan 2	5	3,00	15,00
	Total	10		

Test Statistics^a

	Lumen	Epitel
Mann-Whitney U	,000	,000
Wilcoxon W	15,000	15,000
Z	-2,611	-2,611
Asymp. Sig. (2-tailed)	,009	,009
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	,008 ^b	,008 ^b

a. Grouping Variable: Perlakuan

b. Not corrected for ties.

NPar Tests

Mann-Whitney Test

		Ranks		
Perlakuan		N	Mean Rank	Sum of Ranks
Lumen	Kontrol (-)	5	3,00	15,00
	Perlakuan 3	5	8,00	40,00
	Total	10		
Epitel	Kontrol (-)	5	8,00	40,00
	Perlakuan 3	5	3,00	15,00
	Total	10		

Test Statistics^a

	Lumen	Epitel
Mann-Whitney U	,000	,000
Wilcoxon W	15,000	15,000
Z	-2,611	-2,611
Asymp. Sig. (2-tailed)	,009	,009
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	,008 ^b	,008 ^b

a. Grouping Variable: Perlakuan

b. Not corrected for ties.

NPar Tests

Mann-Whitney Test

		Ranks		
Perlakuan		N	Mean Rank	Sum of Ranks

Lumen	Kontrol (+)	5	7,40	37,00
	Perlakuan 1	5	3,60	18,00
	Total	10		
Epitel	Kontrol (+)	5	4,00	20,00
	Perlakuan 1	5	7,00	35,00
	Total	10		

Test Statistics^a

	Lumen	Epitel
Mann-Whitney U	3,000	5,000
Wilcoxon W	18,000	20,000
Z	-1,984	-1,567
Asymp. Sig. (2-tailed)	,047	,117
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	,056 ^b	,151 ^b

a. Grouping Variable: Perlakuan

b. Not corrected for ties.

NPar Tests

Mann-Whitney Test

		Ranks		
Perlakuan		N	Mean Rank	Sum of Ranks
Lumen	Kontrol (+)	5	4,20	21,00
	Perlakuan 2	5	6,80	34,00
	Total	10		
Epitel	Kontrol (+)	5	7,20	36,00
	Perlakuan 2	5	3,80	19,00
	Total	10		

Test Statistics^a

	Lumen	Epitel
Mann-Whitney U	6,000	4,000
Wilcoxon W	21,000	19,000
Z	-1,358	-1,776
Asymp. Sig. (2-tailed)	,175	,076

Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	,222 ^b	,095 ^b
--------------------------------	-------------------	-------------------

a. Grouping Variable: Perlakuan

b. Not corrected for ties.

NPar Tests

Mann-Whitney Test

	Ranks			
	Perlakuan	N	Mean Rank	Sum of Ranks
Lumen	Kontrol (+)	5	3,40	17,00
	Perlakuan 3	5	7,60	38,00
	Total	10		
Epitel	Kontrol (+)	5	8,00	40,00
	Perlakuan 3	5	3,00	15,00
	Total	10		

	Test Statistics ^a	
	Lumen	Epitel
Mann-Whitney U	2,000	,000
Wilcoxon W	17,000	15,000
Z	-2,193	-2,611
Asymp. Sig. (2-tailed)	,028	,009
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	,032 ^b	,008 ^b

a. Grouping Variable: Perlakuan

b. Not corrected for ties.

NPar Tests

Mann-Whitney Test

	Ranks			
	Perlakuan	N	Mean Rank	Sum of Ranks
Lumen	Perlakuan 1	5	3,00	15,00
	Perlakuan 2	5	8,00	40,00
	Total	10		
Epitel	Perlakuan 1	5	7,80	39,00
	Perlakuan 2	5	3,20	16,00

Total	10		
-------	----	--	--

Test Statistics^a

	Lumen	Epitel
Mann-Whitney U	,000	1,000
Wilcoxon W	15,000	16,000
Z	-2,611	-2,402
Asymp. Sig. (2-tailed)	,009	,016
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	,008 ^b	,016 ^b

a. Grouping Variable: Perlakuan

b. Not corrected for ties.

NPar Tests

Mann-Whitney Test

		Ranks		
		N	Mean Rank	Sum of Ranks
Lumen	Perlakuan 1	5	3,00	15,00
	Perlakuan 3	5	8,00	40,00
	Total	10		
Epitel	Perlakuan 1	5	8,00	40,00
	Perlakuan 3	5	3,00	15,00
	Total	10		

Test Statistics^a

	Lumen	Epitel
Mann-Whitney U	,000	,000
Wilcoxon W	15,000	15,000
Z	-2,611	-2,611
Asymp. Sig. (2-tailed)	,009	,009
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	,008 ^b	,008 ^b

a. Grouping Variable: Perlakuan

b. Not corrected for ties.

NPar Tests

Mann-Whitney Test

		Ranks		
	Perlakuan	N	Mean Rank	Sum of Ranks
Lumen	Perlakuan 2	5	3,00	15,00
	Perlakuan 3	5	8,00	40,00
	Total	10		
Epitel	Perlakuan 2	5	7,80	39,00
	Perlakuan 3	5	3,20	16,00
	Total	10		

Test Statistics ^a		
	Lumen	Epitel
Mann-Whitney U	,000	1,000
Wilcoxon W	15,000	16,000
Z	-2,611	-2,402
Asymp. Sig. (2-tailed)	,009	,016
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	,008 ^b	,016 ^b

a. Grouping Variable: Perlakuan

b. Not corrected for ties.

Lampiran 6 Dokumentasi

No.	Gambar	Keterangan
1.		Buah Tin (<i>Ficus carica</i> L.) matang
2.		Buah Tin (<i>Ficus carica</i> L.) yang sudah dirajang
3.		Melarutkan simplisia serbuk ke dalam pelarut pada proses maserasi
4.		Pemisahan filtrat dengan residu pada proses maserasi

5.		Kandang untuk mencit pada penelitian
6.		Penimbangan mencit
7.		Cara memegang mencit saat pemberian sediaan menggunakan sonde
8.		Pembedahan dan pemotongan organ ginjal mencit

9.		Mencit sebelum dibedah
10.		Mencit setelah dibedah

