

**UJI TOKSISITAS SUBKRONIK EKSTRAK ETANOL BAWANG HITAM
PADA HISTOLOGI HATI MENCIT (*Mus musculus*) BETINA**

SKRIPSI



**UIN SUNAN AMPEL
S U R A B A Y A**

Disusun oleh:

JIHAN FARHAH HUWAIDAH

H91219049

PROGRAM STUDI BIOLOGI

FAKULTAS SAINS DAN TEKNOLOGI

UNIVERSITAS ISLAM NEGERI SUNAN AMPEL SURABAYA

2023

**UJI TOKSISITAS SUBKRONIK EKSTRAK ETANOL BAWANG HITAM
PADA HISTOLOGI HATI MENCIT (*Mus musculus*) BETINA**

SKRIPSI

Diajukan guna memenuhi salah satu persyaratan untuk memperoleh gelar
Sarjana Sains (S.Si.) pada Program Studi Biologi



**UIN SUNAN AMPEL
S U R A B A Y A**

Disusun oleh:

JIHAN FARHAH HUWAIDAH

H91219049

**PROGRAM STUDI BIOLOGI
FAKULTAS SAINS DAN TEKNOLOGI
UNIVERSITAS ISLAM NEGERI SUNAN AMPEL SURABAYA**

2023

HALAMAN PERSETUJUAN

Skripsi

Uji Toksisitas Subkronik Ekstrak Etanol Bawang Hitam Pada Histologi
Hati Mencit (*Mus musculus*) Betina

Diajukan Oleh:
Jihan Farhah Huwaidah
NIM: H91219049

Telah diperiksa dan disetujui
di Surabaya, 21 Juni 2023

Dosen Pembimbing Utama



Eva Agustina, M.Si

NIP.198908302014032008

Dosen Pembimbing Pendamping



Risa Purnamasari, S.Si, M.Si

NIP.201409002

PENGESAHAN TIM PENGUJI SKRIPSI

Skripsi Jihan Farhah Huwaidah ini telah dipertahankan
di depan Tim Penguji Skripsi
di Surabaya, 03 Juli 2023

Mengesahkan,
Dewan Penguji

Penguji I



Eva Agustina, M.Si.
NIP. 198908302014032008

Penguji II



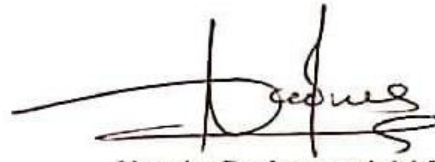
Risa Purnamasari, S.Si., M.Si.
NIP. 201409002

Penguji III



Drs. Abdul Manan, M.Pd.I.
NIP. 197006101998031002

Penguji IV



Yuanita Rachmawati, M.Sc.
NIP. 198808192019032009

Mengetahui,

Dekan Fakultas Sains dan Teknologi

Sunan Ampel Surabaya



Dr. A. Saepul Hamdani, M.Pd.

NIP. 196507312000031002

PERNYATAAN KEASLIAN

Saya yang bertanda tangan di bawah ini,

Nama : Jihan Farhah Huwaidah

NIM : H91219049

Program Studi : Biologi

Angkatan : 2019

Menyatakan bahwa saya tidak melakukan plagiat dalam penelitian skripsi saya yang berjudul “UJI TOKSISITAS SUBKRONIK EKSTRAK ETANOL BAWANG HITAM PADA HISTOLOGI HATI MENCIT (*Mus musculus*) BETINA”. Apabila suatu saat nanti terbukti saya melakukan tindakan plagiasi, maka saya bersedia menerima sanksi yang di tetapkan.

Demikian pernyataan keaslian ini saya buat dengan sebenar-benarnya.

Surabaya, 03 Juli 2023
Yang Menyatakan,



Jihan Farhah Huwaidah
NIM. H91219049



KEMENTERIAN AGAMA
UNIVERSITAS ISLAM NEGERI SUNAN AMPEL SURABAYA
PERPUSTAKAAN

Jl. Jend. A. Yani 117 Surabaya 60237 Telp. 031-8431972 Fax.031-8413300
E-Mail: perpus@uinsby.ac.id

LEMBAR PERNYATAAN PERSETUJUAN PUBLIKASI
KARYA ILMIAH UNTUK KEPENTINGAN AKADEMIS

Sebagai sivitas akademika UIN Sunan Ampel Surabaya, yang bertanda tangan di bawah ini, saya:

Nama : Jihan Farhah Huwaidah
NIM : 1191219049
Fakultas/Jurusan : Sains dan Teknologi/Biologi
E-mail address : jihanfarhahh@gmail.com

Demi pengembangan ilmu pengetahuan, menyetujui untuk memberikan kepada Perpustakaan UIN Sunan Ampel Surabaya, Hak Bebas Royalti Non-Eksklusif atas karya ilmiah :

Skripsi Tesis Desertasi Lain-lain (.....)
yang berjudul :

UJI TOKSISITAS SUBKRONIK EKSTRAK ETANOL BAWANG HITAM PADA
HISTOLOGI HATI MENCIT (*Mus musculus*) BETINA

beserta perangkat yang diperlukan (bila ada). Dengan Hak Bebas Royalti Non-Eksklusif ini Perpustakaan UIN Sunan Ampel Surabaya berhak menyimpan, mengalih-media/format-kan, mengelolanya dalam bentuk pangkalan data (database), mendistribusikannya, dan menampilkan/mempublikasikannya di Internet atau media lain secara *fulltext* untuk kepentingan akademis tanpa perlu meminta ijin dari saya selama tetap mencantumkan nama saya sebagai penulis/pencipta dan atau penerbit yang bersangkutan.

Saya bersedia untuk menanggung secara pribadi, tanpa melibatkan pihak Perpustakaan UIN Sunan Ampel Surabaya, segala bentuk tuntutan hukum yang timbul atas pelanggaran Hak Cipta dalam karya ilmiah saya ini.

Demikian pernyataan ini yang saya buat dengan sebenarnya.

Surabaya, 03 Juli 2023

Penulis

Jihan Farhah Huwaidah

HALAMAN PERSEMBAHAN

Dengan setulus hati beriring rasa syukur dengan mengharap Ridho Ilahi, terselesaikanlah skripsi ini dengan tepat waktu. Untuk itu, penulis sangat berterima kasih kepada pihak yang ikut serta dalam penyelesaian skripsi ini. Penulis mempersembahkan karya ini kepada:

1. Ayahanda dan ibunda tercinta yang senantiasa mendoakan dan memberi dukungan serta masukan untuk kelancaran penyelesaian skripsi.
2. Kakak penulis, Farah Hanin Nafisah yang senantiasa menawarkan bantuan dan mendoakan untuk kelancaran penyelesaian skripsi.
3. Teman-teman kelas penulis khususnya Arini, Nurizza, Indah, Fina, Dilah, dan Amel yang senantiasa memberikan dukungan untuk kelancaran penyelesaian skripsi.
4. Ibu Eva Agustina, M.Si. dan Ibu Risa Purnamasari, M.Si., selaku Dosen Pembimbing yang telah menyediakan waktu, tenaga, dan pikiran untuk mengarahkan penulis dalam penyusunan proposal skripsi ini.

Penulis mengharapkan naskah skripsi ini dapat bermanfaat dan menambah wawasan bagi pembaca khususnya para pengkonsumsi obat-obatan herbal, sehingga lebih memperhatikan penggunaan obat tersebut dengan dosis yang tepat.

KATA PENGANTAR

Puji syukur kepada Allah SWT, yang telah melimpahkan karunia dan hidayah-Nya sehingga proposal skripsi dengan judul “Uji Toksisitas Subkronik Ekstrak Etanol Bawang Hitam Pada Histologi Organ Hati Mencit (*Mus musculus*)”, dapat diselesaikan.

Penulis mengucapkan banyak terima kasih kepada semua pihak yang telah membantu penulis dalam menyelesaikan penulisan skripsi ini, yaitu:

1. Dr. A. Saepul Hamdani, M.Pd., selaku Dekan Fakultas Sains dan Teknologi UIN Sunan Ampel Surabaya.
2. Asri Sawiji, M.T., selaku Ketua Jurusan Fakultas Sains dan Teknologi UIN Sunan Ampel Surabaya dan selaku penguji proposal skripsi.
3. Esti Tyastirin, M.K.M., selaku Ketua Program Studi Biologi Fakultas Sains dan Teknologi UIN Sunan Ampel Surabaya.
4. Ibu Eva Agustina, M.Si. dan Ibu Risa Purnamasari, M.Si., selaku Dosen Pembimbing yang telah menyediakan waktu, tenaga, dan pikiran untuk mengarahkan penulis dalam penyusunan proposal skripsi ini.
5. Orang tua dan saudara-saudara penulis yang telah memberikan dukungan material dan moral yang dapat membantu dalam masa penulisan skripsi.
6. Sahabat yang telah banyak membantu saya dalam menyelesaikan skripsi ini.

Semoga Allah SWT membalas kebaikan semua pihak yang telah membantu penulis dalam menyelesaikan penulisan proposal skripsi ini. Penulis berharap semoga proposal skripso ini bermanfaat untuk Ilmu Pengetahuan dan semua pihak. Aamiin.

Surabaya, 21 Juni 2023

Penulis

ABSTRAK
UJI TOKSISITAS SUBKRONIK EKSTRAK ETANOL BAWANG HITAM
PADA HISTOLOGI HATI MENCIT (*Mus musculus*) BETINA

Bawang hitam merupakan produk inovasi dari bawang putih yang memiliki kandungan senyawa *S-allyl cysteine* (SAC), flavonoid, dan polifenol selama proses penuaan. Penggunaan bawang hitam sebagai obat yang dikonsumsi selama 28 hari belum dilakukan penelitian terkait toksisitasnya pada organ hati sehingga diperlukan adanya penelitian terkait dengan keamanan dalam penggunaannya melalui uji toksisitas. Tujuan dari penelitian ini untuk mengetahui pengaruh pemberian ekstrak etanol bawang hitam dengan berbagai dosis terhadap histologi hati dan untuk mengetahui dosis ekstrak etanol bawang hitam yang aman untuk dikonsumsi. Metode yang digunakan adalah dengan perlakuan pemberian ekstrak etanol bawang hitam pada kelompok perlakuan dosis 5, 50, 100, 300, 600, 1000, dan 2000 mg/kg BB secara oral pada mencit untuk mengetahui pengaruh terhadap histologi hati mencit. Hasil penelitian menunjukkan semakin besar dosis perlakuan pemberian ekstrak etanol bawang hitam semakin besar pula persentase kerusakan sel hepatosit berupa nekrosis pada histologi hati mencit. Hasil persentase kerusakan sel yang mengalami nekrosis tertinggi sebesar 49% pada dosis 2000 mg/kg BB. Penggunaan dosis yang aman untuk dikonsumsi belum ditemukan pada penelitian ini dikarenakan kerusakan sel yang ditemukan > 30% dengan kategori kerusakan sedang.

Kata kunci: uji toksisitas subkronik, nekrosis, histologi hati mencit

ABSTRACT
SUBCHRONIC TOXICITY TEST OF GARLIC ETHANOL EXTRACT IN
LIVER HISTOLOGY OF FEMALE MICE (*Mus musculus*)

Black garlic is an innovative product from garlic which contains S-allyl cysteine (SAC), flavonoids, and polyphenols during the aging process. The use of black garlic as a drug that is consumed for 28 days has not been studied regarding its toxicity to the liver, so research is needed regarding the safety of its use through toxicity tests. The purpose of this study was to determine the effect of giving various doses of black garlic ethanol extract on liver histology and to determine the safe dosage of black garlic ethanol extract for consumption. The method used was the treatment of black garlic ethanol extract in the treatment group at doses of 5, 50, 100, 300, 600, 1000, and 2000 mg/kg BW orally in mice to determine the effect on the histology of the mice's liver. The results showed that the greater the treatment dose of black garlic ethanol extract, the greater the percentage of damage to hepatocyte cells in the form of necrosis in the histology of the mice liver. The highest percentage of damaged cells experiencing necrosis was 49% at a dose of 2000 mg/kg BW. The use of doses that are safe for consumption has not been found in this study due to cell damage found > 30% in the category of moderate damage.

Keywords: subchronic toxicity test, necrosis, mice liver histology

DAFTAR ISI

HALAMAN PERSETUJUAN.....	i
PENGESAHAN TIM PENGUJI SKRIPSI.....	ii
PERNYATAAN KEASLIAN.....	iii
LEMBAR PERNYATAAN PERSETUJUAN PUBLIKASI.....	iv
HALAMAN PERSEMBAHAN	v
KATA PENGANTAR	vi
ABSTRAK	vii
DAFTAR ISI.....	ix
DAFTAR TABEL.....	xi
DAFTAR GAMBAR	xii
DAFTAR LAMPIRAN.....	xiii
BAB I PENDAHULUAN.....	1
1.1 Latar Belakang.....	1
1.2 Rumusan Masalah	10
1.3 Tujuan Penelitian.....	11
1.4 Manfaat Penelitian.....	11
1.5 Batasan Penelitian	11
BAB II KAJIAN PUSTAKA	13
2.1. Uji Toksisitas	13
2.2. Bawang Putih (<i>Allium sativum</i>).....	17
2.3. Ekstraksi	22
2.4. Mencit (<i>Mus musculus</i>).....	24
2.5. Hati	25
BAB III METODE PENELITIAN	33
3.1 Rancangan Penelitian.....	33
3.2 Waktu dan Tempat Penelitian.....	33
3.3 Alat dan Bahan Penelitian	34
3.4 Variabel Penelitian	34
3.5 Prosedur Penelitian.....	35
3.6 Analisis Data	40
BAB IV HASIL DAN PEMBAHASAN	42
4.1 Hasil Rendemen Dari Ekstraksi Bawang Hitam	42
4.2 Fluktuasi Berat Badan Mencit	45

4.3 Pengukuran Berat Organ Hati Mencit	48
4.4 Pengaruh Pemberian Ekstrak Etanol Bawang Hitam Dengan Berbagai Dosis Terhadap Histopatologi Hati Mencit	51
BAB V PENUTUP	72
5.1 Simpulan	72
5.2 Saran	72
DAFTAR PUSTAKA	73
LAMPIRAN	90

DAFTAR TABEL

Tabel 3. 1 Jadwal Kegiatan Penelitian	33
Tabel 4. 1 Berat Badan dan Berat Organ Hati Mencit	49
Tabel 4. 2 Hasil Uji Beda Nyata Perbedaan Kerusakan Sel Antar Dosis	65

DAFTAR GAMBAR

Gambar 2. 1 Morfologi Bawang Putih.....	19
Gambar 2. 2 Morfologi Mencit (<i>Mus musculus</i>).....	25
Gambar 2. 3 Histologi Hati Mencit Perbesaran 1000x	29
Gambar 2. 4 Histologi Hati Normal Perbesaran 400x	29
Gambar 2. 5 Histopatologi Hati Mencit.....	31
Gambar 2. 6 Histopatologi Hati Mencit Infiltrasi Sel	32
Gambar 4. 1 Hasil Ekstraksi Bawang Hitam	44
Gambar 4. 2 Grafik Selisih Rata-Rata Minggu Keempat dan Pertama.....	45
Gambar 4. 3 Grafik Fluktuasi Berat Badan Mencit	46
Gambar 4. 4 Grafik Rerata Berat Organ Hati Mencit	49
Gambar 4. 5 Rerata Bobot Relatif Organ.....	50
Gambar 4. 6 Histologi Hepar Mencit.....	53
Gambar 4. 7 Histologi Hepar yang Mengalami Nekrosis	54
Gambar 4. 8 Histologi Hepar yang Mengalami Infiltrasi Sel Radang	59
Gambar 4. 9 Mekanisme Prooksidan	62
Gambar 4. 10 Mekanisme Prooksidan terhadap Asam Lemak Tak Jenuh	62
Gambar 4. 11 Rerata Persentase Kerusakan Sel	64

DAFTAR LAMPIRAN

Lampiran 1 Fluktuasi Berat Badan Mencit Selama 4 Minggu.....	93
Lampiran 2 Jumlah Persentase Kerusakan Sel Hepar.....	94
Lampiran 3 Berat Badan dan Berat Organ Mencit.....	95

BAB I

PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

Bawang putih memiliki inovasi lain untuk dijadikan produk yang dimanfaatkan untuk dikonsumsi sebagai obat. Hal tersebut karena bawang putih memiliki rasa serta aroma yang menyengat, sehingga diciptakan inovasi lain yang menjadikan bawang putih dapat dikonsumsi secara langsung. Bawang hitam merupakan inovasi dari bawang putih yang dipercaya memiliki kandungan yang menunjukkan efek antikanker, antiobesitas, imunomodulator, hipolipidemic, antioksidan, hepatoprotektif, dan efek neuroprotektif (Wang *et al.*, 2010). Setelah dilakukan proses fermentasi, aroma dan rasanya menjadi tidak menyengat karena proses fermentasi dengan teknik pemanasan yang menyebabkan berkurangnya kandungan *allicin* yang diubah menjadi senyawa antioksidan *S-allyl cysteine* (SAC), flavonoid, dan polifenol selama proses penuaan (Solichah & Herdyastuti, 2021).

Bawang hitam kaya akan polisakarida, gula pereduksi, protein, senyawa fenolik dan senyawa sulfur. Jumlah polifenol meningkat 6 kali lipat pada bawang hitam kupas. Selain itu, kandungan polifenol dan flavonoid total bawang hitam meningkat secara signifikan selama proses pemanasan. (Lu *et al.*, 2017; Agustina *et al.*, 2020). Proses pemanasan dilakukan selama 35 hari. Berdasarkan nilai IC_{50} , waktu pemanasan selama 35 hari adalah 2.27 ppm dengan nilai IC_{50} terkecil dibandingkan waktu pemanasan 15 dan 25 hari yaitu 2.41 ppm dan 2.93 ppm. Semakin kecil nilai IC_{50} ekstrak, semakin optimal kemampuan penangkalan radikal bebas oleh senyawa aktif yang ada dalam

ekstrak. Kandungan flavonoid selama periode pemanasan 35 hari lebih tinggi dibandingkan dengan waktu pemanasan 15 dan 25 hari. (Agustina *et al.*, 2020).

Penelitian mengenai manfaat yang terkandung dalam bawang hitam telah dilakukan, Ahmed (2018) meneliti tentang peran bawang hitam tua sebagai hepatoprotektif (pelindung organ hati) dan antiapoptosis (mencegah kematian sel) terhadap hepatotoksisitas disebabkan oleh siklofosfamid yang merupakan obat kemoterapi. Hewan ujinya adalah tikus jantan dewasa. Hasil dari penelitiannya yaitu siklofosfamid menginduksi perubahan histologis seperti degenerasi lemak, kongesti vena darah, piknosis, nekrosis, dan vakulasi. Pemberian siklofosfamid menyebabkan penurunan kandungan DNA dan kerusakan DNA. Setelah pemberian bawang hitam, hasil menunjukkan adanya perbaikan induksi secara signifikan dari perubahan yang disebabkan oleh pemberian siklofosfamid dibandingkan dengan kelompok tanpa perlakuan bawang hitam.

Penelitian yang dilakukan oleh Agustina *et al.* (2020) tentang aktivitas antioksidan pada ekstrak bawang hitam, bawang putih yang akan dijadikan bawang hitam dipanaskan selama 15, 25, dan 35 hari. Bawang hitam selanjutnya diekstraksi dengan pelarut metanol dengan metode maserasi. Filtrat hasil ekstraksi dipekatkan dengan *rotary evaporator* untuk mendapatkan ekstrak bawang hitam. Ekstrak bawang hitam diuji fitokimia untuk mengetahui kandungan senyawa aktif. Aktivitas antioksidan ekstrak bawang hitam ditentukan dengan metode penangkalan radikal *2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl* (DPPH). Hasilnya menunjukkan ekstrak bawang hitam memiliki aktivitas antioksidan yang sangat kuat dengan nilai IC_{50} masing-masing 15 hari yaitu

2,41 $\mu\text{g/mL}$; 25 hari yaitu 2,93 $\mu\text{g/mL}$; 35 hari yaitu 2,27 $\mu\text{g/mL}$. Nilai $\text{IC}_{50} < 10 \mu\text{g/mL}$ menunjukkan bahwa ekstrak bawang hitam dengan lama pemanasan 15, 25, dan 35 hari memiliki potensi antioksidan yang sangat kuat.

Penelitian lain dilakukan oleh Latifah (2020) yang meneliti efek pemberian bawang hitam terhadap perubahan total kolesterol darah pada tikus putih diabetes dan tikus putih normal. Penelitian tersebut bertujuan untuk mendapat informasi ilmiah tentang mekanisme efek hipokolesterolemik dari bawang hitam pada tikus jantan diabetes. Subjek penelitian ini adalah tikus putih (*Rattus norvegicus*) jantan sebanyak 30 ekor, strain Wistar, berumur ± 2 bulan dengan berat badan ± 200 gram. Penelitian ini menggunakan 6 kelompok percobaan, terdiri dari 1 kelompok kontrol negatif, 1 kelompok kontrol positif, dan 4 kelompok perlakuan. Hasil penelitian menunjukkan kadar kolesterol darah total tikus putih (*Rattus norvegicus*) yang menderita Diabetes Mellitus sebelum diberi perlakuan bawang hitam adalah 186,44 mg/dl kemudian setelah diberi perlakuan menjadi 100,23 mg/dl. Sedangkan kadar kolesterol darah total tikus putih normal sebelum diberi perlakuan bawang hitam adalah 79,33 mg/dl kemudian setelah diberi perlakuan menjadi 78,01 mg/dl. Hal tersebut menunjukkan adanya pengaruh pemberian bawang hitam terhadap penurunan kadar kolesterol darah total tikus putih yang menderita diabetes mellitus dengan hasil analisis data ($p: 0,000$) $p < 0,01$. Selain itu, terdapat pengaruh juga pada pemberian bawang hitam terhadap penurunan kadar kolesterol darah total tikus putih normal ($p: 0,033$) $p < 0,05$. Data-data dari beberapa penelitian tersebut menunjukkan adanya kandungan yang bermanfaat dari ekstrak bawang hitam.

Permasalahan mengenai obat-obatan merupakan salah satu hal yang memiliki keterikatan terhadap kehidupan manusia sepanjang waktu. Manusia telah diberikan akal pikiran yang merupakan karunia dari Allah SWT. Oleh sebab itu, manusia melakukan usaha untuk mencapai suatu kesimpulan hingga menghasilkan ilmu pengetahuan. Ibnu Al-Qayyim menyebutkan dalam buku “Setiap Penyakit Ada Obatnya” telah disebutkan dalam Shahih Al- Bukhari, dari hadits Abu Hurairah Radiyallahu Anhu, dari Nabi Shalallahu‘alaihi wassalam bersabda :

مَا أَنْزَلَ اللَّهُ دَاءً إِلَّا أَنْزَلَ لَهُ شِفَاءً

Artinya: “Allah tidak menurunkan penyakit melainkan juga menurunkan penawar baginya”

Ibnu Qayyim menuturkan, bahwasannya sabda Nabi Muhammad SAW "setiap penyakit pasti ada obatnya" mengandung kalimat yang mendorong orang-orang yang sedang mengalami rasa sakit dan juga dokter yang mengobati hendaknya untuk melakukan penyelidikan pada obat-obatan serta mempelajarinya (Fitri *et al.*, 2021).

Manusia dan tumbuhan saling terkait erat dalam kehidupannya. Manusia mendapat sangat banyak manfaat dari tumbuhan, akan tetapi masih banyak tumbuhan di sekitar kita yang manfaatnya belum diketahui. Adanya tumbuh-tumbuhan adalah berkah, serta nikmat dari Allah SWT yang diberikan kepada semua makhluk-Nya. Allah SWT berfirman dalam Al-Qur’an surah Yunus (10) ayat 24:

أَنَّمَا مِثْلُ الْحَيَاةِ الدُّنْيَا كَمَا أَنزَلْنَاهُ مِنَ السَّمَاءِ فَاخْتَلَطَ بِهِ نَبَاتُ الْأَرْضِ مِمَّا يَأْكُلُ النَّاسُ وَالْأَنْعَامُ

Artinya: “*Sesungguhnya perumpamaan kehidupan duniawi itu, adalah seperti air (hujan) yang Kami turunkan dari langit, lalu tumbuhlah dengan subur karena air itu tanaman-tanaman bumi, di antaranya ada yang dimakan manusia dan binatang ternak*” (Q.S. Yunus (10): 24)

Tafsir dari Nurul Qur’an, Imani (2005) dalam jurnal Munawaroh (2022) menjelaskan bahwa ayat ini diawali dengan rahmat Allah berupa air hujan yang bisa memunculkan kehidupan ini jatuh ke tanah yang subur, menjadikan berbagai tanaman tumbuh. Sebagian dari tanaman itu berguna bagi manusia dan sebagian lainnya berguna bagi burung dan binatang melata. Kemudian ayat di atas selanjutnya mengatakan, “*Lalu tumbuhlah dengan subur karena air itu tanaman-tanaman di bumi, di antaranya ada yang dimakan manusia dan binatang ternak*”. Tanaman-tanaman ini mengandung gizi bagi makhluk hidup yang ada di muka bumi ini. Manusia mengambil manfaat dari berkah tanaman-tanaman dan buah-buahan serta dari biji-bijian, salah satunya dimanfaatkan sebagai obat-obatan.

Penggunaan bawang hitam untuk obat yang sudah tersebar luas, perlu adanya penelitian terkait dengan keamanan dalam penggunaannya dalam jangka pendek. Untuk memeriksa keamanan suatu obat diperlukan adanya uji toksisitas. Uji toksisitas merupakan suatu uji yang menggunakan sediaan yang berupa hewan mencit, tikus, marmot, kelinci, anjing, hamster, dan hewan lain. Hewan uji tersebut berjasa bagi pengembangan obat yang bertujuan untuk menunjukkan gambaran dari reaksi biokimia, fisiologik, dan patologik manusia. Meskipun uji toksisitas tidak bisa dijadikan acuan sebagai bukti mutlak keamanan suatu bahan atau zat, namun dengan pengujian toksisitas dapat

mengetahui adanya toksisitas relatif serta mengidentifikasi munculnya efek toksik jika paparan tersebut terjadi pada manusia (Hairunnisa, 2019).

Uji toksisitas dapat dibedakan menjadi 2 kelompok diantaranya kelompok uji umum yang terdiri dari akut, subkronik, dan kronis dan kelompok uji khusus (Lu, 1995; Eriadi *et al.*, 2016). Penelitian yang akan dilakukan adalah uji toksisitas subkronik. Uji toksisitas subkronik adalah untuk pemberian dosis berulang pada hewan uji selama 28 atau 90 hari untuk mendeteksi efek toksik setelah pemberian bahan uji (OECD, 2008). Prinsip uji toksisitas subkronik adalah tingkat dosis pada sediaan uji diberikan setiap hari untuk beberapa kelompok hewan uji. Selama waktu pemberian, tiap hari hewan uji harus diamati. Pengamatan tersebut untuk menentukan kapan formulasi uji yang diberikan timbul toksisitas (BPOM RI, 2011). Tujuan dari uji toksisitas subkronik adalah untuk mendapatkan informasi tentang adanya efek toksik diperoleh setelah terpapar preparat uji, mengetahui dosis yang tidak menimbulkan efek toksik, dan informasi tentang efek toksik dari zat yang tidak terdeteksi dalam uji toksisitas akut (OECD, 2008).

Penelitian untuk menguji toksisitas bawang hitam pada hewan uji, telah dilakukan oleh Handayani *et al.* (2018) dimana penelitian uji toksisitas akut bawang hitam dilakukan pada larva udang. Penelitian tersebut menghasilkan data sebesar 90% dimana larva udang mengalami kematian pada konsentrasi 1000 ppm setelah diberi larutan ekstrak bawang hitam. Setelah dilakukan perhitungan nilai LC_{50} , ekstrak bawang hitam variasi waktu fermentasi 30 hari dan 40 hari menunjukkan hasil konsentrasi sebesar 682,433 dan 572,403 ppm, maka dari itu dapat disimpulkan bahwa ekstrak bawang hitam yang diujikan

pada larva udang termasuk toksik. Objek penelitian tersebut dilakukan pada larva udang yang menunjukkan pengaruh pada tubuh larva udang itu sendiri, sehingga dilanjutkan pada hewan uji yang lebih besar. Menurut Mustika (2014), hewan yang dapat diuji efeknya pada hewan tersebut contohnya pada mencit. Penggunaan mencit sebagai hewan uji adalah karena terdapat persamaan pada respon mencit dan manusia. Hal tersebut akan membantu penelitian agar menghasilkan data lebih akurat jika menggunakan sediaan uji mencit.

Penelitian uji toksisitas akut ekstrak bawang hitam pada mencit, pernah dilakukan oleh Rumaseuw *et al.* (2022) Penelitian tersebut menggunakan dosis yang dibagi menjadi beberapa kelompok yaitu kelompok kontrol negatif, kelompok I (5 mg/kg BB), kelompok II (50 mg/kg BB), kelompok III (300 mg/kg BB), dan kelompok IV (2000 mg/kg BB). Hasil dari pengamatan yang dilakukan selama 14 hari yaitu tidak menimbulkan kematian pada mencit. Setelah dilakukan penelitian uji toksisitas akut, penelitian tersebut memperoleh nilai $LD_{50} > 2000$ mg/kg BB yang termasuk pada kategori 4 pada OECD (*Guidelines for The Testing of Chemicals*). Oleh karena itu, dinyatakan bahwa setelah pemberian ekstrak etanol bawang hitam menimbulkan gejala-gejala toksik ringan selama pengamatan pada uji toksisitas akut. Pada uji toksisitas akut tersebut belum ada informasi mengenai kemungkinan muncul efek toksik setelah pemaparan sediaan uji secara berulang dalam jangka waktu tertentu. Maka dari itu perlu dilakukan uji toksisitas lanjutan untuk mengetahui efeknya setelah pemaparan sediaan uji secara berulang pada organ tubuh yang lebih spesifik. Tujuan dilakukannya penelitian ini adalah untuk mengetahui efek dari

pemberian bawang hitam pada jangka pendek dan pengaruhnya pada bagian organ hati.

Organisasi WHO menetapkan peraturan yaitu suatu bahan yang akan dikonsumsi dengan tujuan sebagai obat baik pada hewan ataupun manusia dianjurkan agar melewati tahap uji praklinik dan uji klinik. Peraturan Menteri Kesehatan RI No. 760/menkes/per/IX/1992 yang menyatakan bahwa tanaman yang digunakan sebagai obat-obatan perlu untuk melakukan pembuktian mengenai khasiat serta keamanannya. Tujuan dari uji praklinik adalah sebagai pengetahuan dan penetapan dari tingkat keamanan serta keabsahan dari manfaat yang diberikan pada suatu bahan atau zat yang tengah dalam tingkatan dugaan. Maka dari itu untuk mengetahui bukti ilmiahnya, uji toksisitas dan uji aktivitasnya perlu dilakukan (Meles, 2010; Mustapa *et al.*, 2018).

Efek toksik yang muncul terhadap sediaan uji salah satunya terletak pada organ vital hewan uji seperti hati. Organ hati adalah organ yang mempunyai peran penting untuk melakukan distribusi, ekskresi, absorpsi, dan metabolisme terhadap bahan atau zat yang masuk di dalamnya. Hati memiliki peran untuk memecah bahan kimia atau racun serta mendetoksifikasi. Pada kisaran 80% darah yang disuplai ke organ hati merupakan dari saluran pencernaan. Oleh karena itu, zat toksik akan menuju ke organ hati untuk di detoksifikasi. Sehingga jika pemberian bahan atau zat dengan dosis besar akan mempengaruhi organ tersebut (Guyton & Hall, 2008; Ahada, 2018). Efek toksik yang dapat muncul diantaranya nekrosis, sirosis, kolestatis, dan steatosis (Lu, 1995; Ahada, 2018).

Penelitian mengenai uji toksisitas yang meneliti tentang efek samping sediaan uji pada organ hati adalah uji toksisitas akut ekstrak rimpang kunyit pada mencit kajian histopatologis lambung, hati dan ginjal yang dilakukan oleh Winarsih *et al.* (2012). Pemberian dosis toksik akut fraksi etil asetat dan fraksi hexan yang diberikan antara lain 7,5, 15, 30 dan 60 g/kg BB, sedangkan kelompok kontrol diberi NaCl fisiologis. Setelah pemberian dosis, dilakukan pengamatan pada histopatologi lambung, ginjal, dan hati. Penelitian pada patologi anatomi organ mencit pada uji intoksikasi akut fraksi hexan dan etil asetat kunyit menghasilkan persentase rata-ran kongesti yang meningkat seiring dengan penambahan dosis. Kelompok dengan persentase perubahan patologi anatomi paling tinggi terjadi pada kelompok yang mendapatkan perlakuan fraksi hexan dengan dosis paling tinggi yaitu 60 g/kg BB. Perlakuan dengan pemberian fraksi etil asetat dan hexan rimpang kunyit pada uji intoksikasi akut, jika dilihat secara patologi anatomi mendapatkan hasil paling banyak mengalami gejala toksik pada organ uji hati. Efek toksik ditandai dengan terdapatnya kongesti pada seluruh perlakuan dosis dengan pemberian fraksi etil asetat dan hexan rimpang kunyit. Hal tersebut menunjukkan organ hati paling berpengaruh terhadap pemberian fraksi etil asetat dan hexan rimpang kunyit. Penelitian tersebut menyimpulkan hasil uji intoksikasi akut fraksi etil asetat dan hexan pada mencit diperoleh nilai LD₅₀ fraksi hexan adalah 19,25 g/kg BB dan LD₅₀ fraksi etil asetat adalah 27,98 g/kg BB, oleh karena itu fraksi hexan dan fraksi etil asetat ekstrak etanol rimpang kunyit dinyatakan sebagai kategori tidak toksik.

Penelitian selanjutnya terkait efek samping sediaan uji pada organ hati mencit adalah penelitian oleh Dhuha *et al.*, (2019) yang meneliti tentang toksisitas akut ekstrak etanol daun bidara (*Ziziphus spina-christi* L.) berdasarkan gambaran morfologi dan histologi hati mencit. Setelah pemberian dosis berturut-turut 60, 200, 600, dan 2000 mg/kg BB. Ekstrak disuspensikan dengan Na CMC 1%, diberikan secara peroral selama 14 hari. Pengamatan pada mencit dilakukan pada hari ke-15 meliputi pengamatan (1) makroskopik morfologi hati mencit seperti warna dan penampilan yang umumnya menunjukkan sifat toksisitas. (2) mikroskopik pada berbagai jenis kelainan histologi, seperti perlemakan, nekrosis, sirosis, nodul hiperplastik, dan neoplasia. Hasil penelitian menunjukkan pemberian ekstrak daun bidara secara akut mempengaruhi gambaran makroskopis hati, yaitu pada warna dan berat basah hati mencit dan patologi organ. Pemberian ekstrak daun bidara memiliki resiko toksik terhadap hati yaitu perubahan struktur histopatologi sel hati berupa degenerasi hidropik mulai pada konsentrasi ekstrak dengan nilai kerusakan hati 3. Nilai 3 digunakan sebagai batas sebab sifat toksisitas bersifat *irreversible*. Berdasarkan penelitian-penelitian tersebut, peneliti tertarik untuk melakukan penelitian terhadap uji toksisitas subkronik ekstrak etanol bawang hitam untuk mengamati pengaruhnya pada histologi hati mencit.

1.2 Rumusan Masalah

Berdasarkan latar belakang diatas, maka timbul rumusan masalah sebagai berikut:

- a. Bagaimanakah pengaruh pemberian ekstrak etanol bawang hitam dengan berbagai dosis pada histologi hati?

- b. Berapakah dosis ekstrak etanol bawang hitam yang aman secara subkronik untuk dikonsumsi yang tidak menimbulkan efek toksik?

1.3 Tujuan Penelitian

Berikut adalah tujuan yang akan dicapai dari penelitian ini:

- a. Untuk mengetahui pengaruh pemberian ekstrak etanol bawang hitam dengan berbagai dosis pada histologi hati.
- b. Untuk mengetahui dosis ekstrak etanol bawang hitam yang aman untuk secara subkronik dikonsumsi yang tidak menimbulkan efek toksik.

1.4 Manfaat Penelitian

Hasil publikasi dari penelitian ini diharapkan akan memberikan manfaat diantaranya:

- a. Sebagai referensi terkait keamanan dari pemberian berbagai dosis pada ekstrak bawang hitam.
- b. Sebagai bahan pertimbangan untuk penelitian lebih lanjut terkait lama pemberian atau dosis ekstrak bawang hitam dengan hasil yang tidak subjektif.

1.5 Batasan Penelitian

Batasan penelitian yang digunakan untuk menghindari pelebaran pokok permasalahan pada penelitian ini diantaranya:

- a. Pengujian toksisitas dilakukan selama 28 hari.
- b. Pengamatan pada penelitian ini adalah sel nekrosis hepar mencit.

1.6 Hipotesis Penelitian

Berdasarkan rumusan masalah tersebut, diperoleh hipotesis penelitian bahwa pemberian ekstrak etanol bawang hitam dengan tingkatan dosis 5, 50,

100, 300, 600, 1000, dan 2000 mg/kg BB memberikan pengaruh terhadap gambaran histologi hepar mencit serta memperoleh informasi terkait dosis aman yang digunakan.

BAB II

KAJIAN PUSTAKA

2.1. Uji Toksisitas

Toksisitas adalah istilah di bidang toksikologi merupakan senyawa yang memiliki kemampuan untuk merusak atau melukai. Toksisitas juga merupakan istilah kualitatif ketika terjadi kerusakan atau tidak terjadinya kerusakan tergantung dari banyak sedikitnya absorpsi dari unsur senyawa toksik (Hasanah, 2018). Uji toksisitas adalah suatu uji yang berupa pengamatan terhadap aktivitas farmakologi suatu senyawa yang dilakukan dalam waktu singkat setelah pemaparan atau pemberian dengan taraf dosis tertentu. Prinsip uji toksisitas adalah bahwa komponen bioaktif selalu bersifat toksik jika diberikan dengan dosis tinggi dan menjadi obat pada dosis rendah (Makiyah, 2017; Jelita *et al.*, 2020).

Nilai toksisitas adalah sebuah parameter yang digunakan untuk mengindikasikan jika ekstrak tumbuhan memberikan sifat yang toksik bagi bahan baku dalam biofarmaka. Uji toksisitas yang dilakukan sangat penting untuk mengetahui ukuran dan evaluasi dari sifat toksik yang dihasilkan dari bahan kimia (Nurrani *et al.*, 2014). Sebelum dikembangkan menjadi suatu produk obat, keamanan mutu dari suatu ekstrak tumbuhan ditetapkan berdasarkan dengan toksisitas. Pengujian toksisitas terdiri dari 3 jenis uji yang meliputi toksisitas akut, subkronik, toksisitas kronik, dan toksisitas khusus (Nurfaat & Indriyati, 2016). Uji toksisitas seperti toksisitas akut oral, toksisitas subkronis oral, toksisitas kronis oral, teratogenesis, iritasi

kulit akut, iritasi mata, sensitisasi kulit, iritasi mukosa vagina, toksisitas dermal akut, dan toksisitas subkronis dermal merupakan uji toksisitas yang dilakukan pada hewan uji (BPOM RI, 2014).

Allah berfirman dalam surat Al-An'am ayat 141:

وَهُوَ الَّذِي أَنْشَأَ جَنَّاتٍ مَّعْرُوشَاتٍ وَغَيْرَ مَعْرُوشَاتٍ وَالنَّخْلَ وَالزَّرْعَ مُخْتَلِفًا أَكْلُهُ وَالزَّيْتُونَ وَالرُّمَّانَ
مُتَشَبِّهًا وَغَيْرَ مُتَشَبِّهِةٍ كُلُوا مِنْ ثَمَرِهِ إِذَا أَثْمَرَ وَءَاتُوا حَقَّهُ يَوْمَ حَصَادِهِ وَلَا تُسْرِفُوا إِنَّهُ لَا يُحِبُّ
الْمُسْرِفِينَ

Artinya: “Dan Dialah yang menjadikan kebun-kebun yang berjunjung dan yang tidak berjunjung, pohon korma, tanam-tanaman yang bermacam-macam buahnya, zaitun dan delima yang serupa (bentuk dan warnanya) dan tidak sama (rasanya). Makanlah dari buahnya (yang bermacam-macam itu) bila dia berbuah, dan tunaikanlah haknya di hari memetik hasilnya (dengan disedekahkan kepada fakir miskin); dan janganlah kamu berlebih-lebihan. Sesungguhnya Allah tidak menyukai orang yang berlebih-lebihan”.

Tafsir dari kemenag menjelaskan bahwasannya ayat ini mengandung arti Allah melarang makan berlebih-lebihan, karena hal itu sangat berbahaya bagi kesehatan dan dapat menimbulkan bermacam-macam penyakit yang mungkin membahayakan jiwa. Allah Yang Maha Pengasih kepada hamba-Nya tidak menyukai hamba-Nya yang berlebih-lebihan itu.

2.1.1 Uji Toksisitas Akut

Uji toksisitas akut merupakan uji yang digunakan untuk menentukan nilai *lethal dose* (LD₅₀) dari suatu zat. Perlakuan dari uji toksisitas akut yaitu dengan memberi hewan uji berupa zat kimia dengan jumlah satu kali selama 24 jam. Tujuan dari uji toksisitas akut adalah untuk mengukur derajat dari efek toksik yang dimiliki oleh suatu senyawa setelah perlakuan dosis tunggal dalam jangka waktu singkat. Nilai *lethal dose* (LD₅₀) adalah suatu tolak ukur kuantitatif pada uji toksisitas akut yang biasanya digunakan

untuk menentukan kisaran dosis letal (Syamsul, E.S., 2015; Jumain *et al.*, 2018). LD₅₀ adalah nilai dari suatu kegiatan uji dengan tujuan menilai berbagai gejala toksik, spektrum efek toksik, menetapkan potensi toksisitas akut LD₅₀, dan mekanisme kematian. Nilai LD₅₀ yang ditemukan, menghasilkan jumlah dosis tunggal yang dapat mematikan sebanyak 50% dari seluruh hewan coba yang telah diberi bahan uji sebanyak satu kali (Nurmianti & Gusmarwani, 2020). Pengamatan hasil dari uji toksisitas akut meliputi pengamatan jumlah hewan yang mati, mengukur bobot badan selama 14 hari, dan mengamati macam-macam gejala klinis melalui skrining farmakologi pada 0, 1/2, 1, 2, 4, dan 24 jam pertama setelah pemberian bahan yang diujikan ke hewan coba (Nurfaat & Indriyati, 2016).

2.1.2 Uji Toksisitas Subkronik

Uji toksisitas subkronik atau subakut merupakan uji yang dilakukan dalam waktu singkat. Pengujian ini bertujuan untuk menetapkan tingkat toksisitas dari suatu zat setelah diberikan dosis berulang dengan waktu 14 - 90 hari. Berdasarkan WHO waktu pemberian dosis dapat dilakukan hingga 180 hari, untuk penelitian terhadap penyakit diabetes dan hipertensi dapat dilakukan 28 - 90 hari (Aufia *et al.*, 2018). Prinsip dari uji toksisitas subkronik oral yaitu memberi perlakuan sediaan uji yang memiliki 3 tingkatan dosis ke berbagai hewan uji yang telah dikelompokkan, dilakukan selama 28 - 90 hari. Selama masa pemberian sediaan uji, untuk mengetahui efek toksik pada hewan uji pengamatan dilakukan setiap hari (BPOM RI, 2014).

Uji toksisitas subkronik memiliki syarat penggunaan hewan uji diantaranya rodensia tikus putih (*strain Sprague Dawley* atau *Wistar*) atau mencit (*strain DDY* atau *BALB/C* dan lain-lainnya). Kondisi hewan uji dengan syarat meliputi umur 6-8 minggu dan dalam keadaan yang sehat (BPOM RI, 2014). Hewan uji yang mati selama perlakuan sebelum melewati masa *deadlock* (kaku) segera dilakukan otopsi dengan mengamati bagian organ dan jaringan dari segi makroskopik dan histopatologi. Setelah perlakuan sediaan uji berakhir, seluruh hewan coba dimatikan untuk diamati histopatologi dari organ dan jaringan hewan coba tersebut (Lu, 2010; Widati, 2021).

2.1.3 Uji Toksisitas Kronik

Uji toksisitas kronik merupakan uji yang digunakan untuk menilai keamanan suatu zat pada pemberian dosis dalam jangka waktu yang panjang. Pengamatan yang dilakukan mirip dengan pengamatan yang dilakukan pada uji toksistas subkronik. Setelah pengujian, dilakukan otopsi hewan uji untuk mengetahui adanya efek toksik dari pemberian sediaan uji (Arome, 2013; Sari, 2019).

Tujuan dari uji toksisitas kronik yaitu mengetahui informasi adanya efek toksik yang tidak terdeteksi pada uji toksisitas subkronik. Perlakuan diberikannya sediaan uji pada hewan uji dalam jangka waktu yang lebih lama daripada uji toksisitas subkronik dan dilakukan secara berulang. Hal tersebut dilakukan untuk menetapkan dosis yang tidak menimbulkan efek toksik (BPOM RI, 2014).

2.2. Bawang Putih (*Allium sativum*)

2.2.1 Klasifikasi Bawang Putih

Bawang putih adalah salah satu jenis tanaman hortikultura yang memiliki nilai ekonomi yang tinggi dari aspek pasar lokal maupun internasional (Wicaksono *et al.*, 2019). Menurut Cronquist (1981) tumbuhan bawang putih dapat diklasifikasikan sebagai berikut:

Kingdom : Plantae
Divisi : Spermathopyta
Kelas : Monocotyledonae
Ordo : Liliflorae
Famili : *Liliales*
Genus : *Allium*
Spesies : *Allium sativum* L.

2.2.2 Morfologi Bawang Putih

Umbi bawang putih jumlahnya terdapat dari 8–20 siung (anak bawang) dengan warna putih. Terdapat jarak antara siung satu dengan yang lainnya yang dihipit oleh kulit tipis dan liat dan terbentuk menjadi satu dengan bentuk yang kuat dan rapat. Adapun lembaga yang muncul di dalam siung dan dapat tumbuh melewati pucuk siung menjadi tunas baru, terdapat juga daging pembungkus lembaga yang berperan menjadi pelindung serta tempat penyimpanan makanan. Tumbuhan ini memiliki tinggi berkisar 30-75 cm dengan tumbuh secara berumpun dan berdiri tegak. Pangkal batang tumbuhan ini ditumbuhi akar serabut yang berukuran kecil dengan jumlah

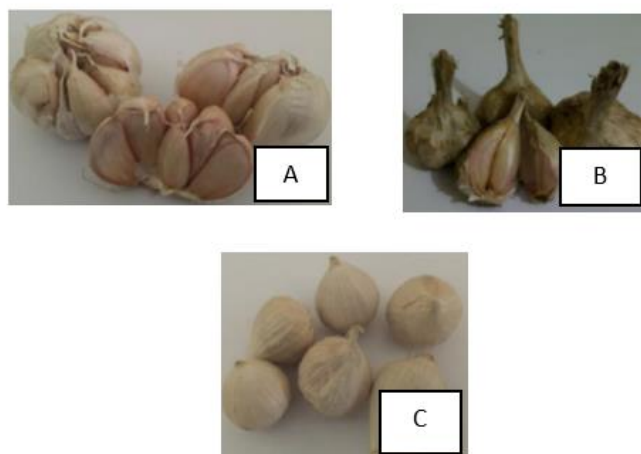
yang banyak dan berukuran kurang dari 10 cm. Sifat dari akar yang tumbuh pada batang pokok adalah rudimenter yang berperan menjadi alat penghisap makanan (Santoso, 2000; Moulia *et al.*, 2018).

Bawang putih tergolong tanaman herba parenial yang berbentuk umbi lapis. Batang yang muncul di atas permukaan tanah disebut dengan batang semu yang terdiri dari pelepah-pelepah daun, adapun batang sebenarnya letaknya ada di dalam tanah. Biasanya bawang putih tumbuh di dataran tinggi namun beberapa varietas tertentu dapat tumbuh di dataran rendah. Bawang putih tumbuh dengan baik pada media dengan jenis tanah yang memiliki tekstur lempung berpasir atau lempung berdebu yang memiliki pH netral (Santoso, 2000; Amrulloh *et al.*, 2019).

2.2.3 Varietas Bawang Putih

Varietas bawang putih yang telah dikembangkan di Indonesia antara lain (i) lumbung putih, varietas ini banyak dikembangkan di Yogyakarta. Umbinya berwarna putih, beratnya sekitar 7 g, diameter 3–3,5 cm, 15-20 siung per umbi; (ii) ati barang, varietas ini banyak dikembangkan di daerah Brebes, Jawa Tengah. Umbi berwarna kekuningan, diameter sekitar 3,5 cm, berat umbi sekitar 10-13 g, jumlah siung hingga 15-20 buah; (iii) Varietas Bogor, varietas ini berasal dari Nganjuk, Jawa Timur. Kulit umbi berwarna putih kusam, diameter 3–3,5 cm, umbi kuning seberat 8–10 g, jumlah siung 14–21 per umbi; dan (iv) Varietas Sanur ini banyak tumbuh di Pulau Dewata, Bali. Diameter umbi 3,5–4 cm, berat 10–13 g, umbi kuning, jumlah siung hingga 15-20 buah per umbi. Sedangkan varietas bawang putih yang

telah dikembangkan oleh Kementerian Pertanian Republik Indonesia antara lain: (i) Lumbu Hijau, Malang No. Kepmentan 894/Kpts/TP.240/11/1984 dengan hasil produksi 11-12 ton/ Ha; (ii) Lumbu Kuning, Kementerian Pertanian no. 895/Kpts/TP.240/11/1984 berasal dari Malang dengan hasil produksi 9-10 ton/ha; (ii) Tawangmangu Baru, Kementerian Pertanian No. 771/Kpts/TP.240/11/1989 dari Karanganyar dengan hasil produksi 10-12 ton/ha; (iv) Sangga Sembalun, Kementerian Pertanian No. 79/Kpts/TP.240/2/1995 berasal dari Lombok Timur dengan hasil produksi 9-10 ton/ha (Direktorat Jenderal Hortikultura Kementerian Pertanian, 2017; Moulia *et al.*, 2018).



Gambar 2. 1 Morfologi Bawang Putih
Bawang Putih Impor (A), Bawang Putih Lokal (B), dan Bawang Putih Siung Tunggal Lokal (C)
Sumber: (Prasonto *et al.*, 2017)

Bawang hitam merupakan inovasi dari bawang putih yang dipercaya memiliki kandungan yang menunjukkan efek antikanker, antiobesitas, imunomodulator, hipolipidemik, antioksidan, hepatoprotektif, dan efek neuroprotektif (Wang *et al.*, 2010; Suwarsih *et al.*, 2020). Beberapa penelitian menunjukkan bahwa bawang hitam mengandung unsur-unsur

yang penting untuk mencegah atau memerangi penyakit seperti tekanan darah tinggi, diabetes, dan antioksidan. Bawang hitam dikonsumsi masyarakat untuk dijadikan sebagai obat karena khasiat yang dipercaya tersebut (Oktavianty *et al.*, 2020).

Bawang hitam yang terbentuk adalah hasil pemanasan dengan teknik fermentasi pada bawang putih dengan menggunakan suhu 70°C selama 35 hari. Pembuatan bawang hitam yang dipanaskan hingga 60-70°C akan membuat kandungan gula pereduksi dapat meningkat. Jika pemanasan dilakukan dengan suhu di atas 70°C akan merusak beberapa struktur gula pereduksi yang ada dalam bawang hitam, sedangkan jika menggunakan suhu di bawah 60°C akan memakan waktu yang sangat lama untuk membuat bawang hitam (Zhang *et al.*, 2016; Agustina *et al.*, 2020).

Proses pemanasan saat membuat *black garlic* juga dapat mempengaruhi perubahan warna. Transformasi bawang putih menjadi bawang hitam terjadi melalui proses pencoklatan non enzimatis. Fenomena pencoklatan non enzimatis yang terjadi selama proses pemanasan bawang putih disebabkan oleh reaksi *maillard*. Reaksi *maillard* melibatkan konversi gula pereduksi dan beberapa asam amino. Mekanisme reaksi *maillard* memiliki tiga langkah, langkah pertama adalah reaksi kondensasi antara gula pereduksi dan amina dan warna bawang masih putih. Tahap kedua adalah dehidrasi, sakarifikasi, dan pemecahan asam amino, memberikan warna coklat muda pada bawang putih. Langkah ketiga melibatkan kondensasi aldehida-amina dan pembentukan senyawa yang menyebabkan

warna coklat pada makanan yang disebut dengan senyawa hidroksimetil 2-furfuraldehida.

Proses fermentasi pada bawang putih menjadi bawang hitam menjadikan aroma dan rasa dari bawang hitam tidak setajam bawang putih. Hal tersebut dikarenakan proses fermentasi dengan teknik pemanasan yang menyebabkan berkurangnya kandungan *allicin* yang diubah menjadi senyawa antioksidan *S-allyl cysteine* (SAC), flavonoid, dan polifenol selama proses penuaan (Solichah & Herdyastuti, 2021). Bawang hitam mengandung SAC 4-8 kali lipat dibanding bawang putih. Saat dipanaskan pada hari ke-15, aroma bawang putih mulai hilang dan pada hari ke-25 berubah menjadi aroma bawang hitam yang segar dan unik. Bawang putih hitam menurunkan kadar air sebesar 34,3%, menurunkan pH 3,3%, menurunkan kecerahan warna 64,1%, dan menurunkan warna kuning 30,5%, serta meningkatkan protein 0,7%, meningkatkan lemak 0,4%, meningkatkan karbohidrat 18,3%, meningkatkan kadar gula total 34,6%, meningkatkan gula reduksi 24%, meningkatkan warna kemerahan 6,5%, dan meningkatkan kalori 89,1% (Ryu *et al.*, 2017; Agustina *et al.*, 2020).

Macam-macam tumbuhan yang digunakan sebagai obat telah dijelaskan dalam Al-Qur'an, seperti yang tercantum di dalam surah Asy-Syu'ara ayat 7, yang berbunyi:

أَوَلَمْ يَرَوْا إِلَى الْأَرْضِ كَمْ أَنْبَتْنَا فِيهَا مِنْ كُلِّ زَوْجٍ كَرِيمٍ

Artinya: "Dan apakah mereka tidak memperhatikan bumi, betapa banyak Kami tumbuhkan di bumi itu berbagai macam (tumbuh-tumbuhan) yang baik?" (Q.S. Asy-Syu'ara' 26: Ayat 7).

Menurut tafsir Shahih Ibnu Katsir (2018) menyatakan bahwa kalimat *كَرِيمٌ زَوْجٌ* memiliki makna berbagai macam tumbuhan yang baik. Dimana Allah telah menciptakan bumi dan mengadakan serta menumbuhkan kembangbiakkan berbagai macam tumbuhan dan hewan yang baik, serta tidak ada selain Allah yang dapat menumbuhkan segala jenis tanaman yang yang banyak mengandung banyak berbagai manfaat dan dapat digunakan. Hal tersebut sesuai dengan penelitian ini yang menggunakan salah satu jenis tumbuhan yang bermanfaat untuk dikonsumsi, yaitu penggunaan spesies bawang putih lokal yang difermentasi menjadi bawang hitam untuk dijadikan obat.

Hadits Riwayat Abu daud dan Tirmidzi menyebutkan Ali bin Abi Thalib berkata:

“Rasulullah SAW melarang untuk mengonsumsi bawang putih kecuali setelah dia dimasak.” (HR. Abu Dawud dan At-Tirmidzi).

Bawang putih yang dimasak, maka bau yang tadinya menyengat akan berkurang. Selain itu, diketahui pula bawang putih yang dimakan mentah dapat mengganggu lambung. Maka lebih baik direbus, digoreng, atau dipanggang lebih dulu.

2.3. Ekstraksi

Ekstraksi adalah teknik yang digunakan untuk memperoleh senyawa bioaktif dari simplisia tanaman. Beberapa faktor mempengaruhi kadar senyawa bioaktif dalam ekstrak. Faktor tersebut dapat dipengaruhi oleh metode dan pelarut yang digunakan untuk ekstraksi sehingga dapat menghasilkan yang memiliki kadar senyawa bioaktif yang tinggi dari ekstrak tersebut (Nuri *et al.*, 2020). Ekstraksi sangat luas penggunaannya terutama di bidang industri, larutan

yang akan dipisahkan terdiri dari komponen-komponen yang meliputi: 1. Mempunyai sifat penguapan relatif yang rendah 2. Mempunyai titik didih yang berdekatan 3. Sensitif terhadap panas 4. Merupakan campuran azeotrope. Beberapa macam metode ekstraksi diantaranya ekstraksi maserasi, ekstraksi perkolasi, ekstraksi soxheltasi, dan ekstraksi refluks (Siskayanti *et al.*, 2021).

Pelarut merupakan zat cair atau gas yang dapat melarutkan zat padat, cair atau gas sehingga dapat menjadi sebuah larutan. Biasanya, pelarut yang digunakan dalam kehidupan sehari-hari adalah air. Jenis pelarut lain yang biasanya digunakan yaitu bahan kimia organik (mengandung karbon) yang juga dapat disebut pelarut organik. Pelarut biasanya mempunyai titik didih rendah dan lebih cepat menguap dan meninggalkan substansi terlarut yang didapatkan. Cara mengetahui perbedaan antara pelarut dengan zat yang dilarutkan yaitu dari jumlahnya, pelarut memiliki jumlah yang umumnya lebih besar dibanding zat yang dilarutkan (Kuntaarsa *et al.*, 2021).

Keberhasilan ekstraksi dipengaruhi beberapa faktor, diantaranya ukuran bahan, suhu, pelarut, rasio bahan baku, difusi, rasio pelarut, pH berperan dalam selektifitas, dan waktu ekstraksi (Siskayanti, 2021). Namun biasanya faktor keberhasilan proses ekstraksi dipengaruhi oleh mutu dan pelarut yang dipakai. Terdapat dua pertimbangan utama yang digunakan untuk memilih pelarut diantaranya daya larut yang tinggi harus dimiliki pelarut tersebut serta tidak mengandung zat berbahaya dan tidak toksik (Sumaatmadja, 1981; Kuntaarsa *et al.*, 2021).

2.4. Mencit (*Mus musculus*)

Mencit adalah hewan asli Asia, India dan Eropa Barat. Mencit merupakan hewan yang biasanya digunakan sebagai hewan uji. Hewan uji mencit merupakan jenis hewan vertebrata yang termasuk dalam kelompok mamalia (Nurmilawati, 2019). Penggunaan mencit sebagai hewan uji adalah karena terdapat persamaan pada respon mencit dan manusia. Hal tersebut akan membantu penelitian agar menghasilkan data lebih akurat jika menggunakan sediaan uji mencit (Mustika, 2014). Banyak digunakannya mencit sebagai hewan laboratorium karena memiliki keunggulan seperti siklus hidup yang relatif pendek, jumlah anak per kelahiran banyak, mudah ditangani, dan memiliki karakteristik reproduksi yang mirip dengan mamalia lain dan juga dari segi struktur anatomi, fisiologi serta genetik yang mirip dengan manusia (Fianti, 2017; Herrmann, 2019; Mutiarahmi *et al.*, 2021).

Cara mengatasi penggunaan hewan uji mencit adalah mengangkatnya dengan cara memegang pangkal ekor di antara jari telunjuk dan ibu jari, ini termasuk teknik pemindahan mencit dari satu kandang ke kandang lainnya. Pada usia 2 hingga 3 bulan, berat badan mencit bisa mencapai 20-30 gram. Mencit dapat hidup dari 1,5 hingga 3 tahun. Mencit termasuk mamalia yang memiliki 11 jantung dan terdiri dari empat ruang tipis dan dinding ventrikel yang lebih tebal. Spesies ini memiliki karakter yang lebih aktif di malam hari daripada di siang hari (Nurmilawati, 2019). Morfologi mencit ditunjukkan pada Gambar 2.2.



Gambar 2. 2 Morfologi Mencit (*Mus musculus*)
Sumber: (Data Pribadi, 2023)

Berikut adalah klasifikasi dari mencit (*Mus musculus*)

Kingdom	: Animalia
Filum	: Chordata
Kelas	: Mammalia
Ordo	: Rodentia
Famili	: Muridae
Subfamili	: Murinae
Genus	: <i>Mus</i>
Spesies	: <i>Mus musculus</i> (Nowak & Paradiso, 1983)

2.5. Hati

2.5.1 Anatomi Hati

Hati adalah organ yang memiliki permukaan superior cembung dan terletak di bawah diafragma. Bagian bawah hati cekung dan merupakan atap dari ginjal, lambung, pankreas, dan usus (Price, 2006; Ceriana *et al.*, 2016). Hati dapat mendetoksifikasi zat asing dan toksin, oleh karena itu hati tergolong organ penting karena fungsinya tersebut (Ceriana *et al.*, 2016).

Warna normal hati adalah coklat dan permukaan luarnya halus. Hati adalah sekitar 2% dari berat badan pada orang dewasa, yang berjumlah

sekitar 1400 g pada wanita dan 1800 g pada pria. Hati menerima suplai darahnya dari dua sumber: 80% dialirkan oleh vena portal, yang mengalirkan limpa dan usus; 20% sisanya, darah beroksigen, dialirkan oleh arteri hepatica. Vena portal dibentuk oleh penyatuan limpa dan vena mesenterika superior dengan vena mesenterika inferior mengalir ke vena limpa. Pada sebagian besar kasus, arteri hepatic umum adalah cabang dari arteri seliaka bersama dengan arteri limpa dan lambung kiri. Kadang-kadang, arteri hepatic memiliki pembuluh tambahan atau pengganti yang mensuplai hati. Arteri hepatic kanan aksesori atau pengganti adalah cabang dari arteri mesenterika superior proksimal, sedangkan arteri hepatic kiri aksesori atau pengganti adalah cabang dari arteri lambung kiri. Beberapa variasi anatomi, bagaimanapun, mungkin juga ada dalam anatomi arteri hepatic. Secara eksternal, hati dibagi oleh ligamen falciform menjadi lobus kanan yang lebih besar dan lobus kiri yang lebih kecil. Ligamen falciform menempelkan hati ke dinding perut anterior. Basisnya berisi ligamentum teres, yang merupakan sisa dari vena umbilicalis vestigial (Sibulesky, 2013).

2.5.2 Fisiologi Hati

Hati adalah organ padat terbesar, kelenjar terbesar dan salah satu organ paling vital yang berfungsi sebagai pusat metabolisme zat gizi dan ekskresi metabolit limbahnya. Fungsi utamanya adalah untuk mengontrol aliran dan keamanan zat yang diserap dari pencernaan sistem sebelum distribusi zat-zat ini ke sistem peredaran darah sistemik. Bahaya total yang disebabkan karena kegagalan fungsi hati dapat menyebabkan kematian

dalam hitungan menit, hal tersebut menunjukkan pentingnya hati bagi tubuh (Ozougwu, 2017).

Hati memiliki fungsi sebagai berikut: (1) Secara metabolisme memproses tiga kategori nutrisi utama, yaitu karbohidrat, protein, dan lemak. (2) Metabolisme karbohidrat, lemak, dan protein. (3) Mendetoksifikasi atau menguraikan limbah tubuh dan hormon serta obat-obatan dan senyawa asing lainnya. (4) Membentuk protein plasma. (5) Menyimpan glikogen lemak, zat besi, tembaga, dan banyak vitamin. (6) Mengaktifkan vitamin D, yang dilakukan bersama dengan ginjal. (7) Menghilangkan bakteri dan sel darah merah oleh makrofag jaringan (sel Kupffer). (8) Ekskresi kolesterol dan bilirubin) (Guyton & Hall, 2008; Sherwood, 2015; Salsabila, 2019).

2.5.3 Histologi Hati

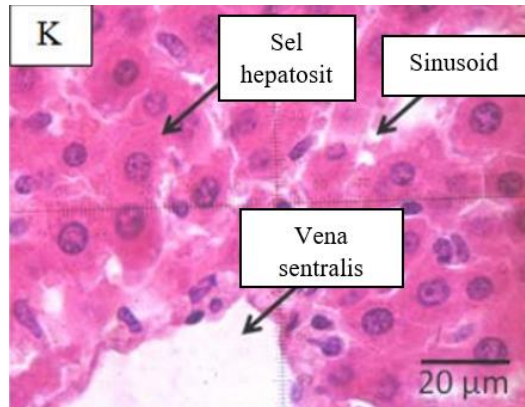
Jika dilihat secara histologi, bagian hepar terdiri dari 4 unit fungsional diantaranya sel endotel atau pembatas, hepatosit, sel kuppfer, dan sel ito atau sel penyimpanan. Hati terdiri dari unit heksagonal yang disebut lobulus hati. Pusat setiap lobulus adalah vena sentral yang dikelilingi oleh hepatosit dalam pola radial dan sinusoidal ke arah perifer (Iqlima, 2020).

Sel Kupffer adalah sel yang mempunyai peran sebagai sel fagosit zat-zat asing yang masuk ke dalam tubuh. Sel Kuppfer merupakan sistem monosit makrofag dan sel yang terbentuk dari sel darah putih. Seluruh makrofag dalam darah, setengahnya merupakan sel Kupffer (Ceriana & Sari, 2016). Sel endotel adalah struktur yang melapisi lumen internal semua

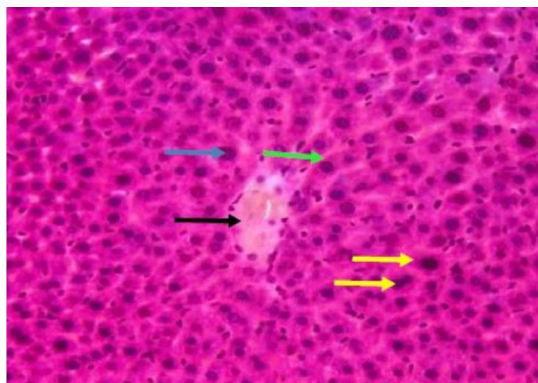
pembuluh darah yang berfungsi sebagai penghubung antara darah yang bersirkulasi dan pembuluh darah halus sel otot (VSMC). Struktur dinamis ini dapat secara aktif mengatur ritme vaskular basal dan reaktivitas vaskular dalam kondisi fisiologis dan patologis. Endotelium berfungsi untuk mempertahankan homeostasis vaskular melalui proses kompleks yang melibatkan berbagai mediator vasoaktif (Prawitasari, 2019). Sel Ito adalah sel stellata penyimpan lemak yang terletak di celah disse. Sel Ito juga berfungsi sebagai penyimpan vitamin A dan komponen pembentuk matriks ekstraseluler. Sel Ito memainkan peran penting dalam pembentukan fibrosis pada kerusakan hati (Mescher, 2013). Sedangkan sel hepatosit memainkan peran penting dalam proses pertukaran komponen atau proses metabolisme. Hepatosit berbentuk bulat dengan membentuk lapisan 1 hingga 2 sel terlihat seperti susunan batu bata disusun secara radial dalam lobulus hati. Lapisan sel ini dari pinggiran lobulus ke tengah dan membentuk struktur seperti labirin dengan busa dibentuk oleh proses anastomosis. Hati juga mengandung sinusoid hati yang mana dari kapiler ini letaknya diantara lempeng. Senyawa yang ada pada hati yang telah mengalami pertukaran komponen akan menyebabkan perubahan struktur kimia yang dirangsang oleh suatu enzim dihasilkan dari mikrosom sel hepatosit dapat disebut juga biotransformasi. Pembuluh darah di tengah lobulus disebut vena sentralis (Fitriani *et al.*, 2021).

Gambar 2.3 dan Gambar 2.4 Merupakan gambar histologi hati mencit yang normal pada perbesaran 1000x dan 400x berturut-turut. Hepatosit terlihat jelas, nukleus bulat, terletak di tengah dan sitoplasma berwarna

merah homogen. Dinding sel dibatasi dengan baik dan sinusoid terlihat jelas dan vena sentral sebagai pusat lobulus terlihat bulat dan kosong (Januar *et al.*, 2014).



Gambar 2. 3 Histologi Hati Mencit Perbesaran 1000x
Sumber: (Januar *et al.*, 2014)



Gambar 2. 4 Histologi Hati Normal Perbesaran 400x
(Panah hitam: vena sentral, panah hijau: sinusoid, panah biru: inti sel,
panah kuning: lempeng sel)
Sumber: (Dhuha *et al.*, 2019)

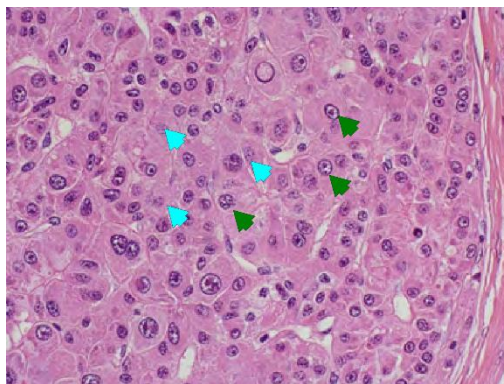
2.5.4 Kerusakan Hati

Hati akan mengalami beberapa gangguan pada struktur selnya akibat efek detoksifikasi, sehingga akan terjadi keterbatasan fungsi organ ini yang disebabkan oleh adanya zat yang berlebih yang menjadi zat toksik (Makiyah, 2017). Sel-sel hati mampu beregenerasi dengan cepat yang membuat hati dapat menjalankan fungsinya meskipun ada beberapa gangguan ringan namun dapat berubah menjadi bahaya jika terjadi

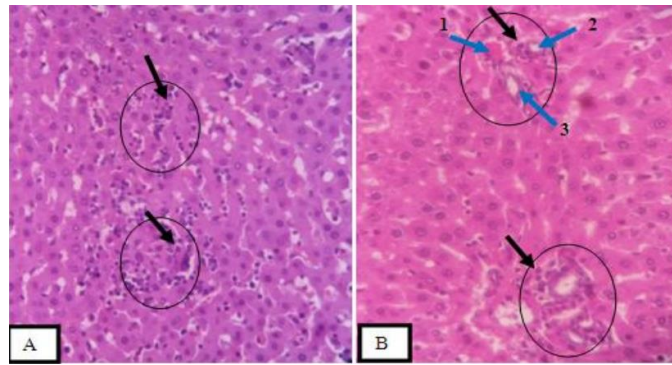
kerusakan yang parah (Restuati & Nasution, 2019). Mekanisme hepatotoksisitas terbentuk dari metabolisme zat obat yang terjadi di hati. Hati merupakan tempat utama masuknya zat asing ke dalam tubuh. Obat yang masuk ke dalam tubuh secara oral lalu diserap, beberapa dari zat tersebut akan mengalami metabolisme yang kemudian hasil dari metabolisme akan diedarkan melalui aliran darah ke bagian lain dengan tahap akhir yaitu dikeluarkan (Boyer *et al.*, 2012; Ardiani & Azmi, 2021). Metabolisme obat di dalam hepar melalui 3 tahap, tahap 1 adanya keterlibatan enzim sitokrom P450 dalam oksidasi, reduksi atau hidrolisis untuk modifikasi senyawa, sedangkan untuk menguji detoksifikasi tubuh dengan mengurangi aktivitas enzim melalui konjugasi glukuronidasi, sulfasi, asetilasi, atau glutathione, yang dikenal sebagai tahap 2, untuk melanjutkan ke tahap 3, yaitu pengendapan obat dalam darah atau empedu. Oleh karena itu, jika zat/obat yang masuk ke dalam hepar dalam jumlah yang terlalu besar dapat meningkatkan proses metabolisme sehingga dapat merusak sel (Ramappa & Aithal, 2013; Ardiani & Azmi, 2021). Mekanisme hepatotoksik sampai menjadi rusaknya sel dapat dikelompokkan berdasarkan penyebabnya, diantaranya yang disebabkan oleh toksin dan secara idiosinkratik, seperti akibat reaksi hipersensitifitas, dan lain-lain, yaitu yang berhubungan dengan masing-masing individu (Lewis & Kleiner, 2012; Ardiani & Azmi, 2021).

Jika dilihat secara morfologis, hati merupakan organ yang memiliki respon perbaikan terbatas terhadap beberapa cedera, dimana pola cedera tetap sama meskipun terdapat perbedaan etiologinya (Kumar V, Cotran RS,

2007; Salsabila, 2019). Baik itu kerusakan akibat racun, infeksi, atau kondisi lain yang dapat memengaruhi hati, hati hanya memiliki lima respons umum terhadap cedera: (1) Peradangan. (2) Infiltrasi/akumulasi sel. (3) Kematian sel (nekrosis). (Kemp & Burns, 2008; Salsabila, 2019). Nekrosis adalah kematian sel jaringan setelah cedera ketika individu masih hidup. Ketika diamati di bawah mikroskop, terlihat terjadi perubahan berupa gambaran kromatin menghilang, inti mengalami kerutan, tidak lagi vaskular, inti terlihat lebih padat, warna lebih gelap (piknosis), intinya terbagi menjadi beberapa bagian, terkoyak (karioreksis), inti sel tidak lagi membutuhkan banyak warna karena pucat/tidak nyata (kariolisis) (Himawan, 1992; Adinata *et al.*, 2012). Inflamasi ditandai dengan adanya infiltrasi sel inflamasi pada sediaan organ. Berbagai sel yang menandakan adanya inflamasi, seperti makrofag, neutrofil, limfosit atau sel plasma. Ketika ada banyak neutrofil, itu menandakan fase akut, dan ketika ada limfosit atau sel plasma menandakan fase kronis (Rugge *et al.*, 2011; Yulida *et al.*, 2013). Berikut adalah gambar 2.5 dan gambar 2.6 yang menunjukkan histopatologi hati yang mengalami kerusakan.



Gambar 2. 5 Histopatologi Hati Mencit
(Sel normal: panah warna hijau, sel nekrosis: panah warna merah)
Sumber: (Robbins *et al.*, 2015)



Gambar 2. 6 Histopatologi Hati Mencit Infiltrasi Sel

(A) Berupa Neutrofil yang Tersebar di Parenkim Hepar, Sedangkan (B) Anak Panah Hitam Menunjukkan Neutrofil Berada Disekitar Vaskuler Baik Itu Vena Porta (1) dan Vena Sentralis. Selain Itu, Juga Terdapat Neutrofil di (2), Duktus Biliaris (3)

Sumber: (Taek *et al.*, 2020)

BAB III METODE PENELITIAN

3.1 Rancangan Penelitian

Penelitian ini merupakan metode eksperimental menggunakan Rancangan Acak Lengkap (RAL). Perlakuan dikelompokkan berdasarkan rumus Federer menjadi 8 kelompok dengan masing-masing 3 kali pengulangan yang terdiri dari kelompok kontrol dengan pemberian aquades dan kelompok perlakuan, yaitu kelompok mencit yang diberi perlakuan ekstrak bawang hitam dengan dosis 5, 50, 100, 300, 600, 1000, 2000 mg/kg BB.

3.2 Waktu dan Tempat Penelitian

Penelitian dilakukan bulan April 2022 sampai Maret 2023. Lokasi penelitian dilakukan di Laboratorium Kimia dan Laboratorium Taksonomi Universitas Islam Negeri Sunan Ampel Surabaya Kampus 2 Gunung Anyar.

Tabel 3. 1 Jadwal Kegiatan Penelitian

No.	Kegiatan	Bulan ke-												
		1	2	3	4	5	6	7	8	9	10			
1.	Penyusunan Proposal Skripsi	■	■	■										
2.	Seminar Proposal				■									
3.	Penelitian di Laboratorium					■	■	■	■					
4.	Analisis Data							■	■	■				
5.	Penyusunan Draft Skripsi									■	■	■		
6.	Siding Skripsi												■	

3.3 Alat dan Bahan Penelitian

Alat-alat yang digunakan pada penelitian ini adalah *rotary evaporator*, alat bedah, *block paraffin*, *waterbath*, *slide glass*, *object glass*, *cover glass*, jarum sonde, kendang mencit, kawat kendang mencit, sekam, tempat minum, mikroskop cahaya, mikrotom, pipet tetes, cetakan parafin, jangka sorong, oven, dan kuas kecil.

Bahan-bahan yang digunakan dalam penelitian ini adalah *black garlic*, aquades, tisu, kloroform, etanol 70%, etanol 80%, etanol 96%, formalin, pewarna HE (*Hematoxylin Eosin*).

3.4 Variabel Penelitian

3.4.1. Variabel Bebas

Variabel bebas pada penelitian ini adalah dosis bertingkat ekstrak *black garlic* (*Allium sativum*) dengan pemberian secara per oral kepada mencit (*Mus musculus*) dengan dosis 5, 50, 100, 300, 600, 1000, 2000 mg/kg BB.

3.4.2. Variabel Terikat

Variabel terikat pada penelitian ini adalah gambaran histopatologi hati pada mencit dengan parameter infiltrasi sel radang dan nekrosis.

3.4.3. Variabel Kontrol

Variabel kontrol pada penelitian ini adalah kandang hewan uji, umur mencit, berat badan mencit, dan jenis kelamin mencit.

3.5 Prosedur Penelitian

3.5.1 Persiapan Hewan Uji

Penelitian ini menggunakan hewan uji berupa mencit betina jenis DDY yang berumur 3-4 bulan dengan berat badan 18-30 gr dengan syarat mencit dengan kondisi yang sehat dan tidak ada kelainan yang terlihat pada bagian tubuh. Sebelum dilakukan perlakuan, mencit diaklimatisasi selama 1 minggu dengan kondisi yang sama meliputi: minum, kandang, pakan, dan sekam. Aklimatisasi bertujuan agar mencit dapat beradaptasi dengan lingkungan barunya.

3.5.2 Pembuatan Bawang Hitam

Pembuatan bawang hitam dimulai dengan disiapkan alat (timbangan dan oven) dan bahan berupa bawang putih. Kemudian bawang putih ditimbang sebanyak 1000 gram. Setelah itu bawang putih diletakkan didalam oven selama 35 hari dengan suhu 70°C. Setelah di oven bawang putih berubah menjadi hitam kemudian bawang hitam dikeluarkan dari oven.

3.5.3 Pembuatan Ekstrak Bawang Hitam

Kulit bawang hitam dikupas dan dipotong umbi bawang hitam dengan irisan tipis. Lalu bawang hitam ditimbang sebanyak 1000 gram. Setelah itu, bawang hitam dihaluskan dengan blender lalu dimasukkan ke dalam erlenmeyer. Kemudian ditambahkan larutan etanol 70% dan Erlenmeyer ditutup dengan aluminium foil. Setelah itu, larutan disonikasi selama 1 jam untuk dihomogenkan. Kemudian larutan dimaserasi selama 48 jam. Selanjutnya hasil maserasi disaring menggunakan corong dan kertas saring

untuk memisahkan antara residu dan filtratnya. Filtrat yang terkumpul diuapkan dengan *rotary evaporator* pada suhu 55 °C. Hasil akhir berupa ekstrak kental.

3.5.4 Penentuan Dosis Ekstrak Bawang Hitam

Dosis yang digunakan untuk perlakuan pada mencit mengacu pada penelitian Rumaseuw *et al.* (2022), menguji toksisitas akut ekstrak *black garlic* yang diujikan pada mencit betina menggunakan dosis bertingkat yaitu 5, 50, 300, 2000 mg/kg BB. Penelitian ini menggunakan dosis yang mengacu pada penelitian tersebut dikarenakan hasil uji toksisitas akut dengan dosis tertinggi tidak memberikan efek kematian, maka dilanjutkan uji toksisitas subkronik untuk memperoleh informasi gambaran dari histopatologi organ mencit. Dosis tersebut dipecah karena jarak dosis sebelumnya terlalu jauh, sehingga didapatkan dosis sebagai berikut:

Dosis I: 5 mg/kg BB

Dosis II: 50 mg/kg BB

Dosis III: 100 mg/kg BB

Dosis IV: 300 mg/kg BB

Dosis V : 600 mg/kg BB

Dosis VI: 1000 mg/kg BB

Dosis VII: 2000 mg/kg BB

3.5.5 Perlakuan Pemberian Ekstrak Bawang Hitam

Pemberian ekstrak bawang hitam dengan cara menginjeksi dengan spuit secara gavage / oral sesuai dengan kelompok perlakuan yang dilakukan

selama 28 hari. Cara pemberian ekstrak tersebut dengan menempelkan sonde pada langit-langit mulut atas mencit. Setelah itu dimasukkan sampai ke esofagus pelan-pelan, kemudian cairan obat dimasukkan.

3.5.6 Perlakuan Uji Toksisitas Subkronik

Perlakuan uji toksisitas subkronik, berdasarkan BPOM RI (2014) antara lain:

1. Mencit betina dibagi menjadi 8 kelompok perlakuan dengan 3 kali pengulangan. Kelompok I (kontrol) diberi perlakuan dengan Aquades, kelompok II, III, IV, V, VI, VII, VIII diberi perlakuan dengan dosis 5, 50, 100, 300, 600, 1000, 2000 mg/kg BB secara per oral.
2. Pemberian ekstrak etanol bawang hitam dilakukan selama 28 hari.
3. Hari ke-29 menganestesi hewan uji setelah dipuasakan selama 1 malam yang kemudian dilakukan pembedahan untuk diamati histopatologi organ hati mencit betina (Rofiqoh, 2015).

3.5.7 Proses Pembedahan

Sebelum dilakukan proses pembedahan, mencit (*Mus musculus*) dilakukan pembiusan dengan menggunakan kloroform dengan tujuan agar mencit mati. Kemudian mencit diletakkan diatas alat pembedahan untuk dilakukan proses pembedahan. Setelah itu, organ mencit (*Mus musculus*) diambil. Setelah dilakukan proses pembedahan, mencit dikubur sebagaimana mestinya. Kemudian, alat-alat pembedahan dibersihkan dan dirapikan.

3.5.8 Pembuatan Preparat Histologi Hati

a. Fiksasi

Organ hati mencit dengan berbagai perlakuan dimasukkan ke dalam botol vial kecil yang telah diberi larutan aquades dengan menggunakan botol yang berbeda pada tiap perlakuan. Kemudian dilakukan fiksasi dengan menggunakan buffer formalin selama semalam.

b. *Processing*

Kaset jaringan disiapkan dan sampel organ dimasukkan didalamnya. Kemudian sampel diambil dari larutan fiksatif. Setelah itu, sampel dicuci selama 30 menit di bawah air mengalir. Lalu sampel dimasukkan ke dalam *tissue processor* untuk perendaman dengan larutan etanol 70% sebanyak 4 kali, etanol 80% sebanyak 2 kali, etanol 96%, dan etanol absolut dengan masing-masing waktu 30 menit. Setelah itu, sampel dimasukkan ke dalam larutan xylol sebanyak 3 kali masing-masing 15 menit.

c. *Embedding*

Pada tahap ini, sampel dimasukkan ke dalam larutan parafin: xylol dengan perbandingan 1:1 selama 30 menit. Setelah itu, sampel dimasukkan ke dalam 3 larutan parafin dengan masing-masing waktu selama 1 jam. Kemudian, wadah disiapkan untuk pembuatan blok. Parafin cair dimasukkan ke dalam wadah diikuti dengan potongan jaringan.

d. *Sectioning*

Posisi potongan jaringan diatur sesuai dengan arah potongan mikrotom yang diinginkan. Kemudian, gelas obyek disiapkan dan diberi label. Lalu blok dirapikan dan ditempelkan pada holder mikrotom dengan menggunakan pisau panas. Tempelan label pada holder juga diperhatikan. Kemudian holder ditempelkan pada mikrotom. Mikrotom diset pada ketebalan 1,5 μm . Pisau dipastikan dalam keadaan tertutup, dan posisi holder dalam keadaan terkunci. Blok dipotong pelan-pelan hingga bagian dalam jaringan dalam blok terpotong. Mikrotom diset pada ketebalan yang diinginkan, jaringan dipotong lagi. Setelah itu, pita-pita hasil potongan dipindahkan ke dalam permukaan waterbath dengan suhu 40-45°C hingga pita mengembang, kemudian pita parafin tersebut diambil dengan gelas obyek (letak potongan jaringan diperhatikan, diusahakan terletak di ujung yang berlawanan dengan letak label). Kemudian, gelas obyek berisi potongan tipis jaringan dipindah ke dalam parafin oven dan dibiarkan 1 jam atau lebih dengan suhu 50°C.

e. *Staining dan Mounting*

Seri staining atau pewarnaan disiapkan. Setelah itu, masing-masing gelas obyek berturut-turut dipindahkan ke dalam *staining jar* berisi xylol (3 \times 10 menit), etanol bertingkat (96% 5 menit, 80% 5 menit, dan 70% 5 menit), lalu terakhir aquades. Kemudian slide dipindahkan ke pewarnaan Hematoxylin selama 10 menit, dilanjutkan dengan pencucian menggunakan air mengalir selama 5

menit, lalu dipindahkan ke pewarna eosin. Setelah itu dehidrasi ulang menggunakan etanol bertingkat (70% 5 menit, 80% 5 menit, dan 96% 5 menit). Setelah itu *clearing* menggunakan xylol 3 kali masing-masing 10 menit dan mounting, yaitu penempelan cover glass dengan mounting media.

3.5.9 Pengamatan Tiap Parameter

Preparat histologi kemudian diamati di bawah mikroskop masing-masing setiap pengulangan pada 5 lapang pandang mikroskopik dengan perbesaran 1000x untuk pengamatan nekrosis dan 400x untuk pengamatan infiltrasi sel radang. Pengamatan terdiri dari identifikasi sel normal dan sel rusak. Selanjutnya dilakukan skoring dengan perhitungan persentase kerusakan menurut Januar (2014):

$$(\%) = \frac{\text{jumlah sel rusak}}{\text{jumlah sel yang ditemukan}} \times 100\%$$

Kemudian persentase dikategorikan berdasarkan tingkat kerusakannya dengan persentase kerusakan < 30% dengan kategori kerusakan ringan, < 50% dengan kategori kerusakan sedang, serta > 50% dengan kategori kerusakan berat (Arsad *et al.*, 2014; Jannah & Budijastuti, 2022).

3.6 Analisis Data

Pengambilan data dari penelitian ini bertujuan untuk menguji toksisitas subkronik dari ekstrak etanol bawang hitam terhadap histopatologi hati mencit. Analisis statistik dengan menggunakan program komputer SPSS. Hasil penelitian dianalisis dengan uji normalitas menggunakan uji *shapiro-wilk* untuk mengetahui normalitas distribusi data

yang digunakan. Kemudian dilanjutkan uji homogenitas menggunakan uji *levene test* untuk mengetahui variasi kelompok data. Nilai *P-Value* > 0.05 menunjukkan data terdistribusi normal dan homogen dan dilanjutkan dengan uji *one-way Analisis of Variance* (ANOVA). Nilai *P-Value* < 0.05 menunjukkan terdapat perbedaan antar kelompok dosis sehingga dilanjutkan uji post hoc dengan uji duncann untuk mengetahui perbedaan yang nyata antar kelompok dosis.

BAB IV

HASIL DAN PEMBAHASAN

Berdasarkan penelitian yang dilakukan terhadap mencit, yaitu dengan pemberian perlakuan dengan ekstrak bawang hitam pada dosis kontrol dengan aquades, dosis 5, 50, 100, 300, 600, 1000, dan 2000 mg/kg BB. Setelah perlakuan didapatkan data hasil penelitian berupa hasil rendemen dari ekstraksi bawang hitam, berat badan mencit, berat organ mencit, dan histologi hati mencit. Hasil rendemen dari ekstrak bawang hitam berfungsi mengetahui keberhasilan ekstraksi dalam mengekstrak senyawa aktif dengan cara menghitung nilai rendemen. Data berat badan mencit yang didapat digunakan untuk menganalisis keterkaitannya dengan histopatologi hati mencit. Data berat organ digunakan untuk menganalisis keterkaitannya dengan berat badan mencit dan histopatologi hati mencit. Setelah itu, data pengamatan histopatologi hati mencit diolah menggunakan analisis statistik dengan program komputer SPSS untuk mengetahui pengaruh ekstrak bawang hitam terhadap histopatologi hati mencit. Berikut adalah rincian dari hasil pengamatan terhadap masing-masing parameter:

4.1 Hasil Rendemen Dari Ekstraksi Bawang Hitam

Ekstraksi perlu dilakukan untuk mendapatkan senyawa aktif. Metode ekstraksi yang dilakukan menggunakan maserasi. Sebelum dilakukan maserasi, bawang hitam dihaluskan terlebih dahulu. Setelah itu, bawang hitam dilarutkan ke dalam pelarut etanol. Menurut Handayani & Sriherfyna (2016) apabila semakin banyak jumlah pelarut etanol, maka kontak bahan dengan etanol yang fungsinya menjadi media ekstraksi akan

lebih besar juga, oleh karena itu potensi untuk memaksimalkan hasil rendemen ekstrak juga lebih besar.

Pemilihan pelarut dapat mempengaruhi tingginya kandungan fenol yang diekstraksi. Pelarut yang digunakan dalam penelitian ini yaitu pelarut etanol. Pelarut seperti metanol dan etanol banyak digunakan karena tergolong pelarut yang efektif untuk ekstraksi komponen fenolik dari bahan alami (Katja & Suryanto, 2009; Dungir *et al.*, 2012). Ekstraksi menggunakan pelarut tergantung pada sifat kepolaran zat dalam pelarut saat ekstraksi. Pelarut polar yang meliputi metanol, etanol, butanol dan air akan melarutkan senyawa polar saja. Sedangkan pelarut non polar, seperti kloroform dan heksana akan melarutkan senyawa non polar (Gritter *et al.*, 1991; Marcelinda & Ridhay, 2016). Etanol 70% digunakan dalam penelitian ini karena kandungan air yang lebih banyak daripada etanol 96%, hal tersebut dapat menyebabkan mudahnya etanol 70% dalam mengairi serbuk simplisia sehingga efektif untuk proses maserasi bahan alami (Djajanegara & Wahyudi, 2009; Sofiyah, 2017).

Setelah itu, bawang hitam disonikasi, teknik ekstraksi tersebut dilakukan dengan cepat. Tahap tersebut membuat berkurangnya pelarut yang akan menghasilkan produk murni dan yield yang lebih tinggi. Metode ini telah diterapkan untuk mengekstrak komponen pigmen, antioksidan, dan antibakteri. Proses penguapan ketika tahap sonikasi menyebabkan dinding sel pecah sehingga kontak pelarut dengan bahan yang diekstrak meningkat (Ardianti & Kusnadi, 2014). Kemudian, larutan dimaserasi yaitu dengan merendamnya ke dalam pelarut dalam jangka waktu selama 48 jam

tanpa menggunakan pemanasan (Kiswandono, 2017). Proses ekstraksi menghasilkan filtrat etanol dan ampas. Filtrat etanol yang terkumpul kemudian dievaporasi pelarutnya agar menjadi ekstrak kental. Evaporasi yang dilakukan menggunakan alat *rotary evaporator*. Fungsi alat ini yaitu dapat efektif menguapkan solven tanpa membuat senyawa-senyawa yang terkandung pada ekstrak rusak (Andriani & Murtisiwi, 2018). Hasil ekstraksi dengan metode maserasi yang menggunakan ekstrak etanol bawang hitam menghasilkan ekstrak yang kental dan berwarna coklat kehitaman yang sangat pekat, hasil ekstraksi dapat dilihat pada gambar 4.1.

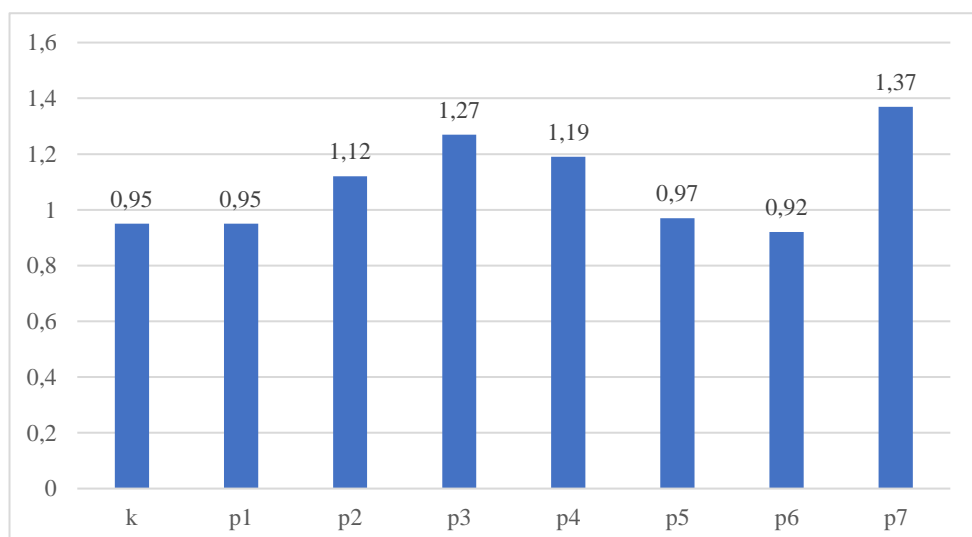


Gambar 4. 1 Hasil Ekstraksi Bawang Hitam
Sumber: (Data Pribadi, 2022)

Setelah itu, ekstrak tersebut ditimbang sehingga dihasilkan presentase rendemen sebesar 45,8%. Menurut Leviyanti & Sukmawati (2021) rendemen yang dikategorikan baik apabila memiliki nilai lebih dari 10%. Ekstrak bawang hitam memiliki nilai rendemen yang baik karena nilainya lebih dari 10%, yaitu sebesar 45,8%. Sehingga dengan metode ekstraksi maserasi yang menggunakan pelarut etanol 70%, metode ekstraksi menggunakan ultrasonic sampai tahap ekstrak dievaporasi adalah metode yang cocok dijadikan acuan pembuatan ekstrak bawang hitam dengan nilai rendemen yang baik.

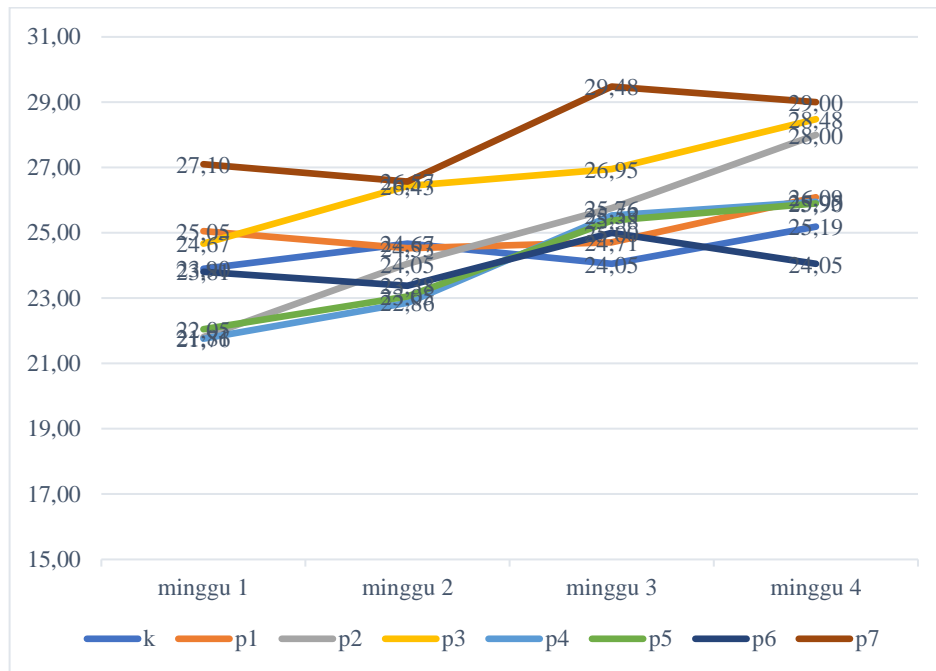
4.2 Fluktuasi Berat Badan Mencit

Mencit yang akan diberi perlakuan, diaklimatisasi terlebih dahulu selama 7 hari dengan pemberian pakan dan memberi minum secara ad libitum setiap hari, mengganti sekam 3 hari sekali, dan mencuci kandang 2 kali seminggu. Aklimatisasi bertujuan untuk pengenalan lingkungan barunya dan menyeleksi mencit yang layak digunakan untuk diuji organ hatinya. Kelayakan tersebut meliputi mencit yang sehat dan berperilaku normal (Melisa & Yuliawati, 2022). Kemudian mencit diberi perlakuan setiap hari selama 28 hari untuk dilakukan uji toksisitas subkronik dengan dosis peroral. Mencit ditimbang tiap minggunya. Kemudian berat badan mencit yang diamati tiap minggu selama 4 minggu dihitung selisih rata-rata minggu keempat dan pertama dan diamati pula fluktuasi berat badan mencit sehingga didapatkan hasil perhitungan rata-ratanya pada gambar 4.2 dan gambar 4.3.



Gambar 4. 2 Grafik Selisih Rata-Rata Minggu Keempat dan Pertama Berat Badan Mencit (k: control, p1: 5 mg/kg BB, p2: 50 mg/kg BB, p3: 100 mg/kg BB, p4: 300 mg/kg BB, p5: 600 mg/kg BB, p6: 1000 mg/kg BB, p7: 2000 mg/kg BB)

Sumber: (Data Pribadi, 2023)



Gambar 4. 3 Grafik Fluktuasi Berat Badan Mencit
(k: control, p1: 5 mg/kg BB, p2: 50 mg/kg BB, p3: 100 mg/kg BB,
p4: 300 mg/kg BB, p5: 600 mg/kg BB, p6: 1000 mg/kg BB, p7: 2000 mg/kg BB)
Sumber: (Data Pribadi, 2023)

Gambar 4.2 Menunjukkan selisih rata-rata berat badan mencit minggu keempat dan minggu pertama. Hasil selisih rata-rata minggu pertama dan keempat dosis 50 mg/kg BB menunjukkan hasil selisih peningkatan tertinggi, sedangkan dosis 1000 mg/kg BB menunjukkan hasil peningkatan terendah. Gambar 4.3 menunjukkan hasil dari rata-rata berat mencit pada minggu kedua yang mengalami kenaikan pada dosis kontrol, 50, 100, 300, dan 600 mg/kg BB. sedangkan yang mengalami penurunan berat badan adalah dosis 5, 1000, dan 2000 mg/kg BB. Kemudian pada minggu ketiga didapatkan hasil rata-rata berat badan mencit yang mengalami kenaikan, yaitu pada dosis 5, 50, 100, 300, 600, 1000, 2000 mg/kg BB. Sedangkan yang mengalami penurunan berat badan yaitu pada dosis kontrol. Selanjutnya pada minggu keempat hasil rata-rata berat badan

mencit yang mengalami kenaikan adalah pada dosis kontrol, 5, 50, 100, 300, dan 600 mg/kg BB. Sedangkan yang mengalami penurunan pada dosis 1000 dan 2000 mg/kg BB. Data berat badan mencit yang terlihat yaitu pada dosis kontrol, 1000, dan 2000 mg/kg BB mengalami peningkatan dan penurunan berat badan yang tidak stabil, sedangkan dosis lainnya yaitu dosis 5, 50, 100, 300, dan 600 mg/kg BB berat badannya meningkat dari minggu pertama hingga minggu keempat. Menurunnya berat badan mencit dari minggu ketiga menuju minggu ke empat pada mencit dengan perlakuan ekstrak bawang hitam dosis 1000 dan 2000 mg/kg BB diduga disebabkan oleh pengaruh dari perlakuan ekstrak bawang hitam dari lama pemberian ekstrak. Hal tersebut dikarenakan kedua perlakuan tersebut menggunakan dosis tingkat tinggi yang dapat menyebabkan sel pada hepar mengalami kerusakan yang tinggi pula, sehingga mempengaruhi nafsu makan mencit dan menyebabkan penurunan nafsu makan, selain itu juga dapat mempengaruhi hasil berat badan kedua kelompok perlakuan dengan dosis tersebut.

Hal ini sejalan dengan penelitian yang dilakukan Muslikhah (2014) yang memberi perlakuan dengan pemberian ekstrak etanol daun widuri pada mencit. Penelitian tersebut mendapatkan hasil fluktuasi yang tidak stabil. Kenaikan berat badan mencit yang dapat disebabkan oleh meningkatnya nafsu makan mencit untuk mempertahankan tubuh agar tetap sehat. Kandungan senyawa polifenol dari bawang hitam yang memiliki kandungan 3 kali lebih besar daripada bawang putih (Jang *et al.*, 2008; Kim *et al.*, 2011) Kandungan senyawa polifenol yang dimiliki

bawang hitam mempunyai manfaat untuk mencegah penumpukan lemak, pencegahan tersebut terdiri dari berbagai cara meliputi penghambatan enzim yang bekerja dalam metabolisme lemak, lipogenesis, dan bekerja dalam peningkatan lipolisis serta oksidasi asam lemak (Chen *et al.*, 2014; Devifatimah, 2019). Kandungan senyawa polifenol yang seimbang dalam tubuh dapat berpengaruh terhadap konsistensi berat badan mencit. Hal ini dibuktikan dengan perlakuan pemberian ekstrak bawang hitam pada dosis 5, 50, 100, 300, dan 600 mg/kg BB yang menyebabkan berat badannya dapat bertahan agar tetap stabil. Sedangkan penurunan berat badan dapat dikarenakan oleh hewan uji yang stress. Hal ini diduga karena pengaruh pemberian ekstrak dengan dosis tinggi. Pemberian dosis tinggi dapat membuat stress hewan uji karena pengaruh rasa dari ekstrak yang kuat. Hal tersebut mengakibatkan nafsu makan hewan uji menjadi menurun sehingga kenaikan dan penurunan berat badan menjadi tidak stabil. Perubahan berat badan hewan uji tersebut dapat disebabkan oleh faktor internal dari hewan uji. Salah satu faktor yang bisa menjadi penyebab perubahan berat badan adalah faktor internal gen. Faktor tersebut dapat menentukan sifat yang diturunkan dari induk serta hormon di dalam tubuh yang menjadi pengatur semua aktivitasnya (Djamaludin *et al.*, 2021; Ubang *et al.*, 2022).

4.3 Pengukuran Berat Organ Hati Mencit

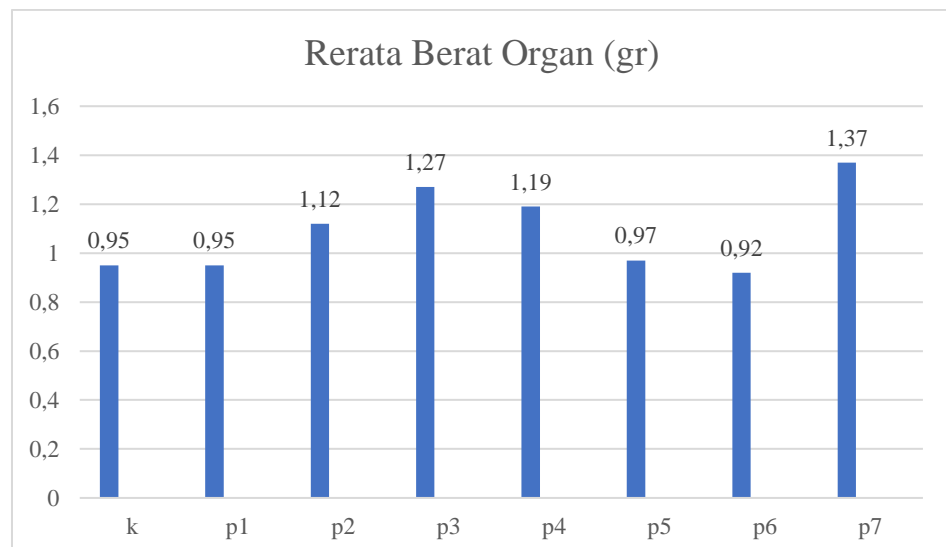
Perlakuan pemberian ekstrak mencit dilakukan selama 28 hari, sehingga pada hari ke-29 mencit didislokasi setelah dipuasakan selama semalam. Setelah itu, dilakukan pembedahan untuk diambil organ hatinya yang akan dijadikan sebagai preparat histologi hati. Sebelum dilakukan

pembuatan preparat histologi hati, organ ditimbang terlebih dahulu. Tabel 4.1 merupakan hasil penimbangan dari organ hati mencit.

Tabel 4. 1 Berat Badan dan Berat Organ Hati Mencit

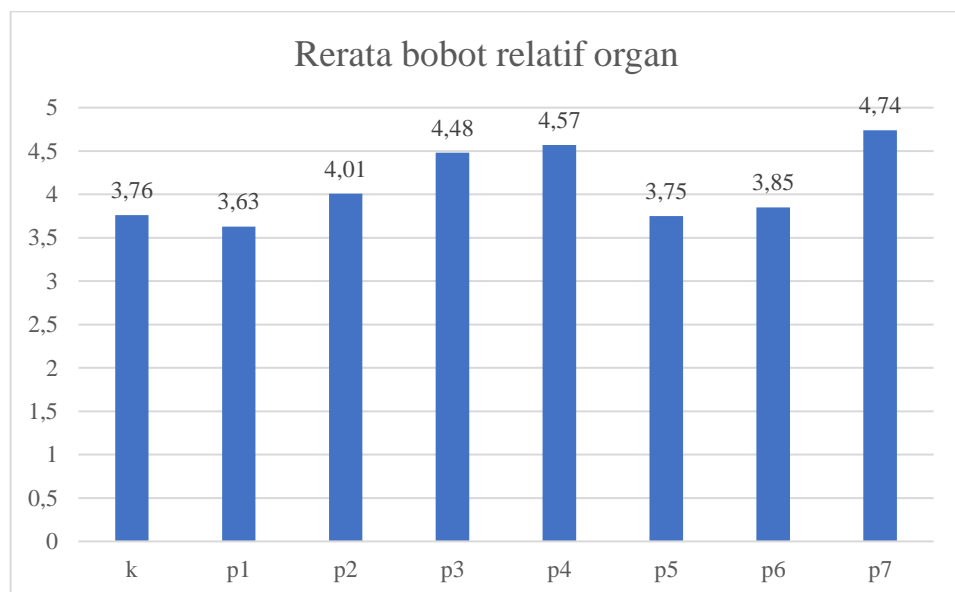
No.	Dosis ekstrak	Rata-rata berat badan (gr)		Rata-rata berat organ (gr)
		Sebelum perlakuan	Setelah perlakuan	
1.	Kontrol	26,67	25,19	0,95
2.	5 mg/kg BB	23,33	26,09	0,95
3.	50 mg/kg BB	26,00	28,00	1,12
4.	100 mg/kg BB	26,67	28,48	1,27
5.	300 mg/kg BB	26,33	25,95	1,19
6.	600 mg/kg BB	25,00	25,90	0,97
7.	1000 mg/kg BB	25,00	24,05	0,92
8.	2000 mg/kg BB	26,33	29,00	1,37

Tabel 4.1 menunjukkan berat organ hati mencit setelah diberi perlakuan ekstrak bawang hitam dengan dosis 5, 50, 100, 300, 600, 1000, dan 2000 mg/kg BB dengan 3 kali pengulangan. Data tersebut kemudian di buat grafik rata-rata total berat organ hati mencit pada grafik gambar 4.4



Gambar 4. 4 Grafik Rerata Berat Organ Hati Mencit
(k: control, p1: 5 mg/kg BB, p2: 50 mg/kg BB, p3: 100 mg/kg BB, p4: 300 mg/kg BB, p5: 600 mg/kg BB, p6: 1000 mg/kg BB, p7: 2000 mg/kg BB)
Sumber: (Data Pribadi, 2023)

Grafik pada gambar 4.4 menunjukkan persentase berat organ hati yang menghasilkan berat organ tertinggi pada kelompok perlakuan ekstrak bawang hitam dengan dosis 2000 mg/kg BB, sedangkan berat organ terendah pada kelompok perlakuan ekstrak bawang hitam dengan dosis 5 dan kelompok kontrol. Berdasarkan hasil rerata berat organ yang didapat, diperlukan adanya analisis berat relatif organ untuk mengetahui adanya pengaruh perlakuan pada organ hepar. Analisis berat relatif organ adalah tahap diagnosa dasar untuk mengetahui kemungkinan ada tidaknya suatu organ terjadi kerusakan (Rajeh *et al.*, 2012; Sambodo *et al.*, 2019). Berat relatif organ didapatkan dari menghitung berat organ dibagi dengan berat badan kemudian dikali 100 (Silitonga *et al.*, 2021). pada gambar 4.5 berikut menunjukkan data tersebut.



Gambar 4. 5 Rerata Bobot Relatif Organ

(k: control, p1: 5 mg/kg BB, p2: 50 mg/kg BB, p3: 100 mg/kg BB, p4: 300 mg/kg BB, p5: 600 mg/kg BB, p6: 1000 mg/kg BB, p7: 2000 mg/kg BB)

Sumber: (Data Pribadi, 2023)

Berdasarkan gambar 4.5 yang menunjukkan hasil analisis data berat organ relatif pada kelompok perlakuan dosis kontrol, 5, 50, 100, 300, dan

600, 1000, dan 2000 mg/kg BB menghasilkan nilai sig yang tidak berpengaruh secara signifikan ($p > 0,05$) dari pemberian bahan uji dengan nilai sig sebesar 0,104. Berdasarkan penelitian Wahyuningtyas *et al.* (2018) mengenai hepatosomatic index (HSI) dan diameter hepatosit mencit (*Mus musculus* L.) setelah paparan ekstrak air biji pepaya (*Carica papaya* L.) dengan hasil uji anova yang menunjukkan bahwa pemberian ekstrak biji pepaya tidak berpengaruh ($p > 0,05$) terhadap berat organ hepar mencit. Hasil analisis data menunjukkan bahwa rerata bobot organ mencit pada seluruh kelompok perlakuan tersebut masih dalam kisaran yang normal. Rogers & Renee (2012) menyatakan bahwa kisaran berat hepar mencit adalah antara 1,5-2 gr (Wahyuningtyas *et al.*, 2018)

4.4 Pengaruh Pemberian Ekstrak Etanol Bawang Hitam Dengan Berbagai Dosis Terhadap Histopatologi Hati Mencit

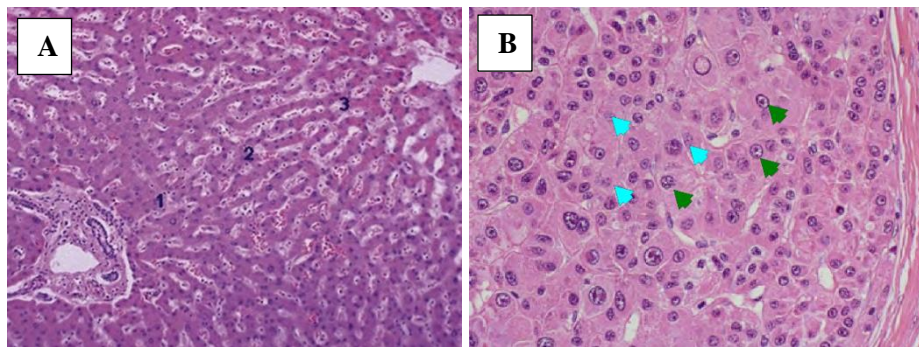
Pengamatan preparat histologi hati mencit dilakukan untuk mengetahui kondisi sel hati setelah diberi perlakuan ekstrak bawang hitam dengan dosis kontrol hingga dosis terbesar, untuk itu perlu dilakukan pembuatan preparat histologi hati. Metode pembuatan preparat histologi hati mencit menggunakan teknik parafinisasi. Teknik tersebut terdiri dari fiksasi, dehidrasi, clearing, infiltrasi, embedding, section, staining, hingga mounting. Fiksasi dilakukan menggunakan larutan buffer formalin 10% selama *overnight* dengan tujuan agar jaringan tersebut awet serta menghindari adanya kerusakan pada struktur jaringan dan komponen aktifnya (Sumarmin, 2018). Kemudian, dilanjutkan proses dehidrasi. Tahapan dehidrasi merupakan tahap agar air dan zat fiksatif dari komponen

jaringan menghilang. Tahap setelah dehidrasi adalah tahapan *clearing*. Tahapan *clearing* merupakan proses mengeluarkan agen dehidran dan menggantinya dengan suatu larutan yang dapat berikatan dengan media infiltrasi. Tahapan setelah *clearing* adalah tahapan infiltrasi. Infiltrasi ini adalah suatu tahapan memasukkan materi yang bersifat padat pada suhu ruang (teknik parafinisasi) (Khristian, 2018). Setelah itu, lanjut pada tahap penanaman organ ke dalam blok parafin untuk membuat lapisan tipis dari organ yang akan dijadikan preparat histologi hati.

Hati merupakan tempat utama masuknya zat asing ke dalam tubuh. Obat yang masuk ke dalam tubuh secara oral lalu diserap, beberapa dari zat tersebut akan mengalami metabolisme yang kemudian hasil dari metabolisme akan diedarkan melalui aliran darah ke bagian lain dengan tahap akhir yaitu dikeluarkan. Hati akan mengalami beberapa gangguan pada struktur selnya akibat efek detoksifikasi, sehingga akan terjadi keterbatasan fungsi organ ini yang disebabkan oleh adanya zat yang berlebih yang menjadi zat toksik. Dalam penelitian ini perlu untuk mengamati sel hepatosit dalam organ hati guna mengetahui keadaan sel yang telah diberi perlakuan ekstrak bawang hitam. Menurut Lu (1995), organ hepar sebagian besar tersusun atas sel hepatosit. Hepatosit memiliki peran penting terhadap sentral hepar dalam melakukan metabolisme. Letak dari sel-sel ini terdapat diantara sinusoid yang terisi darah dan saluran empedu. Jika sel hepar dalam keadaan rusak akibat oleh macam-macam faktor yang kemudian dapat menyebabkan serangkaian perubahan dari

morfologi pada sel hepar. Bentuk dari perubahan tersebut dapat bersifat subletal yaitu degeneratif maupun letal berupa nekrotik (Indarto, 2013).

Gambar 4.6 berikut sebagai perbandingan dengan histologi hasil penelitian pada gambar 4.6. Berdasarkan pengamatan yang dilakukan menunjukkan tanda-tanda kerusakan pada sel hepatosit dengan kerusakan nekrosis pada mikroskop dengan perbesaran 1000x dengan pewarnaan hematoxylin eosin pada gambar yang ditunjukkan oleh gambar 4.7.

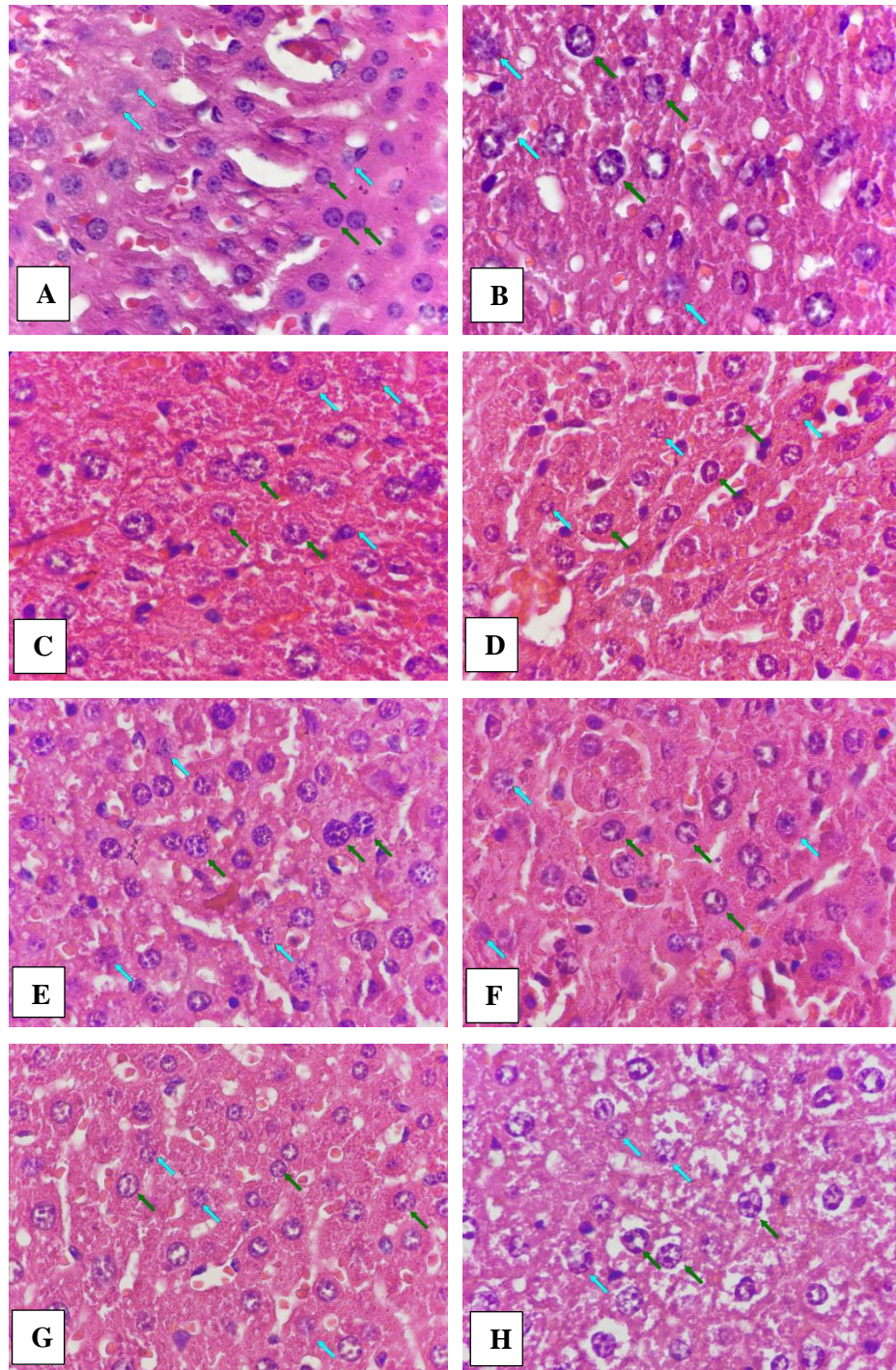


Gambar 4. 6 Histologi Hepar Mencit

(A) Zona Hepar Normal (B) Histologi Hepar Manusia yang Terpapar HCC
(Sel normal: panah hijau, sel rusak: panah biru).

keterangan: Zona 1 adalah perital dan menerima darah dengan konsentrasi oksigen tertinggi. Zona 2 meliputi pusat bagian dari lobulus hati (midzonal). Zona 3 adalah sentrilobular. Di dalam triad terdapat cabang-cabang empedu saluran, arteri hepatic, dan vena porta.

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



Gambar 4. 7 Histologi Hepar yang Mengalami Nekrosis
 Kelompok A. Kontrol B. Dosis 5 mg/kg BB C. Dosis 50 mg/kg BB
 D. 100 mg/kg BB E. 300 mg/kgBB F. 600 mg/kg BB G. 1000 mg/kg BB
 H. 2000 mg/kg BB
 (sel nekrosis: panah warna biru, sel normal: panah warna hijau)
 Sumber: (Data Pribadi, 2023)

Berdasarkan gambar 4.7 memperlihatkan gambar histologi hepar mencit yang mengalami nekrosis pada kelompok kontrol dan perlakuan

ekstrak bawang hitam dengan dosis 5, 50, 100, 300, 600, 1000, dan 2000 mg/kg BB. Ketika diamati di bawah mikroskop, terlihat terjadi perubahan berupa gambaran kromatin menghilang, inti mengalami kerutan, tidak lagi vaskular, inti terlihat lebih padat, warna lebih gelap/piknosis, intinya terbagi menjadi beberapa bagian, terkoyak/karioreksis, inti sel tidak lagi membutuhkan banyak warna karena pucat/tidak nyata/kariolisis (Himawan, 1992; Adinata *et al.*, 2012). Perubahan histologi hepar mencit yang berupa nekrosis diduga dapat dikarenakan masuknya zat dari luar tubuh oleh pengaruh dari kandungan zat yang berlebih dari perlakuan pemberian ekstrak bawang hitam sehingga menjadi zat toksik bagi sel hepatosit yang mengakibatkan terjadinya kerusakan seperti nekrosis. Nekrosis adalah kematian sel jaringan setelah cedera ketika individu masih hidup. Hal ini sejalan dengan penelitian Nursofia & Yulawati (2021) yang mengenai uji toksisitas akut ekstrak etanol daun kayu manis (*Cinnamomum burmanii*) pada fungsi hati tikus putih (*Mus musculus L.*) betina. Penelitian tersebut menggunakan dosis 250, 500, 1000, dan 2000 mg/kg BB. Hasil penelitian menunjukkan pada pemberian dosis 2000 mg/kg BB terdapat banyak kerusakan degenerasi parenkim, dengan jumlah sel hepatosit normal sedikit. Sel yang mengalami degenerasi mengalami robekan membran plasma dan mengalami perubahan pada inti sel, sehingga sel mengalami kematian atau nekrosis.

Kerusakan sel pada dosis kontrol bisa terjadi diduga disebabkan apoptosis dan faktor eksternal. Menurut Juan *et al.* (2011), kultur sel yang tidak diberi perlakuan terdeteksi adanya aktifitas caspase-3 yang

merupakan protein aktivasi apoptosis yang menimbulkan apoptosis sebesar 2-5%. Hal ini sejalan dengan hasil penelitian dari Kurniawan *et al.* (2016) mengenai histologi hati mencit (*Mus musculus* L.) yang diberi ekstrak daun lamtoro (*Leucaena leucocephala*), menunjukkan kerusakan sel tertinggi akibat apoptosis sebesar 1,52%. Oleh karena itu, jika hasil kerusakan sel dengan persentase melebihi jumlah kerusakan pada umumnya dapat disebabkan oleh faktor eksternal, salah satunya pada tahap pembuatan preparat histologi ketika proses fiksasi dengan formalin 10% yang kualitasnya kurang baik. Fiksasi adalah tahapan yang menjadi faktor keberhasilan pada pembuatan preparat histologi. Jika proses fiksasi terdapat kesalahan, maka pada tahap selanjutnya akan menjadi sia-sia. Hal tersebut dikarenakan hasil preparat dengan proses fiksasi yang salah dapat merusak sel pada sediaan, sehingga ketika diamati banyak terdapat kerusakan. Pada dasarnya larutan tersebut berfungsi untuk menembus sel, namun jika kurang optimal pada tahap fiksasi menyebabkan tidak bisa menghindari atau meminimalisir kerusakan sel dengan optimal. Fiksasi sendiri memiliki fungsi untuk mencegah proses degeneratif yang dimulai saat jaringan telah lepas dari kontrol tubuh serta kehilangan suplai darah. Proses degeneratif diartikan sebagai proses berhentinya metabolisme yang pada akhirnya menyebabkan kematian sel atau penghancuran sel (Erick & Dewi, 2017; Ramadhani, 2021). Hal ini dibuktikan dengan terdapatnya sel eritrosit pada bagian luar pembuluh darah pada histologi hati dengan perlakuan dosis kontrol hingga dosis 2000 mg/kg BB, yang diduga dikarenakan fiksasi yang kurang sempurna. Hasil tersebut sejalan dengan

penelitian Fajrina *et al.* (2018) mengenai gambaran kualitas sediaan jaringan hati menggunakan larutan fiksatif NBF 10% dan alkohol 70% pada pewarnaan HE (Hematoksilin-Eosin). Hasil penelitian pada penelitian tersebut menunjukkan hasil fiksasi yang baik dengan gambaran sel hepatosit yang tersebar merata pada inti sel berwarna biru dan tampak jelas berwarna merah pada sitoplasma. Sedangkan gambaran sel hepatosit yang tidak terfiksasi dengan baik menunjukkan sel hepatosit terlihat kasar dan terlihat tidak rata, warna biru inti sel dan sitoplasma yang berwarna merah terlihat jelas dengan warna yang pekat, serta sel eritrosit yang menyebar di luar pembuluh darah.

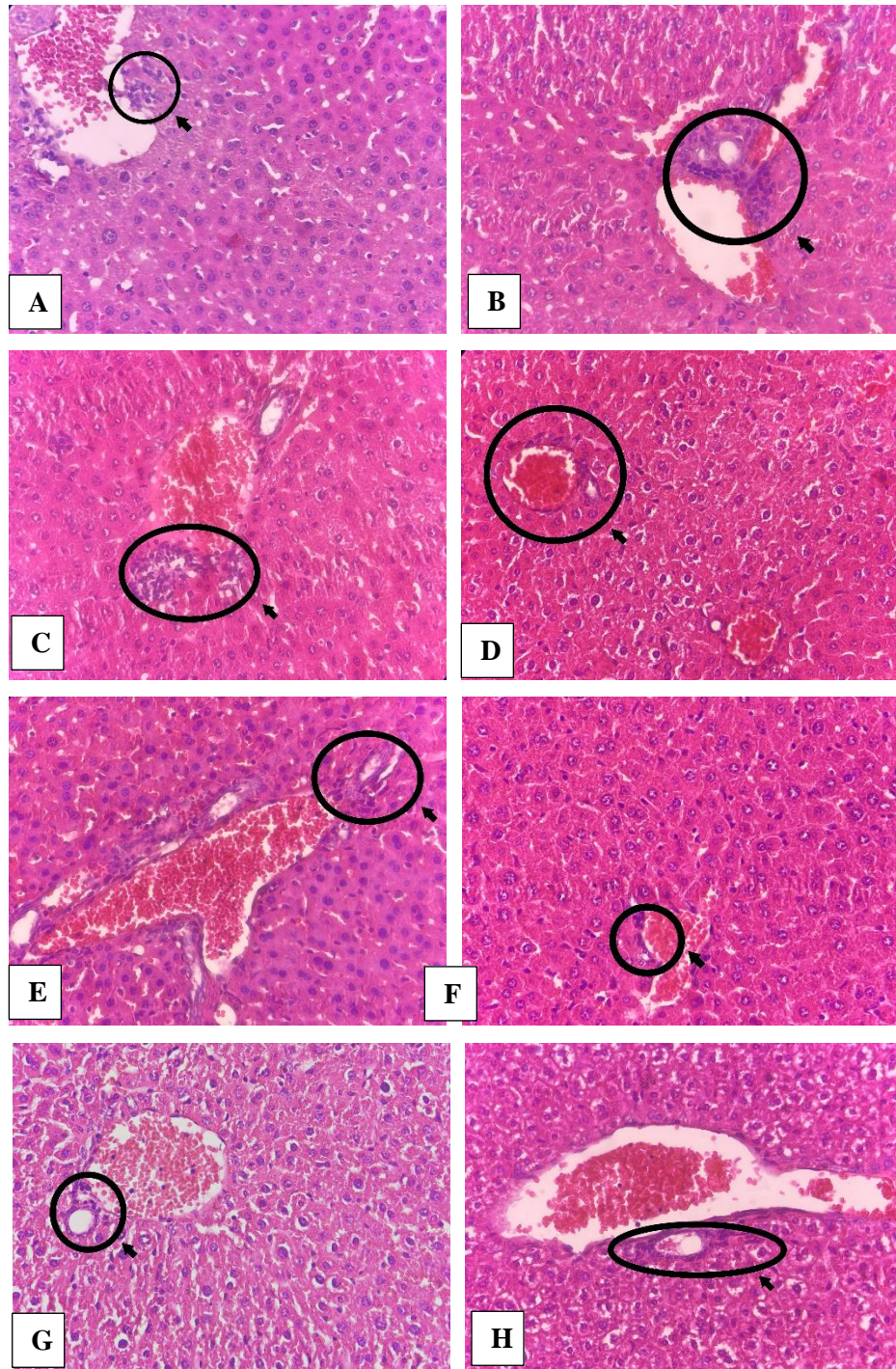
Selain itu, faktor eksternal berupa kesehatan dari mencit bisa menyebabkan kerusakan sel terjadi. Hal tersebut sejalan dengan penelitian Nugroho *et al.* (2014) mengenai efek protektif ekstrak etanol daun binahong (*Anredera Cordifolia* (Tenore) Steenis) terhadap gambaran histopatologi hati tikus putih yang diinduksi oleh etanol yang menggunakan dosis sebesar 50, 100, dan 200 mg/kg BB. Hasil penelitian tersebut menunjukkan adanya kerusakan sel pada dosis kontrol berupa pembengkakan sel pada kategori kerusakan ringan dengan kemungkinan penyebabnya adalah stress atau masalah kesehatan.

Hasil pengamatan pada kelompok dosis 5, 50, 100, 300, 600, 1000, dan 2000 mg/kg BB menunjukkan tingkat kerusakan sel yang lebih tinggi dari kelompok kontrol. Hal tersebut dapat disebabkan karena perlakuan ekstrak bawang hitam dengan yang mengakibatkan sel menjadi rusak karena pengaruh dari pemberian ekstrak bawang hitam terhadap organ hati

mencit. Nekrosis merupakan kematian sel atau jaringan pada organisme hidup yang dicirikan dengan berubahnya morfologi dikarenakan degradasi progresif oleh enzim-enzim pada sel yang terjadi kerusakan (Pramono, 2012; Oktarian *et al.*, 2019). Kematian sel adalah kerusakan yang sifatnya tidak dapat kembali ke normal, maka dari itu sel hepatosit tidak dapat kembali menjadi sel normal. Faktor terjadinya kematian sel dapat melalui proses apoptosis dan nekrosis sel. Apoptosis merupakan proses terjadinya sel yang mati secara terencana atau terprogram, sedangkan nekrosis ditandai dengan terdapatnya sel radang. Nekrosis bisa bersifat lokal ataupun difus dikarenakan oleh kekurangan oksigen, keadaan iksemia, anemia, dan gangguan peptide, serta bahan-bahan radikal bebas (Lu, 1995; Oktarian *et al.*, 2019).

Menurut Ressay (1984), kerusakan sel berupa nekrosis pada hepar dapat diakibatkan oleh efek masuknya zat yang memiliki sifat toksik seperti zat kimia atau toksin kuman (Guyton & Hall, 1997). Akibat dari suatu substansi toksik yang masuk ke dalam organ hati dengan jangka waktu yang lama dapat menyebabkan kerusakan berupa kematian sel pada lobulusnya. Tahapan nekrosis dimulai dari morfologi inti sel yang mengalami perubahan yaitu piknosis. Berikutnya adalah proses inti sel menjadi pecah (karioreksis) kemudian inti sel menghilang (kariolisis) (Robbins, 1992; Adikara *et al.*, 2013). Selain dipengaruhi oleh jangka waktu, kerusakan sel juga dipengaruhi banyaknya jumlah zat kimia yang masuk ke dalam organ hepar, sehingga dapat menyebabkan adanya kerusakan sel, seperti infiltrasi sel radang dan nekrosis (Guyton & Hall,

1997). Berikut adalah hasil dari pengamatan histologi berupa infiltrasi sel radang dengan perbesaran 400x dengan pewarnaan hematoxylin eosin.



Gambar 4. 8 Histologi Hepar yang Mengalami Infiltrasi Sel Radang
 Kelompok A. Kontrol B. Dosis 5 mg/kg BB C. Dosis 50 mg/kg BB D. 100 mg/kg BB
 E. 300 mg/kg BB F. 600 mg/kg BB G. 1000 mg/kg BB H. 2000 mg/kg BB
 (Infiltrasi sel: panah warna hitam)
 Sumber: (Data Pribadi, 2023)

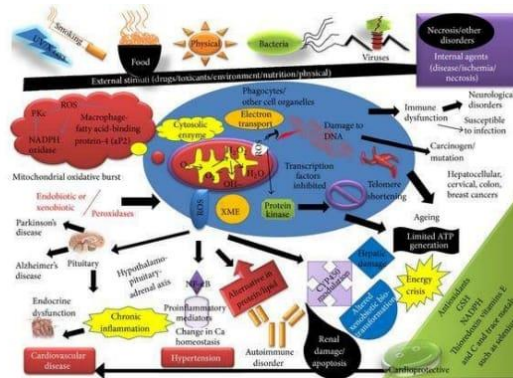
Berdasarkan gambar 4.8 menunjukkan gambar histologi hepar mencit yang mengalami infiltrasi sel pada kelompok kontrol dan perlakuan ekstrak bawang hitam dengan dosis 5, 50, 100, 300, 600, 1000, dan 2000 mg/kg BB. Tingkatan infiltrasi sel radang ditentukan dari keberadaannya pada tiap lapang pandang. Pada dosis kontrol dan dosis 5 mg/kg BB ditemukan infiltrasi sel radang pada beberapa lapang pandang, sedangkan dosis 50, 100, 300, 600, 1000, dan 2000 mg/kg BB ditemukan infiltrasi sel radang di seluruh lapang pandang. Menurut Wiralaga *et al.* (2015) infiltrasi sel radang pada beberapa lapang pandang dikategorikan dalam tingkatan sedang, sedangkan jika ditemukan infiltrasi sel radang di seluruh lapang pandang yang dikategorikan dalam tingkatan parah. Hal tersebut menandakan bahwa semakin besar kerusakan sel semakin besar terjadinya infiltrasi sel radang. Keadaan infiltrasi sel radang yaitu mekanisme respon yang menunjukkan tanda adanya jaringan yang rusak dan bertindak sebagai respon protektif terhadap penyebab kerusakan jaringan atau debris seluler (Kumar *et al.*, 2004; Azzahra, 2020). Seperti yang ditunjukkan pada gambar 4.8 tersebut, peradangan pada hati dicirikan dengan adanya sel-sel radang berupa fagosit, yaitu limfosit infiltrasi dan leukosit polimorfonuklear yang bisa dilihat secara mikroskopis di jaringan hati. Secara mikroskopis, seluruh infiltrasi sel ditunjukkan dengan adanya sel radang dengan ciri-ciri warna ungu (Swarayana *et al.*, 2012; Cahyani *et al.*, 2021). Inflamasi disebut juga reaksi peradangan menjadi mekanisme yang penting bagi tubuh sebagai bentuk pertahanan diri dari bahaya yang menyebabkan terganggunya keseimbangan serta memiliki fungsi untuk

perbaiki struktur dan fungsi jaringan yang terganggu sebab timbulnya bahaya tersebut (Baratawidjaya, 2002; Adikara *et al.*, 2013). Mekanisme respon inflamasi adalah menarik fagosit dan protein plasma ke tempat kerusakan jaringan untuk mengisolasi, menghancurkan dan menonaktifkan penyebab kerusakan, serta menyiapkan jaringan untuk proses regenerasi. Penyebab peradangan termasuk senyawa kimia, trauma fisik dan agen mikrobiologis (Azzahra, 2020; Corwin, 2008).

Zat yang menyebabkan adanya perubahan histologi pada hepar diduga disebabkan kandungan yang dimiliki zat tersebut terlalu banyak maka mengakibatkan terganggunya metabolisme dalam hati untuk menyerap zat yang masuk dari luar tubuh. Zat tersebut dapat berupa senyawa flavonoid dan tanin yang terkandung dalam ekstrak bawang hitam. Kedua senyawa tersebut termasuk senyawa antioksidan yang jika masuk dalam tubuh akan terjadi proses absorpsi, metabolisme, distribusi, dan ekskresi. Hal tersebut berlaku pada bawang hitam dimana ekstraknya mengandung antioksidan. Menurut penelitian Agustina *et al.* (2020) tentang aktivitas antioksidan bawang hitam, menunjukkan bahwa ekstrak bawang hitam dengan lama pemanasan 15, 25, dan 35 hari memiliki potensi antioksidan yang sangat kuat. Pada saat masuk ke dalam tubuh, senyawa tersebut akan mengalami proses metabolisme di hepar (Lu, 2010).

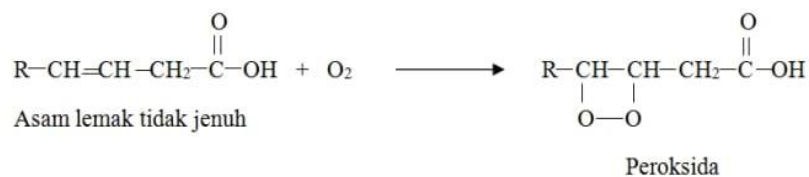
Antioksidan yang tinggi juga bisa menimbulkan efek pada laju oksidasi sehingga antioksidan menjadi prooksidan. Tingginya konsentrasi antioksidan yang masuk dapat berpengaruh pada aktivitas antioksidan kelompok fenolik yang dapat menjadi lenyap sehingga bisa menjadi

prooksidan (Gordon, 1990; Suaniti *et al.*, 2017). Antioksidan merupakan salah satu kelompok prooksidan karena dapat bertindak sebagai prooksidan dalam mekanismenya saat kondisi tertentu, sistem saraf pusat memiliki tingginya sensitifitas terhadap kerusakan tersebut yang menyebabkan kerusakan pada lipid sel dikarenakan jumlah antioksidan yang kecil (Rahal *et al.*, 2014). Gambar 4.9 berikut merupakan mekanisme prooksidan.



Gambar 4. 9 Mekanisme Prooksidan
Sumber: (Rahal *et al.*, 2014)

Senyawa radikal menyebabkan peroksidasi lipid membran terutama asam lemak tidak jenuh. Peroksidasi lipid merupakan proses kimiawi yang kompleks akibat adanya reaksi PUFA (Polyunsaturated Fatty Acid) penyusun fosfolipid membran sel dengan senyawa ROS (Reactive Oxygen Species) membentuk hidroperoksida (Yuliandari *et al.*, 2023). Mekanisme peroksidasi lipid terhadap asam lemak tidak jenuh ditunjukkan pada gambar 4.10.

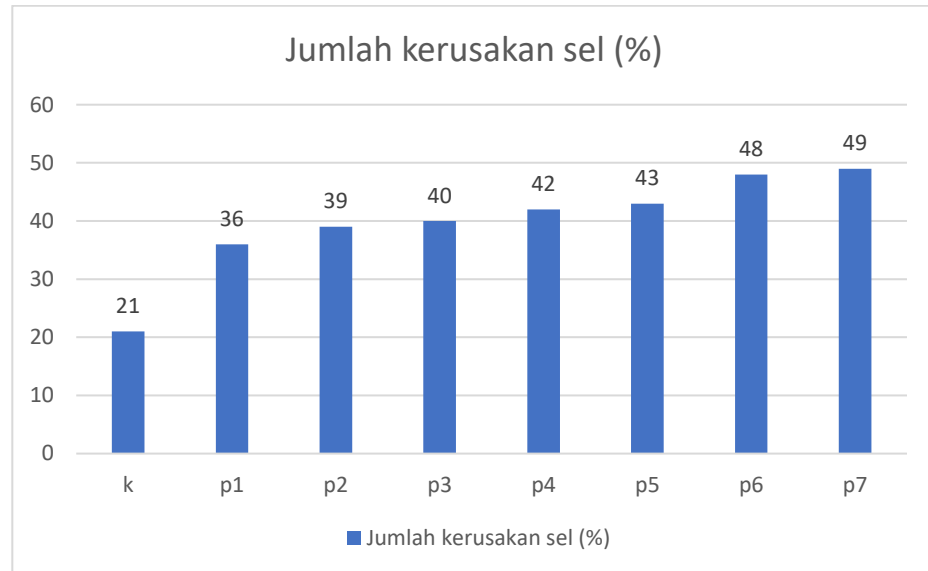


Gambar 4. 10 Mekanisme Prooksidan terhadap Asam Lemak Tak Jenuh
Sumber: (Suaniti *et al.*, 2017)

Penelitian yang dilakukan oleh Eghbaliferiz & Iranshahi (2016) menyebutkan terdapat aktivitas prooksidan dari senyawa polifenol dan flavonoid. Jumlah dosis yang rendah dari senyawa polifenol berfungsi mencegah peroksidasi lipid dan stress oksidatif. Sebaliknya, jika dalam jumlah yang besar, pH basa, dan adanya molekul oksigen, antioksidan tersebut dapat menjadi prooksidan. Paparan zat tersebut jika masuk ke dalam tubuh secara terus menerus akan menimbulkan efek toksik semakin besar. Hal itu dibuktikan oleh sebagian sel hepatosit mengalami kematian sel/nekrosis. Nekrosis merupakan lanjutan dari tahap degenerasi karena sel-sel tubulus menyerap terlalu banyak bahan-bahan yang mengakibatkan terjadi kematian sel (Nurdiniyah *et al.*, 2015).

Berdasarkan pengamatan sel hepatosit pada preparat histologi hati mencit yang menunjukkan kerusakan berupa nekrosis pada kelompok kontrol dan kelompok perlakuan pemberian ekstrak bawang hitam dosis 5, 50, 100, 300, 600, 1000, dan 2000 mg/kg BB. Selanjutnya hasil perhitungan kerusakan sel didapatkan dari menghitung sel yang rusak kemudian ditotal dengan mempersentasekan skor. Kemudian, total skoring tersebut dirata-rata untuk melihat tingkatan kerusakan sel yang paling rendah dan yang paling tinggi. Setelah didapatkan rata-rata total persentase kelompok kontrol dan kelompok perlakuan pemberian ekstrak bawang hitam dosis 5, 50, 100, 300, 600, 1000, dan 2000 mg/kg BB pada gambar 4.6, maka akan dilanjutkan uji normalitas dan uji homogenitas untuk mengetahui kenormalan dan kehomogenan data yang diperoleh. Setelah dilakukan uji normalitas dan homogenitas, menghasilkan data yang berdistribusi normal

dan homogen kemudian dilanjutkan uji *one-way anova* untuk mengetahui ada atau tidaknya pengaruh dari pemberian ekstrak bawang hitam terhadap histopatologi hati secara signifikan.



Gambar 4. 11 Rerata Persentase Kerusakan Sel
(k: control, p1: 5 mg/kg BB p2: 50 mg/kg BB p3: 100 mg/kg BB p4: 300 mg/kg BB p5: 600 mg/kg BB p6: 1000 mg/kg BB p7: 2000 mg/kg BB)
Sumber: (Data Pribadi, 2023)

Gambar 4.11 menunjukkan hasil persentase kelompok kontrol dan kelompok perlakuan pemberian ekstrak bawang hitam dosis 5, 50, 100, 300, 600, 1000, dan 2000 mg/kg BB. Kelompok kontrol menunjukkan persentase rata-rata persentase dengan tingkat kerusakan berupa nekrosis sebesar 21% kerusakan dari seluruh lapang pandang histologi hati yang diamati di bawah mikroskop, sehingga dikategorikan dengan kerusakan ringan. Sedangkan pada kelompok perlakuan pemberian ekstrak bawang hitam menunjukkan semakin tinggi dosis yang diberikan semakin meningkat pula rata-rata persentase kerusakan selnya. Kerusakan paling tinggi didapatkan pada kelompok perlakuan pemberian ekstrak bawang hitam dengan dosis 2000 sebesar 49% yang termasuk kategori kerusakan

sedang. Hasil uji *one-way anova* didapatkan nilai *P-Value* dengan nilai 0,000 yang artinya nilai $p < 0,05$, sehingga disimpulkan terdapat pengaruh yang signifikan antara perlakuan dengan jumlah kerusakan sel, sehingga dapat dilanjut uji post hoc untuk mengetahui beda nyata antar dosis. Berikut tabel 4.2 menunjukkan hasil uji post hoc.

Tabel 4. 2 Hasil Uji Beda Nyata Perbedaan Kerusakan Sel Antar Dosis

Perlakuan	Rata-rata persentase kerusakan sel \pm SD
Kontrol	21.3333 \pm 1.52753 ^a
Dosis 5	36.3333 \pm 3.51188 ^b
Dosis 50	38.6667 \pm 1.52753 ^b
Dosis 100	40.3333 \pm 1.52753 ^b
Dosis 300	41.6667 \pm 4.04145 ^{bc}
Dosis 600	42.6667 \pm 2.51661 ^{bcd}
Dosis 1000	48.0000 \pm 3.60555 ^{cd}
Dosis 2000	49.3333 \pm 7.37111 ^d

Keterangan: huruf abcd merupakan penanda ada tidaknya perbedaan secara signifikan

Berdasarkan hasil tabel 4.2 pada perlakuan dosis kontrol menunjukkan hasil perbedaan nilai rata-rata yang signifikan dengan dosis 5, 50, 100, 300, 600, 1000, dan 2000 mg/kg BB untuk perlakuan dosis 5 menunjukkan hasil perbedaan nilai rata-rata yang signifikan dengan dosis kontrol, 1000, dan 2000 mg/kg BB, untuk perlakuan dosis 50 mg/kg BB menunjukkan hasil perbedaan nilai rata-rata yang signifikan dengan dosis kontrol, 1000, dan 2000 mg/kg BB, untuk perlakuan dosis 100 mg/kg BB menunjukkan hasil perbedaan nilai rata-rata yang signifikan dengan dosis kontrol, 1000 dan 2000 mg/kg BB, untuk perlakuan dosis 300 mg/kg BB menunjukkan hasil perbedaan nilai rata-rata yang signifikan dengan dosis kontrol dan 2000 mg/kg BB, untuk perlakuan dosis 600 mg/kg BB menunjukkan hasil perbedaan nilai rata-rata yang signifikan dengan dosis

kontrol, untuk perlakuan dosis 1000 mg/kg BB menunjukkan hasil perbedaan nilai rata-rata yang signifikan dengan dosis kontrol, 5, 50 dan 100 mg/kg BB dan untuk perlakuan dosis 2000 mg/kg BB menunjukkan hasil perbedaan nilai rata-rata yang signifikan dengan dosis kontrol, 5, 50, 100, dan 300 mg/kg BB. Perlakuan yang memiliki *superscript* yang sama akan mendapatkan hasil nilai rata-rata yang tidak berbeda signifikan, begitu pula dengan perlakuan yang memiliki *superscript* yang berbeda maka akan menghasilkan nilai rata-rata yang berbeda signifikan. Hasil rata-rata kerusakan sel terbesar pada uji duncan terdapat pada dosis 2000 mg/kg BB yang menghasilkan nilai rata-rata sebesar 56,70441. Perlakuan tersebut dinyatakan berbeda signifikan dengan dosis kontrol, 5, 50, 100, dan 300 mg/kg BB. Hasil tersebut sejalan dengan penelitian Maliza *et al.* (2019) yang meneliti tentang uji toksisitas subkronis ekstrak metanol kulit buah kopi arabika (*Coffea arabica* L.) pada ginjal mencit (*Mus musculus* L.) Galur BALB/c selama 28 hari. Hasil dari uji lanjut duncan menunjukkan perbedaan nyata pengaruh pada histologi organ antar dosis, nilai tertinggi yang didapatkan sebesar $0,576 \pm 0,288$ pada dosis terbesar, yaitu dosis 1000 mg/kg BB dengan hasil selanjutnya diikuti oleh dosis 500 mg/kgBB dengan nilai sebesar $0,313 \pm 0,020$, 250 sebesar $0,213 \pm 0,005$ dan 75 mg/kg BB sebesar $0,170 \pm 0,000$. Terjadinya kerusakan sel tersebut diduga karena konsentrasi yang tinggi dari kandungan senyawa aktif dalam ekstrak metanol kulit buah kopi arabika (*Coffea arabica* L.). seperti tanin, alkaloid, dan saponin, sehingga sesuai dengan pernyataan Rasyid (2012) Semakin besar dosis menjadi semakin besar pula zat aktif yang terkandung dalam

suspensi ekstrak, hal tersebut dikarenakan suatu dosis menjadi hal yang penting untuk menentukan suatu zat kimia yang toksik bagi organ (Ginting, 2018).

Kerusakan yang terjadi pada sel hati mencit menunjukkan bahwa dosis yang diberikan selama 28 hari belum aman, hal tersebut dikarenakan pada seluruh dosis dengan perlakuan pemberian ekstrak bawang hitam termasuk kategori sedang yaitu sebesar >30% dimana seharusnya dosis yang aman pada kategori kerusakan yang rendah atau tidak ada kerusakan yang terjadi pada sel hati mencit. Menurut (Fitmawati *et al.*, 2018) persentase jumlah kerusakan sel yang dikategorikan ringan bukan termasuk patologi, melainkan kerusakan dalam keadaan normal. Oleh sebab itu, diperlukan uji lanjutan dengan menggunakan dosis yang lebih rendah atau dengan pemberian ekstrak dengan rentang waktu lebih singkat untuk mengetahui dosis aman untuk dikonsumsi. Hal tersebut sejalan dengan penelitian oleh Amaliyah (2015) tentang uji toksisitas subkronik ekstrak air daun katuk (*Sauropus androgynus* (L.) Merr.) terhadap berat jantung dan histologi jantung tikus putih. Hasil penelitian menunjukkan terdapat kerusakan sel otot jantung tikus (*Rattus norvegicus*) dengan dosis 45 mg/kgBB yang terjadi kerusakan sel sebesar 12,47 %, dosis 60 mg/kg BB sebesar 22,6%, dan dosis 75 mg/kg BB sebesar 27,43%, sedangkan pada dosis kontrol terjadi kerusakan sebesar 7,2%. Sehingga dosis yang aman digunakan adalah dosis 45 mg/kg BB yang terjadi kerusakan sel sebesar 12,47 % yang termasuk dalam kategori kerusakan ringan.

Penelitian lain oleh Traesel *et al.* (2016) tentang uji toksisitas akut dan subkronik minyak pequi pada tikus Wistar betina secara oral, hasil uji toksisitas akut dengan dosis tunggal 2000 mg/kg BB yang diamati selama 14 hari menunjukkan tidak ada perubahan maupun kematian yang diamati, dengan nilai LD₅₀ lebih tinggi dari 2000 mg/kg BB. Sedangkan hasil dari uji toksisitas subkronis, tikus jantan dan betina Wistar dengan dosis 125, 250, 500 atau 1000 mg/kg BB selama 28 hari tidak menghasilkan perubahan signifikan dalam perilaku, fisiologis, biokimia atau parameter histopatologis pada hewan. Beberapa kelainan hematologis ditemukan setelah perlakuan uji subkronik. Hasil ini menunjukkan toksisitas rendah dari akut dan subkronis terhadap minyak pequi pada tikus.

Penelitian lain oleh Maliza *et al.* (2019) yang meneliti tentang uji toksisitas subkronis ekstrak metanol kulit buah kopi arabika (*Coffea arabica* L.) pada ginjal mencit (*Mus musculus* L.) Galur BALB/c selama 28 hari. Hasil dari pengamatan histologi ginjal mencit menunjukkan adanya nekrosis sel, infiltrasi sel, dan hemoragi. Uji lanjut duncan menunjukkan perbedaan nyata pengaruh pada histologi organ antar dosis, nilai tertinggi yang didapatkan sebesar $0,576 \pm 0,288$ pada dosis terbesar, yaitu dosis 1000 mg/kgBB dengan hasil selanjutnya diikuti oleh dosis 500 dengan nilai sebesar $0,313 \pm 0,020$, 250 sebesar $0,213 \pm 0,005$ dan 75 mg/kg BB sebesar $0,170 \pm 0,000$.

Penelitian lain oleh Ginting (2018) yang meneliti tentang kajian ketoksikan ekstrak etanol kulit buah markisah ungu (*Passiflora edulis* Sims.) terhadap hati mencit selama 14 hari, dengan hasil penelitian pada

kelompok kontrol, dosis 500, dan 1000 mg/kg BB tidak menunjukkan gejala toksik, namun pada pemberian dosis 2000 dan 5000 mg/kgBB menunjukkan gejala toksik berupa nekrosis sel dan hemoragi yang meluas.

Penelitian lain oleh Auta (2021) penelitian tentang toksisitas subkronik ekstrak larutan abu kayu dari *Parkia bigbilosa* pada *Mus musculus*. Dengan dosis 5, 50, 100, 300, 500, 1000, 1500, dan 2000 mg/kg BB. Hasil penelitian terdapat kematian pada mencit sebesar 10-70% pada kelompok perlakuan dalam waktu 48 jam setelah pemberian ekstrak, kematian sebesar 30-70% pada kelompok perlakuan dosis 5, 50, 100, 300, 500, 1000, 1500, dan 2000 mg/kg BB dalam waktu 14 hari setelah pemberian ekstrak, dan kematian sebesar 40-50% pada kelompok perlakuan dosis 5, 50, dan 100 mg/kg BB dalam waktu 90 hari. Hasil pengamatan histologi menunjukkan pada kelompok perlakuan dosis 5, 50, dan 100 mg/kgBB dalam waktu 90 hari terdapat perubahan yang signifikan terhadap organ ginjal. Penelitian ini menyimpulkan bahwa ekstrak larutan abu kayu dari *Parkia bigbilosa* dapat membahayakan kesehatan jika dikonsumsi dalam jangka waktu yang lama karena mempengaruhi fungsi hati dan ginjal. Hal tersebut dibuktikan dengan adanya peningkatan dosis yang juga meningkatkan ASP, ALT, dan ALP pada kelompok perlakuan ekstrak larutan abu kayu dari *Parkia bigbilosa*.

Penelitian lain oleh Donkor *et al.* (2014) tentang Studi Toksisitas Akut dan Subkronis dari Ekstrak Air Akar Kulit *Cassia Sieberiana* D.C. pada Hewan Pengerat. Hasil penelitian menunjukkan bahwa pemberian 5000 mg/kg BB selama 14 hari dan pemberian (*C. sieberiana*) NPK selama

3 bulan pada hewan tidak mengakibatkan kematian. Hasil uji subkronik berdasarkan uji hematologi menunjukkan tidak ada perbedaan yang signifikan ($p > 0,05$) antara kontrol dan perlakuan. Hasil dari pengamatan mikroskop hati jika dibandingkan dengan kontrol menunjukkan adanya nekrosis di bagian sentrilobular pada dosis 750 mg/kg BB. Oleh karena itu, hasil perhitungan dari LD₅₀ menunjukkan bahwa toksisitas oral NPK pada hewan pengerat dikategorikan rendah (LD₅₀ oral > 5000 mg/kg). Namun, ekstrak mungkin memiliki efek buruk pada hati pada dosis tinggi pada pemberian jangka panjang.

Kerusakan yang terjadi pada sel di hepar merupakan bentuk agar mengkonsumsi sesuatu yang sesuai dengan takaran. Allah SWT telah mengatur setiap ciptaannya sesuai dengan ukurannya, tidak kurang maupun lebih. Islam mengajarkan bahwa seluruh ciptaan Allah tidak ada yang tidak bermanfaat, semua memiliki manfaat, termasuk aneka macam tumbuhan yang dijadikan obat, diperlukan adanya penelitian untuk mengetahui kandungan dan manfaatnya. Sebagaimana Allah swt, berfirman dalam Q.S. Asy-Syu'ara (26) ayat 7:

أَوَلَمْ يَرَوْا إِلَى الْأَرْضِ كَمْ أَنْبَتْنَا فِيهَا مِنْ كُلِّ زَوْجٍ كَرِيمٍ

Artinya: "*Dan apakah mereka tidak memperhatikan bumi, betapa banyak Kami tumbuhkan di bumi itu berbagai macam (tumbuh-tumbuhan) yang baik?*" (Q.S. Asy-Syu'ara' (26): 7).

Berdasarkan ayat di atas, dapat dipahami bahwa Allah SWT telah memberikan petunjuk agar manusia dapat mengembangkan dan memperluas ilmu pengetahuan, salah satunya ilmu yang mempelajari obat-

obat yang berasal dari tumbuh-tumbuhan. Penetapan batas berfungsi untuk melindungi manusia dari mudharat yang timbul akibat melakukan sesuatu yang melampaui batas. Makan dan minum dengan ukuran yang berlebihan dapat menyebabkan timbulnya penyakit. Telah terbukti bahwa konsumsi ekstrak bawang hitam secara terus-menerus selama periode tertentu berpengaruh terhadap kerusakan sel pada organ. Oleh karena itu, Allah SWT memerintahkan untuk tidak berbuat sesuatu yang berlebihan, terlebih dalam hal makanan dan minuman. Hal tersebut tercantum dalam sabda Rasulullah SAW, yaitu:

“Makan, minum, dan bersedekahlah (dengan catatan) tidak berlebihan (israf) dan juga tidak sombong (makhilah).” (HR. Al-Hakim)

Dalam riwayat Ibnu Abbas disebutkan bahwa Rasulullah SAW bersabda:

“Makanlah dan minumlah apa yang kamu suka, sesungguhnya yang membuat engkau salah ada dua hal, yaitu: sikap berlebih-lebihan (israf) dan sikap sombong (makhilah)” (HR. Al-Bukhari).

Menurut tafsir Al-Asqalani (2009) pada hadits di atas, kata *Isrāf* selalu disandingkan dengan kata *Makhīlah* yang berarti sombong, berbeda dengan al-Qur'an yang menyebutkan kata *Isrāf* secara individu. Arti kata “berlebihan” dan “sombong” yaitu manusia tidak dianjurkan untuk melakukan hal tersebut baik dalam hal yang dapat dikonsumsi maupun dipakai atau selainnya bisa karena suatu maksud, yaitu melampaui batas. Oleh karena itu, yang berkaitan pada penelitian ini adalah kata yang terkandung dalam hadits tersebut, yaitu *Isrāf* dan *Makhīlah*. Kata *Isrāf* dalam hadits bermakna berlebihan dan melampaui batas terhadap segala perbuatan, sedangkan dalam Al-Qur'an, kata *Isrāf* berarti melampaui batas dalam hal makanan berpakaian.

BAB V

PENUTUP

5.1 Simpulan

1. Hasil penelitian menunjukkan semakin besar dosis perlakuan pemberian ekstrak etanol bawang hitam semakin besar hasil persentase kerusakannya pada histopatologi hati mencit dengan persentase kerusakan sel nekrosis tertinggi adalah sebesar 49% pada dosis 2000 mg/kg BB.
2. Penggunaan dosis yang aman untuk dikonsumsi belum ditemukan pada penelitian ini dikarenakan kerusakan sel yang ditemukan > 30% dengan kategori kerusakan sedang.

5.2 Saran

Hasil penelitian ini belum menemukan dosis aman sehingga diperlukan uji lanjutan dengan menggunakan dosis yang lebih rendah atau dengan pemberian ekstrak dengan rentang waktu lebih singkat untuk mengetahui dosis aman untuk dikonsumsi.

DAFTAR PUSTAKA

- Adikara, I. P. A., Winaya, I. B. O., & Sudira, I. W. (2013). Studi histopatologi hati tikus putih (*Rattus norvegicus*) yang diberi ekstrak etanol daun kedondong (*Spondias dulcis* G.Forst) secara oral. *Buletin Veteriner Udayana*, 5(2), 107–113.
- Adinata, M.O., Sudira, I.W. and Berata, I. K. (2012). Efek Ekstrak Daun Ashitaba (*Angelica keiskei*) Terhadap Gambaran Histopatologi Ginjal Mencit (*Mus musculus*) Jantan. *Buletin Veteriner Udayana*, 4(2), 55–62.
- Agustina, E., Andiarna, F., & Hidayati, I. (2020). Uji Aktivitas Antioksidan Ekstrak Bawang Hitam (*Black Garlic*) Dengan Variasi Lama Pemanasan. *Al-Kauniah: Jurnal Biologi*, 13(1), 39–50. <https://doi.org/10.15408/kauniah.v13i1.12114>
- Ahada, A. H. U. (2018). *Efek Pemberian Ekstrak Daun Semanggi Air (Masilea Crenata) Pada Tikus Putih (Rattus Norvegicus) Betina Terhadap Kadar Serum Glutamic Oxaloacetyl Transaminase (Sgot) Dan Serum Glutamic Piruvic Transaminase (Sgpt) Serta Histopatologi Hepar*. Universitas Brawijaya.
- Ahmed, R. A. (2018). Hepatoprotective and antiapoptotic role of aged black garlic against hepatotoxicity induced by cyclophosphamide. *The Journal of Basic and Applied Zoology*, 79(1). <https://doi.org/10.1186/s41936-018-0017-7>
- Al-Asqalani, I. H. (2009). *Fathul Baari: Syarah Shahih Bukhari, J.28. terj. Amiruddin*. Pustaka Azam.
- Amaliyah, F. R. (2015). *Uji toksisitas subkronik ekstrak air daun katuk (Sauropus androgynus L. Merr.) terhadap berat jantung dan histologi jantung pada tikus putih (Rattus norvegicus) betina (Issue 1)*. Universitas Islam Negeri Maulana Malik Ibrahim.
- Amrulloh, R., Hidayah, B. N., & Ghazali, M. (2019). Analisis karakter morfologi dan fisiologis bawang putih *Allium sativum* Var. sangga sembalun pada dua

- karakteristik budidaya yang berbeda di Sembalun Lombok Timur. *BioWallacea*, 5(1), 23–28. <https://doi.org/10.29303/biowal.v5i1.105>
- Andriani, D., & Murtisiwi, L. (2018). Penetapan Kadar Fenolik Total Ekstrak Etanol Bunga Telang (*Clitoria Ternatea* L.) Dengan Spektrofotometri Uv Vis. *Cendekia Journal of Pharmacy*, 2(1), 32–38. <https://doi.org/10.31596/cjp.v2i1.15>
- Ardiani, T., & Azmi, R. N. (2021). Identifikasi Kejadian Hepatotoksik pada Pasien Tuberkulosis dengan Penggunaan Obat Anti Tuberkulosis di Rumah Sakit Umum Daerah Abdul Wahab Sjahrane. *Borneo Student Research*, 3(1), 978–985.
- Ardianti, A. and Kusnadi, J. (2014). Ekstraksi antibakteri dari daun berenuk (*Crescentia cujete* Linn.) menggunakan metode ultrasonik. *Jurnal Pangan Dan Agroindustri*, 2(2), 28–35.
- Arome, D. and Chinedu, E. (2013). The importance of toxicity testing. *J. Pharm. BioSci.*, 4, 146–148.
- Arsad, S.S., Esa, N.M. and Hamzah, H. (2014). Histopathologic changes in liver and kidney tissues from male Sprague Dawley rats treated with *Rhaphidophora decursiva* (Roxb.) Schott extract. *J Cytol Histol S*, 4(1), 1-6.
- Aufia, W., Amal, S. and Marfu'ah, N. (2018). Uji toksisitas sub akut infusa daun afrika (*Vernonia amygdalina* Del.) terhadap histopatologi hati mencit (*Mus musculus*) galur BALB/c. *Pharmaceutical Journal of Islamic Pharmacy*, 2(1), 1–8.
- Auta, T. (2021). Sub-chronic toxicity of the aqueous wood-ash extract of *Parkia biglobosa* in *Mus musculus*. *Life Res*, 4(1), 1–9. <https://doi.org/10.12032/life2021-0118-304>
- Azzahra, H. (2020). Pengaruh pemberian Natrium Nitrit terhadap fungsi enzimatis kadar Alanine Transaminase (ALT) dan Aspartate Transaminase (AST) serta gambaran histopatologis organ hati Tikus Putih (*Rattus norvegicus*). UIN Sunan Ampel Surabaya.

- Baratawidjaya, K. G. (2002). *Imunologi Dasar*. Balai Penerbit Fakultas Kedokteran UI.
- Boyer, T.D., Manns, M.P. and Sanyal, A. J. (2012). Zakim and Boyer's hepatology: a textbook of liver disease. In *PA: Saunders*.
- BPOM RI. (2011). *Pedoman Uji Toksisitas Nonklinik Secara In Vivo*. Pusat Riset Obat dan Makanan BPOM RI.
- BPOM RI. (2014). *Pedoman Uji Toksisitas Secara In Vivo*. Menteri Hukum dan HAM.
- Cahyani, D., Maliza, R. and Setiawan, H. (2021). Pengaruh Pemberian Ekstrak Kulit Buah Kopi Arabika (*Coffea arabica* L.) terhadap Histopatologi Hati Mencit (*Mus musculus* L.) yang Diinduksi dengan Etanol. *JBNS (Journal of Biotechnology and Natural Science)*, 1(1), 12–20.
- Ceriana, R. and Sari, W. (2016). Perubahan Struktur Makroskopis Hati Dan Ginjal Mencit Yang Diberi Ekstrak Batang Sipatah-Patah (*Cissus quadrangula* Salisb.). *Jurnal.Ar-Raniry.Ac.Id, Mescher 2010*, 196–202.
- Chen, Y.C., Kao, T.H., Tseng, C.Y., Chang, W.T. and Hsu, C. L. (2014). Methanolic extract of black garlic ameliorates diet-induced obesity via regulating adipogenesis, adipokine biosynthesis, and lipolysis. *Journal of Functional Foods*, 9(1), 98–108. <https://doi.org/10.1016/j.jff.2014.02.019>
- Corwin, E. J. (2008). *Handbook of Pathophysiology 3th Edition*. Wolters Kluwer Health/Lippincott Williams & Wilkins.
- Cronquist, A. (1981). *An Integrates System of Classification of Flowering Plants*. Columbia University Press.
- Devifatimah, R. Z. (2019). Efektivitas Sifat Hepatoprotektor Serbuk Bawang Hitam Dari Bawang Lanang (*Allium sativum* L.) Pada Tikus Wistar Jantan Yang Diinduksi Parasetamol (Kajian Kadar Sod, Mda Serum Dan Histopatologi Hepar). In *Fakultas Teknologi Pertanian Universitas Brawijaya, Malang* (Vol. 122). Universitas Brawijaya.

- Dhuha, N. S., Haeria, H., & Putri, H. E. (2019). Toksisitas Akut Ekstrak Etanol Daun Bidara (*Ziziphus spina-christi* L.) berdasarkan Gambaran Morfologi dan Histologi Hati Mencit. *Ad-Dawaa' Journal of Pharmaceutical Sciences*, 2(1). <https://doi.org/10.24252/djps.v2i1.6706>
- Djajanegara, I., and Wahyudi, P. (2009). Pemakaian Sel HeLa dalam Uji Sitotoksisitas Fraksi Kloroform dan Etanol Ekstrak Daun *Annona squamosa*. *Jurnal Ilmu Kefarmasian Indonesia*, 7(1), 7–11.
- Djamaludin, M., Ria, K., Bagus, Y. P. (2021). Uji Toksisitas Akut Ekstrak Etanol Daun Salam (*Syzygium polyanthum*) Pada Mencit galur Ddy (*Mus musculus*). *Jurnal Kedokteran Kesehatan*, 4(4), 355–368.
- Donkor, K., Okine, L.N., Abotsi, W.K. and Woode, E. (2014). Acute and sub-chronic toxicity studies of aqueous extract of root bark of *Cassia Sieberiana* D.C. in rodents. *Journal of Applied Pharmaceutical Science*, 4(4), 84–89. <https://doi.org/10.7324/JAPS.2014.40415>
- Dungir, S. G., Katja, D. G., & Kamu, V. S. (2012). Aktivitas Antioksidan Ekstrak Fenolik dari Kulit Buah Manggis (*Garcinia mangostana* L.). *Jurnal MIPA*, 1(1), 11. <https://doi.org/10.35799/jm.1.1.2012.424>
- Eghbaliferiz, S., & Iranshahi, M. (2016). Prooxidant Activity of Polyphenols, Flavonoids, Anthocyanins and Carotenoids: Updated Review of Mechanisms and Catalyzing Metals. *Phytotherapy Research*, 1391(March), 1379–1391. <https://doi.org/10.1002/ptr.5643>
- Eriadi, A., & Arifin, H. (2016). Uji toksisitas akut ekstrak etanol daun kirinyuh (*Chromolaenodorata* L. R.M.King & H. Rob) pada mencit putih jantan. *Jurnal Farmasi Higea*, 8(2), 122–132.
- Erick, K. and Dewi, I. (2017). *Sitohistoteknologi* (Bahan Ajar). Kementerian Kesehatan Republik Indonesia.
- Fajrina, S. N., Ariyadi, T., and Nuroini, F. (2018). Gambaran Kualitas Sediaan Jaringan Hati Menggunakan Larutan Fiksatif NBF 10 % dan Alkohol 70 % pada Pewarnaan HE (Hematoksilin-Eosin). *Prosiding Mahasiswa Seminar*

Nasional Unimus, 1, 60–65.

- Fianti, L. L. (2017). *Efektivitas perasan daun afrika (Vernonia amygdalina Del) terhadap penurunan kadar glukosa darah mencit (Mus musculus)*. Universitas Pasundan Bandung.
- Fitmawati, F., Titrawani, T. and Safitri, W. (2018). Struktur Histologi Hati Tikus Putih (*Rattus norvegicus* Berkenhout 1769) Dengan Pemberian Ramuan Tradisional Masyarakat Melayu Lingga, Kepulauan Riau. *Ekotonia: Jurnal Penelitian Biologi, Botani, Zoologi Dan Mikrobiologi*, 03(1), 11–19.
- Fitri, W. Y., Wilis, W., & Hidayat, A. T. (2021). Pengobatan tradisional di Minangkabau. *Tabuah*, 5(2), 83–88. <https://www.republika.co.id/berita/q7ixaj430/ulama-jelaskan->
- Fitriani, D., Hasbie, N.F.H.F. and Aprilianti, P. (2021). Studi Literatur Pengaruh Pemberian Beberapa Zat Terhadap Perubahan Struktur Hepar Tikus Putih (*Rattus norvegicus*) Dan Mencit (*Mus musculus*). *BIO EDUCATIO : (The Journal of Science and Biology Education)*, 6(1). <https://doi.org/10.31949/be.v6i1.2629>
- Ginting, H., Dalimunthe, A., & Pratama, E. K. (2018). Kajian Ketoksikan Ekstrak Etanol Kulit Buah Markisah Ungu (*Passiflora edulis* Sims.) Terhadap Hati Mencit. *Talenta Conference Series: Tropical Medicine (TM)*, 1(1), 257–263. <https://doi.org/10.32734/tm.v1i1.85>
- Gordon, M. H. (1990). The Mechanism of Antioxidant Action in Vitro. *Food Antioxidants*, 1, 1–18. https://doi.org/10.1007/978-94-009-0753-9_1
- Gritter, R.J., Bobbitt, J.M. and Schwarting, A. E. (1991). *Pengantar kromatografi* (ed. 2). Penerbit ITB.
- Guyton, A.C. and Hall, J. E. (1997). *Buku ajar fisiologi kedokteran* (I. Setiawan (ed.); ed. 9). EGC.
- Guyton, A.C. and Hall, J. E. (2007). *Buku Ajar Fisiologi Kedokteran*. EGC.
- Guyton, A.C. and Hall, J. E. (2010). *Buku Ajar Fisiologi Kedokteran* (Edisi ke-1).

EGC.

- Hairunnisa, H. (2019). Sulitnya Menemukan Obat Baru di Indonesia. *Majalah Farmasetika*, 4(1), 16–21. <https://doi.org/10.24198/farmasetika.v4i1.22517>
- Handayani, S.N., Bawono, L.C., Ayu, D.P. and Pratiwi, H.N. (2018). Isolasi Senyawa Polifenol Black garlic Dan Uji Toksisitasnya Terhadap Larva Udang (*Artemia salina* Leach). *Jurnal Ilmu Kefarmasian Indonesia*, 16(2), 145. <https://doi.org/10.35814/jifi.v16i2.561>
- Handayani, H., & Sriherfyna, F. H. (2016). *Ekstraksi antioksidan daun sirsak metode ultrasonic bath (kajian rasio bahan : pelarut dan lama ekstraksi) antioxidant extraction of soursop leaf with ultrasonic bath (study of material : solvent ratio and extraction time)*. 4(1), 262–272.
- Hasanah, N. (2018). Uji toksisitas ekstrak etanol daun kubis (*Brassica oleracea* var *Capitata* L.) dengan metode Brine Shrimp Lethality Test (BSLT). *Edu Dharma Journal: Jurnal Penelitian Dan Pengabdian Masyarakat*, 2(1), 81. <https://doi.org/10.52031/edj.v2i1.34>
- Hasnaeni, H., & Wisdawati, W. (2019). Pengaruh Metode Ekstraksi Terhadap Rendemen Dan Kadar Fenolik Ekstrak Tanaman Kayu Beta-Beta (*Lunasia amara* Blanco). *Jurnal Farmasi Galenika (Galenika Journal of Pharmacy) (e-Journal)*, 5(2), 175–182. <https://doi.org/10.22487/j24428744.2019.v5.i2.13149>
- Herrmann, K., Pistollato, F. and Stephens, M. L. (2019). Beyond the 3Rs: Expanding the use of human-relevant replacement methods in biomedical research. *Altex*, 36(3), 343–352.
- Himawan, S. (1992). *Kumpulan Kuliah Patologi*. UI Press.
- Imani, A. K. F. (2005). *Tafsir Nurul Qur'an*. Al-Huda.
- Indarto, M. D. (2013). Aktivitas Enzim Transaminase Dan Gambaran Histopatologi Hati Tikus (*Rattus norvegicus*) Wistar Jantan Yang Diberi Fraksi N-heksan Daun Kesum (*Polygonum minus* Huds.) Pasca Induksi Sisplatin. *Jurnal Mahasiswa Farmasi Fakultas Kedokteran UNTAN*, 1(1).

- Iqlima, M. N. (2020). Kerusakan Sel Hepar Akibat Paparan Radiasi Elektromagnetik Telepon Seluler. *Jurnal Kedokteran Dan Kesehatan*, 19(1), 40–45. <https://www.jurnal.fk.uisu.ac.id/index.php/ibnusina/article/view/13>
- Jang, E. K., Seo, Ji Jang, E.K., Seo, J.H. and Lee, S. P., & Lee, S. P. (2008). Physiological activity and antioxidative effects of aged black garlic (*Allium sativum* L.) extract. In *Korean Journal of Food Science and Technology* (Vol. 40, Issue 4, pp. 443–448).
- Jannah, D. R. and, & Budijastuti, W. (2022). Gambaran Histopatologi Toksisitas Ginjal Tikus Jantan (*Rattus norvegicus*) yang diberi Sirup Umbi Yakon (*Smallanthus sonchifolius*). *LenteraBio : Berkala Ilmiah Biologi*, 11(2), 238–246. <https://doi.org/10.26740/lenterabio.v11n2.p238-246>
- Januar, R., Yusfiati, Y. and Fitmawati, F. (2014). *Struktur Mikroskopis Hati Tikus Putih (Rattus Novergicus) Akibat Pemberian Ekstrak Tanaman Tristaniopsis Whiteana Griff.* 1(2), 392–401.
- Jelita, S.F., Setyowati, G.W. and Ferdinand, M. (2020). Uji Toksisitas Infusa *Acalypha simensis* Dengan Metode Brine Shrip Lethality Test (BSLT). *Jurnal Farmaka*, 18(1), 14–22.
- Juan, G., Zoog, S.J. and Ferbas, J. (2011). Leveraging image cytometry for the development of clinically feasible biomarkers: Evaluation of activated caspase-3 in fine needle aspirate biopsies. *Methods in Cell Biology*, 102, 309–320. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-374912-3.00012-2>
- Jumain, J., Syahrani, S., & Farid, F. (2018). Uji toksisitas akut dan Id50 ekstrak etanol daun kirinyuh (*Euphatorium odoratum* Linn) pada mencit (*Mus musculus*). *Media Farmasi*, 14(1), 28. <https://doi.org/10.32382/mf.v14i1.82>
- Katja, D. G. & Suryanto, E. (2009). Efek Penstabil Oksigen Singlet Ekstrak Pewarna dari Daun Bayam Terhadap Fotooksidasi Asam Linoleat, Protein, dan Asam askorbat. *Chem. Prog*, 2, 79–86.
- Katsir, T. P. I. (2018). *Shahih Ibnu Katsir Jilid 1 dan 6* (13th ed.). Pustaka Ibnu Katsir.

- Kemp WL, Burns DK, B. T. (2008). *Pathology*. The McGraw Hill Companies.
- Khristian, E. (2018). Potensi Minyak Gandapura Sebagai Pengganti Xilol Dalam Pembuatan Sediaan Mikroskopis Otak Mencit. *Pinlitamas 1*, 1(1) (Khristian, E. (2018). Potensi Minyak Gandapura Sebagai Pengganti Xilol Dalam Pembuatan Sediaan Mikroskopis Otak Mencit. *Pinlitamas 1*, 1(1), 638–644. <http://www.ejournal.lppmstikesjayc.ac.id/index.php/pinlitamas1/article/view/104>), 638–644. <http://www.ejournal.lppmstikesjayc.ac.id/index.php/pinlitamas1/article/view/104>
- Kim, I., Kim, J.Y., Hwang, Y.J., Hwang, K.A., Om, A.S., Kim, J.H. and Cho, K. J. (2011). The beneficial effects of aged black garlic extract on obesity and hyperlipidemia in rats fed a high-fat diet. *Journal of Medicinal Plants Research*, 5(14), 3159–3168. <https://academicjournals.org/journal/JMPR/article-abstract/E1EBBEA19050>
- Kiswando, A. A. (2017). Skrining senyawa kimia dan pengaruh metode maserasi dan refluks pada biji kelor (*Moringa oleifera*, Lamk) terhadap rendemen ekstrak yang dihasilkan. *Jurnal Sains Natural*, 1(2), 126. <https://doi.org/10.31938/jsn.v1i2.21>
- Kumar, V., Fausto, N., and Abbas, A. (2004). *Robbins & Cotran Pathologic Basis of Disease* (7th Editio). Saunders.
- Kumar V, Cotran RS, R. S. (2007). *Buku Ajar Patologi* (Edisi ke-7). EGC.
- Kuntaarsa, A., Achmad, Z., & Subagyo, P. (2021). Ekstraksi Biji Ketumbar Dengan Mempergunakan Pelarut N-Heksana. *Jurnal Teknologi Technoscientia*, 14(1), 60–73. <https://doi.org/10.34151/technoscientia.v14i1.3614>
- Kurniawan, W.A.Y., Wiratmini, N.I. and Sudatri, N. W. (2016). Histologi hati mencit (*Mus musculus* L.) yang diberi ekstrak daun lamtoro (*Leucaena leucocephala*). *Jurnal Simbiosis*, IV(2), 46–49.
- Latifah, S. K. (2020). *Pengaruh pemberian bawang hitam (Black Allium sativum) terhadap kolesterol darah total tikus putih (Rattus novergicus) diabetes*

mellitus. Politeknik Kesehatan Kemenkes Yogyakarta.

- Leviyanti, M., & Sukmawati. (2021). Uji aktivitas antibakteri ekstrak batang buah naga (*Hylocereus polyrhizus* (FAC Weber) Britton & Rose) terhadap *Staphylococcus aureus*. *Journal of Herbs and Farmacological*, 3(1), 42–47.
- Lewis, J.H. and Kleiner, D. E. (2012). *Hepatic injury due to drugs, herbal compounds, chemicals and toxins* (In MacSwee). Churchill Livingstone.
- Lu, X., Li, N., Qiao, X., Qiu, Z. and Liu, P. (2017). Composition analysis and antioxidant properties of black garlic extract. *Journal of Food and Drug Analysis*, 25(2), 340–349. <https://doi.org/10.1016/j.jfda.2016.05.011>
- Lu, F. C. (1995). *Toksikologi Dasar; Asas, Organ Sasaran, dan Penilaian Resiko* (Penerbit Universitas Indonesia (ed.); 2nd ed.). UI Press.
- Lu, F. C. (2010). *Toksikologi Dasar*. UI Press.
- Makiyah, A. and Tresnayanti, S. (2017). Uji Toksisitas Akut yang Diukur dengan Penentuan LD50 Ekstrak Etanol Umbi Iles-iles (*Amorphophallus variabilis* Bl.) pada Tikus Putih Strain Wistar. *Majalah Kedokteran Bandung*, 49(3), 145–155.
- Maliza, R., Tofrizal, A., Setiawan, H., Fadilatun, S., & Piliang, H. (2019). Uji Toksisitas Subkronis Ekstrak Metanol Kulit Buah Kopi Arabika (*Coffea Arabica L.*) pada Ginjal Mencit (*Mus Musculus L.*) Galur BALB / c. *November*, 137–146.
- Marcelinda, A., & Ridhay, A. (2016). Aktivitas Antioksidan Ekstrak Limbah Kulit Ari Biji Kopi (*Coffea* sp.) Berdasarkan Tingkat Kepolaran Pelarut The Atioxidant Activity Of Husk Coffea (*Coffea* sp.) Extract Base On Various Levels Of Polar Solvent. *Online Jurnal of Natural Science*, 5(1), 21–30.
- Meles. (2010). *Peran Uji Prakinik Dalam Bidang Farmakologi* (Pusat Penerbitan dan Percetakan Unair (AUP). (ed.)). Perpustakaan Universitas Airlangga.
- Melisa, E., and Yuliawati, Y. (2022). Uji toksistas akut ekstrak etanol daun sungkai (*Peronema cenescens* Jack) terhadap fungsi ginjal. *Majalah Farmasi Dan*

Farmakologi, 26(1), 32–37. <https://doi.org/10.20956/mff.v26i1.19447>

Mescher, A. L. (2013). *Junqueira's Basic Histology Text & Atlas* (13th ed). McGraw Hill Education.

Moulia, M.N., Syarief, R., Iriani, E.S., Kusumaningrum, H.D. and Suyatma, N. . (2018). Antimicrobial of Garlic Extract. *Jurnal Pangan*, 27(1), 55–66.

Munawaroh, V. F. (2022). *Etnobotani tumbuhan yang bermanfaat untuk kesehatan reproduksi di lingkungan masyarakat samin Kecamatan Margomulyo Kabupaten Bojonegoro* [Universitas Islam Negeri Maulana Malik Ibrahim]. <http://etheses.uin-malang.ac.id/id/eprint/2604>

Muslikhah. (2014). *Pengaruh ekstrak etanol daun widuri terhadap gambaran histologis fibrosarkoma mencit (Mus musculus) jantan yang diinduksi 7, 12-Dimetilbenz (A) antrasena (DMBA) secara In vivo*. Universitas Islam Negeri Maulana Malik Ibrahim.

Mustapa, M.A., Tuloli, T.S. and Mooduto, A. M. (2018). Uji Toksisitas Akut Yang Diukur Dengan Penentuan LD50 Ekstrak Etanol Bunga Cengkeh (*Syzygium aromaticum* L.) Terhadap Mencit (*Mus musculus*) Menggunakan Metode Thompson-Weil. *Frontiers: Jurnal Sains Dan Teknologi*, 1(1). 03/04/2022<http://103.123.108.170/index.php/efrontiers/article/viewFile/221/190>

Mustika, A. (2014). *Keamanan Penggunaan Ekstrak Etanol Singawalang (Petiveria alliacea) Pada Fungsi Ginjal Mencit*. Bagian Biokimia Fakultas Kedokteran Universitas Gajah Mada.

Mutiarahmi, C. N., Hartady, T., & Lesmana, R. (2021). Use of Mice As Experimental Animals in Laboratories That Refer To the Principles of Animal Welfare: a Literature Review. *Indonesia Medicus Veterinus*, 10(1), 134–145. <https://doi.org/10.19087/imv.2020.10.1.134>

Nowak, R.M. and Walker, E. P. (1983). *Walker's Mammals of The World 4 th Edition. Volume 2*. The John Hopkins University Press Baltomor.

Nugroho, M. D., Busman, H., and Fiana, D. N. (2014). Efek Protektif Ekstrak

- Etanol Daun Binahong (*Anredera Cordifolia* (Tenore) Steenis) Terhadap Gambaran Histopatologi Hati Tikus Putih yang Diinduksi oleh Etanol. *Jurnal Majority*, 10, 109–118.
- Nurdiniyah, N., Nazaruddin, N., Sugito, S., Salim, M.N., Fahrimal, Y. and Aisyah, S. (2015). Pengaruh pemberian ekstrak kulit batang jaloh terhadap gambaran mikroskopis ginjal tikus putih (*Rattus novergicus*) yang diinfeksi (*Trypanosoma evansi* The Effect of Willow Bark Ekstrakt Administration on Microscopic Feature of Male Rats (*Rattus novergicus*) . *Jurnal Medika Veterinaria*, 9(2), 2–6.
- Nurfaat, D. L., & Indriyati, W. (2016). Acute Toxicity Test of Ethanol Extract of Mango Mistletoe (*Dendrophthoe petandra*) to Strain of Swiss Webster Mice. *Ijgst*, 3(2).
- Nuri, N., Puspitasari, E., Hidayat, M.A., Ningsih, I.Y., Triatmoko, B. and Dianasari, D. (2020). Pengaruh Metode Ekstraksi terhadap Kadar Fenol dan Flavonoid Total, Aktivitas Antioksidan serta Antilipase Daun Jati Belanda (*Guazuma ulmifolia*). *Jurnal Sains Farmasi & Klinis*, 7(2), 143. <https://doi.org/10.25077/jsfk.7.2.143-150.2020>
- Nurmianti, L. and Gusmarwani, S. R. (2020). Penentuan lethal dose 50% (LD50) pestisida nabati dari campuran buah bintaro, sereh, bawang putih, lengkuas. *Jurnal Inovasi Proses*, 5(1), 56–59.
- Nurmilawati. (2019). *Uji efektivitas anti inflamasi dan analgetik ekstrak etanol daun afrika (Vernonia amygdalina Del.) Secara oral terhadap mencit putih (Mus musculus) jantan*. Universitas Hasanuddin Makassar.
- Nurrani, L., Kinho, J. and Tabba, S. (2014). Kandungan bahan aktif dan toksisitas tumbuhan hutan asal Sulawesi Utara yang berpotensi sebagai obat. *Jurnal Penelitian Hasil Hutan*, 32(2), 123–138.
- Nursofia, Y. and Yuliawati, Y. (2021). Uji Toksisitas Akut Ekstrak Etanol Daun Kayu Manis (*Cinnamomum burmanii*) pada Fungsi Hati Tikus Putih (*Mus musculus* L.) Betina. *Jurnal Ilmiah Ibnu Sina*, 6(2), 272–281.

- OECD. (2008). *Organization for Economic Cooperation and Development Guidelines for the Testing of Chemicals*. tg 407.
- Oktarian, A., Budiman, H., & Aliza, D. (2019). Histopatologi Hati Tikus Putih (*Rattus Novergicus*) Yang Diinjeksi Formalin. *Jimvet*, 01(3), 316–323.
- Oktavianty, O., Arifianto, E. Y., Setyanto, N. W., Rahman, A. and Visi, I. (2020). Analisis Keamanan Pangan dengan Menggunakan Hazard Analysis and Critical Control Point (HACCP) pada Proses Pembuatan Bawang Hitam Tunggal. *WEBINAR & CALL for PAPER*, 25.
- Ozougwu, J. (2017). Physiology of the Liver. *International Journal of Research in Pharmacy and Biosciences*, 4(8), 13–24.
- Pertanian, D. J. H. K. (2017). *Pengembangan Bawang Putih Nasional*. <http://riph.pertanian.go.id/asset/%0Amedia/download/file/547a6106025e209a3517a%0Aa07db2f27b7.pdf>
- Pramono, S. iku. W. S. H. 1.-16. (2012). *Pengaruh Formalin Peroral Dosis Bertingkat Selama 12 Minggu Terhadap Gambaran Histopatologis Hepar Tikus Wistar*.
- Prasonto, D., Riyanti, E., & Gartika, M. (2017). Nomer 2. *Dental Journal*, 4, 122–128.
- Prawitasari, D. S. (2019). Diabetes Melitus dan Antioksidan. *KELUWIH: Jurnal Kesehatan Dan Kedokteran*, 1(1), 48–52. <https://doi.org/10.24123/kesdok.v1i1.2496>
- Price, S.A. and Wilson, L. M. (2006). *Patofisiologi. Terjemahan dari Clinical Concept of Diseases Processes* (P. Anugrah (ed.)). EGC.
- Rahal, A., Kumar, A., Singh, V., Yadav, B., Tiwari, R., Chakraborty, S., & Dhama, K. (2014). Oxidative stress, prooxidants, and antioxidants: The interplay. *BioMed Research International*, 2014. <https://doi.org/10.1155/2014/761264>
- Rajeh, M.A.B., Kwan, Y.P., Zakaria, Z., Latha, L.Y., Jothy, S.L. and Sasidharan, S. (2012). Acute toxicity impacts of *Euphorbia hirta* L. extract on behavior,

organs body weight index and histopathology of organs of the mice and *Artemia salina*. *Pharmacognosy Research*, 4(3), 170.

Ramadhani, N. (2021). *Potensi Ekstrak Black Garlic (Allium sativum, Varietas Lumbu Kuning) terhadap kerusakan Histologi Ginjal dan Lambung Mencit Betina yang diinduksi Aspirin*. <http://digilib.uinsby.ac.id/48802/>

Ramappa, V., & Aithal, G. P. (2013). Hepatotoxicity Related to Anti-tuberculosis Drugs: Mechanisms and Management. *Journal of Clinical and Experimental Hepatology*, 3(1), 37–49. <https://doi.org/10.1016/j.jceh.2012.12.001>

Rasyid, M. (2012). Uji Toksisitas Akut Ekstrak Etanol Lempuyang Wangi (*Zingiber aromaticum* Val.) Pada Mencit. *Majalah Farmasi Dan Farmakologi*, 16(1), 13–19.

Ressang, A. A. (1984). *Patologi Khusus Veteriner* (Edisi ke-2). Percetakan Bali.

Restuati, M. and Nasution, P. A. (2019). Pengaruh Ekstrak Etanol Daun Buas buas (*Premna Pubescens* Blume) Terhadap Gambaran Histopatologi Hati Pada Tikus putih (*Rattus Novergicus*) Yang Diinduksi Kanker 7,12 Dimethylbenz [a] antrasena (DMBA). *Jurnal Biosains*, 5(2), 77.

Robbins, S. L., Cotran, R. S., and Klatt, E. C. (2015). *Robbins and Cotran Atlas of Pathology*. Elsevier Inc.

Robbins, S. L., and K. (1992). *Buku Ajar Patologi I (Basic Pathology Part II)*. EGC Penerbit Buku Kedokteran.

Rofiqoh, A. D. (2015). *Uji Toksisitas Subkronik Ekstrak Air Daun Katuk (Sauropus androgynous) Terhadap Kadar Bilirubin Serum dan Histologi Hepar Tikus (Rattus norvegicus) Betina*. Universitas Islam Negeri Maulana Malik Ibrahim Malang.

Rogers A.B., Z. D. R. (2012). *Comparative Anatomy and Histology: A Mouse and Human Atlas*. Elsevier Inc.

Rugge, M., Pennelli, G., Pillozzi, E., Fassan, M., Ingravallo, G., Russo, V.M. and Di Mario, F. (2011). *Gastritis: the histology report* (Digestive).

- Rumaseuw, E. S., Iskandar, Y., & Halimah, E. (2022). *Acute Toxicity Test of Black Garlic Ethanol Extract Uji Toksisitas Akut Ekstrak Etanol Bawang Hitam*. 2(1), 1–9.
- Ryu, J. H. & Kang, D. (2017). Physicochemical properties, biological activity, health benefits, and general limitations of aged black garlic: A review. *Molecules*, 22(6), 919–932. <https://doi.org/10.3390/molecules22060919>
- Salsabila, N. A. (2019). Apoptosis Sel Hepatosit Sebagai Akibat Dari Metabolisme Alkohol. *Jurnal Ilmiah Kesehatan Sandi Husada*, 10(2), 151–155. <https://doi.org/10.35816/jiskh.v10i2.133>
- Sambodo, P., Baaka, A., Susmiati, T. and Airin, C. (2019). Uji Ekstrak n-Hexana Rumput Kebar (*Biophytum petersianum* Klotzsch) pada Tikus Wistar Hiperkolesterolemia. *Jurnal Sain Veteriner*, 37(1), 11. <https://doi.org/10.22146/jsv.48487>
- Santoso, H. B. (2000). *Bawang Putih* (Edisi ke-1). Penerbit Kanisius, Yogyakarta.
- Saragih, R. S. (2018). *Uji Toksisitas Subkronik Ekstrak Etanol Buah Attarasa (Litsea cubeba Lour.) pada Mencit Putih*. Universitas Sumatera Utara.
- Sari, W. (2019). Aplikasi Sel Punca pada Uji Toksisitas. *Majalah Kesehatan PharmaMedika*, 11(1), 65–73.
- Sherwood, L. (2015). *Fisiologi Manusia Dari Sel Ke Sistem* (Edisi ke-8). EGC.
- Sibulesky, L. (2013). Normal liver anatomy. *Clinical Liver Disease*, 2(SUPPL. 1), 2012–2014. <https://doi.org/10.1002/cld.124>
- Silitonga, M., Sinaga, E. and Silitonga, P. M. (2021). Pengaruh ekstrak etanol *Plectranthus amboinicus* Lour Spreng terhadap berat badan dan berat relatif organ tikus yang diinduksi kanker kulit dengan DMBA. *Jurnal Biosains*, 7(2), 59–65. <https://doi.org/10.24114/jbio.v7i3.23288>
- Siskayanti, R., Kosim, M. E., & Saputra, D. A. (2021). *Analisis Konsentrasi Minyak Atsiri Dari Sereh*. 6, 26–34.
- Siswanto, E., Sari, D.N.I. and Supomo, S. (2015). Uji Toksisitas Akut Ekstrak

- Etanol Daun Kerehau (*Callicarpa longifolia* Lam.) Terhadap Mencit Putih. Akademi Farmasi Samarinda. *Jurnal Imiah Manuntung*, 1(2), 127–132.
- Sofiyah. (2017). *Pengaruh kombinasi ekstrak etanol Bawang Putih (Allium sativum), Temu Mangga (Curcuma mangga) dan Jeringau (Acorus calamus) terhadap kadar enzim gpt dan got hepar Tikus Putih (Rattus norvegicus) betina*. Universitas Islam Negeri Maulana Malik Ibrahim.
- Solichah, A. & Herdyastuti, N. (2021). *UNESA Journal of Chemistry Vol. 10, No. 3, September 2021*. 10(3), 280–287.
- Suaniti, N.M., Manurung, M. and Utari, N. M. M. (2017). Efek penambahan antioksidan ekstrak metanol kulit buah manggis (*Garcinia mangostana* L.) terhadap perubahan kadar FFA, bilangan asam, dan bilangan peroksida biodiesel. *Jurnal Kimia*, 11(1), 49–55.
- Sumaatmadja, D. (1981). *Prospek Pengembangan Industri Oleoresin di Indonesia Komunikasi 201*. Balai besar Industri Hasil Pertanian.
- Sumarmin, R. (2018). Pengaruh Ekstrak Kulit Buah Manggis (*Garcinia mangostana* L.) terhadap Histologis Pankreas Mencit (*Mus musculus* L. Swiss Webster) yang Diinduksi Sukrosa. *Eksakta: Berkala Ilmiah Bidang MIPA (E-ISSN: 2549-7464)*, 19(1), 100–112.
- Suwarsih, Y.W.W. and Widanti, Y. A. (2020). Aktivitas antioksidan black garlic dengan variasi jenis bawang (*Allium* sp.) dan lama pemeraman. *JITIPARI (Jurnal Ilmiah Teknologi Dan Industri Pangan UNISRI)*, 5(1), 67–68.
- Swarayana, I. M. I., Sudira, I. W. and Berata, I. K. (2012). Perubahan Histopatologi Hati Mencit (*Mus musculus*) yang Diberikan Ekstrak Daun Ashitaba (*Angelica keiskei*). *Buletin Veteriner Udayana*, 4(2), 119–125.
- Taek, A. Y., Ndaong, N. A., & Gaina, C. D. (2020). Gambaran histopatologi hepar tikus putih (*Rattus norvegicus*) jantan pasca pemberian ekstrak infusa buah pare (*Momordica charantia* L.) lokal NTT. *Jurnal Veteriner Nusantara*, 3(2), 89–96.
- Traesel, G.K., Menegati, S.E.L.T., Dos Santos, A.C., Souza, R.I.C., Boas, G.R.V.,

- Justi, P.N., Kassuya, C.A.L., Argandoña, E.J.S. and Oesterreich, S. A. (2016). Oral acute and subchronic toxicity studies of the oil extracted from pequi (*Caryocar brasiliense*, Camb.) pulp in rats. *Food and Chemical Toxicology*, 97, 224–231. <https://doi.org/10.1016/j.fct.2016.09.018>
- Ubang, F., Siregar, V.O. and Herman, H. (2022). Efek Toksik Pemberian Ekstrak Etanol Daun Mekai (*Albertisia papuana* Becc.) Terhadap Mencit. *Proceeding of Mulawarman Pharmaceuticals Conferences*, 16, 49–57. <http://prosiding.farmasi.unmul.ac.id/index.php/mpc/article/view/416/399>
- Wahyuningtyas, P., Sitaswi, A. J., & Mardiaty, M. S. (2018). Hepatosomatic Index (Hsi) Dan Diameter Hepatosit Mencit (*Mus Musculus* L.) Setelah Paparan Ekstrak Air Biji Pepaya (*Carica papaya* L.). *Jurnal Akademika Biologi*, 7(1), 8–17.
- Wang, D., Feng, Y., Liu, J., Yan, J., Wang, M., Sasaki, J.I. and Lu, C. (2010). Black Garlic (*Allium sativum*) Extracts Enhance the Immune System. *Medicinal and Aromatic Plant Science and Biotechnology*, 4(1), 37–40.
- Wicaksono, M.I., Rahayu, M. and Samanhudi, S. (2019). Pengaruh pemberian mikoriza dan pupuk organik terhadap pertumbuhan bawang putih. *Caraka Tani – Jurnal Ilmu Ilmu Pertanian*, XXIX(1), 35–44.
- Widati A. D. (2021). Uji toksisitas subakut daun beruwass laut (*Scaevola Taccada* (Gaertn.) Roxb.) terhadap perubahan histopatologi hati dan ginjal tikus putih jantan. Universitas Hasanuddin Makassar.
- Winarsih, W., Wientarsih, I., Sulistyawati, N.P. and Wahyudina, I. (2012). Uji Toksisitas Akut Ekstrak Rimpang Kunyit pada Mencit : Kajian Histopatologis Lambung, Hati dan Ginjal. *Jurnal Veteriner*, Vol. 13(4), 402–409.
- Wiralaga, I.P.A., Sudira, I.W., Kardena, I.M. and Dharmayudha, A. A. G. O. (2015). Pengaruh Pemberian Ekstrak Etanol Daun Ashitaba (*Angelica keiskei*) Terhadap Histopatologi Lambung Mencit (*Mus musculus*) Jantan. *Buletin Veteriner Udayana*, 7(1), 26–33.
- Yuliandari, M., Mushawwir, A., and Permana, R. (2023). Aktivitas peroksidasi

lipid ayam broiler dengan dan tanpa penambahan glutathione dalam ransum. *Jurnal Sains Dan Teknologi Industri Peternakan*, 3(1), 18–23.

Yulida, E., Oktaviyanti, I. K., & Rosida, L. (2013). Gambaran Derajat Infiltrasi Sel Radang Dan Infeksi Helicobacter Pylori Pada Biopsi Lambung Pasien Gastritis: Di RSUD Ulin Banjarmasin Tahun 2009-2011. *Berkala Kedokteran Unlam*, 9(1), 51–65.

Zhang, X., Li, N., Lu, X., Liu, P. and Qiao, X. (2016). Effects of temperature on the quality of black garlic. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 96(7), 2366–2372. <https://doi.org/10.1002/jsfa.7351>

LAMPIRAN

- Rumus perhitungan rendemen:

$$\% \text{ Rendemen} = \frac{\text{bobot ekstrak (akhir)}}{\text{bobot simplisia (awal)}} \times 100\%$$

$$\% \text{ Rendemen} = \frac{45,8}{100} \times 100\%$$

$$\% \text{ Rendemen} = 45,8\%$$

(Hasnaeni, H., & Wisdawati, 2019)

- Rumus Federer

Perhitungan jumlah hewan coba yang digunakan penelitian ini berdasarkan rumus Federer, sebagai berikut:

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

$$(n-1)(8-1) \geq 15$$

$$(n-1)7 \geq 15$$

$$7n-7 \geq 15$$

$$7n \geq 22$$

$$n \geq 3,14 \approx 3$$

- Rumus Pembuatan dosis

Pembuatan dosis ekstrak bawang hitam dengan dosis 5, 50, 100, 300, 600, 1000, 2000 mg/kg BB. Volume pemberian peroral yang diberikan adalah 0,5 mL karena kapasitas lambung mencit maksimalnya memuat isi sebanyak 1 mL sehingga volume idealnya 0,5 mL dengan menggunakan rata-rata berat mencit sebesar 25 gr. Berikut perhitungan dosis konversi mencit dan perhitungan larutan stoknya untuk 10 hari:

$$\text{Dosis konversi (mg)} = \text{Dosis yang digunakan (mg/kg)} \times \frac{\text{berat badan mencit (gr)}}{1000 \text{ gr}}$$

Setelah didapatkan dosis konversi, maka dilanjutkan perhitungan larutan stok menggunakan rumus berikut:

$$\frac{\text{Berat ekstrak dalam sekali pemberian (mg)}}{\text{Volume dalam sekali pemberian (ml)}} \times \frac{\text{Berat ekstrak yang dibutuhkan (mg)}}{\text{Volume larutan stok (ml)}}$$

- Dosis 5

$$= 5 \text{ mg/kg} \times \frac{25}{1000 \text{ gr}}$$

$$= 0,125 \text{ mg}$$

Volume pemberian 0,5 mL

$$\frac{mg}{0,5 mL} = \frac{X}{20 mL}$$

$$\frac{0,125}{0,5 mL} = \frac{X}{20 mL}$$

$$X = \frac{2,5}{0,5} = 5 \text{ mg}/20\text{mL}$$

- Dosis 50 mg/kg BB

$$\text{Dosis} \times \frac{\text{berat}}{1000 \text{ gr}}$$

$$= 50 \text{ mg/kg} \times \frac{25}{1000 \text{ gr}}$$

$$= 1,25 \text{ mg}$$

Volume pemberian 0,5 mL

$$\frac{mg}{0,5 mL} = \frac{X}{20 mL}$$

$$\frac{1,25}{0,5 mL} = \frac{X}{20 mL}$$

$$X = \frac{25}{0,5} = 50 \text{ mg}/20\text{mL}$$

- Dosis 100 mg/kg BB

$$\text{Dosis} \times \frac{\text{berat}}{1000 \text{ gr}}$$

$$= 100 \text{ mg/kg} \times \frac{25}{1000 \text{ gr}}$$

$$= 2,5 \text{ mg}$$

Volume pemberian 0,5 mL

$$\frac{mg}{0,5 mL} = \frac{X}{20 mL}$$

$$\frac{2,5}{0,5 mL} = \frac{X}{20 mL}$$

$$X = \frac{50}{0,5} = 100 \text{ mg}/20\text{mL}$$

- Dosis 300 mg/kg BB

$$\text{Dosis} \times \frac{\text{berat}}{1000 \text{ gr}}$$

$$= 300 \text{ mg/kg} \times \frac{25}{1000 \text{ gr}}$$

$$= 7,5 \text{ mg}$$

Volume pemberian 0,5 mL

$$\frac{mg}{0,5 mL} = \frac{X}{20 mL}$$

$$\frac{7,5}{0,5 \text{ mL}} = \frac{X}{20 \text{ mL}}$$

$$X = \frac{150}{0,5} = 300 \text{ mg/20mL}$$

- Dosis 600 mg/kg BB

$$\text{Dosis} \times \frac{\text{berat}}{1000 \text{ gr}}$$

$$= 600 \text{ mg/kg} \times \frac{25}{1000 \text{ gr}}$$

$$= 15 \text{ mg}$$

Volume pemberian 0,5 mL

$$\frac{\text{mg}}{0,5 \text{ mL}} = \frac{X}{20 \text{ mL}}$$

$$\frac{15}{0,5 \text{ mL}} = \frac{X}{20 \text{ mL}}$$

$$X = \frac{300}{0,5} = 600 \text{ mg/20mL}$$

- Dosis 1000 mg/kg BB

$$\text{Dosis} \times \frac{\text{berat}}{1000 \text{ gr}}$$

$$= 1000 \text{ mg/kg} \times \frac{25}{1000 \text{ gr}}$$

$$= 25 \text{ mg}$$

Volume pemberian 0,5 mL

$$\frac{\text{mg}}{0,5 \text{ mL}} = \frac{X}{20 \text{ mL}}$$

$$\frac{25}{0,5 \text{ mL}} = \frac{X}{20 \text{ mL}}$$

$$X = \frac{500}{0,5} = 1000 \text{ mg/20mL}$$

- Dosis 2000 mg/kg BB

$$\text{Dosis} \times \frac{\text{berat}}{1000 \text{ gr}}$$

$$= 2000 \text{ mg/kg} \times \frac{25}{1000 \text{ gr}}$$

$$= 50 \text{ mg}$$

Volume pemberian 0,5 mL

$$\frac{\text{mg}}{0,5 \text{ mL}} = \frac{X}{20 \text{ mL}}$$

$$\frac{50}{0,5 \text{ mL}} = \frac{X}{20 \text{ mL}}$$

$$X = \frac{1000}{0,5} = 2000 \text{ mg/20mL}$$

Lampiran 1 Fluktuasi Berat Badan Mencit Selama 4 Minggu

No.	Dosis ekstrak	Pengulangan	Minggu ke-1	Minggu ke-2	Minggu ke-3	Minggu ke-4	Selisih berat badan minggu 1 dan 4
1.	Kontrol	1	25,43 gr	26,43 gr	26,00 gr	26,57 gr	
		2	19,57 gr	20,86 gr	20,57 gr	22,14 gr	
		3	26,71 gr	26,71 gr	25,57 gr	26,86 gr	
			23,90 gr	24,67 gr	24,05 gr	25,19 gr	1,29 gr
2.	5 mg/kgBB	1	23,14 gr	22,29 gr	22,71 gr	24,14 gr	
		2	27,00 gr	26,43 gr	26,43 gr	28,14 gr	
		3	25,00 gr	24,86 gr	25,00 gr	26,00 gr	
			25,05 gr	24,53 gr	24,71 gr	26,09 gr	1,04 gr
3.	50 mg/kgBB	1	21,00 gr	21,43 gr	22,71 gr	24,43 gr	
		2	21,00 gr	25,57 gr	27,57 gr	30,00 gr	
		3	23,43 gr	25,14 gr	27,00 gr	29,57 gr	
			21,81 gr	24,05 gr	25,76 gr	28,00 gr	6,19 gr
4.	100 mg/kgBB	1	24,29 gr	25,14 gr	27,14 gr	28,71 gr	
		2	27,43 gr	25,86 gr	29,00 gr	29,29 gr	
		3	22,29 gr	28,29 gr	24,71 gr	27,43 gr	
			24,67 gr	26,43 gr	26,95 gr	28,48 gr	3,81 gr
5.	300 mg/kgBB	1	22,29 gr	23,14 gr	26,43 gr	26,57 gr	
		2	20,71 gr	23,00 gr	24,29 gr	24,71 gr	
		3	22,29 gr	22,43 gr	25,86 gr	26,57 gr	
			21,76 gr	22,86 gr	25,53 gr	25,95 gr	4,19 gr
6.	600 mg/kgBB	1	22,86 gr	23,00 gr	24,86 gr	25,29 gr	
		2	20,86 gr	24,14 gr	23,86 gr	24,71 gr	
		3	22,43 gr	22,00 gr	27,43 gr	27,71 gr	
			22,05 gr	23,05 gr	25,38 gr	25,90 gr	3,85 gr
7.	1000 mg/kgBB	1	24,43 gr	25,00 gr	26,71 gr	25,86 gr	
		2	22,14 gr	23,86 gr	23,14 gr	22,43 gr	
		3	24,86 gr	21,29 gr	25,14 gr	23,86 gr	
			23,81 gr	23,38 gr	25,00 gr	24,05 gr	0,24 gr
8.	2000 mg/kgBB	1	28,00 gr	23,57 gr	31,29 gr	30,29 gr	
		2	28,29 gr	28,71 gr	28,86 gr	29,14 gr	
		3	25,00 gr	27,43 gr	28,29 gr	27,57 gr	
			27,10 gr	26,57 gr	29,48 gr	29,00 gr	1,9 gr

Lampiran 2 Jumlah Persentase Kerusakan Sel Hepar Setelah Pemberian Ekstrak Bawang

Kode	Jumlah sel normal dan nekrosis (%)		Total sel	Skor infiltrasi sel radang
	Normal	Nekrosis		
K;1	65	35	185	++
K;2	61	39	153	++
K;3	69	31	212	++
	65	35		
5;1	60	40	174	++
5;2	67	33	192	++
5;3	64	36	160	++
	64	36		
50;1	61	39	238	+++
50;2	63	37	144	+++
50;3	60	40	203	+++
	61	39		
100;1	58	42	179	+++
100;2	60	40	268	+++
100;3	61	39	173	+++
	60	40		
300;1	62	38	297	+++
300;2	54	46	226	+++
300;3	59	41	255	+++
	58	42		
600;1	55	45	267	+++
600;2	57	43	313	+++
600;3	60	40	242	+++
	57	43		
1000;1	53	47	298	+++
1000;2	48	52	219	+++
1000;3	55	45	259	+++
	52	48		
2000;1	59	41	205	+++
2000;2	48	52	197	+++
2000;3	45	55	177	+++
	52	49		

Keterangan: infiltrasi sel radang dengan simbol (+) kategori rendah, (++) kategori sedang, (+++) kategori parah

Lampiran 3 Berat Badan dan Berat Organ Mencit

No.	Dosis ekstrak	Pengulangan	Sebelum perlakuan	Setelah perlakuan	Berat mencit (gr)	Berat Organ (gr)
1.	Kontrol	1	29,00	26,57	26,57	0,98
		2	22,00	22,14	22,14	0,76
		3	29,00	26,86	26,86	1,12
			26,67	25,19	25,19	0,95
2.	5 mg/kgBB	1	23,00	24,14	24,14	0,99
		2	25,00	28,14	28,14	1,15
		3	22,00	26,00	26,00	0,72
			23,33	26,09	26,09	0,95
3.	50 mg/kgBB	1	24,00	24,43	24,43	1,00
		2	27,00	30,00	30,00	1,15
		3	27,00	29,57	29,57	1,22
			26,00	28,00	28,00	1,12
4.	100 mg/kgBB	1	27,00	28,71	28,71	1,27
		2	29,00	29,29	29,29	1,05
		3	24,00	27,43	27,43	1,49
			26,67	28,48	28,48	1,27
5.	300 mg/kgBB	1	27,00	26,57	26,57	1,11
		2	25,00	24,71	24,71	1,11
		3	27,00	26,57	26,57	1,34
			26,33	25,95	25,95	1,19
6.	600 mg/kgBB	1	26,00	25,29	25,29	0,98
		2	24,00	24,71	24,71	0,96
		3	25,00	27,71	27,71	0,97
			25,00	25,90	25,90	0,97
7.	1000 mg/kgBB	1	21,00	25,86	25,86	0,90
		2	25,00	22,43	22,43	0,95
		3	29,00	23,86	23,86	0,92
			25,00	24,05	24,05	0,92
8.	2000 mg/kgBB	1	29,00	30,29	30,29	1,54
		2	23,00	29,14	29,14	1,27
		3	27,00	27,57	27,57	1,32
			26,33	29,00	29,00	1,37

- Hasil uji SPSS

Tests of Normality

	Dosis	Kolmogorov-Smirnov ^a			Shapiro-Wilk		
		Statistic	df	Sig.	Statistic	df	Sig.
jumlah_kerusakan	Control	.253	3	.	.964	3	.637
	dosis 5	.204	3	.	.993	3	.843
	dosis 50	.253	3	.	.964	3	.637
	dosis 100	.253	3	.	.964	3	.637
	dosis 300	.232	3	.	.980	3	.726
	dosis 600	.219	3	.	.987	3	.780
	dosis 1000	.276	3	.	.942	3	.537
	dosis 2000	.308	3	.	.902	3	.391

a. Lilliefors Significance Correction

Descriptives

		dosis	Statistic	Std. Error	
jumlah_kerusakan	kontrol	Mean	21.3333	.88192	
		95% Confidence Interval for Mean	Lower Bound Upper Bound	17.5388 25.1279	
		5% Trimmed Mean		.	
		Median		21.0000	
		Variance		2.333	
		Std. Deviation		1.52753	
		Minimum		20.00	
		Maximum		23.00	
		Range		3.00	
		Interquartile Range		.	
		Skewness		.935	1.225
		Kurtosis		.	.
		jumlah_kerusakan	dosis 5	Mean	36.3333
95% Confidence Interval for Mean	Lower Bound Upper Bound			27.6093 45.0573	
5% Trimmed Mean				.	
Median				36.0000	
Variance				12.333	
Std. Deviation				3.51188	

	Minimum		33.00	
	Maximum		40.00	
	Range		7.00	
	Interquartile Range		.	
	Skewness		.423	1.225
	Kurtosis		.	.
dosis 50	Mean		38.6667	.88192
	95% Confidence Interval for Mean	Lower Bound Upper Bound	34.8721 42.4612	
	5% Trimmed Mean		.	
	Median		39.0000	
	Variance		2.333	
	Std. Deviation		1.52753	
	Minimum		37.00	
	Maximum		40.00	
	Range		3.00	
	Interquartile Range		.	
	Skewness		-.935	1.225
	Kurtosis		.	.
dosis 100	Mean		40.3333	.88192
	95% Confidence Interval for Mean	Lower Bound Upper Bound	36.5388 44.1279	
	5% Trimmed Mean		.	
	Median		40.0000	
	Variance		2.333	
	Std. Deviation		1.52753	
	Minimum		39.00	
	Maximum		42.00	
	Range		3.00	
	Interquartile Range		.	
	Skewness		.935	1.225
	Kurtosis		.	.
dosis 300	Mean		41.6667	2.33333
	95% Confidence Interval for Mean	Lower Bound Upper Bound	31.6271 51.7062	
	5% Trimmed Mean		.	
	Median		41.0000	

	Variance		16.333	
	Std. Deviation		4.04145	
	Minimum		38.00	
	Maximum		46.00	
	Range		8.00	
	Interquartile Range		.	
	Skewness		.722	1.225
	Kurtosis		.	.
dosis 600	Mean		42.6667	1.45297
	95% Confidence Interval for Mean	Lower Bound Upper Bound	36.4151 48.9183	
	5% Trimmed Mean		.	
	Median		43.0000	
	Variance		6.333	
	Std. Deviation		2.51661	
	Minimum		40.00	
	Maximum		45.00	
	Range		5.00	
	Interquartile Range		.	
	Skewness		-.586	1.225
	Kurtosis		.	.
dosis 1000	Mean		48.0000	2.08167
	95% Confidence Interval for Mean	Lower Bound Upper Bound	39.0433 56.9567	
	5% Trimmed Mean		.	
	Median		47.0000	
	Variance		13.000	
	Std. Deviation		3.60555	
	Minimum		45.00	
	Maximum		52.00	
	Range		7.00	
	Interquartile Range		.	
	Skewness		1.152	1.225
	Kurtosis		.	.
dosis 2000	Mean		49.3333	4.25572
	95% Confidence Interval for Mean	Lower Bound Upper Bound	31.0225 67.6442	

5% Trimmed Mean	.	
Median	52.0000	
Variance	54.333	
Std. Deviation	7.37111	
Minimum	41.00	
Maximum	55.00	
Range	14.00	
Interquartile Range	.	
Skewness	-1.415	1.225
Kurtosis	.	.

Test of Homogeneity of Variances

jumlah_kerusakan

Levene Statistic	df1	df2	Sig.
2.598	7	16	.054

ANOVA

jumlah_kerusakan

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	1573.292	7	224.756	16.446	.000
Within Groups	218.667	16	13.667		
Total	1791.958	23			

jumlah_kerusakan

Duncan^a

dosis	N	Subset for alpha = 0.05			
		1	2	3	4
kontrol	3	21.3333			
dosis 5	3		36.3333		
dosis 50	3		38.6667		
dosis 100	3		40.3333		
dosis 300	3		41.6667	41.6667	
dosis 600	3		42.6667	42.6667	42.6667
dosis 1000	3			48.0000	48.0000
dosis 2000	3				49.3333
Sig.		1.000	.075	.063	.051

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 3.000.