

**UJI TOKSISITAS SUBKRONIK EKSTRAK ETANOL BAWANG PUTIH
(*ALLIUM SATIVUM* L.) DAN BAWANG HITAM TERHADAP
HISTOLOGI GINJAL MENCIT (*MUS MUSCULUS*) BETINA**

SKRIPSI



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

Disusun Oleh:

ARINI MAYANG FA'UNI

H91219039

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

2023

PERNYATAAN KEASLIAN

Saya yang bertanda tangan di bawah ini,

Nama : Arini Mayang Fa'uni

NIM : H9121939

Program Studi : Biologi

Angkatan : 2019

Menyatakan bahwa saya tidak melakukan plagiat dalam penulisan skripsi saya yang berjudul "UJI TOKSISITAS SUBKRONIK EKSTRAK ETANOL BAWANG PUTIH (*Allium sativum* L.) DAN BAWANG HITAM TERHADAP HISTOLOGI GINJAL MENCIT (*Mus musculus*) BETINA". Apabila suatu saat nanti terbukti saya melakukan plagiat, maka saya bersedia menerima sanksi yang telah ditetapkan.

Demikian pernyataan keaslian ini saya buat dengan sebenar-benarnya.

Surabaya, 03 Juli 2023

Yang menyetakan,

A handwritten signature in black ink is written over a rectangular stamp. The stamp is a 5000 Rupiah stamp, with the number '5000' and the word 'RUPIAH' visible. The signature is written in a cursive style.

Arini Mayang Fa'uni

NIM. H91219039

HALAMAN PERSETUJUAN

Skripsi

Uji Toksisitas Subkronik Ekstrak Etanol Bawang Putih (*Allium sativum* L.) dan Bawang Hitam terhadap Histopatologi Ginjal Mencit (*Mus musculus*) Betina

Diajukan oleh:
Arini Mayang Fa'uni
NIM: H91219039

Telah diperiksa dan disetujui
di Surabaya, 15 Juni 2023

Dosen Pembimbing Utama



Eva Agustina, M.Si

NIP. 198908302014032008

Dosen Pembimbing Pendamping



Risa Purnamasari, S.Si., M.Si

NIP. 20140902

PENGESAHAN TIM PENGUJI SKRIPSI

Skripsi Arini Mayang Fa'uni ini telah dipertahankan
di depan tim penguji skripsi
di Surabaya, 03 Juli 2023

Mengesahkan,
Dewan penguji

Penguji I



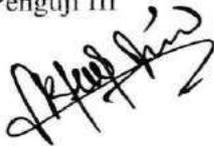
Eva Agustina, M.Si
NIP. 198908302014032008

Penguji II



Risa Purnamasari, S.Si., M.Si
NIP. 20140902

Penguji III



Saiku Rokhim, M.KKK
NIP. 198612212014031001

Penguji IV



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

Mengetahui,

Dekan Fakultas Sains dan Teknologi

UIN Sunan Ampel Surabaya




Dr. Saepul Hamdani, M. Pd.
NIP. 196507312000031002



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 : Arini Mayang Fa'uni
NIM : H91219039
Fakultas/Jurusan : Sains dan Teknologi/Biologi
E-mail address : fauniarinimayang00@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 PUTIH (*Allium sativum* L.)
DAN BAWANG HITAM TERHADAP HISTOLOGI GINJAL 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, 20 Juli 2023

Penulis

(Arini Mayang Fa'uni)

ABSTRAK
UJI TOKSISITAS SUBKRONIK EKSTRAK ETANOL BAWANG PUTIH
(*Allium sativum* L.) DAN BAWANG HITAM TERHADAP HISTOLOGI
GINJAL MENCIT (*Mus musculus*) BETINA

Pemanfaatan bawang putih dan bawang hitam sebagai obat-obatan herbal semakin berkembang di masyarakat. Keduanya banyak dimanfaatkan karena memiliki kandungan antioksidan yang dapat mencegah terbentuknya radikal bebas di dalam tubuh. Namun, masuknya senyawa antioksidan berlebih pada tubuh dapat memicu terbentuknya prooksidan yang bersifat seperti radikal bebas. Oleh sebab itu, diperlukan informasi efek toksik dari pengonsumsi kedua bahan tersebut sebagai obat herbal. Tujuan penelitian ini adalah untuk mengetahui perbedaan toksisitas ekstrak etanol bawang putih dan bawang hitam berbagai dosis terhadap organ ginjal mencit betina. Metode yang digunakan dalam penelitian ini adalah RAL menggunakan 7 kelompok perlakuan meliputi 1 kelompok kontrol dan 6 kelompok perlakuan uji. Pemberian ekstrak dilakukan secara oral selama 28 hari. Ekstrak yang digunakan terdiri dari ekstrak etanol bawang putih dan bawang hitam dengan masing-masing dosis yang diujikan adalah 100 mg/kg BB, 300 mg/kg BB, dan 1000 mg/kg BB. Hewan uji kemudian dikorbankan lalu diambil organ ginjalnya untuk dibuat preparat dan diamati kerusakan sel meliputi nekrosis sel, infiltrasi sel radang, kongesti, perdarahan, serta diameter glomerulus, kapsula bowman, dan ruang kapsula bowman. Berdasarkan penelitian yang telah dilakukan, didapatkan hasil yang berbeda signifikan ($<0,05$). Hal tersebut ditunjukkan dengan hasil kerusakan sel paling banyak terdapat pada perlakuan yang diberi ekstrak etanol bawang putih dan bawang hitam dosis 1000 mg/kg BB yaitu masing-masing sebesar 43% sel dan 34% kerusakan sel. Jika dilakukan perbandingan antara kedua jenis ekstrak, kerusakan sel lebih banyak ditemukan pada hewan uji dengan pemberian ekstrak etanol bawang putih. Secara keseluruhan, masing-masing tingkat kerusakan masih tergolong dalam kategori kerusakan sedang (30%-50% kerusakan).

Kata kunci: Toksisitas Subkronik, Bawang Putih, Bawang Hitam, Nekrosis, Ginjal

ABSTRACT
SUBCRONIC TOXICITY TEST OF GARLIC ETHANOL EXTRACT
(*Allium sativum* L.) AND BLACK GARLIC ON THE RENAL
HISTOPATHOLOGY OF FEMALE MICE (*Mus musculus*)

The use of garlic and black garlic as herbal medicines is growing in society. Both are widely used because they contain antioxidants that can prevent the formation of free radicals in the body. However, the entry of excess antioxidant compounds in the body can trigger the formation of pro-oxidants that are like free radicals. Therefore, information on the toxic effects of consuming these two ingredients as herbal medicine is needed. The purpose of this study was to determine the difference toxicity effect of ethanol extract of garlic and black garlic in various doses towards kidney's histology of female mice. The method used in this study is Completely Randomized Design using 7 groups including 1 control group and 6 test treatment groups. The extract was administered orally for 28 days. The extracts used consisted of garlic and black garlic ethanol extracts with each doses are 100 mg/kg BW, 300 mg/kg BW, and 1000 mg/kg BW. The mice then necropsied and their kidney were taken to make preparations and observed for cell damage including necrosis, inflammatory cell infiltration, congestion, bleeding, and glomerular diameter, Bowman's capsule, and Bowman's capsule space. The results are significantly different (<0.05) shown by the highest cell damage on groups given by garlic and black garlic ethanol extract at 1000 mg/kg BW dose (43% cells and 34% cell damage). Comparison between the two extract, higher cell damage was found in garlic ethanol extract group. Overall, each level of damage is still classified as moderate damage (30% -50% damage).

Keywords: Subchronic Toxicity, Garlic, Black Garlic, Necrosis, Kidney

DAFTAR ISI

Halaman Judul.....	i
Halaman Persetujuan Pembimbing	ii
Halaman Pengesahan Tim Penguji Skripsi	iii
Pernyataan Keaslian	iv
Halaman Motto.....	v
Halaman Persembahan	vi
Abstrak	vii
Kata Pengantar	ix
Daftar Isi.....	xi
Daftar Tabel.....	xiii
Daftar Gambar	xiv
Daftar Lampiran	xv
BAB I PENDAHULUAN.....	1
1.1. Latar Belakang	1
1.2. Rumusan Masalah	6
1.3. Tujuan Penelitian.....	6
1.4. Manfaat Penelitian	7
1.5. Batasan Masalah.....	7
1.6. Hipotesa Penelitian.....	8
BAB II TINJAUAN PUSTAKA.....	9
2.1. Uji Toksisitas.....	9
2.2. Bawang Putih (<i>Allium sativum</i>).....	12
2.3. Bawang hitam.....	19
2.4. Mencit Putih (<i>Mus musculus</i>).....	27
2.5. Organ target.....	29
2.6. Ginjal.....	30
2.7. Mekanisme Zat Toksikan pada Organ Target	33
2.8. Kerusakan Sel sebagai Parameter Pengamatan	36
BAB III METODE PENELITIAN	38
3.1 Rancangan Penelitian	38
3.2 Waktu dan Tempat Penelitian	39

3.3	Alat dan Bahan Penelitian	40
3.4	Variabel Penelitian	40
3.5	Prosedur Penelitian.....	41
3.6	Analisis Data	49
BAB IV HASIL DAN PEMBAHASAN.....		50
4.1	Rendemen Ekstrak Etanol Bawang Putih dan Bawang Hitam.....	50
4.2	Uji Toksisitas Subkronik Ekstrak terhadap Kerusakan Sel Ginjal.....	57
4.3	Uji Toksisitas Subkronik Ekstrak terhadap Diameter Glomerulus, Kapsula Bowman, dan Ruang Bowman.....	78
4.4	Uji Toksisitas Subkronik Ekstrak terhadap Berat Badan dan Berat Organ Ginjal Mencit.....	85
BAB V PENUTUP		94
5.1	Kesimpulan.....	94
5.2	Saran.....	94
DAFTAR PUSTAKA		95
LAMPIRAN		111

UIN SUNAN AMPEL
S U R A B A Y A

DAFTAR TABEL

Tabel 2.1 Kandungan Senyawa pada Bawang Putih.....	13
Tabel 2.2 Perbandingan Kandungan Senyawa Aktif Bawang Hitam dan Bawang Putih	26
Tabel 3.1 Jadwal Pelaksanaan Penelitian.....	39
Tabel 4.1 Hasil Rendemen Ekstrak Etanol Bawang Putih dan Bawang Hitam.....	52
Tabel 4.2 Rata-rata persentase Kerusakan Sel Pada Organ Ginjal Mencit	59
Tabel 4.3 Hasil Uji <i>Two Way Anova</i> terhadap Kerusakan sel.....	62
Tabel 4.4 Hasil Uji Lanjut <i>Post Hoc</i> Kerusakan Sel Dipengaruhi Konsentrasi Dosis.....	63
Tabel 4.5 Hasil Uji T Tidak Berpasangan Kerusakan Sel Dipengaruhi Jenis Ekstrak	63
Tabel 4.6 Rata-rata Diameter Glomerulus, Kapsula Bowman, dan Ruang Bowman	78
Tabel 4.7 Hasil Uji <i>Two Way Anova</i> terhadap Diameter Glomerulus, Kapsula Bowman, dan Ruang Bowman.....	82
Tabel 4.8 Hasil Uji T Tidak Berpasangan terhadap Diameter Glomerulus dan Kapsula Bowman Dipengaruhi Jenis Ekstrak.....	84
Tabel 4.9 Hasil Rata-rata Perubahan Berat Badan Mencit Setiap Minggu	86
Tabel 4.10 Berat Badan, Berat Ginjal, dan Rasio Berat Organ Ginjal Mencit ...	90
Tabel 4.11 Hasil Uji <i>Two Way Anova</i> terhadap Berat Organ Ginjal Mencit Betina	91
Tabel 4.12 Hasil Uji <i>Post Hoc</i> terhadap Berat Organ Ginjal Dipengaruhi Konsentrasi Dosis	92
Tabel 4.13 Hasil Uji T Tidak Berpasangan terhadap Berat Organ Ginjal Dipengaruhi Jenis Ekstrak	92

DAFTAR GAMBAR

Gambar 2.1 Bawang Putih (<i>Allium sativum</i>).....	13
Gambar 2.2 Allicin.....	15
Gambar 2.3 Flavonoid.....	16
Gambar 2.4 Saponin.....	16
Gambar 2.5 Adenosin.....	17
Gambar 2.6 Ajoene	18
Gambar 2.7 Bawang Hitam (<i>black garlic</i>).....	20
Gambar 2.8 Tahapan Reaksi Maillard	26
Gambar 2.9 Mencit Putih (<i>Mus musculus</i>)	28
Gambar 2.10 Anatomi Tubuh Mencit (<i>Mus musculus</i>)	28
Gambar 2.11 Organ-organ Target pada Tubuh.....	29
Gambar 2.12 Anatomi Ginjal.....	31
Gambar 2.13 Histologi Ginjal Normal.....	33
Gambar 2.14 Mekanisme Penuebaran Zat Toksikan	34
Gambar 2.15 Histologi Kerusakan Sel Ginjal.....	37
Gambar 4.1 Struktur Kimia Mekanisme Sintetis Allicin.....	54
Gambar 4.2 Mekanisme Perubahan Bawang Putih Menjadi Bawang Hitam dan Manfaat	57
Gambar 4.3 Histologi Ginjal Mencit Betina	58
Gambar 4.4 Persentase Kerusakan Sel Ginjal Mencit Betina	61
Gambar 4.5 Mekanisme Stress Oksidatif pada Sel Mamalia Akibat Allicin.....	69
Gambar 4.6 Mekanisme SAC sebagai antioksidan	72
Gambar 4.7 Macam-macam Sumber Prooksidan.....	73
Gambar 4.8 Stress Oksidatif dan Perkembangan Penyakit.....	74
Gambar 4.9 Histologi Glomerulus Ginjal Mencit Betina	79
Gambar 4.10 Rata-rata Diameter Glomerulus, Kapsula Bowman, dan Ruan Bowman	81

Gambar 4.11 Rata-rata Berat Badan Mencit Betina Selama 4 Minggu 88
Gambar 4.12 Rata-rata Berat Ginjal dan Rasio Berat Organ Mencit..... 91



UIN SUNAN AMPEL
S U R A B A Y A

DAFTAR LAMPIRAN

Lampiran 1. Rendemen Bawang Putih.....	111
Lampiran 2. Rendemen Bawang Hitam.....	111
Lampiran 3. Perhitungan Dosis.....	111
Lampiran 4. Hasil Uji SPSS.....	113



UIN SUNAN AMPEL
S U R A B A Y A

BAB I

PENDAHULUAN

1.1. Latar Belakang

Obat-obatan tradisional sebagai alternatif pengobatan semakin banyak dikembangkan salah satunya adalah penggunaan tanaman tradisional. Sebanyak \pm 400 jenis tanaman di Indonesia telah digunakan sebagai obat-obatan tradisional alternatif (Lisiswanti & Haryanto, 2017). Walaupun hasil yang diperoleh tidak *instant*, penggunaan tanaman tradisional sebagai obat memiliki efek samping yang jauh lebih rendah jika dibandingkan dengan obat-obatan kimia (Sumayyah & Nada, 2017). Maka, dapat diketahui bahwa penggunaan tanaman tradisional sebagai obat sudah banyak digunakan sejak jaman dahulu. Ketersediaan obat-obatan di alam juga telah disebutkan dalam hadits riwayat Al Bukhari no. 5246 dimana dari Abu Hurairah r.a., Rasulullah Muhammad SAW bersabda bahwa segala sesuatu pasti ada obatnya dan obat tersebut tersedia untuk dimanfaatkan oleh manusia.

حَدَّثَنَا مُحَمَّدُ بْنُ الْمُثَنَّى حَدَّثَنَا أَبُو أَحْمَدَ الرَّبِيعِيُّ حَدَّثَنَا عُمَرُ بْنُ سَعِيدٍ بْنُ أَبِي حُسَيْنٍ قَالَ
حَدَّثَنِي عَطَاءُ بْنُ أَبِي رَبَاحٍ عَنْ أَبِي هُرَيْرَةَ رَضِيَ اللَّهُ عَنْهُ عَنِ النَّبِيِّ صَلَّى اللَّهُ عَلَيْهِ
وَسَلَّمَ قَالَ مَا أَنْزَلَ اللَّهُ دَاءً إِلَّا أَنْزَلَ لَهُ شِفَاءً

Artinya: Telah menceritakan kepada kami Muhammad bin Al-Mutsanna telah menceritakan kepada kami Abu Ahmad Az-Zubairi telah menceritakan kepada kami 'Umar bin Sa'id bin Abu Husain dia berkata; telah menceritakan kepadaku 'Atha' bin Abu Rabah dari Abu Hurairah radiyallahu anhu, dari Nabi SAW: "Allah tidak menurunkan penyakit melainkan juga menurunkan penawar baginya." (HR. Bukhari no. 5246)

Selain itu, dalam hadist riwayat Muslim no. 4084 juga disebutkan bahwa penyakit yang diberikan obat maka dapat sembuh atas izin Allah.

حَدَّثَنَا هَارُونُ بْنُ مَعْرُوفٍ وَأَبُو الطَّاهِرِ وَأَحْمَدُ بْنُ عِيسَى قَالُوا حَدَّثَنَا ابْنُ وَهْبٍ أَخْبَرَنِي عَمْرُو وَهُوَ ابْنُ الْحَارِثِ عَنْ عَبْدِ رَبِّهِ بْنِ سَعِيدٍ عَنْ أَبِي الزُّبَيْرِ عَنْ جَابِرٍ عَنْ رَسُولِ اللَّهِ صَلَّى اللَّهُ عَلَيْهِ وَسَلَّمَ أَنَّهُ قَالَ لِكُلِّ دَاءٍ دَوَاءٌ فَإِذَا أُصِيبَ دَوَاءٌ بَرَأَ بِإِذْنِ اللَّهِ عَزَّ وَجَلَّ

Artinya: “Telah menceritakan kepada kami Harun bin Ma’ruf, Abu ath-Thahir, dan Ahmad bin ‘Isa, mereka berkata: Telah menceritakan kepada kami Ibnu Wahb, ia berkata: Telah mengabarkan kepadaku ‘Amru bin al-Harits, dari ‘Abdu Rabbih bin Sa’id, dari Abu az-Zubair, dari Jabir radiyallahu anhu, dari Nabi SAW: “Setiap penyakit ada obatnya. Jika obat itu mengenai penyakit maka ia akan sembuh dengan izin Allah azza wa jalla.” (HR. Muslim no. 4084)

Maksud dari hadits-hadits tersebut adalah pasti ada obat untuk segala penyakit. Namun, perlu kerja keras dalam percobaan dan penelitian untuk memperoleh obat yang tepat sehingga dapat diketahui takaran yang aman untuk mendapatkan hasil yang maksimal (Razali, 2021).

Salah satu tanaman yang dapat digunakan sebagai obat herbal adalah bawang putih (*Allium sativum*). Bawang putih telah banyak digunakan sebagai obat untuk antimikroba (Mouliya *et al.*, 2018), antijamur, antibakteri, menurunkan kadar kolesterol (Harinta & Basuki, 2018), mencegah diabetik nefropati (Burmana, 2015), antibiotik, menghambat pertumbuhan kanker dan antianterosklerosis (Chairunnisa, 2019), hingga sebagai obat hipertensi (Harinta & Basuki, 2018). Alasan penggunaan bawang putih sebagai obat adalah karena kaya akan kandungan metabolit sekunder diantaranya allisin, alliin, allinase, S-alilsistein, allil metil trisulfida, dan diallil sulfide (Mouliya *et al.*, 2018). Selain itu, pemilihan bawang putih sebagai alternatif pengobatan dikarenakan harga yang terjangkau serta mudah didapatkan (Solichin *et al.*, 2013).

Selain dalam bentuk murni, bawang putih juga dapat diolah menjadi produk bawang hitam yang juga dijadikan sebagai obat berbagai penyakit. Penggunaan bawang hitam sebagai obat dikarenakan kandungan antioksidan yang jumlahnya lebih banyak jika dibandingkan dengan bawang putih. Hal tersebut dikarenakan senyawa *S-allylcysteine* (SAC) dalam bawang hitam jumlahnya lebih banyak lima hingga enam kali jika dibandingkan dengan bawang putih (Azhar & Yuliatwati, 2021). Beberapa senyawa yang bertindak sebagai antioksidan adalah *S-allylcystein* (SAC) dan *S-allyl-mercapto-cysteine* (SAMC). Kandungan senyawa-senyawa aktif tersebut dapat berpotensi sebagai pelindung dari stress oksidatif, antiinflamasi, melindungi sistem imun (Setiawan *et al.*, 2021), antitumor, antivirus, antiaterosklerosis, antitrombogenik, antiosteoporosis (Handayani *et al.*, 2018), hingga kardioprotektor dan renoprotektor.

Kemampuan bawang hitam sebagai renoprotektor dibuktikan oleh penelitian Lee *et al.* (2019) yakni ekstrak bawang hitam mampu mengurangi kerusakan tubular ginjal (vakuolisasi dan nekrosis) pada tikus yang telah diinjeksi colistin. Ekstrak bawang hitam mampu menurunkan kadar nitrogen urea darah dan kreatinin yang meningkat akibat pemberian colistin. Penelitian Albrakati (2021) menyebutkan bahwa pemberian ekstrak bawang hitam sebelum injeksi ethephon mampu mengurangi efek samping paparan ethephon pada ginjal melalui aktivasi Nrf2 serta penghambatan peradangan dan respon apoptosis. Hasil tersebut secara signifikan memperbaiki molekul, biokimia, dan perubahan structural ginjal yang ditimbulkan oleh ethephon. Penelitian Nasr & Saleh (2014) juga menyebutkan bahwa aktivitas

antioksidan milik bawang hitam berkaitan dengan kemampuan efek renoprotektif yang ditunjukkan dengan perbaikan terhadap stress oksidatif dan kerusakan ginjal hasil induksi cisplatin. Hal tersebut disebabkan karena sifat antioksidan, antiinflamasi, dan antiapoptosis bawang hitam.

WHO menetapkan kesepakatan untuk melakukan pengujian terlebih dahulu terhadap suatu zat atau bahan yang akan digunakan sebagai pengobatan pada manusia. Selain itu, Peraturan MENKES RI No. 760/menkes/per/IX/1992 menetapkan bahwa obat-obatan yang berasal dari tanaman perlu diuji terkait khasiat serta keamanannya (Mustapa *et al.*, 2019). Keamanan senyawa kimia yang terdapat dalam bahan-bahan pakan dapat menggunakan uji toksisitas. Secara umum, uji toksisitas dapat dilakukan dengan metode uji toksisitas akut, uji toksisitas subkronik, dan uji toksisitas kronik. Uji toksisitas akut adalah uji praklinik dengan tujuan untuk mengukur efek toksik yang ditimbulkan 24 jam setelah pemberian oral dosis tunggal (Mustapa *et al.*, 2019). Uji toksisitas subkronik merupakan metode untuk menguji ketoksikan suatu senyawa yang diberikan dengan pengulangan dosis terhadap hewan uji selama 28 – 90 hari atau 1 – 3 bulan (Wahyuni *et al.*, 2017). Uji toksisitas kronik adalah uji toksisitas yang dilakukan dengan memberikan senyawa uji secara berulang dalam jangka panjang atau sebagian besar dari masa hidup hewan uji (Mustapa *et al.*, 2019).

Untuk mengetahui efek senyawa terhadap organ sasaran yang berhubungan dengan dosis pemberian dapat digunakan uji toksisitas subkronik (Setiasih *et al.*, 2016). Penggunaan uji toksisitas subkronik dapat dilakukan secara oral dengan tujuan untuk mengetahui ada atau tidaknya efek

toksik senyawa yang tidak terdeteksi saat uji toksisitas akut, mengetahui ada atau tidaknya efek toksik senyawa yang diberikan secara berulang dalam jangka waktu tertentu, mengetahui dosis yang tidak menimbulkan efek toksik, hingga mencari tahu ada atau tidaknya efek kumulatif dan efek reversibilitas senyawa yang digunakan (BPOM, 2014). Meskipun menjanjikan efek samping yang rendah, konsumsi obat-obatan herbal dosis tertentu dalam jangka panjang tidak lepas dari potensi penimbunan senyawa aktif pada organ target dalam tubuh.

Organ target merupakan organ pada tubuh yang menjadi lokasi tujuan zat toksikan sehingga mengakibatkan akumulasi dan memberikan dampak pada organ (Kurniawidjaja *et al.*, 2021). Hal tersebut dapat terjadi karena penggunaan obat-obatan yang tidak dihitung dosisnya sehingga residu toksik obat menjadi terkumpul dalam organ serta dapat menyebabkan disfungsi organ. Berdasarkan pemaparan oleh Taek (2020) dan Kurniawidjaja *et al.* (2021) disebutkan bahwa ginjal merupakan organ tubuh yang menjadi organ target yang dapat menampung akumulasi zat toksikan. Ginjal menjadi salah satu organ di dalam tubuh yang berperan penting dalam metabolisme tubuh (Dewi *et al.*, 2019). Ginjal sebagai organ utama dalam proses filtrasi dan ekskresi, berperan sebagai penyaring dan mengeluarkan zat toksik yang masuk ke dalam tubuh sebagai bentuk pembuangan sisa metabolisme tubuh. Ditinjau dari sudut farmakokinetik, tubuh akan memproses obat yang masuk secara absorpsi, distribusi, metabolisme, dan ekskresi (Adinata *et al.*, 2012). Berbagai senyawa kimia dalam tubuh akan menuju ginjal dan masuk dalam sirkulasi sistemik karena tingginya aliran darah yang menuju ginjal. Hal tersebut

menyebabkan zat-zat toksik berpotensi untuk terakumulasi dalam ginjal sehingga ginjal dapat mengalami kerusakan (Oktaviandari *et al.*, 2020). Oleh sebab itu, ekstrak bawang putih dan bawang hitam berbagai dosis perlu diuji untuk mengetahui perbedaan hasil toksisitasnya terhadap histologi organ ginjal mencit betina.

1.2. Rumusan Masalah

Rumusan masalah pada penelitian ini adalah:

- a. Bagaimana hasil perbedaan uji toksisitas ekstrak etanol bawang putih dan bawang hitam berbagai dosis terhadap histologi ginjal mencit betina?
- b. Berapakah dosis masing-masing ekstrak yang aman digunakan tanpa menimbulkan gejala toksik pada organ ginjal mencit betina?

1.3. Tujuan Penelitian

Tujuan penelitian ini yaitu:

- a. Mengetahui perbedaan efek toksik yang dihasilkan ekstrak etanol bawang putih (*Allium sativum* L.) dan bawang hitam berbagai konsentrasi terhadap histologi ginjal mencit (*Mus musculus*) betina.
- b. Mengetahui dosis masing-masing ekstrak yang aman digunakan tanpa menimbulkan gejala toksik pada organ ginjal mencit (*Mus musculus*) betina.

1.4. Manfaat Penelitian

Penelitian ini memiliki manfaat diantaranya:

a. Bagi Peneliti

Mengetahui perbedaan histologi ginjal mencit akibat pengaruh yang disebabkan oleh pemberian ekstrak etanol bawang putih dan bawang hitam selama 28 hari sebagai hasil uji toksisitas subkronik.

b. Bagi Industri

Didapatkan informasi terkait pengaruh penggunaan bawang putih dan bawang hitam sebagai obat terhadap kondisi organ ginjal.

c. Bagi Masyarakat

Masyarakat dapat memperoleh informasi diantaranya:

- 1.) Perbedaan manfaat dan efek dari penggunaan bawang putih dan bawang hitam sebagai alternatif obat-obatan herbal.
- 2.) Informasi terkait histologi ginjal akibat pemberian ekstrak etanol bawang putih dan bawang hitam dapat dijadikan acuan jika diperlukan pengembangan penelitian di masa mendatang.

1.5. Batasan Masalah

Batasan masalah yang digunakan dalam penelitian ini adalah:

- a. Mencit yang digunakan adalah spesies *Mus musculus* betina galur ddy
- b. Bawang putih dan bawang hitam yang digunakan berasal dari bawang putih majemuk
- c. Proses maserasi menggunakan pelarut etanol 70%
- d. Pemberian ekstrak pada mencit dilakukan selama 28 hari

- e. Data yang diambil dari pengamatan histologi meliputi nekrosis sel, infiltrasi sel radang, diameter glomerulus, diameter kapsula bowman, dan diameter ruang kapsula bowman pada ginjal

1.6. Hipotesis Penelitian

Hipotesa pada penelitian ini adalah terdapat perbedaan hasil pemberian ekstrak etanol bawang putih (*Allium sativum* L.) dan bawang hitam berbagai dosis secara oral selama 28 hari terhadap histologi ginjal mencit betina.



UIN SUNAN AMPEL
S U R A B A Y A

BAB II

TINJAUAN PUSTAKA

2.1. Uji Toksisitas

Uji toksisitas merupakan suatu uji yang dilakukan dengan tujuan mengetahui tingkat keamanan suatu senyawa kimia terutama yang berada dalam bahan pangan (Setiasih et al., 2016). Uji toksisitas dapat pula diartikan sebagai uji yang memiliki tujuan untuk deteksi efek zat toksikan serta mengetahui data dosis-respon yang aman untuk digunakan (Rumaseuw et al., 2019). Toksisitas dapat diartikan sebagai analisis mengenai hakikat dan mekanisme efek toksik yang ditimbulkan oleh zat xenobiotik terhadap sistem tubuh makhluk hidup. Efek toksik pada umumnya akan menyebabkan perubahan pada tingkat subseluler dengan mempengaruhi nukleulus, lisosom, retikulum endoplasma, mitokondria, dan struktur subseluler yang lain hingga membran plasma. Mekanisme efek toksik dapat pula dikelompokkan menurut sifat kimia yang dimiliki molekul sasaran seperti protein, koenzim lemak, dan berbagai asam nukleat selain karbohidrat (Nugroho, 1995; Setiasih et al., 2016).

Terdapat dua metode pengujian toksisitas yang dapat dilakukan yakni untuk mengetahui efek toksik secara umum dan untuk evaluasi efek toksik yang lebih spesifik. Uji toksisitas secara umum dapat menggunakan metode uji toksisitas akut, uji toksisitas subkronik, dan uji toksisitas subkronik. Uji toksisitas spesifik dapat menggunakan uji

teratogenitas, uji mutagenitas, dan uji karsinogen (Hayes, 2001; Setiasih et al., 2016).

a. Uji Toksisitas Akut

Uji toksisitas akut tergolong dalam kelompok uji praklinik yang dilakukan dengan tujuan mengukur efek toksik dari suatu senyawa. Efek toksik diamati dalam waktu 24 jam setelah pemberian zat maupun senyawa dosis tunggal secara oral. Tolak ukur dari uji toksisitas ini adalah dosis letal tengah atau median lethal dose (LD_{50}) sebagai data kuantitatif dan gejala klinis, geala fisiologis, dan mekanisme toksik sebagai data kualitatif (Jenova, 2009; Mustapa *et al.*, 2019). Gejala klinis yang diamati dapat berupa perubahan nafsu makan, bobot badan, keadaan mata, keadaan rambut, perilaku, hingga total kematian hewan (Fadli, 2015). Tujuan pengujian ini adalah menentukan LD_{50} sebagai tanda statistik dari pemberian zat senyawa dosis tunggal yang mampu menyebabkan 50% kematian hewan uji.

b. Uji Toksisitas Subkronik

Uji toksisitas subkronik merupakan uji toksisitas yang dilakukan dalam jangka waktu yang cenderung pendek yaitu sekitar 10% dari masa hidup hewan uji. Pengujian ini dapat dilakukan dengan cara memberikan zat senyawa yang digunakan melalui oral terhadap hewan uji dalam kurun waktu 28 hingga 90 hari dengan satu dosis yang sama untuk satu kelompok perlakuan. Selama masa pemberian, hewan uji juga diamati setiap hari untuk mendeteksi adanya toksisitas. Di akhir masa perlakuan, hewan uji kemudian dikropsi untuk

dilakukan pengamatan terhadap organ secara makropatologi (BPOM, 2014). Selain itu, pengujian ini juga memberikan informasi terkait efek patologi secara kasar dan efek toksik zat senyawa terhadap histologi organ sasaran. Tujuan dari pengujian ini adalah untuk mendapatkan informasi dosis paling tinggi yang digunakan tanpa menyebabkan efek toksik serta mengetahui pengaruh senyawa terhadap tubuh setelah pemberian secara berulang kali (Fadli, 2015).

c. Uji Toksisitas Kronik

Prinsip uji toksisitas kronik tidak jauh berbeda dengan uji toksisitas subkronik yakni dapat dilakukan secara oral terhadap hewan uji. Hanya saja, perbedaan rentang waktu pemberian zat senyawa yang diujikan berbeda. Uji toksisitas kronik merupakan uji toksisitas yang dilakukan dalam jangka waktu cenderung panjang yakni sekitar 5 hingga 12 bulan atau sampai semasa hidup hewan. Parameter yang didapatkan dari hasil pengujian toksisitas secara kronik dapat berupa efek neurologi, fisiologi, histologi, hematologi, hingga biokimia klinis. Tujuan dari pengujian ini adalah untuk mendapatkan dosis tetap yang dapat digunakan dalam jangka waktu panjang tanpa menyebabkan efek toksik dalam tubuh (BPOM, 2014).

2.2. Bawang Putih (*Allium sativum*)

a. Klasifikasi

Bawang putih (*Allium sativum*) merupakan salah satu tanaman yang dapat digunakan sebagai obat tradisional. Asal tanaman ini adalah dari Asia Tengah seperti Jepang dan Cina yang memiliki iklim subtropik. Seiring berjalannya waktu, bawang putih telah tersebar ke seluruh Asia, Eropa, bahkan dunia melalui proses perdagangan. Setelah itu, bawang putih banyak dibudidayakan di daerah pesisir pantai. Bawang putih sendiri banyak ditemukan dan digunakan sebagai bumbu penyedap dalam pembuatan masakan (Lisiswanti & Haryanto, 2017). Bawang putih (*Allium sativum*) menurut Cronquist (1981) di dalam penelitian Wibowo (2006) dapat diklasifikasikan sebagai berikut:

Kingdom : Plantae
 Division : Magnoliophyta
 Class : Liliopsida
 Subclass : Liliidae
 Superorder : Lilianae
 Order : Amaryllidales
 Family : Alliaceae
 Subfamily : Allioideae
 Genus : *Allium*
 Species : *Allium sativum* L.

b. Deskripsi

Bawang putih (*Allium sativum*) dapat dibudidayakan baik di lokasi dataran tinggi maupun dataran rendah dengan ketinggian antara 200 – 250 meter dpl. Tanaman ini dapat tumbuh hingga 60 cm dengan umbi berukuran 3,8 hingga 7,6 cm. Terdapat 4 sampai 60 siung berbagai ukuran dan bentuk yang dapat menyusun umbi bawang putih. Siung-siung tersebut diselimuti oleh membran tipis berwarna putih (Gambar 2.1) atau terkadang berwarna merah sedikit ungu. Bagian akar tanaman bawang putih berupa serabut-serabut kecilyang banyak (Lisiswanti & Haryanto, 2017).



Gambar 2.1. Bawang Putih (*Allium sativum* L.)

(Iskandar *et al.*, 2018)

Bawang putih memiliki bunga hemaprodit serta batang panjang dan tegak yang dapat tumbuh hingga 0,6 – 0,91 meter. Bawang putih mampu bereproduksi secara seksual maupun aseksual. Tiga cara reproduksi bawang putih diantaranya adalah dari biji, dari bulbil (umbi kecil dari bunga), serta dari siung (umbi lapis yang menjadi akar bunga). Meskipun memiliki kemampuan bereproduksi

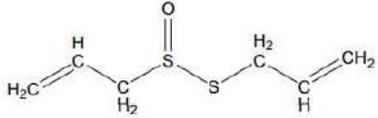
secara alami, pada bidang pertanian bawang putih lebih banyak dibudidayakan secara aseksual yakni umbi bawang langsung ditanamkan di dalam tanah (Meredith & Drucker, 2012).

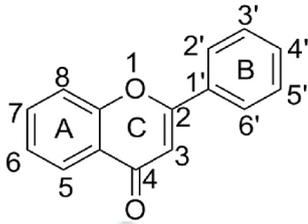
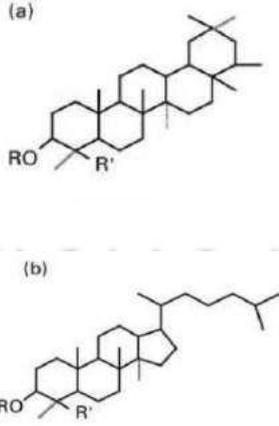
c. Kandungan Senyawa Aktif

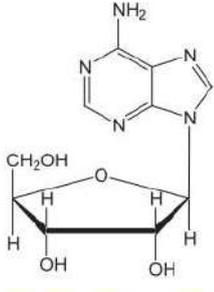
Bawang putih (*Allium sativum*) merupakan tanaman yang selain dijadikan sebagai bumbu penyedap dalam masakan, juga banyak digunakan sebagai obat tradisional karena beberapa kandungan senyawa aktif di dalamnya. Londhe (2011) dalam Iskandar *et al.* (2018) menyebutkan bahwa senyawa-senyawa yang terkandung dalam bawang putih diantaranya adalah berbagai macam enzim, 17 macam asam amino dan mineral, serta 33 jenis senyawa sulfur. Kandungan senyawa sulfur tersebut yang menyebabkan bawang putih memiliki aroma khas dan menjadi ciri khusus dari seluruh spesies *Allium*. Beberapa senyawa yang terkandung di dalam bawang putih, dapat disajikan pada tabel 2.1 di bawah ini.

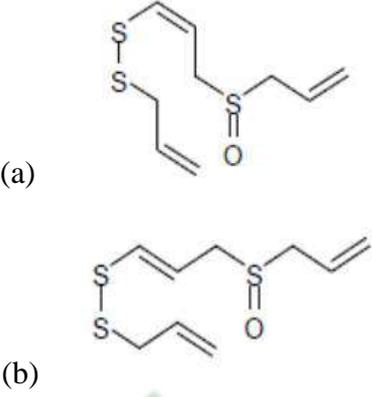
UIN SUNAN AMPEL
S U R A B A Y A

Tabel 2.1 Kandungan Senyawa pada Bawang Putih (*Allium sativum*)(Wibisono *et al.*, 2020)

Senyawa	Struktur Molekul	Deksripsi
Allicin	 <p data-bbox="730 719 938 748">Gambar 2.2 Allicin</p> <p data-bbox="667 801 1002 831">(Hernawan & Setyawan, 2003)</p>	<p data-bbox="1072 434 1353 1861">Allicin adalah senyawa pada bawang putih yang terbentuk ketika bawang mengalami luka (dipotong) melalui proses mengubah senyawa alliin menjadi allicin (Lisiswanti & Haryanto, 2017). Senyawa ini memiliki peran aktif sebagai antimikroba (Alisjahbana <i>et al.</i>, 2015), antibiotik, dan antidiabetik (Lisiswanti & Haryanto, 2017).</p>

<p>Flavonoid</p>	 <p>Gambar 2.3 Flavonoid (Badshah <i>et al.</i>, 2021)</p>	<p>Flavonoid merupakan senyawa golongan fenolik yang memiliki gugus hidroksil –OH (Agustina <i>et al.</i>, 2020). Senyawa ini banyak berperan sebagai pelindung radikal bebas dalam tubuh (Aini <i>et al.</i>, 2022).</p>
<p>Saponin</p>	 <p>Gambar 2.4 Saponin. (a) Triterpenoid; (b) Steroid (Metan <i>et al.</i>, 2016)</p>	<p>Saponin banyak ditemukan pada akar, kulit, daun, biji, hingga buah tanaman dengan peran sebagai sistem pertahanan. Ciri terdapatnya kandungan ini adalah adanya rasa pahit, pembentukan busa stabil, seta mampu</p>

		<p>membentuk molekul dengan kolesterol. Fungsi lain senyawa ini dapat digunakan sebagai defaunasi protozoa (Metan et al., 2016).</p>
Adenosin	<div style="text-align: center;">  <p>Gambar 2.5 Adenosin (Moriyama <i>et al.</i>, 2009)</p> </div>	<p>Adenosin merupakan nukleosida endogen yang terdapat pada setiap sel tubuh dengan peran sebagai kardioprotektif dan homeostatik.</p> <p>Senyawa ini akan meningkat saat metabolisme oksigen tidak seimbang dengan oksigen yang ada dalam jaringan (Sachdeva & Gupta, 2013).</p>

Ajoene	 <p>(a)</p> <p>(b)</p> <p>Gambar 2.6 Ajoene. (a) Z-Ajoene; (b) E-Ajoene (Putranti <i>et al.</i>, 2019)</p>	<p>Ajoene merupakan senyawa organosulfur dalam bawang putih yang memiliki sifat tidak stabil dan tidak tahan panas. Komponen ini hanya akan terbentuk saat bawang putih dipotong atau dihancurkan (Gosal <i>et al.</i>, 2021). Senyawa ini memiliki peran untuk antikoagulan dalam aliran darah (Lisiswanti & Haryanto, 2017).</p>
--------	--	--

Kandungan senyawa aktif dalam bawang putih menunjukkan beberapa manfaatnya dalam dunia farmakologis. Penggunaan bawang putih sebagai obat dikarenakan oleh manfaatnya juga dijelaskan dalam hadits yang diriwayatkan oleh Ad-Dailami dari Ali, Rasulullah Muhammad SAW berkata, “*Makanlah bawang putih dan gunakanlah ia sebagai obat karena ia mampu mengobati 70*

macam penyakit.” Maksud dari 70 macam penyakit tersebut ialah kiasan bahwasannya berbagai macam penyakit dapat diobati dengan memanfaatkan khasiat dari bawang putih. Bukti dari manfaat bawang putih tersebut telah banyak dijelaskan dari berbagai penelitian. Menurut Kuswardhani (2016) dalam Wibisono *et al.*, (2020) kandungan senyawa aktif dari bawang putih adalah allicin, flavonoid, saponin, adenosin, tuberholosida, scordinin, dan ajoene, yang dapat berfungsi sebagai obat antihipertensi, antitrombotik, hingga antibakteri. Kandungan senyawa-senyawa aktif yang ada menyebabkan bawang putih memiliki fungsi klinis sehingga banyak dimanfaatkan untuk pengobatan berbagai macam penyakit seperti diabetes, hipertensi, hiperkolesterolemia, hingga rheumatoid arthritis (Majewski, 2014; Iskandar *et al.*, 2018).

2.3. Bawang hitam

a. Deskripsi

Bawang hitam atau *Black Garlic* adalah produk hasil bawang putih yang telah dipanaskan selama 30 hari pada suhu 65°C – 80°C dengan kelembapan sekitar 70% – 80% (Wang *et al.*, 2010; Iskandar *et al.*, 2018). Morfologi bawang hitam ditunjukkan pada (Gambar 2.7).



Gambar 2.7 Bawang Hitam (*black garlic*)

(Iskandar et al., 2018)

Jika dibandingkan dengan bawang putih, bawang hitam tidak memiliki rasa yang kuat (menyengat) karena kandungan senyawa allicin yang berkurang. Bawang hitam memiliki tekstur yang lembut, kenyal, serta memiliki rasa yang gurih dan sedikit manis (Atun *et al.*, 2021). Dari berbagai produk hasil olahan bawang putih yang tersedia secara komersial, bawang hitam telah dikenal sebagai makanan kesehatan yang berkembang pesat dan banyak dipelajari. Negara Korea, Jepang, dan Thailand merupakan negara yang banyak mengonsumsi bawang hitam dengan perkiraan penjualan mencapai 94 juta dollar (Ahmed & Wang, 2021).

b. Proses Pembuatan Bawang Hitam

Bawang hitam dapat diperoleh melalui proses pemanasan bawang putih pada suhu dan waktu tertentu. Penggunaan suhu 90°C dapat menghasilkan bawang hitam lebih cepat namun memiliki rasa yang pahit dan asam. Penggunaan suhu 60 °C tidak dapat menghasilkan bawang hitam secara optimal karena masih menyisakan bagian bawang putih yang tidak mengalami

perubahan. Oleh sebab itu, penggunaan suhu antara 70-80 °C dianggap suhu paling optimal karena dapat menghasilkan bawang hitam karena hasil bawanghitam memiliki kualitas warna homogen dengan rasa dan tekstur yang pas (Kimura et al., 2017).

Variasi waktu dalam proses pembuatan bawang hitam juga mempengaruhi hasil yang diperoleh. Pada proses pemanasan 30 – 40 hari, didapatkan hasil kandungan antioksidan yang optimal jika dibandingkan dengan pemanasan selama 10 atau 20 hari. Parameter rasa manis dan aroma yang tidak menyengat pada bawang hitam juga didapatkan pada hasil pemanasan selama 30 – 40 hari. Selain mengalami peningkatan pada beberapaparameter, proses pemanasan yang dialami bawang hitam menyebabkan penurunan pada kadar air dan kadar pH. Kadar air yang berkurang disebabkan karena adanya proses penguapan selama pemanasan. Kadar pH yang menurun disebabkan karena peningkatan kadar asam dalam bawang yaitu asam tartarat, asam sitrat, asam laktat, dan asam asetat (Gasyiya, 2018).

c. Kandungan Senyawa Aktif

Bawang hitam hasil fermentasi bawang putih tidak hanya mengalami perubahan karakteristik fisiokimia, namun juga mengalami peningkatan konsentrasi senyawa bioaktif (Tran *et al.*, 2020). Manfaat komponen kimia bawang hitam di bidang kesehatan telah dipelajari pada hewan dan manusia. Beberapa studi menyebutkan bahwa bawang hitam memiliki kemampuan

antioksidan, antigenotoksik, antiinflamasi, antileukimia, dan antialergi (Atun et al., 2021). Antioksidan pada bawang hitam kadarnya dua kali lipat daripada bawang biasa karena adanya kandungan *S-allylcysteine* (SAC) dan *S-allyl-mercapto-cysteine* (SAMC). Karena antioksidan tersebut, bawang hitam dapat melindungi dari stress oksidatif, inflamasi, dan melindungi sistem imun (Setiawan et al., 2021). Menurut Bae et al. (2011) dalam Rumaseuw et al. (2019) kandungan *S-allylcysteine* dalam bawang hitam mencapai 5 – 7 kali lebih tinggi jika dibandingkan dengan bawang putih. Peningkatan polifenol juga dilaporkan sebanyak 10 mg/gram dari kandungan awal 3,67 mg/gram pada bawang putih (Jang et al., 2008; Rumaseuw et al., 2019). Peningkatan total senyawa fenol pada bawang hitam disebabkan karena terjadinya degradasi fenol. Peningkatan tersebut terjadi karena senyawa fenol tidak mengalami penurunan kadar selama proses pemanasan (Gasyiya, 2018). Penggunaan komponen bioaktif pada bawang hitam memiliki potensi terapeutik untuk mengobati berbagai penyakit (Ahmed & Wang, 2021).

Menurut Kimura et al. (2017) proses pemanasan yang terjadi untuk menghasilkan bawang hitam menyebabkan perubahan kandungan senyawa fitokimia. Senyawa-senyawa dari bawang putih akan mengalami perubahan menjadi Amodari yakni senyawa heyns yang merupakan senyawa utama dari reaksi Maillard. Disebutkan pula bahwa senyawa *S-allylcysteine* menjadi senyawa utama pada

bawang hitam. *S-allylcysteine* merupakan senyawa organosulfur yang berasal dari bawang putih dan dibiosintesis dengan hidrolisis γ -glutamyl-S-allylcysteine (GSAC) oleh enzim γ -glutamyl-transpeptidase (γ GTP). SAC dikenal sebagai senyawa bioaktif yang larut dalam air dengan kapasitas antioksidan yang tinggi (Kosuge, 2020).

Reaksi Maillard yang terjadi dalam proses pembentukan bawang hitam terbagi menjadi tiga tahap. Tahap pertama merupakan tahap awal reaksi Maillard yang terdiri dari dua proses yakni reaksi kondensasi gugus gula dan gugus amine. Pada tahap kondensasi gugus gula dengan gugus amine akan terjadi reaksi kondensasi senyawa karbonil dengan asam amino membentuk glikosilamin N-Tersubstitusi melalui Basa Sciff yang kemudian menghasilkan produk senyawa intermediette reaktif yaitu 1-Deoksiglukosan dan 3-Deoksiglukosan. Setelah melalui proses awal kondensasi, maka pada tahap kedua akan terjadi pembentukan ulang senyawa Amodari yang berperan dalam pemberian *flavors*. Pembentukan ulang Amadori berasal dari produk senyawa intermediette reaktif yaitu 3-deoksioson pada proses 1,2-enolisasi (kondisi asam), 1-deoksioson pada proses 2,3-enoolisasi (kondisi basa), dan 1-amino-1,4-deoksioson. Pada tahap pertama ini, bawang putih masih belum mengalami perubahan warna dengan hasil pengujian menggunakan spektrofotometer Uv-Vis menunjukkan panjang gelombang 280 nm (Mlootkeewiez, 1998; Dedin dan Rosidah, 2011).

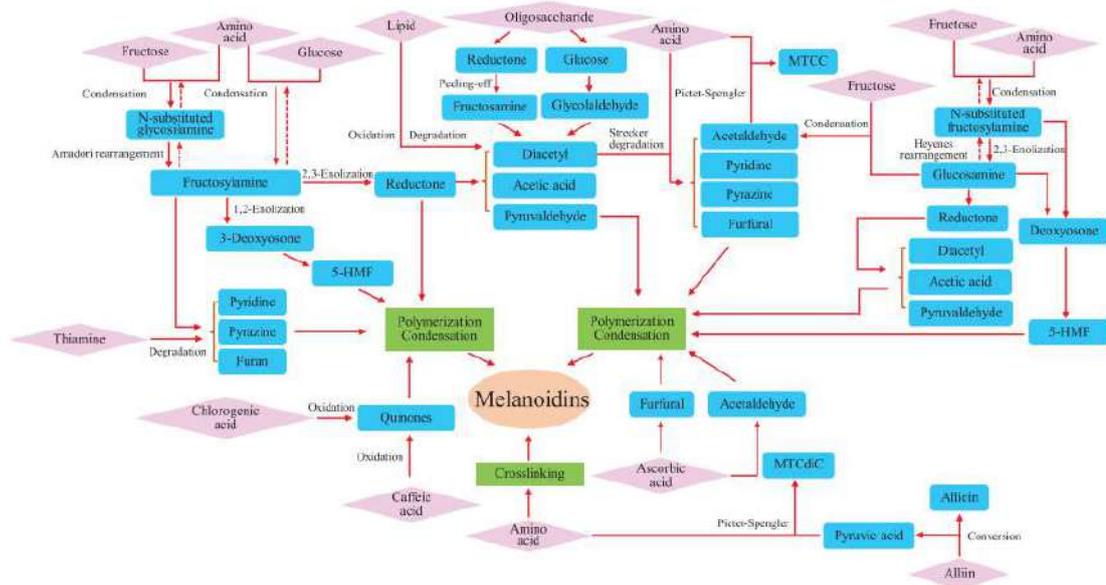
Tahap kedua dari Reaksi Maillard merupakan tahap dimana bawang telah mengalami perubahan warna menjadi kuning kecoklatan dan mulai dapat terdeteksi absorbansi visiblenya. Pada tahapan ini, terdapat 3 jenis jalur reaksi dapat dilalui untuk menghasilkan polimer melanoidin yang menyebabkan produk reaksi memiliki warna kecoklatan. Pada jalur pertama terjadi reduksi $-H_2S$ pada senyawa 1,3-deoksioson kemudian dilanjutkan dengan siklisasi produk menghasilkan 5-HMF (5-hydroxymethyl furfural dan membentuk turunan 5-(hydroxymethyl-2) furoic acid (5-HMFA) di pertengahan Reaksi Maillard dan jumlahnya meningkat, kemudian terjadi reduksi dehidrasi ($-H_2S$) membentuk melanoidin. Pada jalur kedua, melanoidin dapat dihasilkan dari proses fragmentasi senyawa Amadori ($-H_2S$, NH_3 , dan asam amino) kemudian dilanjutkan dengan reaksi kondensasi pada produk ($-H_2S$, NH_3 ,) dan terjadi siklisasi produk menghasilkan 5-HMF beserta turunannya untuk membentuk melanoidin. Pada jalur ketiga yaitu jalur degradasi *Strecker* pembentukan polimer melanoidin dapat dihasilkan dari adanya reaksi interaksi antara senyawa intermediette dengan asam amino lainnya (Qiu *et al.*, 2020).

Tahap terakhir pada reaksi ini adalah terbentuknya senyawa berupa gula yang memiliki berat molekul rendah, turunan enamiol, produk *carbonil* rantai tak jenuh, serta polimer berwarna coklat yang dihasilkan dari proses perubahan polimerasi. Pembentukan polimer ini melalui proses kondensasi aldol, reaksi aldehida-amin, dan

pembentukan senyawa heteroiklik bernitrogen (Dedin & Rosidah, 2011).

Reaksi Maillard yang ditunjukkan oleh (Gambar 2.8) menjelaskan tentang tahapan reaksi yang dimulai dengan Aldosa (gula pereduksi) bereaksi dengan asam amino milik protein dan menghasilkan basa Schiff. Kemudian dilanjutkan dengan reaksi Amadori yang akan membentuk amino ketosa. Hasil reaksi Amadori akan mengalami dehidrasi dan membentuk furfural dehidra dari pentosa atau hidroksi metil furfural dari heksosa. Proses dehidrasi selanjutnya menghasilkan produk berupa metil-dikarbonil yang diikuti penguraian membentuk reduktor dan dikarboksil berupa metilglioksal, asetat, dan diasetil. Aldehida-aldehida aktif yang terbentuk dari produk tahap ketiga dan keempat akan mengalami polimerasi tanpa pengikutsertaan gugus amino (reaksi kondensasi aldol) atau dengan pengikutsertaan gugus amino untuk membentuk senyawa berwarna coklat yang disebut melanoidin (Simpson, 2012).

UIN SUNAN AMPEL
S U R A B A Y A



Gambar 2.8 Tahapan Reaksi Maillard

(Qiu, 2020)

Perbandingan kandungan senyawa antara bawang hitam dengan bawang putih segar dapat disajikan pada tabel berikut ini:

Tabel 2.2 Perbandingan Kandungan Senyawa Aktif Bawang Hitam dengan Bawang Putih

Sumber: (Kimura et al., 2017)

Kandungan	Bawang Putih	Bawang Hitam
<i>Water-soluble sugar</i>	450 mg/g	Meningkat 1,88 – 7,91
Polyphenol	13,91 mg GAE/g	Meningkat 4,19
Flavonoid	3,22 mg RE/g	Meningkat 4,77
Amadori & Heyns	10 µg/g	Meningkat 40 – 100
Fructan	580 mg/g	Berkurang 0,15 – 0,01
Leucine	58,62 mg/100g	Meningkat 1,06
Isoleucine	50,04 mg/100g	Meningkat 1,67
Cysteine	81,06 mg/100g	Berkurang 0,58
Phenylalanine	55,64 mg/100g	Meningkat 2,43
Tyrosine	449,95 mg/100g	Berkurang 0,18

2.4. Mencit Putih (*Mus musculus*)

a. Klasifikasi

Mencit putih (*Mus musculus*) adalah mamalia bertulang belakang (vertebrata) yang dominan hidup di malam hari atau *nocturnal* (Kusumawati, 2004). Selain sifat nokturnal, mencit juga termasuk hewan fotofobik dan penakut sehingga cenderung lebih banyak bersembunyi (Alim, 2013). Mencit putih (*Mus musculus*) menurut Nowak & Paradiso (1983) dalam Yulisa (2014) dapat diklasifikasikan sebagai berikut:

Kingdom : Animalia

Phylum : Chordata

Class : Mamalia

Order : Rodentia

Family : Muridae

Genus : *Mus*

Species : *Mus musculus*

b. Deskripsi

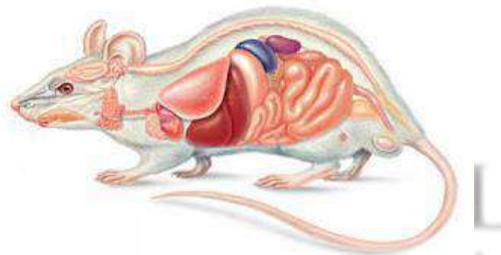
Mencit putih (*Mus musculus*) tergolong dalam famili Muridae (tikus- tikusan) dengan ukuran tubuh yang kecil (Alim, 2013) berkisar antara 7,5 – 10cm untuk badan dan 5 – 10 cm untuk ekor. Ciri-ciri lain dari mencit putih diantaranya adalah memiliki kaki kecil, berat badan sekitar 20 – 40 gram untuk jantan dan 18 – 35 gram untuk betina (Kusumawati, 2004). Tubuh ditutupi oleh rambut, berdaun telinga, berdarah panas, bernapas dengan paru-paru, serta

termasuk hewan vivipar (Alim, 2013). Morfologi mencit ditunjukkan oleh (Gambar 2.9) di bawah ini:



Gambar 2.9 Mencit Putih (*Mus musculus*)
(Tambupol, 2014)

Berdasarkan (Gambar 2.10) ditunjukkan bahwa organ-organ tubuh mencit meliputi mulut, faring, laring, jantung, paru-paru, hati, kantung empedu, lambung, usus dua belas jari, usus besar, ginjal, rectum. Organ reproduksi mencit jantan meliputi testis, penis, epididimis, dan vas deferens. Organ reproduksi mencit betina yaitu sepasang ovarium, uterus, serviks, dan vagina (Kusumawati, 2004).



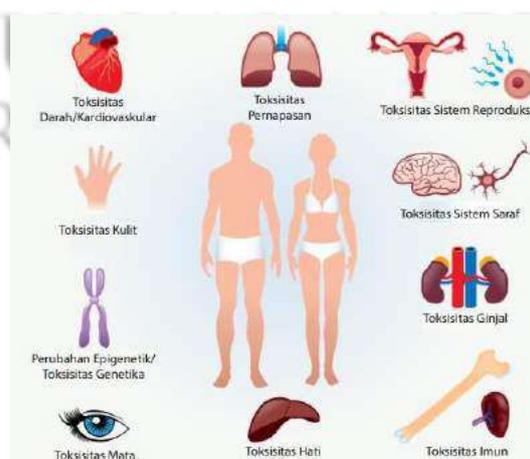
Gambar 2.10 Anatomi Tubuh Mencit (*Mus musculus*)
(Tamam, 2016)

Mencit putih dapat hidup di daerah dengan iklim dingin maupun panas serta hidup di alam bebas maupun kandang (Alim, 2013) serta mampu beradaptasi dengan lingkungannya (Abulhair *et al.*, 2014). Karena kemampuannya yang mudah beradaptasi, mencit putih banyak digunakan sebagai hewan coba dalam penelitian.

Selain kemampuan beradaptasi, pemilihan mencit putih sebagai hewan coba juga dikarenakan oleh siklus hidup relatif pendek dengan jumlah anak banyak dalam satu kali melahirkan, variasi sifat tinggi, dan penanganan yang mudah (Alim, 2013).

2.5. Organ Target

Organ target adalah lokasi tubuh yang dituju oleh zat toksikan sehingga menyebabkan efek pada organ tersebut. Organ target akan berbeda-beda tergantung dari jenis toksikan yang dipengaruhi oleh beberapa faktor seperti kepekaan organ, penyerapan, afinitas, biotransformasi atau bioaktivasi, dan mekanisme pemulihan. Masuknya toksikan ke dalam tubuh dapat melalui beberapa cara diantaranya menghirup udara yang mengandung toksikan, mengkonsumsi tanaman, ikan, daging, susu, dan makanan lainnya, meminum air tercemar zat toksikan, maupun melalui kontak dengan kulit (Kurniawidjaja et al., 2021).



Gambar 2.11 Organ-organ Target pada Tubuh

(Kurniawidjaja et al., 2021)

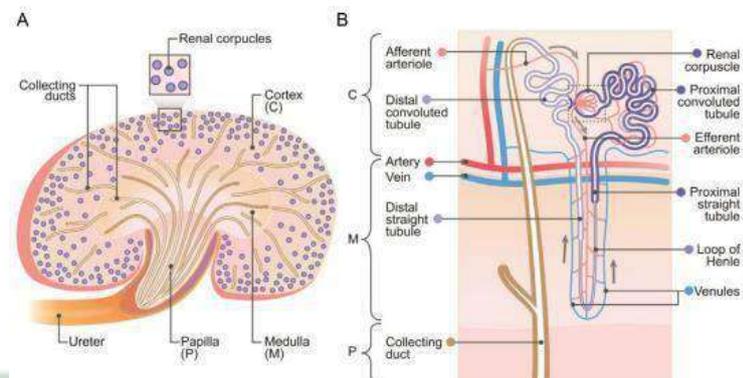
Beberapa organ yang sering menjadi sasaran ditujunya sebuah toksikan adalah hati, ginjal, paru-pari, kulit, mata, hingga sistem reproduksi (Kurniawidjaja et al., 2021). Menurut Taek (2020) organ-organ yang dapat menjadi sasaran dalam terjadinya akumulasi zat xenobiotik adalah ginjal, jantung, hati, dan limpa. BPOM(2014) juga menyebutkan terdapat 5 organ penting yang perlu diperiksa dalam pengujian toksisitas yakni ginjal, jantung, hari, limpa, dan paru-paru. Pembelajaranterkait organ target dapat dikategorikan sebagai hal yang krusial karena efek yang ditimbulkan oleh zat toksikan dapat menyebabkan kerusakan pada organ tubuh (Kurniawidjaja et al., 2021).

2.6. Ginjal

a. Deskripsi dan Anatomi

Ginjal adalah salah satu organ tubuh yang memiliki struktur kompleks dengan fungsi penting dalam tubuh (Idris, 2014). Fungsi ginjal antara lain adalah membuang zat-zat toksik bagi tubuh, membuang kelebihan gula dalam darah, menjaga keseimbangan air tubuh, mengatur konsentrasi garam dalam darah, menjaga keseimbangan asam basa dalam darah, serta menjaga pH plasma untuk tetap stabil pada 7,4 melalui pertukaran ion hidronium dan hidroksi (Prabowo, 2014; Khanmohamadi, 2014). Organ ginjal berjumlah dua buah di sisi kanan dan kiri dinding posterior abdomen dan memiliki warna coklat kemerahan (Snell, 2006). Tiap harinya, ginjal menyaring 180 Liter darahatau sekitar 20% dari curah jantung. Penyaringan ginjal dengan cara membuangproduk sisa metabolisme,

dan kerja ginjal menyesuaikan air, garam, dan pH untuk menjaga keseimbangan homeostatik cairan jaringan (McMahon, 2016).



Gambar 2.12 Anatomi Ginjal

(McMahon, 2016)

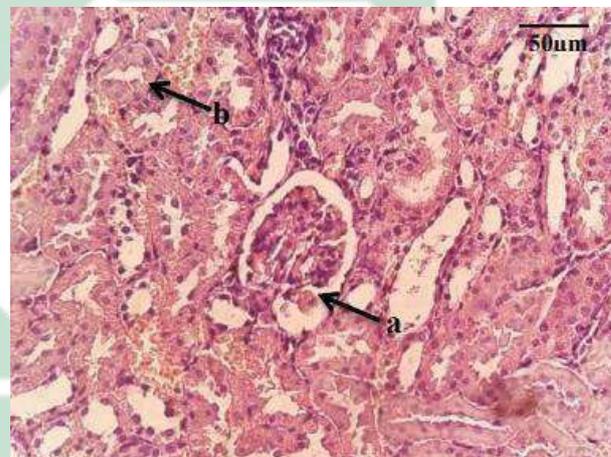
Unit fungsional ginjal adalah nefron. Ginjal mencit memiliki 12-16.000 nefron per ginjal, dengan jumlah yang bervariasi tergantung padajenisnya. Perbedaan jumlah nefron pada ginjal mencit dengan manusia adalahtampak lebih bervariasi pada manusia. Laporan menunjukkan perbedaansebanyak 10 kali lipat dalam jumlah nefron diantara individu dengan rata-rata sekitar 1.000.000 nefron per ginjal. Filtrasi ginjal terjadi di dalam sel darah ginjal pada tingkat proksimal nefron. Membran basal glomerulus bertindak sebagai penghalang filtrasi, mengurangi masuknya zat terlarut serum dengan berat molekul lebih besar ke dalam nefron seperti albumin serum. Podosit adalah sel yang spektakuler. Proses pemanjangan berbasis aktin memanjang dari badan sel, masing-masing menyerupai lengan gurita. Prosesus kaki yang memancar dari lengan podosit yang berdekatan saling membentuk, diagram celah, bukaan sempit sekitar 40 nm yang mengatur aliran cairan ke segmen tubulus proksimal nefron

(McMahon, 2016). Sel tubulus proksimal sangat aktif secara metabolik dan karena ini hal tersebut menjadi sel yang rentan terhadap cedera. Cedera tersebut dapat berupa ginjal akut berkaitan dengan hipoksia, infeksi, atau nefrotoksik adalah salah satu penyebab utama kematian di rumah sakit. Tubulus proksimal adalah sel yang menjadi target dari gangguan patologis yang bermacam-macam tersebut. Tubulus distal berhubungan dengan duktus kolektivus, suatu jaringan epitel berlapis tinggi yang kontinu dengan asal yang cukup berbeda dari tubulus ginjal yang bersebelahan. Sistem saluran pengumpul menyalurkan urin dari ginjal melalui ureter ke kandung kemih. Ginjal juga dipersarafi oleh sistem saraf simpatis, akson melacak jalur vaskular ke glomerulus. Neuron simpatis melawan jaringan autoregulasi yang merespons penurunan tekanan darah akibat kehilangan cairan yang berlebihan, menyempitkan vesikel arteriol aferen, dan memicu produksi renin oleh sel juxtaglomerular (McMahon, 2016).

b. Histologi

Gambaran histologi ginjal normal menunjukkan susunan sel kuboid selapis dengan lumen sempit pada bagian tubulus kontortus proksimal ginjal. Batas antar sel epitel terlihat jelas dengan inti sel berbentuk bundar dan terlihat pula *apical brush border* (ABB) yaitu batas sikat apikal (Refaat *et al.*, 2008; Purwitasari, 2016). Keberadaan *Apical brush border* dijadikan acuan tubulus proksimal normal setelah dilakukan pewarnaan *periodic acid Schiff* (Bourne,

2017). Ramadhana *et al.* (2018) juga menyebutkan bahwa histologi ginjal normal dapat ditunjukkan dengan kondisi glomerulus dan tubulus prosimal yang normal. Glomerulus normal ditandai dengan bentuk membran yang pipih tanpa adanya penebalan pada daerah mesangium. Tubulus proksimal yang normal menunjukkan ciri *apical brush border* utuh, membran basal memiliki ukuran normal, tidak terdapat kariolisis dan piknosis, serta tidak terjadi penyempitan dan pembesaran lumen.



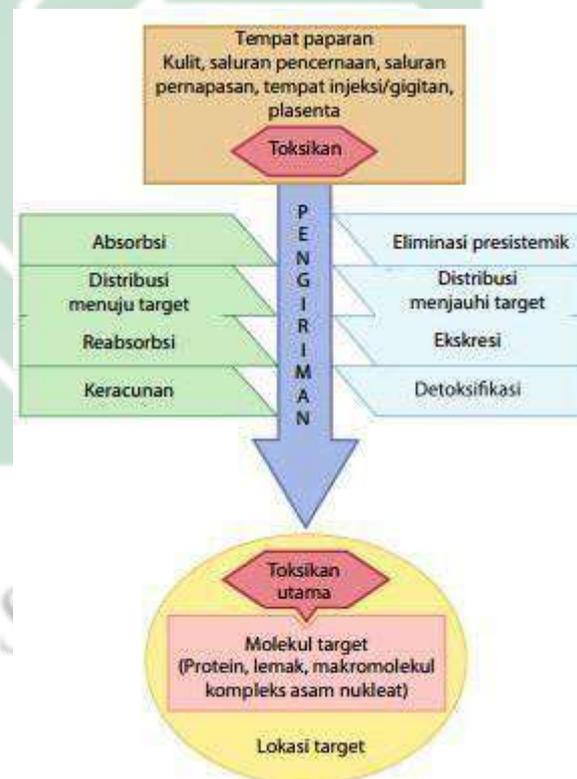
Gambar 2.13 Histologi Ginjal Normal. (a) glomerulus normal; (b) tubulus prosimal normal

(Ramadhana *et al.*, 2018)

2.7. Mekanisme Zat Toksik pada Organ Target

Mekanisme efek toksik yang dihasilkan oleh zat xenobiotik dalam tubuh akan diawali dengan pergerakan toksikan dari lokasi kontak pajanan untuk menuju organ target. Kemudian, zat tersebut akan terabsorpsi dan dikirimkan pada lokasi target melalui peredaran darah. Setelah zat toksikan berada pada lokasi target, akan terjadi interaksi antara zat toksikan dengan molekul target seperti DNA,

protein, dan membran atau dapat disebut juga dengan alterasi dengan lingkungan biologis. Efek toksik yang dihasilkan oleh mekanisme tersebut akan menyebabkan disfungsi dan destruksi target molekul, serta terbentuknya neoantigen. Namun, ada pula efek toksik yang terbentuk tanpa melalui reaksi dengan molekul target melainkan terjadi dengan cara meningkatkan ion H^+ , merusak dinding membraan sel dan larutan transmembran, dan menempati ruang tertentu (Kurniawidjaja et al., 2021).



Gambar 2.14 Mekanisme Penyebaran Zat Toksikan

(Kurniawidjaja et al., 2021)

2.7.1. Ginjal

Ginjal merupakan organ yang rentan terhadap pengaruh zat kimia, karena organ ini menerima 25-30% sirkulasi darah yang akan dibersihkan, sehingga kemungkinan perubahan filtrasi organ

patologis yang sangat tinggi (Rahayu, 2013; Millizia *et al.*, 2021). Ginjal sebagai jalur utama ekskresi limbah metabolik yang berpotensi beracun dan senyawa asing dari tubuh (Sherwood, 2015; Millizia *et al.*, 2021). Bagian ginjal yang paling sering rusak disebabkan oleh zat kimianya adalah tubulus proksimal. Sekitar 60-80% dari proses reabsorpsi filtrasi terbesar terjadi di tubulus proksimal, tubulus proksimal sensitif terhadap anoksia dan mudah hancur karena keracunan karena kontak dengan bahan yang diekskresikan melalui ginjal (Underwood, 1999; Millizia *et al.*, 2021). Salah satu penyebab kerusakan ginjal adalah disebabkan oleh toksisitas. Toksisitas terjadi karena akumulasi dan retensi oleh zat kimia dalam sel epitel tubulus proksimal. Awal mula munculnya kerusakan pada area ini adalah ekskresi enzim (ensimuria) dari lisosom dan *brushborder* sel epitel tubulus (Mac Dougall C, 2011; Lintong *et al.*, 2013).

Kerusakan ginjal lebih sering terjadi di tubulus proksimal, pada tubulus distal jarang terjadi kerusakan. Kerusakan tersebut dapat berupa degenerasi tubulus proksimal yang mengandung debris, tetapi membran basalis utuh (Jennette *et al.*, 2007; Janardani *et al.*, 2018). Peradangan atau reaksi peradangan itu penting dibutuhkan oleh tubuh untuk mempertahankan diri dari berbagai bahaya mengganggu keseimbangan juga memperbaiki struktur dan gangguan fungsi jaringan yang timbul dari bahaya. Peradangan ditandai dengan perpindahan cairan protein plasma

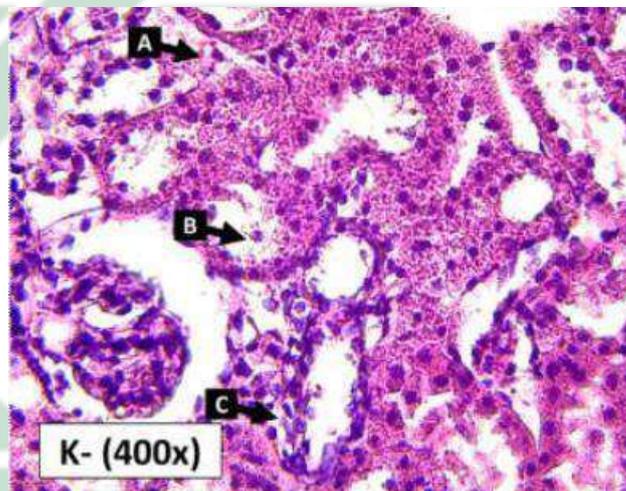
dan leukosit dari sirkulasi darah ke jaringan sebagai tanggapan melawan bahaya. Peradangan bisa ditandai dengan warna kemerahan, panas, pembengkakan, nyeri dan gangguan fungsi tubuh. Secara histologi inflamasi ditandai dengan adanya infiltrasi sel (Baratawidjaja, 2002; Adinata *et al.*, 2012).

2.8. Kerusakan Sel sebagai Parameter Pengamatan

Kerusakan sel pada organ akibat zat toksik dapat diamati di bawah mikroskop setelah melalui pewarnaan menggunakan zat warna Hematoxylin dan Eosin. Zat warna Hematoxylin akan memberikan warna biru pada inti sel dan zat warna Eosin memberikan warna merah pada sitoplasma. Kerusakan sel yang diamati dapat menggunakan beberapa parameter diantaranya adalah nekrosis sel dan infiltrasi sel radang. Infiltrasi sel radang merupakan bertambahnya cairan pada suatu titik karena adanya proses pasif dari kegagalan aliran cairan yang keluar dari jaringan. Jika diamati di bawah mikroskop, infiltrasi sel radang akan menunjukkan jaringan berwarna lebih merah keunguan yang menunjukkan kapiler dalam jaringan melebar faktor terisi oleh darah (Greaves, 2012).

Kerusakan berupa nekrosis atau kematian sel yang merupakan kerusakan sel yang bersifat irreversibel. Saat diamati di bawah mikroskop maka akan didapatkan pengamatan inti sel yang mengalami piknosis, karioeksis, kariolisis, dan hilangnya nukleus. Piknosis merupakan kondisi mengkerutnya inti sel, terlihat warna lebih gelap, bentuk bulat dan padat. Karioeksis adalah kondisi yang

ditandai oleh fragmen nukleus berwarna gelap keluar ke sitoplasma karena lapisan pembungkus inti sel mengalami pecah. Kariolisis adalah saat inti sel terlihat pucat akibat disolusi kromatin oleh aksi RNAase dan DNAase. Tahap terakhir dilanjutkan dengan hilangnya nukleus akibat lisis atau larut sempurna (McGavin & Zachary, 2006). Masing-masing kerusakan sel pada organ ginjal ditunjukkan pada (Gambar 2.15) di bawah ini:



Gambar 2.15 Histologi Kerusakan Sel Ginjal: (A) degenerasi sel; (B) nekrosis; (C) infiltrasi sel radang

(Febrianti et al., 2020)

UIN SUNAN AMPEL
S U R A B A Y A

BAB III

METODE PENELITIAN

3.1 Rancangan Penelitian

Rancangan penelitian yang digunakan adalah Rancangan Acak Lengkap (RAL) dengan total 7 kelompok perlakuan yaitu, 1 kelompok kontrol dan 6 kelompok perlakuan. Kelompok perlakuan terdiri atas kelompok dengan pemberian ekstrak bawang putih berbagai dosis dan kelompok dengan pemberian ekstrak bawang hitam berbagai dosis. Dosis-dosis yang digunakan dalam penelitian ini adalah 100 mg/kg BB, 300 mg/kg BB, dan 1000 mg/kg BB. Sehingga kelompok perlakuan dapat dituliskan sebagai berikut:

- K : Kontrol (aquades)
- BP1 : Ekstrak bawang putih dosis 100 mg/kg BB
- BP2 : Ekstrak bawang putih dosis 300 mg/kg BB
- BP3 : Ekstrak bawang putih dosis 1000 mg/kg BB
- BG1 : Ekstrak bawang hitam dosis 100 mg/kg BB
- BG2 : Ekstrak bawang hitam dosis 300 mg/kg BB
- BG3 : Ekstrak bawang hitam dosis 1000 mg/kg BB

Masing-masing kelompok diberikan pengulangan sebanyak 3 kali. Jumlah pengulangan dapat diperoleh dari perhitungan dengan menggunakan rumus Federer dibawah ini:

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

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

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

$$8n - 8 \geq 15$$

$$8n \geq 23$$

$$n \geq 2,8 \approx 3$$

3.2 Waktu dan Tempat Penelitian

Penelitian ini dilakukan selama 4 bulan yaitu sejak bulan Januari 2023 – April 2023 di Laboratorium Kimia dan Laboratorium Fisiologi Hewan Universitas Islam Negeri Sunan Ampel Surabaya.

Tabel 3.1 Jadwal pelaksanaan penelitian uji toksisitas subkronik ekstrak etanol bawang putih dan bawang hitam terhadap histologi ginjal mencit (*Mus musculus*) betina

No.	Kegiatan	Bulan										
		9	10	11	12	1	2	3	4	5	6	7
	Pembuatan proposal penelitian	■	■	■								
	Seminar proposal				■							
	Penelitian di Laboratorium					■	■	■	■			
	Analisis data							■	■	■		
	Penulisan skripsi								■	■	■	
	Seminar hasil											■

3.3 Alat dan Bahan Penelitian

Bahan yang diperlukan dalam penelitian ini diantaranya adalah aquades, ekstrak bawang putih, ekstrak bawang hitam, mencit betina, pakan dan minum mencit, sekam, etanol 70%, etanol 80%, etanol 96%, etanol absolut, kloroform, NBF 10%, xylol, lilin parafin, campuran putih telur dan gliserin (1:1) sebagai albumin, pewarna Hematoxylin-Eosin, entellan, kertas label, dan tisu.

Alat yang diperlukan dalam penelitian ini diantaranya adalah timbangan digital, timbangan analitik, kandang mencit, tempat makan dan minum mencit, pisau, oven, *chopper*, *plastic wrap*, gelas beaker, gelas ukur, *aluminium foil*, kertas saring, *vacuum Buchner*, *rotary evaporator*, tabung reaksi, rak tabung reaksi, jarum sonde, jarum pentul, alat bedah, pinset kecil, papan bedah, *hot plate*, botol ulir, botol jar, *staining jar*, kaset preparat, mikrotom, kuas, *object glass*, *cover glass*, *water bath*, mikroskop, dan *hand counter*.

3.4 Variabel Penelitian

a. Variabel Bebas

Variabel bebas pada penelitian ini adalah penggunaan jenis ekstrak yang diberikan pada hewan uji yaitu ekstrak bawang putih dan ekstrak bawang hitam berbagai dosis yang diberikan diantaranya 100 mg/kg BB, 300 mg/kg BB, dan 1000 mg/kg BB.

b. Variabel Terikat

Variabel terikat pada penelitian ini adalah kerusakan sel pada histologi organ ginjal mencit (*Mus musculus*) betina. Kerusakan yang diamati meliputi nekrosis sel, infiltrasi sel radang, diameter glomerulus, diameter kapsula bowman, dan diameter ruang kapsula bowman ginjal.

c. Variabel Kontrol

Variabel kontrol pada penelitian ini adalah penggunaan spesies *Mus musculus* sebagai hewan uji dengan umur dan berat yang sama, pemberian jenis pakan dan minum yang sama untuk seluruh hewan uji.

3.5 Prosedur Penelitian

3.5.1 Persiapan Hewan Coba

Hewan uji yang digunakan dalam penelitian ini adalah mencit putih (*Mus musculus*) betina berusia 3-4 bulan dengan berat badan (BB) 20-40 gram. Sebanyak 21 ekor mencit betina dalam kondisi sehat didapatkan dari Pusat Veteraria Farma (PUSVETMA) Surabaya. Sebelum diberikan perlakuan, mencit diaklimatisasi selama 1-2 minggu dengan pemberian pakan dan minum secara *ad libitum* dan penggantian sekam selama 3 hari sekali.

3.5.2 Pembuatan Simplisia Bawang Putih

Bawang putih yang segar dan tidak busuk sebanyak 2 kg diperoleh dari Pasar Soponyono, Surabaya. Bawang putih dikupas dan dicuci hingga bersih kemudian dikeringkan dan diiris tipis. Setelah itu,

bawang putih dioven selama 48 jam pada suhu 50°C. Setelah kering, bawang putih dihaluskan menggunakan *chopper* hingga didapatkan serbuk simplisia. Serbuk simplisia bawang putih kemudian disimpan dalam *plastic wrap*.

3.5.3 Pembuatan Ekstrak Bawang Putih

Serbuk simplisia bawang putih disiapkan sebanyak 100 gram di dalam gelas beaker lalu ditambahkan dengan etanol 70% sebanyak 500 mL. Kemudian gelas beaker ditutup dengan *aluminium foil* dan diultrasonik selama satu jam. Selanjutnya, diletakkan pada ruangan gelap suhu ruang selama 48 jam dengan sesekali digojok. Larutan hasil maserasi kemudian dipisahkan filtrat dan residunya menggunakan kertas saring dan *vacuum Buchner*. Residu hasil filtrasi diremaserasi sebanyak dua kali untuk mendapatkan semua senyawa aktif pada bawang putih. Filtrat-filtrat yang diperoleh disatukan kemudian diuapkan menggunakan *rotary evaporator* pada suhu 50°C hingga didapatkan ekstrak kental.

3.5.4 Pembuatan Simplisia Bawang Hitam

Pembuatan bawang hitam dilakukan dengan cara menyiapkan bawang putih sebanyak 1 kg. Bawang putih tersebut dibungkus dengan *aluminium foil* kemudian dioven selama 30-35 hari pada suhu 70°C. Setelah melalui proses pemanasan pada suhu dan waktu tertentu, akan didapatkan bawang hitam hasil *aging* dari bawang putih. Bawang hitam kemudian dikupas dari kulitnya lalu dihaluskan dengan

chopper hingga menjadi serbuk halus dan disimpan dalam *plastic wrap*.

3.5.5 Pembuatan Ekstrak Bawang Hitam

Serbuk simplisia bawang hitam sebanyak 100 gram dimasukkan ke dalam gelas beaker lalu ditambahkan etanol 70% sebanyak 500 mL. Gelas beaker ditutup dengan *aluminium foil* dan diultrasonik selama satu jam kemudian disimpan pada ruangan gelap suhu ruang selama 48 jam dengan sesekali digojok. Setelah 48 jam, filtrat dan residu pada hasil maserasi dipisahkan menggunakan kertas saring dan *vacuum Buchner*. Residu hasil filtrasi kemudian diremaserasi hingga dua kali. Filtrat-filtrat disatukan lalu diuapkan menggunakan *rotary evaporator* pada suhu 50°C hingga diperoleh ekstrak kental.

3.5.7 Pemberian Dosis Ekstrak Terhadap Hewan Coba

Pemberian perlakuan terhadap hewan uji dilakukan selama 28 hari dengan menggunakan jarum sonde sesuai dengan jenis ekstrak yang ditentukan. Dosis masing-masing ekstrak yang diberikan kepada hewan uji yaitu 100 mg/kgBB, 300 mg/kg BB, dan 1000 mg/kg BB. Takaran dosis yang ditentukan sudah sesuai dengan yang dianjurkan dalam Peraturan BPOM Tahun 2020 yakni 3 (tiga) tingkat dosis yang berbeda serta kelompok kontrol. Selain itu, dosis yang digunakan juga sudah mencakup kebutuhan dosis uji yaitu dosis rendah (*low dose*), dosis menengah (*intermediate dose*), dan dosis tinggi (*high dose*)

berdasarkan petunjuk dosis uji toksisitas subkronik milik *European Medicines Agency* tahun 2010. Tujuannya adalah untuk mengetahui dosis yang tidak memberikan efek kematian hingga dosis yang mampu membunuh seluruh atau hampir seluruh populasi hewan uji.

3.5.8 Pembedahan Hewan Coba

Pembedahan dilakukan setelah hewan uji dipuasakan selama satu hari setelah hari terakhir diberi perlakuan ekstrak. Pembedahan hewan uji dilakukan dengan pemberian eutanasi secara kimia yaitu menggunakan kloroform. Setelah kehilangan kesadaran, hewan uji kemudian disayat menggunakan gunting bedah dimulai dari anus hingga ke kerongkongan, dengan perlakuan diatas papan bedah. Organ jantung dan ginjal diambil kemudian disimpan dalam botol ulir yang berisi formalin sesuai dengan label sampel.

3.5.9 Pembuatan Preparat Histologi Ginjal

Preparat histologi dapat dibuat setelah organ ginjal mencit dikeluarkandari tubuh dengan melalui beberapa proses diantaranya fiksasi, *washing*, dehidrasi, *clearing*, infiltrasi, *embedding*, *sectioning*, *staining*, *mounting* dan *labelling*.

a. Fiksasi

Organ ginjal dan jantung difiksasi dalam larutan *Neutral Buffer Formalin* (NBF) 10% selama satu malam dalam botol vial yang telah diberi label sesuai nama sampel.

b. Washing

Pada tahap ini, organ ginjal dan jantung dipindahkan ke dalam kaset-kaset yang telah diberi label sesuai dengan nama sampel lalu dimasukkan ke dalam gelas beaker yang kemudian diisi air. Setelah itu, gelas beaker di tempatkan dibawah kran air yang menyala airnya dinyalakan kecil selama 30 menit.

c. Dehidrasi

Proses dehidrasi dalam metode parafin bertujuan untuk menarik air keluar dari jaringan dengan memanfaatkan bahan kimia. Proses ini dimulai dengan memasukkan jaringan ke dalam larutan dehidrasi dari konsentrasi rendah hingga tinggi. Bahan kimia yang umumnya digunakan dalam proses ini adalah alkohol bertingkat (70%, 80%, 96% dan absolut). Tahapan larutan yang digunakan dalam proses dehidrasi dapat dijabarkan sebagai berikut:

- 1) Etanol 70% selama 4×30 menit
- 2) Etanol 80% selama 2×30 menit
- 3) Etanol 96% selama 30 menit
- 4) Etanol absolut selama 30 menit

d. Clearing

Tahap clearing dalam metode paraffin bertujuan untuk mengeluarkan alkohol yang terdapat pada jaringan, karena sisa-sisa larutan yang terdapat pada jaringan perlu dibersihkan. Hal ini dikarenakan alkohol dan parafin tidak dapat menyatu, sehingga larutan yang akan dimasukkan kedalam jaringan dapat berikatan

dengan parafin. Pada tahap ini larutan yang digunakan yaitu:

- 1) Xylol I (1 jam)
- 2) Xylol II (1 jam)
- 3) Xylol III (1 jam)

e. Infiltrasi

Pada tahap ini, kaset-kaset berisi organ ginjal dan jantung dipindahkan dalam campuran paraffin : xylol (1:1) selama 30 menit, dilanjutkan dengan larutan parafin murni bertingkat (I, II, dan III) masing-masing selama 1 jam pada suhu $\pm 57^{\circ}\text{C}$.

f. Embedding

Pada tahap ini disiapkan bismol atau cetakan untuk membuat block parafin. Parafin cair (suhu $56-58^{\circ}\text{C}$) dituangkan hingga $\frac{1}{2}$ cetakan. Kemudian organ dimasukkan dengan posisi peletakan organ disesuaikan dengan arah potongan mikrotom yang diinginkan, serta ditahan organ menggunakan tusuk gigi dan didiamkan hingga parafin setengah mengeras. Selanjutnya, ditambahkan parafin hingga memenuhi $\frac{3}{4}$ cetakan block dan didiamkan hingga parafin mengeras.

g. Sectioning

Block parafin berisi organ yang sudah jadi kemudian dipotong setebal 1,5 mikron menggunakan mikrotom. Pita hasil pemotongan diletakkan merentang di dalam *water bath* suhu 40°C kemudian diambil dengan *object glass* yang telah diolesi menggunakan putih telur : gliserin (1:1) dengan posisi tegak lurus. Pita preparat kemudian didiamkan hingga kering.

h. Staining

Pada tahap ini, disiapkan seri staining atau pewarnaan. Masing-masing gelas obyek berisi pita organ dimasukkan berturut-turut dalam staining jar berisi: xylol (3×10 menit), etanol bertingkat (96% 5 menit, 80% 5 menit, dan 70% 5 menit). Lalu dicuci 4-5 menit. Selanjutnya, dipindahkan *object glass* ke pewarnaan Haematoxylin (10 menit), dilanjutkan dengan pencucian menggunakan airmengalir selama 5 menit dan dilanjutkan dengan pewarnaan Eosin (5 menit). Jika masih ada larutan yang tersisa, dihisap menggunakan tisu. Kemudian dipindahkan slide ke etanol 70%, 80%, 96% masing-masing 5 menit. Kemudian dihisap sisa etanol dengan tisu, lalu dimasukkan slide ke xylol I selama 5 menit, xylol II selama 2×10 menit, dan xylol III 5 menit.

i. Mounting dan labelling

Pada tahap ini, preparat yang sudah dibuat kemudian ditutup dengan *cover glass* di atas pita yang terdapat irisan histologi organ. Selanjutnya, tepian *cover glass* diolesi dengan entellan lalu dikeringinkan pada suhu ruang. Setelah kering, preparat histologi dapat diamati di bawah mikroskop dengan perbesaran bertahap.

3.5.10. Pengamatan Hasil Uji Toksisitas

Preparat histologi ginjal diamatidi bawah mikroskop dengan perbesaran 1000x meliputi 5 lapang pandang yaitu pada empat sudut dan bagian tengah preparat. Parameter yang diamati nekrosis sel yang kemudian dihitung persentasenya menggunakan rumus yang ada pada

penelitian Arsad (2016) yaitu:

$$\text{Kerusakan sel (\%)} = \frac{\text{Jumlah sel rusak}}{\text{Jumlah total sel}} \times 100\%$$

Selanjutnya, dilakukan skoring untuk mengetahui tingkat kerusakan histologi yang terjadi berdasarkan nilai persentase yang didapat. Berdasarkan penelitian Arsad (2016), skoring terhadap perubahan histologi organ dapat dijabarkan sebagai berikut:

0 = tidak ditemukan kerusakan pada histologi

1 = kerusakan ringan pada histologi

2 = kerusakan sedang pada histologi

3 = kerusakan berat pada histologi

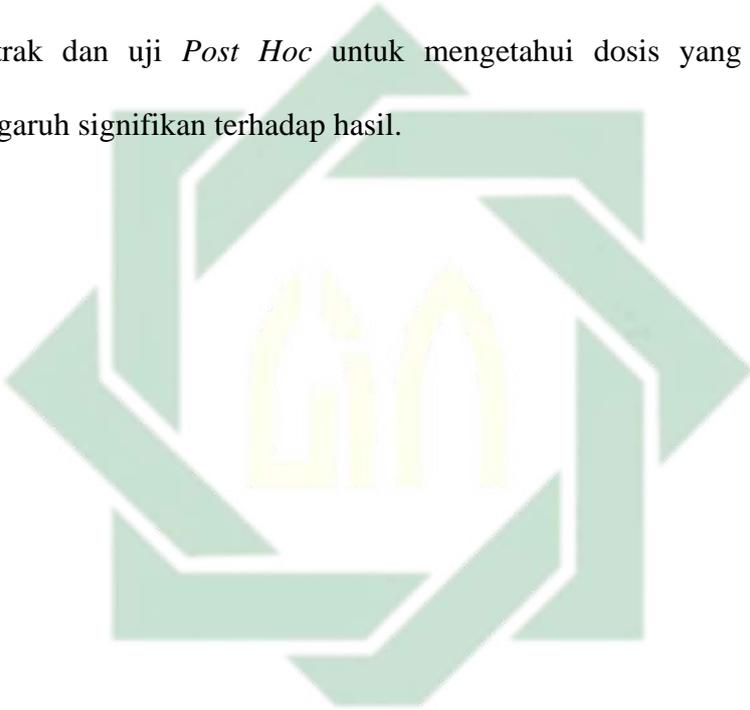
Kategori kerusakan ringan ditunjukkan dengan persentase kerusakan <30%, kategori kerusakan sedang ditunjukkan dengan persentase kerusakan <50%, dan kategori kerusakan berat ditunjukkan dengan persentase kerusakan >50% pada keseluruhan lapang pandang.

Diameter glomerulus diukur dengan menghitung jarak diameter paling jauh lalu diukur jarak diameter yang tegak lurus dengan diameter pertama. Selanjutnya dirata-rata untuk mendapatkan nilai diameter glomerulus. Diameter ruang *Bowman* diukur dari pengurangan diameter bagian tepi kapsula *Bowman* dengan diameter bagian tepi glomerulus. Rasio berat organ dapat dihitung persentasenya menggunakan rumus berikut (Fatirah *et al.*, 2019):

$$\text{Rasio Berat Organ} = \frac{\text{Berat organ (gr)}}{\text{Berat badan mencit (gr)}} \times 100\%$$

3.6 Analisis Data

Data kerusakan sel yang diperoleh dilanjutkan untuk ditabulasi dan dianalisis menggunakan uji *Two Way Anova* pada program SPSS. Kemudian dilanjutkan dengan uji T tidak berpasangan untuk mengetahui pengaruh ekstrak dan uji *Post Hoc* untuk mengetahui dosis yang memberikan pengaruh signifikan terhadap hasil.



UIN SUNAN AMPEL
S U R A B A Y A

BAB IV

HASIL DAN PEMBAHASAN

Tujuan dari penelitian ini adalah untuk mendapatkan hasil pengamatan kerusakan sel pada bagian-bagian organ ginjal. Hasil pengamatan diperoleh beberapa data meliputi histologi ginjal mencit untuk mengetahui ada atau tidaknya kerusakan pada sel-sel organ, berat badan mencit sebelum dan sesudah perlakuan, serta berat organ ginjal mencit. Kerusakan sel organ yang diamati secara mikroskopis meliputi degenerasi sel, nekrosis sel, adanya infiltrasi sel radang, serta perubahan diameter glomerulus, kapsula bowman, dan ruang kapsula bowman.

4.1. Rendemen Ekstrak Etanol Bawang Putih dan Bawang Hitam

Proses pembuatan ekstrak etanol bawang putih dan bawang hitam dimulai dengan menyiapkan simplisia bawang putih dan bawang hitam kemudian dilakukan maserasi selama 3 hari. Simplisia didapatkan dengan cara menghaluskan bawang yang telah dikeringkan hingga didapatkan simplisia bawang dalam bentuk serbuk halus. Tujuan dilakukannya maserasi adalah untuk mengekstraksi zat aktif yang terkandung dalam simplisia. Maserasi merupakan metode ekstraksi sederhana dengan keuntungan yaitu mencegah kerusakan atau kehilangan zat aktif pada bahan karena tanpa dilakukan proses pemanasan (Sa'adah & Nurhasnawati, 2015). Pelarut yang digunakan dalam proses maserasi adalah etanol 70%. Pemilihan etanol 70% sebagai pelarut adalah karena etanol 70% mampu menyaring dengan polaritas yang lebar baik pada senyawa polar maupun pada senyawa non polar

(Saifudin *et al.*, 2011; Prastiwi *et al.*, 2017) dan menghasilkan rendemen dengan jumlah yang lebih banyak (Wardani & Leviana, 2020). Penelitian yang dilakukan oleh Juniawati dan Miskiyah (2014) menunjukkan hasil analisis GC-MS terhadap bawang putih yang dimaserasi menggunakan etanol 70% memiliki kandungan *Allysin* serta turunannya dengan kadar yang lebih banyak. Penggunaan etanol 70% juga dianggap paling efektif dalam proses ekstraksi karena mampu menghasilkan kadar zat aktif secara optimal (Sofiyah, 2017).

Setelah dilakukan maserasi, proses dilanjutkan dengan filtrasi hasil maserasi kemudian dievaporasi menggunakan *rotary evaporator* untuk mendapatkan ekstrak kental bawang putih dan bawang hitam untuk digunakan dalam penelitian. Ekstrak kental hasil evaporasi dapat disebut juga sebagai rendemen. Rendemen merupakan hasil perbandingan dari berat hasil suatu produk dengan berat bahan baku yang digunakan (Yuniarifin *et al.*, 2006; Senduk *et al.*, 2020). Oleh karena itu, perhitungan rendemen berdasarkan Depkes RI (2000) dalam Syamsul *et al.* (2020) dapat menggunakan rumus sebagai berikut:

$$\% \text{ Rendemen} = \frac{\text{Berat ekstrak yang dihasilkan (gr)}}{\text{Berat awal simplisia yang digunakan (gr)}} \times 100\%$$

Berdasarkan hasil perhitungan menggunakan rumus, didapatkan rendemen bawang putih sebesar 27% dan rendemen bawang hitam sebesar 45,8%. Data tersebut dapat dituliskan dalam tabel 4.1 di bawah ini.

Tabel 4.1 Hasil Rendemen Ekstrak Etanol Bawang Putih dan Bawang Hitam

Sampel	Berat Simplisia Awal	Berat Hasil Ekstrak	% Rendemen
Bawang Putih	100	27,5	27,5
Bawang Hitam	100	45,8	45,8

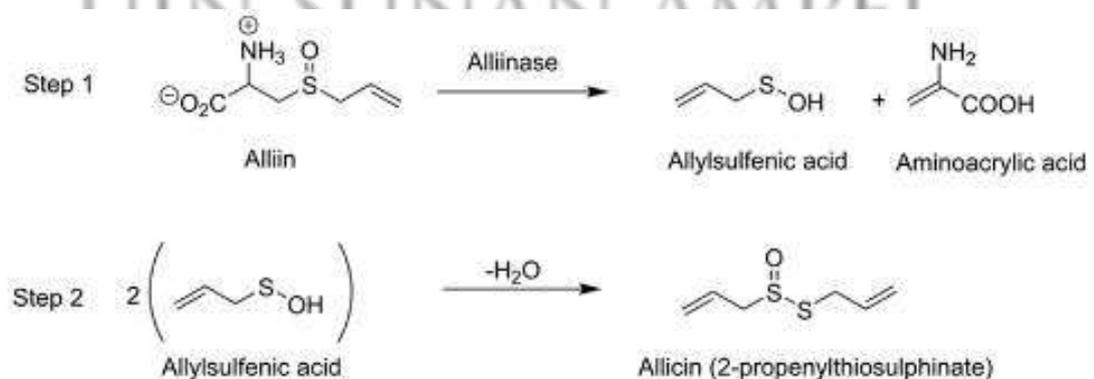
Berdasarkan tabel 4.1 dapat diketahui bahwa rendemen yang dihasilkan dari maserasi bawang putih menggunakan etanol 70% adalah 27,5% dan rendemen hasil maserasi bawang hitam menggunakan etanol 70% adalah 45,8%. Sehingga dapat diketahui bahwa nilai rendemen bawang hitam lebih tinggi daripada nilai rendemen bawang putih. Perbedaan tingginya nilai rendemen suatu bahan menunjukkan kadar komponen bioaktif yang banyak terkandung di dalam bahan tersebut (Nurhayari *et al.*, 2009; Senduk *et al.*, 2020). Penelitian Dewastisari (2018) juga menyebutkan bahwa nilai rendemen dan kadar kandungan bioaktif dalam tumbuhan saling berkaitan (Senduk *et al.*, 2020). Nilai rendemen yang semakin tinggi mengartikan bahwa lebih banyak zat terkandung dalam suatu bahan yang tertarik ke luar dalam proses maserasi (Budiyanto, 2015; Senduk *et al.*, 2020). Berdasarkan penelitian yang dilakukan oleh Azizah *et al.* (2020) diketahui bahwa kadar antioksidan pada bawang hitam lebih banyak jika dibandingkan dengan bawang putih. Pada bawang hitam kadar flavonoid sebanyak $3.0117\% \pm 0.1783$, kadar alkaloid $6.9658\% \pm 1.5362$, dan kadar saponin $1.7835\% \pm 0.2017$. Pada bawang putih kadar flavonoid adalah $2.5836\% \pm 0.0982$, kadar alkaloid $5.413\% \pm 0.2357$, dan saponin $1.1007\% \pm 0.1797$. Nilai rendemen ini dapat dipengaruhi oleh jenis pelarut dan konsentrasi yang digunakan (Syamsul *et al.*, 2020). Hal tersebut diperkuat dengan penelitian yang

dilakukan oleh Wardani dan Leviana (2010) yang membandingkan antara penggunaan etanol 50%, etanol 70%, dan etanol 90% sebagai pelarut dalam proses maserasi ekstrak daun jambu biji. Hasil yang diperoleh menunjukkan bahwa rendemen dari masing-masing sampel adalah 22,07%, 31,87%, dan 25,13%. Oleh sebab itu, dapat diketahui bahwa penggunaan etanol 70% sebagai pelarut mampu menghasilkan rendemen terbaik.

Bawang putih merupakan salah satu tanaman yang banyak dimanfaatkan sebagai bahan tambahan dalam masakan karena memiliki rasa serta aroma yang kuat dan tajam. Selain itu, bawang putih juga banyak dimanfaatkan sebagai obat-obatan herbal karena beberapa manfaatnya yaitu sebagai suplemen untuk penyakit hipertensi, mengurangi tekanan darah, sebagai antioksidan, sebagai antidiabetes (Wakhidah & Anggarani, 2021), antivirus, antitrombotik, antibiotik, antiinflamasi, immunomodulator, antikanker, antijamur (Aisyah, 2020), hingga antimikroba (Nuningtyas, 2014). Penggunaan bawang putih sebagai obat-obatan herbal disebabkan adanya kandungan organosulfur aktif di dalamnya seperti alliin, flavonoid, adenosin, dll (Pritacindy *et al.*, 2017; Aisyah, 2020). Dilaporkan pula oleh Block (1985) dalam Nuningtyas (2014) bahwa bawang putih mengandung senyawa-senyawa aktif berupa allicin, allil, dan juga diallyl sulfide.

Senyawa allicin dalam bawang putih dihasilkan dari proses allinase terhadap senyawa alliin (Jang *et al.*, 2018; Aisyah, 2020). Terdapat dua tahap dalam terbentuknya senyawa allicin. Tahap pertama,

alliin akan diubah menjadi asam allylsulfenic dan dehididroalanin dengan bantuan enzim allinase. Tahap kedua, molekul asam allylsulfenic membentuk satu molekul allicin melalui cara kondensasi yang terjadi secara spontan (Gruhlke *et al.*, 2017; Aisyah, 2020). Allyl tiosulfat merupakan senyawa turunan allicin yang terbentuk dengan cepat saat sel pada bawang putih mengalami pemecahan (Aisyah, 2020). Senyawa allicin memiliki sifat yang tidak stabil sehingga dapat mengalami perubahan menjadi bentuk yang lain. Menurut Bayan (2013) ketidakstabilan senyawa allicin menyebabkan terjadinya metabolisme menjadi senyawa sulfur lain seperti *vinydithiines* dan *diallyl disulfida*. Atmadja (2002) menjelaskan bahwa senyawa allicin akan bereaksi dengan udara sehingga membentuk bahan kimia yang lebih kaya sulfur karena adanya gugus SO pada allicin (Jannah, 2020). Kandungan sulfur yang berlebih tersebut dapat mengakibatkan kondisi inflamasi pada tubuh karena tidak adanya kesempatan untuk memecah dan mengurangi kandungan sulfur dalam tubuh (Calfas, 2020).



Gambar 4.1. Struktur Kimia Mekanisme Pembentukan Allicin

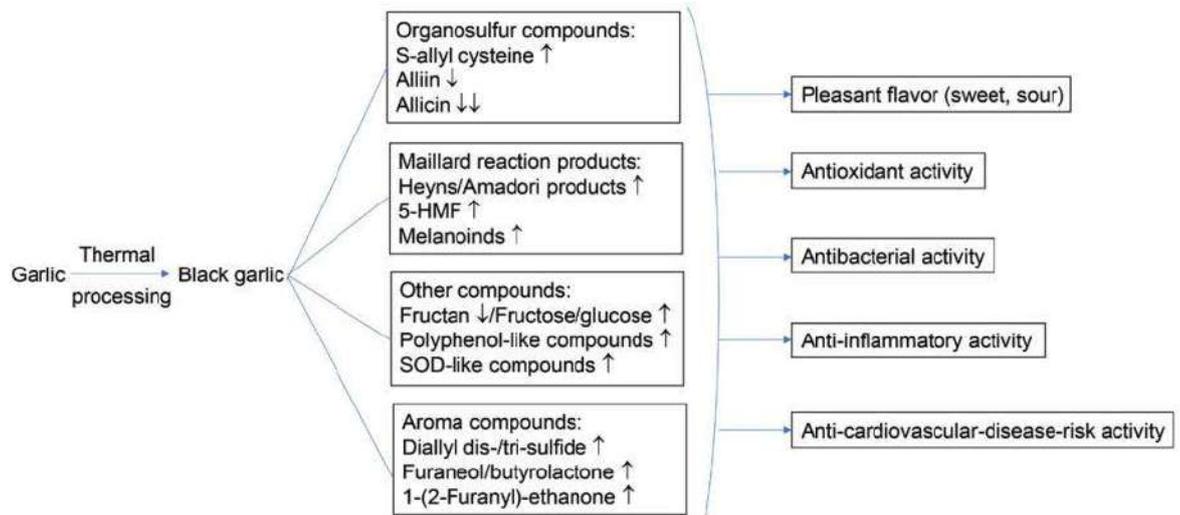
(Richards *et al.*, 2014)

Selain pemanfaatan secara langsung (*fresh*), bawang putih dapat diolah menjadi bawang hitam melalui proses pemanasan. Pemanasan dilakukan pada suhu 65°C – 80°C selama kurang lebih 1 bulan (Wang *et al.*, 2010; Iskandar *et al.*, 2018). Setelah mendapatkan proses pemanasan tersebut, maka akan terjadi perubahan baik secara fisik maupun secara kimiawi terhadap kandungan bawang tersebut. Secara fisik, proses pemanasan tersebut menyebabkan bawang hitam memiliki tekstur yang lembut, kenyal, rasa gurih sedikit manis, serta aroma yang tidak terlalu menyengat seperti bawang putih (Atun *et al.*, 2021).

Secara kimia, bawang hitam mengalami perubahan berupa peningkatan konsentrasi senyawa bioaktif (Tran *et al.*, 2020). Senyawa yang paling utama ditemukan pada bawang hitam adalah *S-allylcysteine* (SAC) dan *S-allyl-mercapto-cysteine* (SAMC) sehingga menyebabkan kadar antioksidan pada bawang hitam menjadi lebih banyak jika dibandingkan dengan bawang putih (Setiawan *et al.*, 2021). Kandungan antioksidan pada bawang hitam lebih tinggi daripada bawang putih yakni 5-6 kali lebih banyak menurut Sato *et al.* (2006) dalam Wang *et al.* (2010), 5-7 kali lebih banyak menurut Bae *et al.* (2011) dalam Rumaseuw *et al.* (2019), dan 5-8 kali lebih banyak menurut Kim *et al.* (2013) dalam Wiliyanarti & Metro (2021). Proses pemanasan tersebut dikenal sebagai reaksi Maillard atau disebut juga reaksi *amino-carbonyl* yaitu reaksi non-enzimatik antara gula pereduksi dan gugus amino dalam asam amino, peptida, dan protein. Reaksi ini terjadi selama masa proses dan masa

penyimpanan makanan sehingga dihasilkan senyawa pencoklatan dengan rasa yang khas pada suatu produk makanan (Jing, 2020).

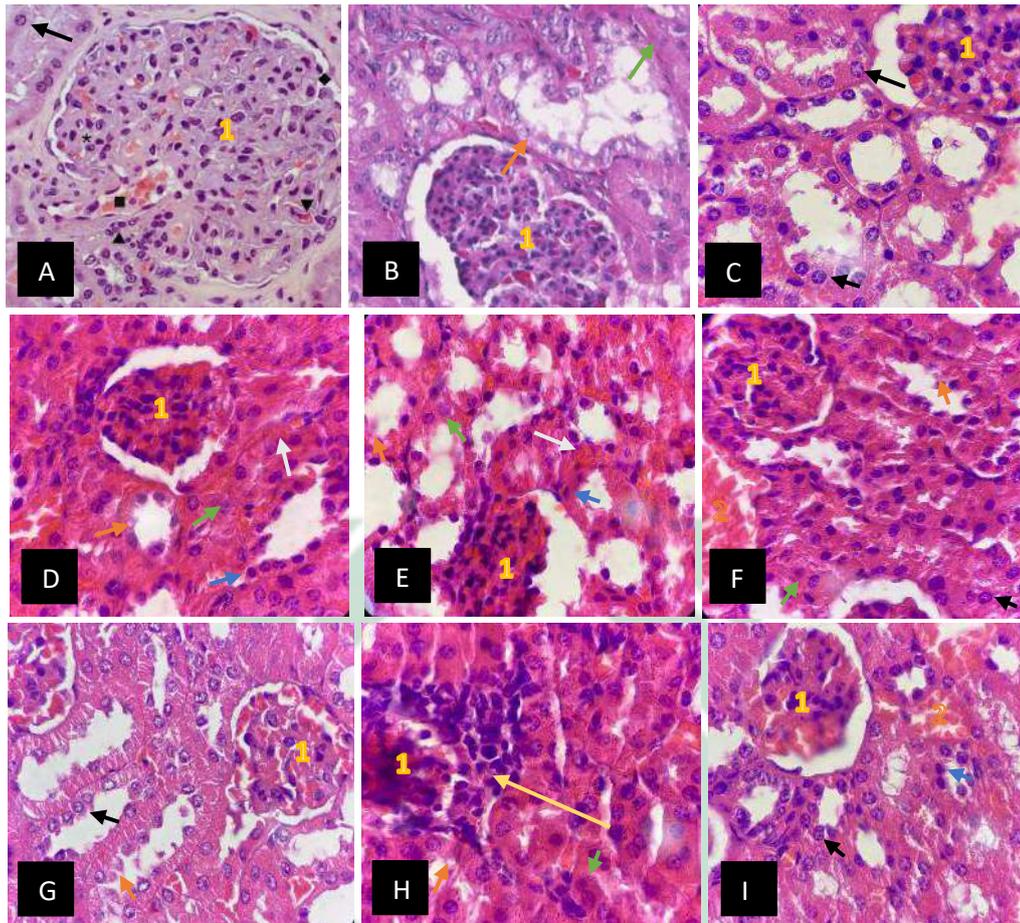
Hasil olahan bawang hitam ini banyak dimanfaatkan dalam dunia kesehatan sebagai obat-obatan alami karena bioaktivitas yang dimiliki, diantaranya adalah sebagai antioksidan, antibakteri, antiinflamsi, hingga mencegah penyakit jantung. Penjelasan Sasaki (2015) menyebutkan bahwa studi di Jepang pada tahun 2006 yang dipublikasikan pada tahun 2007 menunjukkan konsumsi bawang hitam mampu menurunkan ukuran tumor pada tikus BALB/c. Kemampuannya sebagai antibakteri juga dijelaskan dalam penelitian Onofrio *et al.* (2019) yang menunjukkan pada hasil persentase penghambatan bakteri *Pseudomonas aeruginosa* untuk membentuk *biofilm* sebesar >55% setelah diberikan ekstrak bawang hitam sebesar 20%. Selain itu, pengujian bawang hitam terhadap fungsi kardiovaskular disebutkan dalam Torres *et al.* (2016) yang menunjukkan kemampuan bawang hitam dalam menurunkan kadar kolesterol dan malondialdehyde (MDA), meningkatkan kadar glutathione dan aktivitas glutathione peroksida, meningkatkan relaksasi pembuluh darah dan kontraksi pembuluh darah (Jing, 2020). Senyawa *S-allyl-cysteine* (SAC) memiliki tingkat kestabilan hingga 2 tahun dengan hanya sedikit mengalami perubahan warna menjadi kekuningan. Selain itu, pada kondisi asam terbukti pembelahan ikatan C-S tidak teramati sehingga menunjukkan bahwa SAC dapat diserap di saluran pencernaan setelah pemberian secara oral tanpa adanya perubahan menjadi senyawa apapun (Gonzalez *et al.*, 2012).



Gambar 4.2 Mekanisme Perubahan Bawang Putih Menjadi Bawang Hitam Beserta Manfaatnya
(Jing, 2020)

4.2. Uji Toksisitas Subkronik Ekstrak Bawang Putih dan Bawang Hitam terhadap Kerusakan Sel Ginjal Mencit Betina

Hasil pengamatan histologi ginjal mencit betina diperoleh dari pengamatan 5 lapang pandang pada masing-masing pengulangan. Data kerusakan sel yang digunakan adalah nekrosis sel. Nekrosis sel adalah kondisi kematian sel yang tidak terkontrol dan ditandai dengan berubahnya bentuk hingga pecahnya sel. Nekrosis dapat disebabkan adanya trauma akibat paparan zat yang bersifat toksik. Tahap nekrosis sendiri terdiri atas piknosis, karioheksis, dan kariolisis (Barus *et al.*, 2018). Selain itu, diamati pula kondisi infiltrasi sel radang dan kongesti yang terdapat pada jaringan sel. Gambaran histologi sel ginjal mencit dapat ditunjukkan pada (**Gambar 4.3**).



Gambar 4.3 Histologi ginjal mencit perbesaran 1000x dengan pewarnaan HE (Hemaktosilin-Eosin). (A) histologi ginjal mencit normal (Clatt, 2015), (B) histologi ginjal mencit abnormal (Khristian & Inderiati, 2017), (C) kontrol, (D) BP1 (bawang putih dosis 100 mg/Kg BB), (E) BP2 (bawang putih dosis 300 mg/Kg BB), (F) BP3 (bawang putih dosis 1000 mg/Kg BB), (G) BG1 (bawang hitam dosis 100 mg/Kg BB), (H) BG2 (bawang hitam dosis 300 mg/Kg BB), (I) BG3 (bawang hitam dosis 1000 mg/Kg BB). Keterangan: 1) glomerulus, 2) kongesti

—▶ sel normal —▶ sel karioalisis —▶ sel karioheksis
 —▶ sel piknosis —▶ infiltrasi sel radang

Berdasarkan hasil pengamatan histologi ginjal mencit (**Gambar**

4.3) dapat diketahui kerusakan sel berupa piknosis, karioheksis, dan karioalisis. Piknosis ditandai dengan ukuran sel yang menyusut. Hal ini disebabkan karena kromosom pada inti sel mengalami kerusakan yaitu larut dan terkondensasi sehingga inti sel mengental dan memadat. Karioheksis ditandai dengan kerusakan pada kromatin dan inti sel mengalami pecah. Hal ini dapat dikarenakan adanya serangan bakteri

maupun terjadi secara alami. Kerusakan terakhir adalah kariolisis yang ditandai dengan inti sel yang berubah warna menjadi sangat pucat dan bentuknya tidak jelas (Barus *et al.*, 2018). Data yang diperoleh dari seluruh lapang pandang dalam masing-masing pengulangan kemudian dijumlah dan dirata-rata untuk mendapatkan 1 nilai pengulangan dalam masing-masing perlakuan. Setelah dirata-rata, kerusakan sel dapat disajikan dalam Tabel 4.2.

Tabel 4.2 Rata-rata Persentase Kerusakan Sel Pada Organ Ginjal Mencit Setelah Perlakuan

Perlakuan	Persentase Kerusakan Sel		Skoring Kerusakan	Skoring Infiltrasi	Pendarahan
	Nekrosis	Normal			
K	29%	71%	1	0	-
BP1	36%	64%	2	0	√
BP2	41%	59%	2	2	√
BP3	43%	57%	2	2	√
BG1	30%	70%	2	0	-
BG2	31%	69%	2	1	√
BG3	34%	66%	2	1	√

Ket.: Skoring kerusakan 0 = tidak ada kerusakan dan infiltrasi sel radang (Arsad *et al.*, 2019)

Skoring kerusakan 1 = kerusakan ringan dan ada infiltrasi sel radang di 1 lapang pandang

Skoring kerusakan 2 = kerusakan sedang dan ada infiltrasi sel radang di 2-4 lapang pandang

Skoring kerusakan 3 = kerusakan berat dan ada infiltrasi sel radang di 5 lapang pandang

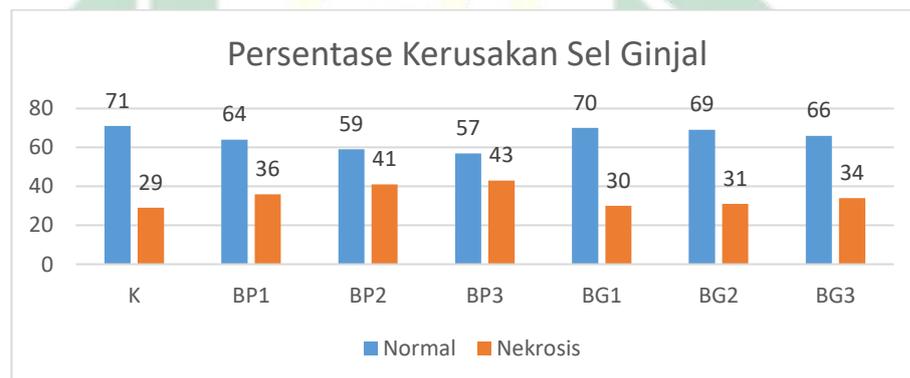
√ = terdapat pendarahan

Berdasarkan tabel 4.2 dapat diketahui bahwa pada perlakuan kontrol (K) terdapat 29% sel mengalami nekrosis dan 71% sel berada dalam kondisi normal. Pada kelompok kontrol terlihat adanya kerusakan sel (nekrosis) dengan skoring 1 yang berarti ditemukan kerusakan ringan pada histologi. Kerusakan tersebut dapat disebabkan oleh faktor-faktor di

luar kontrol penelitian. Menurut Nisa' (2012) dalam Wahyuningsih *et al.* (2016), kerusakan sel pada kelompok kontrol dapat disebabkan oleh faktor eksternal berupa lingkungan kandang tinggal hewan uji. Kerusakan sel pada kelompok kontrol masih dikategorikan normal karena setiap sel akan mengalami kematian secara alami. Hal itu dapat terjadi karena terjadinya kekurangan suplai darah, adanya perubahan suhu pada lingkungan, hingga trauma dan stress yang dialami hewan uji (Muhsi *et al.*, 2020). Kematian sel secara alami disebut dengan apoptosis yang berkisar antara 2-5% (Juan *et al.*, 2011).

Banyaknya kerusakan sel lebih dari 5% pada kelompok kontrol dapat terjadi akibat kondisi kesehatan hewan uji sebelum diberi perlakuan. Penggunaan hewan uji konvensional yang tidak bersifat *specific pathogen free* (SPF) sering mengalami perubahan kerusakan pada histologi yang tidak diharapkan akibat faktor di luar perlakuan (Sudira *et al.*, 2019). Selain itu, kerusakan sel dalam penelitian ini dimungkinkan juga dapat disebabkan oleh proses fiksasi yang tidak maksimal sehingga sel tidak terhindarkan dari kerusakan. Fiksasi adalah proses yang harus dilakukan dengan tujuan mencegah sel mengalami kerusakan setelah organ dipisahkan dari kontrol tubuh. Beberapa faktor yang mempengaruhi baik atau buruknya proses fiksasi antara lain adalah suhu, waktu penetrasi, dan rasio larutan fiksatif dengan ukuran spesimen (Khristian & Inderiati, 2017). Histologi ginjal abnormal akibat proses fiksasi yang kurang maksimal dapat ditunjukkan pada (**Gambar 4.3(B)**).

Berdasarkan kategori ekstrak yang digunakan, kerusakan sel pada perlakuan yang diberi ekstrak bawang putih mengalami peningkatan seiring dengan penambahan dosis yaitu BP1 sebanyak 36% kerusakan, BP2 sebanyak 42% kerusakan, dan BP3 sebanyak 43% kerusakan. Pada perlakuan yang diberi ekstrak bawang hitam juga menunjukkan peningkatan terhadap nilai kerusakan sel yaitu pada perlakuan BG1 sebanyak 30% kerusakan sel, lalu mengalami penurunan kerusakan pada perlakuan BG2 sebanyak 31% kerusakan sel, dan naik kembali pada perlakuan BG3 sebanyak 34% kerusakan sel. Data kerusakan sel tersebut dapat disajikan dalam bentuk diagram batang pada (**Gambar 4.4**).



Gambar 4.4 Persentase Kerusakan Sel Ginjal Mencit Normal dan Mencit yang Diberi Perlakuan K= kontrol, BP1= bawang putih dosis 100 mg/Kg BB, BP2= bawang putih dosis 300 mg/Kg BB, BP3= bawang putih dosis 1000 mg/Kg BB, BG1= bawang hitam dosis 100 mg/Kg BB, BG2= bawang hitam dosis 300 mg/Kg BB, BG3= bawang hitam dosis 1000 mg/Kg BB

Berdasarkan grafik persentase kerusakan sel (**Gambar 4.4**) dapat diketahui bahwa kerusakan sel paling banyak terdapat pada kelompok perlakuan BP3 yang diberi ekstrak bawang putih dosis 1000 mg/Kg BB dan kerusakan paling sedikit terdapat pada perlakuan BG1 yang diberi ekstrak bawang hitam dosis 100 mg/Kg BB. Antara keseluruhan perlakuan, dapat diketahui bahwa pemberian ekstrak bawang hitam

menyebabkan kerusakan sel yang lebih rendah jika dibandingkan dengan perlakuan ekstrak bawang putih. Data hasil pengujian menggunakan SPSS dapat disajikan pada tabel 4.3 di bawah ini.

Tabel 4.3 Hasil Uji Two Way Anova terhadap Kerusakan Sel Ginjal Mencit Betina yang Dipengaruhi Jenis Ekstrak dan Berbagai Dosis yang Digunakan

Variabel	Sig.
Dosis	0.003
Ekstrak	0.001
Dosis*Ekstrak	0.231

Berdasarkan Tabel 4.3 hasil uji menggunakan *Two Way Anova* diketahui bahwa berbagai dosis yang digunakan dalam penelitian memiliki perbedaan hasil terhadap total kerusakan sel. Hal tersebut ditandai dengan nilai sig. <0,05. Selain itu, diketahui pula bahwa perbedaan ekstrak yang digunakan yaitu ekstrak bawang putih dan bawang hitam menunjukkan perbedaan hasil terhadap kerusakan sel. Hal tersebut ditandai dengan nilai sig. <0,05. Oleh sebab itu, keduanya perlu dilakukan uji lanjutan. Perbedaan nyata yang dipengaruhi konsentrasi dosis, dilanjutkan menggunakan uji *Post Hoc* untuk mengetahui perbandingan dari seluruh pasangan rata-rata kelompok perlakuan dengan hasil yang disajikan pada Tabel 4.4. Diketahui bahwa dosis 1000 mg/kg BB menunjukkan pengaruh yang signifikan. Perbedaan nyata yang dipengaruhi jenis ekstrak, dilanjutkan menggunakan uji T tidak berpasangan untuk mengetahui pengaruh masing-masing variabel bebas terhadap variabel terikat dengan hasil yang disajikan pada Tabel 4.5. Berdasarkan uji T tidak berpasangan, diketahui bahwa terdapat perbedaan yang signifikan antara kedua jenis ekstrak yang digunakan

terhadap kerusakan sel ginjal mencit betina ditandai dengan nilai sig. (2-tailed) $<0,05$. Artinya, ekstrak etanol bawang putih dan bawang hitam masing-masing menunjukkan perbedaan yang signifikan terhadap kerusakan sel. Gabungan antara penggunaan jenis ekstrak dan berbagai dosis yang digunakan dalam menentukan jumlah kerusakan sel ginjal mencit betina tidak menunjukkan perbedaan nyata yang ditandai dengan nilai sig. $>0,05$ sehingga tidak perlu dilakukan uji lanjut.

Tabel 4.4 Hasil Uji *Post Hoc* yang Dipengaruhi Konsentrasi Dosis

Dosis	Rata-rata	Simbol
Kontrol	213,33	a
100 mg/kg BB	274,33	ab
300 mg/kg BB	303,50	ab
1000 mg/kg BB	361,50	b

Keterangan: ab nilai signifikan berbeda

Tabel 4.5 Hasil Uji T Tidak Berpasangan yang Dipengaruhi Jenis Ekstrak

Independent Samples Test										
		Levene's Test for Equality of Variances		t-test for Equality of Means						
		F	Sig.	t	df	Sig. (2-tailed)	Mean Difference	Std. Error Difference	95% Confidence Interval of the Difference	
									Lower	Upper
Kerusakan Sel	Equal variances assumed	2.477	.135	2.969	16	.009	74.667	25.153	21.345	127.988
	Equal variances not assumed			2.969	14.582	.010	74.667	25.153	20.921	128.413

Keterangan: .009 : Nilai sig.(2-tailed) $<0,05$ maka ada hasil yang berbeda nyata antara kedua jenis ekstrak

Peningkatan kerusakan sel berbanding lurus dengan peningkatan pemberian dosis sesuai dengan penelitian Wahyuningsih *et al.* (2016) yang menyebutkan bahwa jumlah nekrosis sel tubuli mengalami peningkatan seiring dengan peningkatan dosis pemberian bahan yang diujikan. Hal tersebut dikarenakan adanya pemaparan zat dalam jangka waktu lama tanpa adanya kesempatan *recovery* bagi sel sehingga kerusakan sel semakin tinggi dan menyisakan hanya sedikit sel yang berada dalam kondisi normal (Wahyuningsih *et al.*, 2016). Kerusakan sel-sel tersebut adalah kerusakan pada bagian tubulus ginjal. Tubulus pada ginjal terbagi atas tubulus proksimal dan tubulus distal. Tubulus proksimal memiliki ciri apeks sel tersusun atas banyak mikrovili panjang sehingga terbentuk *brush border*. Fungsi *brush border* pada tubulus proksimal adalah untuk melalukan proses reabsorpsi. Selain itu, tubulus proksimal memiliki 3-5 inti berbentuk bulat dengan sel berukuran besar jika dibandingkan dengan sel yang ada pada tubulus distal. Pada tubulus distal, sel yang menyusun lebih banyak dan cenderung berukuran lebih kecil dan gepeng tanpa adanya *brush border* (Mescher, 2011). Bagian tubulus ginjal rentan mengalami kerusakan karena bahan-bahan bersifat toksik akan terakumulasi pada tubulus. Ditambah pula dengan epitel penyusun yang lemah dan mudah bocor, menyebabkan tubulus ginjal menjadi bagian ginjal yang mudah mengalami kerusakan paling banyak akibat nefrotoksik (Wahyuningsih *et al.*, 2016).

Selain nekrosis sel, terlihat pula beberapa tanda kerusakan seperti adanya infiltrasi sel radang, kongesti, dan juga perdarahan pada beberapa jaringan kelompok perlakuan. Infiltrasi sel radang ditandai dengan

terlihatnya sel-sel berwarna keunguan (Sugihartini & Fajri, 2016; Yolanda *et al.*, 2022). Infiltrasi sel radang masih berkaitan dengan terjadinya nekrosis yaitu ketika sel mengalami lisis dan mengeluarkan isi selnya, akan memicu reaksi *host* lokal dalam bentuk inflamasi sehingga menimbulkan infiltrasi sel radang (Anindita *et al.*, 2019). Inflamasi adalah bentuk respon akibat adanya kerusakan sel oleh pembuluh darah atau jaringan ikat dengan tujuan untuk menjaga keseimbangan, memperbaiki struktur serta memperbaiki gangguan fungsi jaringan dari bahaya yang timbul (Assiam *et al.*, 2014; Gelis *et al.*, 2020). Berdasarkan penjelasan Diba dan Rahman (2018), sel radang dapat terbentuk saat jaringan mengalami trauma (Oktaviandari *et al.*, 2020). Menurut Berata *et al.* (2018) beberapa faktor yang menyebabkan terjadinya inflamasi adalah mikroorganisme maupun non-mikroorganisme seperti bakteri, jamur, virus, dan mikroorganisme lainnya, bahan-bahan kimia, suhu ekstrem, adanya trauma, akibat pembedahan, dan tindakan yang dapat mempengaruhi kondisi fisik lainnya (Oktaviandari *et al.*, 2020).

Kongesti dapat disebut juga sebagai pembendungan darah atau hiperemi yaitu keadaan saat darah (eritrosit) terakumulasi secara berlebih dalam pembuluh di titik tertentu (Barus *et al.*, 2018). Kongesti pada pembuluh darah ginjal dapat mengakibatkan organ mengalami kerusakan secara menyeluruh karena sistem arterinya tidak mempunyai anastomosis dengan cabang arteri lain (*end arteries*). Kondisi tersebut menyebabkan timbulnya nekrosis sel saat salah satu cabang mengalami kerusakan (Rafe *et al.*, 2020). Penyebab terjadinya kongesti bisa dikarekanan oleh mikroorganisme, zat toksin, hingga trauma yang menyebabkan reaksi

peradangan (Muhsi *et al.*, 2020). Kongesti yang semakin parah dapat berlanjut pada kondisi pendarahan. Dalam penelitian ini terjadi pendarahan yang terlihat pada seluruh kelompok perlakuan kecuali kelompok kontrol dan BG1. Pendarahan adalah kondisi darah yang keluar dari pembuluh dan dapat terjadi baik di dalam rongga tubuh maupun di dalam jaringan (Jones *et al.*, 1997; Rafe *et al.*, 2020). Pendarahan yang diamati secara mikroskopis menunjukkan butir-butir eritrosit berada pada jaringan organ (Jannah & Budijastuti, 2022). Berdasarkan pemaparan Daft *et al.* (1989), pendarahan pada korteks ginjal terjadi akibat terpapar zat kimia yang bersifat toksik, obat-obatan, dan logam berat (Rafe *et al.*, 2020). Menurut McGavin & Zachry (2007), pendarahan pada ginjal dapat terjadi akibat adanya infeksi oleh agen infeksius, terpapar zat toksikan, berada dalam kondisi trauma atau syok, serta defisiensi vitamin C. Namun, kondisi ini juga dapat disebabkan oleh trauma ketika dilakukan pembedahan (Jannah & Budijastuti, 2022).

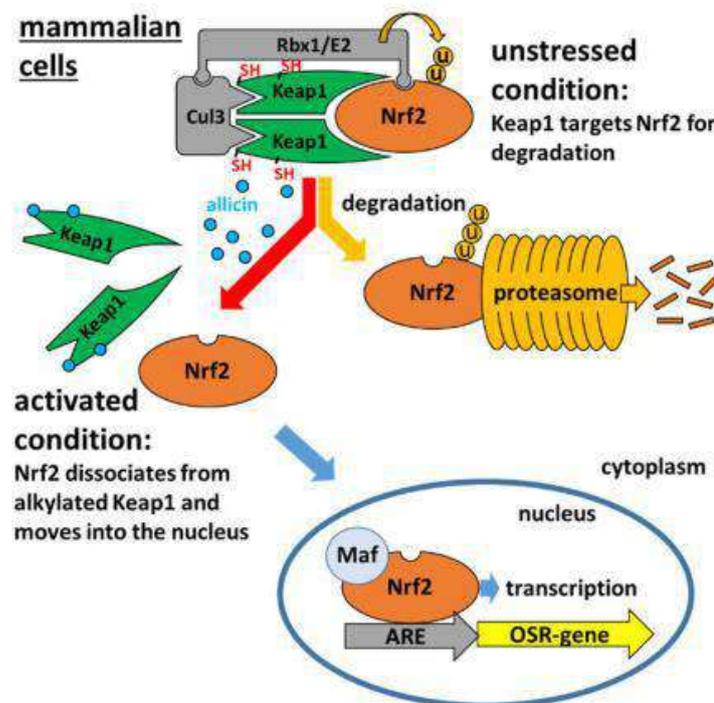
Bawang putih memiliki kandungan senyawa allicin. Meskipun allicin memiliki manfaat bagi kesehatan, senyawa ini juga dapat bersifat toksik terhadap sel mamalia (Arditti *et al.*, 2005; Gruhlke *et al.*, 2016). Dalam Gruhlke (2016) disebutkan bahwa allicin mampu menginduksi apoptosis pada berbagai jenis sel. Menurut Borlinghaus *et al.* (2021), pada dosis yang lebih tinggi terhadap sel eukariot, allicin dapat menginduksi apoptosis atau nekrosis. Hal tersebut dikarenakan allicin mampu menghambat kerja enzim-enzim yang mengandung sistein dan jika terdapat beberapa reduktase mitokondria menjadi target allicin, penghambatan dapat

menyebabkan pengurangan MTT yang lebih sedikit, meskipun sel masih dapat hidup. Uji MTT merupakan uji enzimatik yang mengukur kemampuan hidup sel berdasarkan aktivitas mitokondria dari kultur sel (Wati *et al.*, 2016).

Allicin tergolong sebagai *Reactive Sulfur Species* (RSS) dan reagen perangkap tiol yang kuat dengan kemampuan bereaksi cepat terhadap glutathione (GSH) untuk menghasilkan *S-allylmercaptogluthione* (GSSA). Kondisi tersebut menyebabkan allicin meniadakan kumpulan GSH seluler dan kemudian bereaksi dengan tiol sistein yang dapat diakses dalam protein melalui reaksi *S-thioallylation*. Adanya reaksi tersebut, menyebabkan terbentuknya oksidasi reversibel dan reduksi protein-tiol yang merupakan pusat pengaturan banyak proses dalam sel. Hal tersebut dikarenakan allicin dapat mengubah jalur pensinyalan sel yang penting dan fungsi seluler melalui reaksi pertukaran tiol-disulfida atau *thiol-disulfide exchange reaction* (TDER) yang dikenal memiliki peran penting dalam pensinyalan protein seluler (Borlinghaus *et al.*, 2021). Tiol-disulfida merupakan kelompok enzim yang berperan dalam proses pelipatan protein dan pembentukan ikatan disulfida protein yang dihasilkan oleh sitoplasma. Jika terdapat kesalahan dalam pelipatan protein, maka akan terjadi degradasi protein dan menimbulkan beberapa penyakit (Kamu *et al.*, 2012) Reaksi *S-thioallylation* dari protein-tiol oleh allicin pada (**Gambar 4.5**) dapat dikategorikan sebagai TDER. Adanya ikatan polar antara O-S dari kelompok sulfinil menyebabkan ikatan disulfida pada allicin akan melemah secara signifikan dan membuatnya lebih reaktif terhadap gugus tiol

nukleofilik jika dibandingkan dengan disulfida sederhana. Secara kimia, allicin akan bereaksi sebagai oksidan ketika gugus *S-thioallylates* berikatan dengan –SH (Borlinghaus *et al.*, 2021).

Allicin akan menstimulasi pembentukan respon stress oksidatif atau *oxidative stress response* (OSR) dengan cara berkoordinasi dengan sistem Keap1-Nrf2/ARE. Sensor protein Keap1 memiliki tiol sistein pada kondisi tereduksi yang menyebabkan sensitif terhadap target oksidasi. Berkurangnya sensor oksidasi Keap1 berdampak pada kemampuan faktor transkripsi Nrf2 dalam kompleks protein (Boringhaus *et al.*, 2021). Nrf2 atau *nuclear factor-erythroid-2 related factor 2* merupakan faktor yang berfungsi untuk meningkatkan transkripsi berbagai antioksidan sehingga mampu melawan terjadinya stress oksidatif. Jika Nrf2 mengalami gangguan dalam prosesnya, maka akan terjadi pelemahan dalam menginduksi gen pengkode antioksidan (Layal, 2016). Selain itu, beberapa studi menyebutkan bahwa allicin dapat menghambat proliferasi sel. Allicin akan menargetkan tubulin yang kemudian membentuk gelendong mitosis sehingga terjadi pencegahan pada pembelahan sel (Prager *et al.*, 2007; Gruhlke *et al.*, 2016).



Gambar 4.5 Mekanisme Stress Oksidatif pada Sel Mamalia Akibat Allicin
(Borlinghaus *et al.*, 2021)

Dalam Alare & Alare (2020) disebutkan bahwa toksisitas allicin dapat berefek pada sistem saraf otonom yaitu menghambat aktifitas kolinesterase. Enzim kolinesterase merupakan enzim katalis biologik di dalam tubuh yang berfungsi untuk menjaga otot, kelenjar, dan saraf tubuh dapat bekerja secara terorganisir (Rahmawati & Martiana, 2014; Sari *et al.*, 2018). Efek parasimpatik allicin yang bersifat toksik akan menimbulkan gejala seperti diare dan sering buang air besar akibat adanya peningkatan kontraktilitas GI. Penelitian lain menunjukkan pasien mengalami bradikardia akut dan hilang kesadaran setelah konsumsi ramuan bawang putih dengan dosis berlebih dalam jangka waktu lama. Hal tersebut disebabkan karena adanya rangsangan parasimpatis berlebih pada jantung sehingga menyebabkan detak jantung berkurang dan mengurangi kekuatan kontraksi jantung. Penurunan kemampuan jantung dalam

memompa darah, menyebabkan suplai darah ke otak menjadi berkurang sehingga berpotensi hilang kesadaran bahkan kematian. Toksisitas akibat berlebihan allicin pada sistem saraf otonom dapat dinetralisir kembali dengan pemberian atropin parenteral (Alare & Alare, 2020).

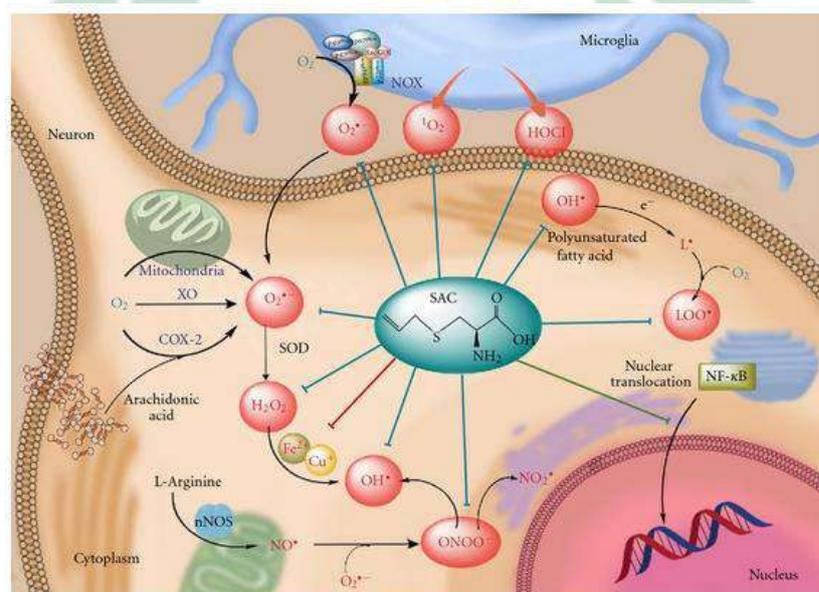
Berbeda dengan bawang hitam yang memiliki senyawa lebih stabil daripada bawang putih. Adanya senyawa *S-allyl-cystein* (SAC) hasil perubahan senyawa allicin melalui proses reaksi Maillard, menyebabkan efek toksik yang ditimbulkan lebih rendah daripada bawang putih. Menurut pemaparan Avula *et al.* (2014), penggunaan bawang hitam sebagai alternatif pengganti bawang putih karena efek toksik bawang hitam yang lebih rendah. Dalam penelitian Ha *et al.* (2015) menyebutkan bahwa kandungan utama dari bawang hitam adalah senyawa yang larut dalam air sehingga tidak memiliki toksisitas tinggi dan tidak memiliki bau bawang putih yang kuat. Oleh karena itu, dapat dikonsumsi manusia dalam jangka waktu lebih lama tanpa menimbulkan efek toksik atau kontraindikasi dengan obat-obatan untuk mengurangi hiperlipidermia.

Penelitian yang dilakukan oleh Rumaseuw *et al.* (2022) terkait uji toksisitas akut ekstrak etanol bawang hitam dosis 5mg/kg BB, 50 mg/kg BB, 300 mg/kg BB, dan 2000 mg/kg BB terhadap mencit betina berusia 3-4 bulan dengan berat badan 20-40 gram menunjukkan hasil tidak adanya gejala toksisitas pada mencit setelah diberi perlakuan selama 14 hari yang ditandai dengan tidak adanya perubahan perilaku baik ditinjau dari sistem saraf pusat maupun sisten saraf tepi. Namun dalam penelitian yang telah dilaksanakan yaitu uji toksisitas subkronik selama 28 hari menunjukkan

adanya kerusakan sedang pada histologi ginjal mencit. Meskipun demikian, kerusakan pada ginjal mencit yang diberi ekstrak bawang hitam jumlahnya lebih sedikit daripada mencit yang diberi ekstrak bawang putih. Dalam penelitian Kim *et al.* (2019) menyebutkan beberapa laporan menunjukkan bahwa *S-allyl-cysteine* (SAC) memberikan efek antioksidan dan anti-inflamasi yang kuat melalui pencegahan kerusakan oksidatif. Berdasarkan tes antioksidan *in vitro* seperti DPPH dan ABTS menunjukkan bawang hitam memiliki kemampuan penghambatan kerusakan yang jauh lebih kuat daripada bawang putih. Penelitian Amagase *et al.* (2001) dalam Gonzalez *et al.* (2012) menyebutkan bahwa toksisitas *S-allyl-cysteine* (SAC) adalah 30-fold lebih rendah daripada senyawa allicin dan diallyl disulfida pada bawang putih. Hal tersebut dibuktikan dengan data LD₅₀ dari senyawa SAC terhadap mencit betina adalah 9,39 g/kg dan pada mencit jantan 8,89 g/kg. Nilai tersebut jauh lebih rendah toksisitasnya jika dibandingkan dengan senyawa allicin dan diallyl sulfida yaitu 0,363 g/kg dan 1,3 g/kg terhadap mencit betina, serta 0,309 g/kg dan 0,145 g/kg terhadap mencit jantan.

Penelitian oleh Gonzalez *et al.* (2012) juga menyebutkan bahwa senyawa *S-allyl-cysteine* (SAC) pada bawang hitam memiliki mekanisme antioksidan yang berbeda dari senyawa yang dimiliki oleh bawang putih. Senyawa *S-allyl-cysteine* (SAC) memiliki kemampuan dalam mencegah maupun memperbaiki stress oksidatif dengan cara mereduksi radikal bebas dan kelompok prooksidan, induksi enzim antioksidan dan aktivasi faktor Nrf2, menghambat enzim prooksidan, hingga mencegah terjadinya efek

pengkelatan (**Gambar 4.6**). Mekanisme tersebut menunjukkan *S-allyl-cysteine* (SAC) berikatan dengan anion superoksida ($O_2^{\bullet-}$), hidrogen peroksida (H_2O_2), radikal hidroksil (OH^{\bullet}), radikal peroksinitrit ($ONOO^-$), dan radikal peroksil (LO^{\bullet}) yang diproduksi dalam sel saraf. *S-allyl-cysteine* (SAC) juga berasosiasi dengan asam hipoklorit ($HOCl$) dan oksigen singlet (1O_2) yang diproduksi oleh sel mikroglial. Hal lain juga ditunjukkan bahwa *S-allyl-cysteine* (SAC) melakukan pengkelatan dengan ion Fe^{2+} dan Cu^{2+} untuk mencegah terjadinya reaksi Fenton. Senyawa ini juga berperan dalam menghambat terjadinya translokasi NF- κ B ke dalam nukleus sehingga pensinyalan apoptosis juga dapat dicegah.

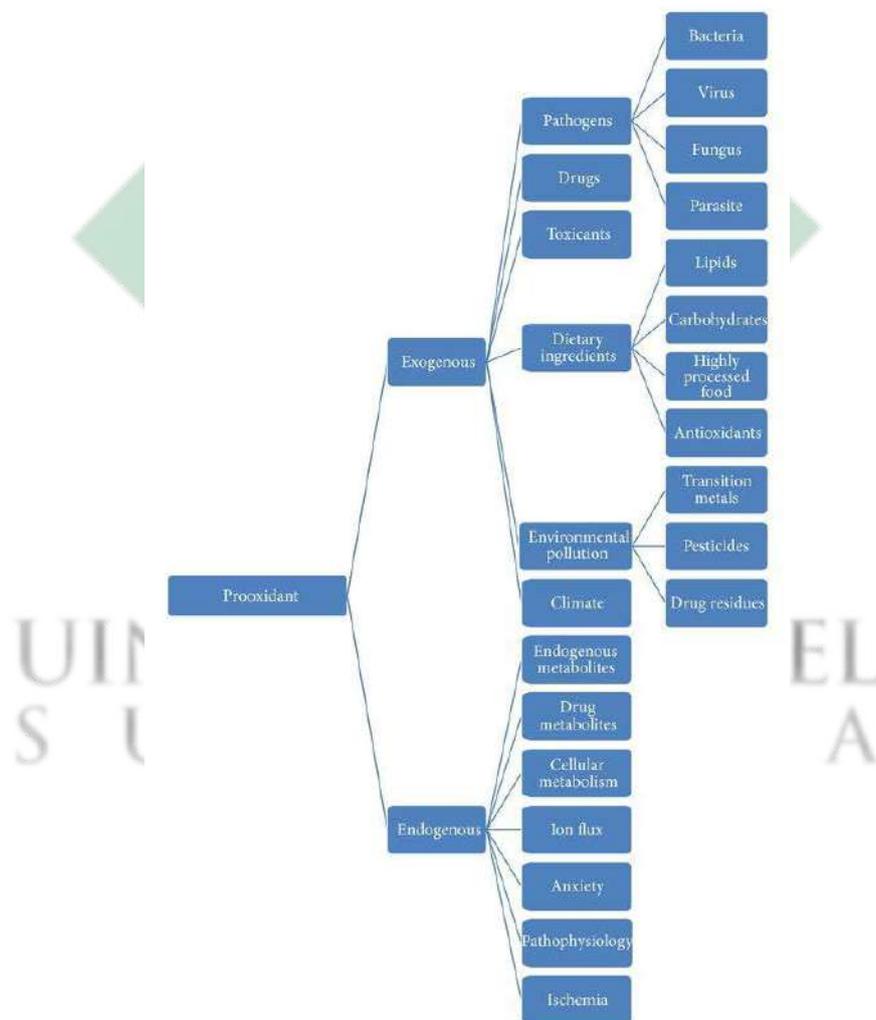


Gambar 4.6 Mekanisme Antioksidan *S-allyl-cysteine*

(Gonzalez *et al.*, 2012)

Menurut Fahriansyah *et al.* (2021), nekrosis pada bagian tubulus ginjal dapat disebabkan karena adanya radikal bebas berlebih pada tubuh. Berlebihannya kadar radikal bebas dalam penelitian ini diduga karena terlalu banyaknya antioksidan dalam tubuh sehingga terjadi prooksidan.

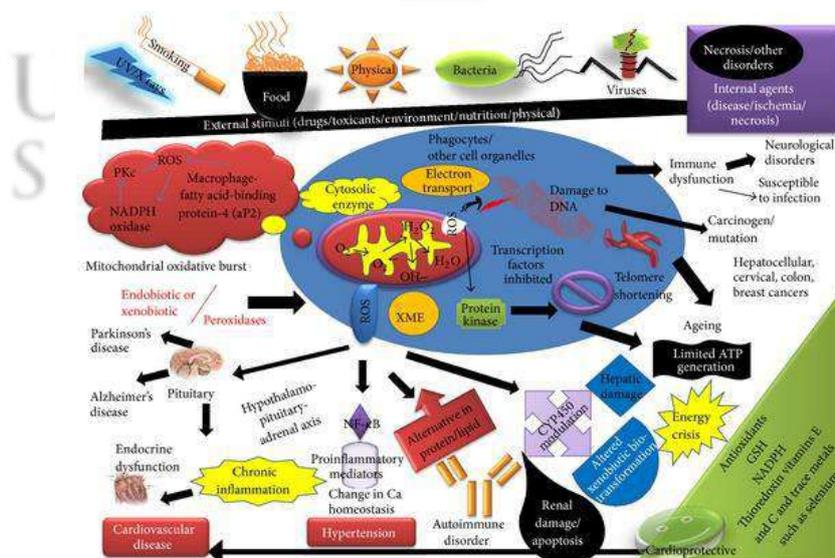
Prooksidan memiliki sifat seperti radikal bebas akibat kadar antioksidan yang terlalu tinggi di dalam tubuh. Kandungan antioksidan dengan kadar yang terlalu tinggi di dalam tubuh dapat menyebabkan terjadinya stress oksidatif karena tidak seimbangnya kadar oksidan dan antioksidan dalam organ sehingga laju oksidasi menjadi terganggu (Nirwana, 2014). Berdasarkan pemaparan Rahal *et al.* (2014), antioksidan termasuk dalam kelompok yang berpotensi sebagai prooksidan.



Gambar 4.7 Berbagai Macam Sumber Prooksidan

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

Prooksidan mengacu pada setiap endobiotik atau xenobiotik yang menginduksi stress oksidatif baik dengan menghasilkan ROS atau menghambat sistem antioksidan. Kondisi prooksidan ini dapat mencakup semua molekul reaktif yang mengandung radikal bebas di dalam sel maupun jaringan. Antioksidan seperti polifenol termasuk dalam salah satu kelompok prooksidan dengan bertindak sebagai prooksidan dalam keadaan tertentu sebagai mekanismenya. Sistem saraf pusat memiliki sensitifitas tinggi terhadap kerusakan akibat radikal bebas karena kapasitas antioksidan total yang relatif kecil (Rahal *et al.*, 2014). Kelebihan ROS dapat merusak lipid sel, protein, asam nukleat, dan menghambat fungsi normal makromolekul lainnya (Ansary *et al.*, 2014). Stress oksidatif akibat ROS erat kaitannya dengan aktivitas mitokondria yaitu menghasilkan ATP dari prosis forforilasi oksidatif. Pada proses ini, elektron yang direduksi tidak berjumlah empat elektron O_2 melainkan hanya satu atau dua elektron. Hal tersebut memicu terbentuknya O_2 atau H_2O_2 (Rahal *et al.*, 2014).



Gambar 4.8 Stress Oksidatif dan Perkembangan Penyakit

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

Penelitian yang dilakukan oleh Eghbaliferiz & Iranshahi (2016) menyebutkan adanya aktivitas prooksidan oleh senyawa polifenol dan flavonoid. Pada dosis rendah, senyawa polifenol dapat mencegah peroksidasi lipid dan stress oksidatif. Namun, beberapa studi menyebutkan bahwa antioksidan berupa fenolik dapat menjadi prooksidan jika berada pada dosis besar, pH basa, dan adanya molekul oksigen (Blokhina *et al.*, 2003). Begitu pula dengan senyawa flavonoid, yang banyak digunakan dalam mengatasi penyakit kardiovaskular, kanker, dan penyakit neurodegeneratif pada dosis yang tepat (Block & Langseth, 1994; Eghbaliferiz & Iranshahi, 2016). Aktivitas flavonoid sebagai prooksidan ditunjukkan dengan penghambatan pernapasan mitokondria (Hodnick *et al.*, 1994; Eghbaliferiz & Iranshahi, 2016). Hal tersebut berkaitan dengan kemampuan flavonoid untuk melakukan autoksidasi yang dikatalisis oleh logam transisi menghasilkan anion superoksida. Anion superoksida tersebut akan menghasilkan hidrogen peroksida dan radikal hidroksi melalui reaksi fenton (Canada *et al.*, 1990; Eghbaliferiz & Iranshahi, 2016). Pada tahun 1990, Canada *et al.* menunjukkan hasil diet flavonol (quersetin dan myricetin) mampu menghasilkan ROS pada pH fisiologis dan dengan adanya logam Fe (Eghbaliferiz & Iranshahi, 2016). Rahal *et al.* (2014) menyebutkan bahwa kemampuan suatu senyawa sebagai antioksidan atau berubah menjadi prooksidan adalah dipengaruhi oleh dosis yang digunakan. Selain itu, lamanya waktu paparan juga berdampak pada perbedaan hasil proliferasi, pemutusan siklus sel, apoptosis, maupun nekrosis.

Berdasarkan penelitian yang telah dilakukan kali ini, maka dapat diketahui bahwa pemberian secara oral bawang putih dan bawang hitam dengan masing-masing dosis 100 mg/kg BB, 300 mg/kg BB, dan 1000 mg/kg BB selama 28 hari menunjukkan kerusakan sedang pada sel organ ginjal mencit dengan kerusakan paling banyak terdapat pada perlakuan dengan pemberian dosis 1000 mg/kg BB. Di dalam Al-Qur'an telah dijelaskan tentang perintah untuk tidak berlebih-lebihan dalam segala hal. Pertama, terdapat dalam surat Al-A'raf ayat ke-31 yang berbunyi:

يَا بَنِي آدَمَ خُذُوا زِينَتَكُمْ عِنْدَ كُلِّ مَسْجِدٍ وَكُلُوا وَاشْرَبُوا وَلَا تُسْرِفُوا إِنَّهُ لَا يُحِبُّ الْمُسْرِفِينَ

Artinya: "Hai anak Adam, pakailah pakaianmu yang indah di setiap (memasuki) masjid, makan dan minumlah, dan janganlah berlebih-lebihan. Sesungguhnya Allah tidak menyukai orang yang berlebih-lebihan." (Q.S Al-A'raf (7):31)

Berdasarkan tafsir dari buku *Tafsir al-Munir* (2009) dijelaskan bahwa Allah memerintahkan untuk memakan makanan yang halal, nikmat, bermanfaat, bergizi, dan baik bagi tubuh. Selain itu, diperintahkan pula untuk minum dengan memilih minuman yang tidak memabukkan dan tidak mengganggu kesehatan. Diperintahkan pula untuk tidak berlebih-lebihan, maksudnya adalah tidak melampaui batas yang halal, tidak terlalu hemat, dan juga tidak terlalu boros. Dalam buku *Tafsir al-Muyassar* dijelaskan bahwa Allah tidak menyukai orang-orang yang berlebihan dalam hal apapun. Dan Allah tidak melimpahkan rahmat bagi orang-orang yang berlebih-lebihan. Oleh sebab itu, perlu diterapkannya prinsip sederhana dalam setiap perbuatan yang baik (Rosyidah & Mas'udah, 2022).

Ayat tentang larangan untuk berlebihan juga disampaikan dalam Al-Qur'an yaitu pada surat Al'An'am ayat 141 yang berbunyi:

وَهُوَ الَّذِي أَنْشَأَ جَنَّاتٍ مَعْرُوشَاتٍ وَغَيْرَ مَعْرُوشَاتٍ وَالنَّخْلَ وَالزَّرْعَ مُخْتَلِفًا أَكْلُهُ وَالزَّيْتُونَ
وَالرُّمَانَ مُنْتَشِبَهَا وَغَيْرَ مُنْتَشِبِهِ ۗ كُلُوا مِنْ ثَمَرِهِ إِذَا أَثْمَرَ وَآتُوا حَقَّهُ يَوْمَ حَصَادِهِ ۗ وَلَا تُسْرِفُوا ۗ
إِنَّهُ لَا يُحِبُّ الْمُسْرِفِينَ

Artinya: "Dialah yang menumbuhkan tanaman-tanaman yang merambat dan yang tidak merambat, pohon kurma, tanaman yang beraneka ragam rasanya, serta zaitun dan delima yang serupa (bentuk dan warnanya) dan tidak serupa (rasanya). Makanlah buahnya dan apabila ia berbuah dan berikanlah haknya (zakatnya) pada waktu memetik hasilnya. Akan tetapi, janganlah berlebih-lebihan. Sesungguhnya Allah tidak menyukai orang-orang yang berlebih-lebihan" (Q.S. Al-An'am (6):141)

Berdasarkan buku *Tafsir al-Muyassar*, Allah menjelaskan bahwa Allah telah menciptakan kebun-kebun dengan berbagai macam pohon dan tanaman yang tumbuh semata-mata untuk kebaikan manusia itu sendiri. Maka haruslah manusia memakannya dengan penuh rasa syukur kepada Allah dan jangan lupa untuk membagikan hasil tanaman yang telah matang. Quraish Shihab dalam bukunya berjudul *Tafsir al-Misbah* (2014) menyebutkan sabda Nabi Muhammad SAW tentang Allah tidak menyukai orang-orang yang berlebihan dalam segala hal meskipun itu dalam hal kebaikan seperti berlebihan ketika berwudhu yaitu membasuh wajah lebih dari tiga kali meskipun berada di tengah sungai yang mengalir (Rosyidah & Mas'udah, 2022). Berdasarkan tafsir-tafsir tersebut maka dapat disimpulkan bahwa tidak berlebih-lebihan maksudnya adalah tidak melebihi kebutuhan, tidak melampaui batas, dan disesuaikan dengan kondisi masing-masing individu.

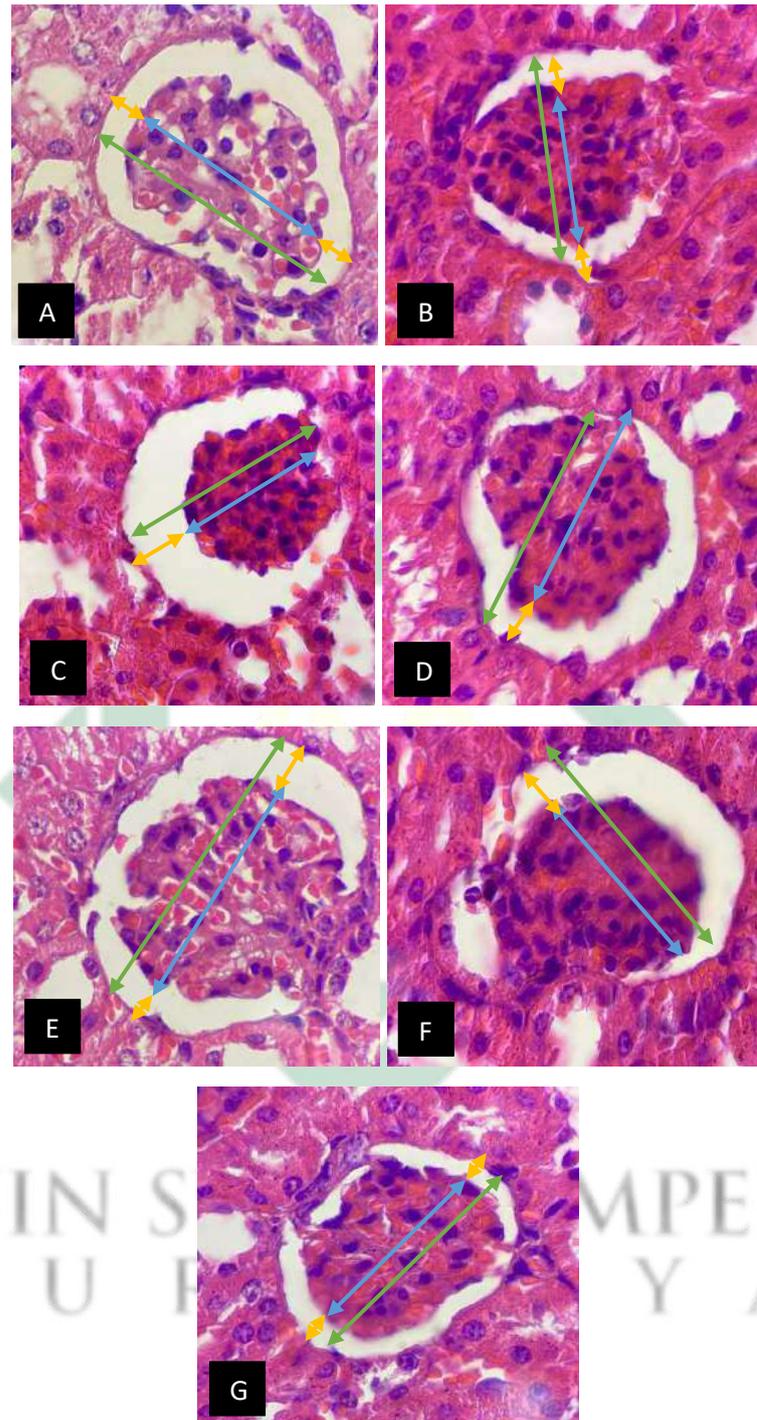
4.3. Uji Toksisitas Subkronik Ekstrak Bawang Putih dan Bawang Hitam terhadap Diameter Glomerulus, Kapsula Bowman, dan Ruang Bowman Mencit Betina

Glomerulus adalah alat filtrasi utama pada ginjal. Jika terlihat adanya perubahan pada diameter glomerulus maka akan mempengaruhi fungsi kerja ginjal normal (Ambarwati *et al.*, 2020). Perubahan diameter glomerulus akan mempengaruhi diameter kapsula bowman dan juga ruang kapsula bowman sebagai penampung hasil filtrat sebelum dilanjutkan masuk ke dalam tubulus proksimal. Oleh sebab itu, pengamatan diameter glomerulus, kapsula bowman, dan ruang bowman perlu dilakukan untuk mengetahui kerusakan berarti pada struktur organ ginjal. Hasil pengukuran terhadap parameter diameter tersebut dapat disajikan pada Tabel 4.6 di bawah ini.

Tabel 4.6 Rata-rata Diameter Glomerulus, Kapsula Bowman, dan Ruang Bowman Mencit Betina setelah Perlakuan

No.	Perlakuan	Diameter Rata-rata (μm)		
		Glomerulus	Kapsula Bowman	Ruang Bowman
1.	K	64,0	96,0	31,9
2.	BP1	54,2	77,4	23,1
3.	BP2	55,4	87,5	32,0
4.	BP3	54,2	82,1	27,8
5.	BG1	67,7	97,4	29,5
6.	BG2	59,5	86,3	26,7
7.	BG3	61,7	90,0	28,4

Keterangan: K= kontrol, BP1= bawang putih dosis 100 mg/Kg BB, BP2= bawang putih dosis 300 mg/Kg BB, BP3= bawang putih dosis 1000 mg/Kg BB, BG1= bawang hitam dosis 100 mg/Kg BB, BG2= bawang hitam dosis 300 mg/Kg BB, BG3= bawang hitam dosis 1000 mg/Kg BB

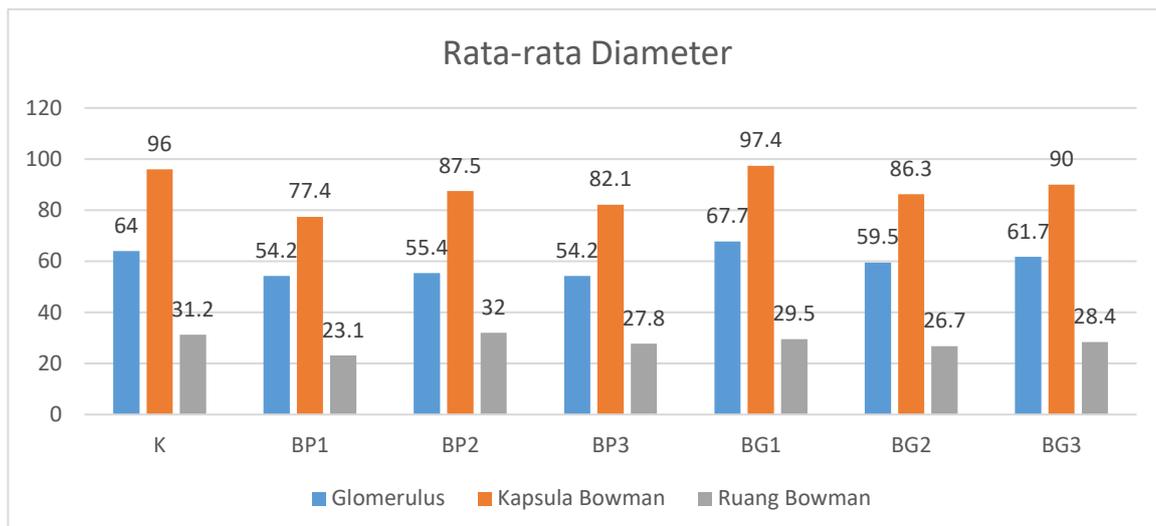


Gambar 4.9 Histologi ginjal mencit perbesaran 1000x dengan pewarnaan HE (Hemaktosilin-Eosin). (A) kontrol, (B) BP1 (bawang putih dosis 100 mg/Kg BB), (C) BP2 (bawang putih dosis 300 mg/Kg BB), (D) BP3 (bawang putih dosis 1000 mg/Kg BB), (E) BG1 (bawang hitam dosis 100 mg/Kg BB), (F) BG2 (bawang hitam dosis 300 mg/Kg BB), (G) BG3 (bawang hitam dosis 1000 mg/Kg BB).

- ↔ diameter glomerulus
- ↔ diameter kapsula bowman
- ↔ diameter ruang bowman

Berdasarkan (**Gambar 4.9**) dapat terlihat perbedaan ukuran diameter glomerulus, diameter kapsula bowman, dan diameter ruang bowman pada kelompok kontrol dan masing-masing kelompok perlakuan. Berdasarkan Tabel 4.6 dapat diketahui pada kelompok K memiliki rata-rata diameter glomerulus sebesar 64,0 μm , diameter kapsula bowman 96,0 μm , dan ruang bowman 31,9 μm . Pada kelompok BP1 rata-rata diameter glomerulus adalah sebesar 54,2 μm , diameter kapsula bowman 77,4 μm , dan ruang bowman 23,1 μm . Pada kelompok BP2 rata-rata diameter glomerulus adalah sebesar 55,4 μm , diameter kapsula bowman 87,5 μm , dan ruang bowman 32,0 μm . Pada kelompok BP3 rata-rata diameter glomerulus adalah sebesar 54,2 μm , diameter kapsula bowman 82,1 μm , dan ruang bowman 27,8 μm . Pada kelompok BG1 rata-rata diameter glomerulus adalah sebesar 67,7 μm , diameter kapsula bowman 97,4 μm , dan ruang bowman 29,5 μm . Pada kelompok BG2 rata-rata diameter glomerulus adalah sebesar 59,5 μm , diameter kapsula bowman 86,3 μm , dan ruang bowman 26,7 μm . Pada kelompok BG3 rata-rata diameter glomerulus adalah sebesar 61,7 μm , diameter kapsula bowman 90,0 μm , dan ruang bowman 28,4 μm . Data tersebut dapat disajikan pula dalam bentuk tabel pada (**Gambar 4.10**).

UIN SUNAN AMPEL
S U R A B A Y A



Gambar 4.10 Rata-rata Diameter Glomerulus, Kapsula Bowman, dan Ruang Bowman Mencit Betina

K= kontrol, BP1= bawang putih dosis 100 mg/Kg BB, BP2= bawang putih dosis 300 mg/Kg BB, BP3= bawang putih dosis 1000 mg/Kg BB, BG1= bawang hitam dosis 100 mg/Kg BB, BG2= bawang hitam dosis 300 mg/Kg BB, BG3= bawang hitam dosis 1000 mg/Kg BB

Pada grafik tersebut dapat terlihat bahwa rata-rata diameter glomerulus mencit betina yang diberi perlakuan ekstrak bawang putih yaitu kelompok BP1, BP2, dan BP3 lebih rendah daripada kelompok kontrol. Rata-rata diameter glomerulus mencit betina yang diberi perlakuan ekstrak bawang hitam terlihat adanya peningkatan pada kelompok BG1 dan cenderung tetap pada kelompok BG2 dan BG3 jika dibandingkan dengan kelompok kontrol. Pada rata-rata diameter kapsula bowman terlihat kelompok perlakuan BP1 memiliki diameter yang paling kecil jika dibandingkan dengan kelompok lain dan perlakuan BG1 memiliki diameter paling besar daripada kelompok lainnya. Rata-rata diameter ruang kapsula bowman terlihat seluruh perlakuan memiliki diameter yang tidak terlalu beda signifikan. Untuk mengetahui adanya perbedaan pada masing-masing kelompok perlakuan, maka dilakukan pengolahan data menggunakan uji *Two Way Anova* terhadap masing-masing parameter yaitu diameter glomerulus, diameter kapsula bowman, dan

diameter ruang bowman setelah diberi ekstrak etanol bawang putih dan bawang hitam berbagai dosis. Hasil pengujian tersebut dapat disajikan pada Tabel 4.7 di bawah ini.

Tabel 4.7 Hasil Uji *Two Way Anova* Menggunakan SPSS Pengaruh Macam Ekstrak dan Dosis terhadap Glomerulus, Kapsula Bowman, dan Ruang Bowman

Hasil Uji	Nilai Sig.		
	Glomerulus	Kapsula Bowman	Ruang Bowman
Ekstrak	0.006	0.043	0.827
Dosis	0.495	0.961	0.635
Ekstrak*Dosis	0.348	0.128	0.217

Diketahui diameter glomerulus mencit normal adalah $\pm 70 \mu\text{m}$ (Terasaki *et al.*, 2020). Pada penelitian ini terlihat seluruh diameter glomerulus mencit berada di bawah $70 \mu\text{m}$. Menurut Ambarwati *et al.* (2020) penurunan diameter tersebut dapat diakibatkan karena adanya sel-sel yang lisis dan mati. Pada penelitian Fahriansyah *et al.* (2021) menyebutkan bahwa pemberian ekstrak etanol daun mimba memberikan efek terhadap penambahan diameter glomerulus. Septiva *et al.* (2019) menyebutkan dalam penelitiannya terkait efek pemberian ekstrak etanol daun mimba terhadap diameter glomerulus yang mengalami penambahan merupakan bentuk adaptasi sel seiring dengan peningkatan dosis bahan uji yang diberikan. Penambahan diameter tersebut berkaitan dengan perbesaran ukuran sel akibat dari adanya penambahan beban kerja yang diterima oleh sel (Mayori, 2013). Pada penelitian ini, setelah dilakukan uji *Two Way Anova* dapat diketahui bahwa pemberian ekstrak yang berbeda yaitu ekstrak etanol bawang putih dan ekstrak etanol bawang hitam menunjukkan adanya perbedaan nyata yang ditandai dengan nilai Sig. sebesar

0.006 ($<0,05$). Oleh sebab itu, perlu dilakukan uji lanjut menggunakan Uji T Tidak Berpasangan untuk mengetahui perbedaan antara kedua jenis ekstrak yang digunakan (Tabel 4.8). Hasil tersebut menunjukkan bahwa terdapat perbedaan nyata antara kedua jenis ekstrak yang digunakan dalam mempengaruhi diameter glomerulus yang ditandai dengan nilai Sig. (2-tailed) adalah $<0,05$. Menurut penelitian Susilorini *et al.* (2013) pemberian ekstrak bawang putih memberikan pengaruh terhadap diameter glomerulus ginjal tikus yang diberikan induksi *Streptozotocin* melalui mekanisme antioksidan dan antiglikasi yang dimilikinya. Jika ditinjau dari pemberian dosis yang berbeda dan hubungan antara perbedaan ekstrak dan perbedaan dosis yang diberikan, tidak menunjukkan perbedaan nyata terhadap diameter glomerulus yang ditandai dengan nilai Sig. $>0,05$ sehingga tidak perlu dilakukan uji lanjut.

Kondisi diameter glomerulus yang meningkat dapat berefek pada diameter kapsula bowman yang akan mengalami penurunan. Dalam penelitian Septiva *et al.* (2019) menyebutkan bahwa penyusutan sel-sel epitel pada membran kapsula bowman mengalami perbaikan seiring dengan penambahan dosis uji yang diberikan karena adanya aktivitas nefroprotektif dari bahan uji. Diperkuat oleh pernyataan Anusuya *et al.* (2013), aktivitas nefroprotektif dari suatu bahan uji berupa obat herbal disebabkan karena adanya kandungan metabolit berupa antioksidan. Adanya kandungan antioksidan pada bawang putih (Aisyah, 2020) dan antioksidan pada bawang hitam (Agustina *et al.*, 2020), menunjukkan adanya efek nefroprotektor yang dihasilkan oleh ekstrak bahan uji yang diberikan. Antioksidan mampu bekerja dalam menghambat oksidasi lipid dengan cara mengikat oksigen secara kompetitif, menghambat

proses inisiasi, memblokir tahap propagasi dengan mengikat atau merusak radikal bebas, menghambat katalis, atau menstabilkan hidrogen peroksida (Supriyanto *et al.*, 2017; Septiva *et al.*, 2019). Pada penelitian ini, hasil uji SPSS *Two Way Anova* menunjukkan adanya perbedaan hasil diameter kapsula bowman antara perlakuan yang diberikan ekstrak berbeda dengan bukti nilai Sig. $<0,05$. Oleh sebab itu, perlu dilakukan uji lanjut dengan menggunakan uji T Tidak Berpasangan untuk mengetahui perbedaan antara kedua jenis ekstrak yang digunakan (Tabel 4.8). Hasil tersebut menunjukkan bahwa terdapat perbedaan nyata antara kedua jenis ekstrak yang digunakan dalam mempengaruhi diameter kapsula bowman yang ditandai dengan nilai Sig. (2-tailed) adalah $<0,05$. Pemberian bermacam dosis serta hubungan antara perbedaan ekstrak dan dosis yang digunakan tidak menunjukkan perbedaan hasil terhadap diameter kapsula bowman sehingga tidak perlu dilakukan uji lanjut.

Tabel 4.8 Hasil Uji T Tidak Berpasangan terhadap Diameter Glomerulus dan Kapsula Bowman Ginjal Mencit Betina yang Dipengaruhi Jenis Ekstrak

Hasil Uji	Diameter	Nilai Sig. (2-Tailed)
Ekstrak	Glomerulus	0,005
	Kapsula Bowman	0,035

Pelebaran pada ruang kapsula bowman dapat terjadi akibat adanya filtrat dalam jumlah banyak yang masuk dalam ruang kapsula. Kondisi tersebut dapat terjadi saat kadar gula darah dalam tubuh berlebih atau disebut dengan hiperfiltrasi (Fahriansyah *et al.*, 2021). Menurut Wardani (2012) pelebaran ruang kapsula bowman dan banyaknya filtrat yang masuk menyebabkan semakin banyak pula filtrat yang masuk ke dalam tubulus proksimal. Di sisi

lain, ruang kapsula bowman juga dapat mengalami penyempitan. Hal tersebut disebabkan oleh penambahan diameter glomerulus dari kondisi normal, penyempitan membran kapsula bowman, maupun kombinasi antara keduanya. Kondisi ini dapat menurunkan kemampuan filtrasi ginjal menurun karena hasil filtrat tidak dapat keluar melalui ruang bowman (Septiva *et al.*, 2019). Menurut Kartanegara (2015) dan Jefferson *et al.* (2008), penyempitan ruang bowman dapat terjadi akibat adanya rakidal bebas yang menginduksi terbentuknya reaksi inflamasi dan kerusakan struktur jaringan pada glomerulus. Namun, pada penelitian ini ruang kapsula bowman tidak menunjukkan perbedaan yang nyata antara kelompok kontrol dengan kelompok perlakuan sehingga disimpulkan bahwa pemberian ekstrak etanol bawang putih dan ekstrak etanol bawang hitam berbagai dosis tidak memberikan efek pada luas ruang kapsula bowman (Sig. >0,05).

4.4. Uji Toksisitas Subkronik Ekstrak Bawang Putih dan Bawang Hitam terhadap Perubahan Berat Badan dan Berat Ginjal Mencit

Berat badan merupakan parameter yang dapat digunakan sebagai parameter untuk mengetahui kondisi kesehatan tubuh. Hal tersebut dikarenakan penambahan berat badan digunakan untuk mengetahui kondisi tubuh secara merata yakni pengukur proses pertumbuhan dan perkembangan bagian tubuh yang sangat kompleks (Gutama, 2008). Berat organ juga merupakan parameter yang dapat digunakan untuk mengetahui ada atau tidaknya permasalahan pada tubuh. Hal tersebut dikarenakan berat organ yang mengalami peningkatan dapat mempengaruhi berat badan suatu individu (Smith & Mengkoewidjojo, 1988). Menurut Anindita (2019) berat ginjal

sebagai parameter perlu digunakan karena berkaitan dengan komponen-komponen seluler yang berperan dalam proses eksresi dan eliminasi metabolit tubuh. Adanya perubahan pada berat ginjal dapat dikerenakan oleh kerusakan komponen seluler tersebut sehingga berdampak pada perubahan fungsi ginjal (Fahriansyah *et al.*, 2021). Oleh sebab itu, kedua parameter tersebut digunakan sebagai data pada penelitian untuk mendukung data hasil pengamatan organ secara mikroskopis. Pengambilan data berat badan mencit dilakukan ketika sebelum dan sesudah perlakuan untuk mengetahui perubahan yang terjadi. Sedangkan pengambilan berat organ dilakukan setelah hewan uji dinekropsi. Hasil pengukuran berat badan mencit dirata-rata setiap minggunya untuk mengetahui perubahan berat badan yang terjadi. Berat badan dikelompokkan pada minggu pertama, minggu kedua, minggu ketiga, dan minggu keempat selama pemberian perlakuan. Data tersebut dapat disajikan pada tabel 4.9 di bawah ini.

Tabel 4.9 Hasil Rata-rata Perubahan Berat Badan Mencit Setiap Minggu Selama Pemberian Perlakuan

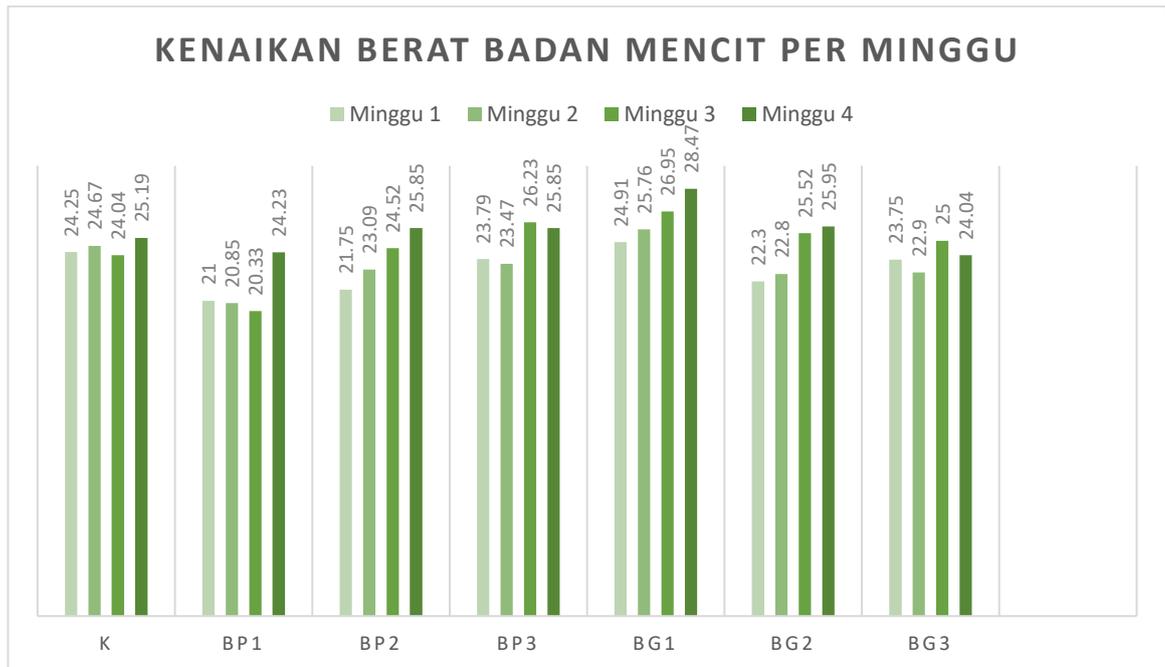
No.	Perlakuan	Rata-rata Berat Badan Per Minggu (gram)			
		Minggu 1	Minggu 2	Minggu 3	Minggu 4
1.	K	24,25	24,67	24,04	25,19
2.	BP1	21,00	20,85	20,33	24,23
3.	BP2	21,75	23,09	24,52	25,85
4.	BP3	23,79	23,47	26,23	25,85
5.	BG1	24,91	25,76	26,95	28,47
6.	BG2	22,30	22,80	25,52	25,95
7.	BG3	23,75	22,90	25,00	24,04

Keterangan: K= kontrol, BP1= bawang putih dosis 100 mg/Kg BB, BP2= bawang putih dosis 300 mg/Kg BB, BP3= bawang putih dosis 1000 mg/Kg BB, BG1= bawang hitam dosis 100 mg/Kg BB, BG2= bawang hitam dosis 300 mg/Kg BB, BG3= bawang hitam dosis 1000 mg/Kg BB

Berdasarkan Tabel 4.9 dapat diketahui bahwa pada kelompok kontrol, berat badan mencit cenderung stabil selama 3 minggu pada berat 24 gram dan mengalami kenaikan pada minggu terakhir yaitu sebanyak 1,15 gram. Pada kelompok BP1 yaitu perlakuan dengan ekstrak bawang putih dosis 100 mg/kg BB terlihat mengalami fluktuasi pada berat badan selama empat minggu dengan hasil akhir berat badan mengalami kenaikan sebesar 3,9 gram dari minggu ketiga ke minggu keempat. Pada kelompok BP2 yaitu perlakuan dengan ekstrak bawang putih dosis 300 g/kg BB, berat badan mencit secara bertingkat mengalami kenaikan dari minggu pertama sampai minggu terakhir dengan kenaikan sebesar 1,33 gram dari minggu ketiga ke minggu keempat. Pada kelompok BP3 yaitu perlakuan dengan ekstrak bawang putih dosis 1000 mg/kg BB dapat terlihat bahwa berat badan mencit mengalami fluktuasi selama 4 minggu perlakuan, dengan hasil akhir mengalami penurunan sebanyak 0,38 gram.

Pada kelompok BG1 yaitu perlakuan dengan ekstrak bawang hitam dosis 100 mg/kg BB terlihat berat badan mencit mengalami kenaikan secara bertingkat sejak minggu pertama hingga minggu keempat perlakuan dengan hasil akhir mengalami kenaikan sebesar 1,52 gram dari minggu ketiga ke minggu keempat. Pada kelompok perlakuan BG2 yaitu perlakuan dengan ekstrak bawang hitam dosis 300 mg/kg BB terlihat mengalami kenaikan secara bertingkat dari minggu pertama sampai minggu terakhir dengan hasil akhir kenaikan sebesar 0,43 gram dari minggu ketiga ke minggu keempat. Pada kelompok BG3 yaitu perlakuan dengan ekstrak bawang hitam dosis 1000 mg/kg BB terlihat berat badan mencit mengalami fluktuasi selama empat

minggu perlakuan dengan hasil akhir mengalami penurunan berat badan sebesar 0,96 gram dari minggu ketiga ke minggu keempat. Perubahan berat badan tersebut dapat disajikan dalam bentuk grafik pada (**Gambar 4.11**) di bawah ini.



Gambar 4.11 Rata-rata Kenaikan Berat Badan Mencit per Minggu

K= kontrol, BP1= bawang putih dosis 100 mg/Kg BB, BP2= bawang putih dosis 300 mg/Kg BB, BP3= bawang putih dosis 1000 mg/Kg BB, BG1= bawang hitam dosis 100 mg/Kg BB, BG2= bawang hitam dosis 300 mg/Kg BB, BG3= bawang hitam dosis 1000 mg/Kg BB

Berdasarkan pemaparan hasil data, dapat diketahui bahwa terdapat perubahan pada berat badan mencit betina selama 4 minggu perlakuan. Siregar (2017) menyebutkan bahwa pertambahan berat badan berkaitan erat dengan banyaknya jumlah pakan yang dikonsumsi oleh hewan uji. Jika konsumsi pakan meningkat, maka pertumbuhan hewan juga semakin baik yang ditandai dengan adanya kenaikan berat badan. Pendapat tersebut sesuai dengan pemaparan Suprijatna *et al.* (2005) yang menyebutkan bahwa laju pertambahan berat badan hewan uji dipengaruhi oleh total pakan yang

dikonsumsi. Tidak adanya pengaruh nyata dalam berat badan mencit di awal dan di akhir perlakuan, dapat dimungkinkan karena tingkat konsumsi pakan yang berbeda antar individu di masing-masing kelompok perlakuan. Penelitian yang dilakukan oleh Lee *et al.* (2009) menyebutkan bahwa konsumsi kronis bawang putih dan bawang hitam dengan dosis 5% terhadap mencit tidak menunjukkan perbedaan nyata terhadap berat badan dan konsumsi pakan. Penelitian yang dilakukan oleh Lestari & Rifai (2019) menyebutkan bahwa tidak ada perbedaan terhadap berat badan mencit pada awal dan akhir percobaan terhadap semua kelompok.

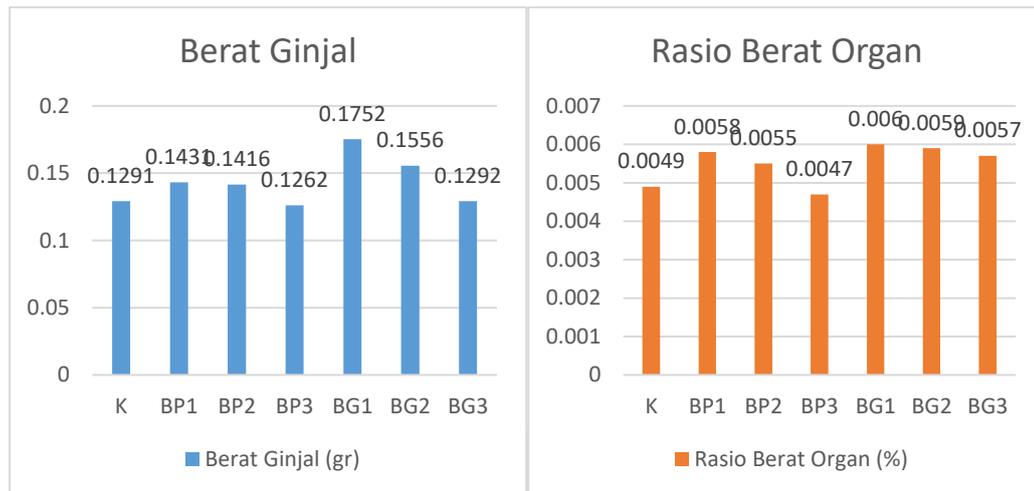
Selain terhadap berat badan, hasil pemberian ekstrak bawang putih dan bawang hitam juga dilakukan pengukuran terhadap berat organ ginjal mencit. Hasil penelitian menunjukkan bahwa berat organ ginjal mencit yang diberi perlakuan ekstrak bawang hitam mengalami kenaikan pada seluruh kelompok perlakuan yaitu BG1, BG2, dan BG3. Pada perlakuan ekstrak bawang putih, berat organ ginjal mengalami kenaikan pada kelompok perlakuan BP1 dan BP2, berat stabil organ pada kelompok perlakuan BP3. Berdasarkan berat organ tersebut, dapat diketahui pula berat rasio organ. Berat rasio organ adalah perbandingan berat organ dengan berat badan hewan uji.

Tabel 4.10 Berat Badan, Berat Ginjal, dan Rasio Berat Ginjal Mencit

No.	Perlakuan	Berat Badan (gr)		Berat Ginjal (gr)	Rasio Berat Organ
		Awal	Akhir		
1.	K	26,6	26	0,1291	0,0049
2.	BP1	23	24,3	0,1431	0,0058
3.	BP2	24	25,6	0,1416	0,0055
4.	BP3	24,6	26,3	0,1262	0,0047
5.	BG1	26,6	29	0,1752	0,0060
6.	BG2	26,3	26	0,1556	0,0059
7.	BG3	23,3	22,3	0,1292	0,0057

K= kontrol, BP1= bawang putih dosis 100 mg/Kg BB, BP2= bawang putih dosis 300 mg/Kg BB, BP3= bawang putih dosis 1000 mg/Kg BB, BG1= bawang hitam dosis 100 mg/Kg BB, BG2= bawang hitam dosis 300 mg/Kg BB, BG3= bawang hitam dosis 1000 mg/Kg BB

Pada kelompok kontrol, diketahui rata-rata berat ginjal sebesar 0,1291 gr dengan rasio berat organ 0,0049 mg. Berat ginjal mencit betina normal menurut data The Jackson Laboratory (2007) adalah 0,120 gram atau 0,61% dari berat badannya sehingga berat ginjal pada kelompok kontrol penelitian ini berada pada berat normal ginjal mencit betina. Pada kelompok BP1 diketahui rata-rata berat ginjal 0,1431 gr dan rasio berat organ 0,0058 mg. Pada kelompok BP2 rata-rata berat ginjal 0,1416 gr dan rasio berat organ 0,0055 mg. Pada kelompok BP3 rata-rata berat ginjal 0,1262 gr dan rasio berat organ 0,0047 mg. Pada kelompok BG1 rata-rata berat ginjal 0,1752 dan rasio berat organ 0,0060 mg. Pada kelompok BG2 rata-rata berat ginjal 0,1556 gr dan rasio berat organ 0,0059. Pada kelompok BG3 rata-rata berat ginjal 0,1292 dan rasio berat organ 0,0057 mg. Berdasarkan pemaparan Ruhela *et al.* (2008) dalam Aliah (2017) peningkatan ukuran organ ginjal mencit dapat disebabkan oleh perubahan degeneratif pada tubulus, pembesaran glomerulus, dan pembesaran kapsula bowman. Data rasio berat organ yang diperoleh juga disajikan dalam bentuk diagram batang pada Gambar 4.12.



Gambar 4.12 (a) Berat Ginjal Mencit, (b) Rasio Berat Organ

K= kontrol, BP1= bawang putih dosis 100 mg/Kg BB, BP2= bawang putih dosis 300 mg/Kg BB, BP3= bawang putih dosis 1000 mg/Kg BB, BG1= bawang hitam dosis 100 mg/Kg BB, BG2= bawang hitam dosis 300 mg/Kg BB, BG3= bawang hitam dosis 1000 mg/Kg BB

Berdasarkan grafik pada gambar 4.12 dapat terlihat bahwa fluktuasi antara berat ginjal dengan rasio berat organ ginjal mencit menunjukkan grafik yang linier. Berat organ ginjal mencit dilanjutkan pengujian menggunakan *Two Way Anova* untuk mengetahui perbedaan hasil yang ditimbulkan akibat pemberian ekstrak bawang putih dan ekstrak bawang hitam berbagai dosis. Hasil pengujian tersebut dapat disajikan pada tabel 4.11 berikut.

Tabel 4.11 Hasil Uji *Two Way Anova* terhadap Berat Organ Ginjal Mencit Betina

Variabel	Sig.
Dosis	0.027
Ekstrak	0.005
Dosis*Ekstrak	0.230

Berdasarkan Tabel 4.11 dapat diketahui bahwa penggunaan ekstrak bawang putih dan ekstrak bawang hitam dengan dosis beragam menunjukkan pengaruh terhadap berat organ ginjal mencit betina. Hal tersebut ditunjukkan dengan nilai sig. <0,05 pada variabel dosis dan variabel ekstrak sehingga perlu dilakukan uji lanjut untuk mengetahuinya. Untuk

mengetahui pengaruh dosis maka dilanjutkan dengan uji *Post Hoc* dan didapatkan hasil pada Tabel 4.12. Untuk mengetahui pengaruh ekstrak maka dilanjutkan dengan uji T Tidak Berpasangan dan didapatkan kesimpulan bahwa pemberian perbedaan jenis ekstrak berpengaruh terhadap berat organ ginjal mencit betina tetapi tidak menunjukkan perbedaan nyata antara keduanya yang ditandai dengan nilai Sig.(2-Tailed) $>0,05$ yang ditunjukkan pada Tabel 4.13.

Tabel 4.12 Hasil Uji *Post Hoc* terhadap Berat Organ Ginjal Mencit Betina

Dosis	Rata-rata	Simbol
Kontrol	0,12916	a
100 mg/kg BB	0,15915	ab
300 mg/kg BB	0,14863	ab
1000 mg/kg BB	0,12773	b

Tabel 4.13 Hasil Uji T Tidak Berpasangan terhadap Berat Organ Ginjal Mencit Betina

Independent Samples Test									
	Levene's Test for Equality of Variances		t-test for Equality of Means						
	F	Sig.	t	df	Sig. (2-tailed)	Mean Difference	Std. Error Difference	95% Confidence Interval of the Difference	
								Lower	Upper
Berat Organ Ginjal Mencit	2.410	.140	1.817	16	.088	.0163667	.0090051	-.0027233	.0354566
Equal variances assumed			1.817	14.006	.091	.0163667	.0090051	-.0029466	.0356799
Equal variances not assumed									

Keterangan: .088 : Nilai sig.(2-tailed) $>0,05$ maka tidak ada hasil yang berbeda nyata antara kedua jenis ekstrak terhadap berat ginjal mencit betina

Penelitian yang dilakukan oleh Aritonang *et al.* (2018) dengan pemberian infusum seledri (*Apium graveolens*) menunjukkan pengaruh terhadap perbaikan fungsi ginjal seiring dengan peningkatan dosis yang dibuktikan dengan rasio berat ginjal dan berat badan yang lebih kecil jika dibandingkan dengan kelompok kontrol. Namun pada hasil penelitian ini, hasil perhitungan rasio berat ginjal kelompok perlakuan tidak menunjukkan angka yang lebih kecil dari kelompok kontrol selain perlakuan BP3 yaitu yang diberikan ekstrak etanol bawang putih dosis 1000 mg/kg BB. Hasil tersebut linier dan dapat digunakan untuk melengkapi hasil penelitian yang dilakukan oleh Purnomo *et al.* (2021) yang menyebutkan bahwa pemberian bawang hitam tidak berpengaruh pada berat organ hati dan jantung. Menurut Hermana (2008) dalam Mboro *et al.* (2018) kenaikan rasio ginjal disebabkan oleh adanya daya regenerasi dari ginjal. Grimu (2011) menegaskan bahwa ginjal merupakan jalur utama ekskresi toksikan dalam bentuk hasil urin, dengan volume aliran darah yang tinggi dan membawa toksikan melalui sel tubulus. Oleh sebab itu, terjadi pula peningkatan pada berat ginjal karena bawang putih dan bawang hitam memiliki senyawa saponin yang berfungsi untuk melindungi jaringan tubuh melalui proses oksidasi dan merangsang kerja ginjal menjadi lebih aktif.

BAB V

PENUTUP

5.1. Kesimpulan

- a. Uji toksisitas ekstrak etanol bawang putih dan bawang hitam berbagai konsentrasi terhadap histologi ginjal mencit betina menunjukkan hasil yang berbeda signifikan ($<0,05$). Hal tersebut ditunjukkan dengan hasil kerusakan sel paling banyak terdapat pada perlakuan dengan pemberian ekstrak etanol bawang putih dan bawang hitam pada dosis 1000 mg/kg BB masing-masing sebesar 43% sel dan 34% kerusakan sel. Jika dibandingkan antara kedua jenis ekstrak, maka diketahui bahwa ekstrak etanol bawang putih memiliki tingkat toksisitas yang lebih tinggi daripada bawang hitam.
- b. Pada penelitian ini belum ditemukan dosis aman penggunaan ekstrak etanol bawang putih dan bawang hitam secara oral selama 28 hari yang dibuktikan dengan masing-masing tingkat kerusakan masih tergolong dalam kategori kerusakan sedang (30%-50% kerusakan).

5.2. Saran

- a. Penelitian dengan topik yang sama dapat dilakukan untuk menghindari hasil yang subjektif dengan lebih memperhatikan penggunaan bahan dalam penelitian
- b. Penelitian dengan rentang variasi dosis lebih luas perlu dilakukan untuk mengetahui hasil kerusakan sel dengan kategori ringan.
- c. Pengujian toksisitas kronik dapat dilakukan untuk mengetahui perbedaan hasil kerusakan sel akibat paparan dalam jangka waktu panjang.

DAFTAR PUSTAKA

- Aisyah, S. J. 2020. Identifikasi efek protektif bawang putih berupa antioksidan terhadap radikal bebas. *Jurnal Ilmiah Kesehatan Sandi Husada*, 9(2): 1051-1056.
- Agnes Y. Taek, N. A. N., C. A. G. (2020). Gambaran Histologi Tikus. *Jurnal Veteriner Nusantara*, 3(2), 91.
- Agustina, E., Andiarna, F., & Hidayati, I. 2020. Uji aktivitas antioksidan ekstrak bawang hitam (*black garlic*) dengan variasi lama pemanasan. *Al-Kauniyah: Jurnal Biologi*, 13(1): 39-50.
- Ahmed, T., & Wang, C. K. (2021). Black garlic and its bioactive compounds on human health diseases: A review. *Molecules*, 26(16).
- Alare, K. & Alare, T. 2020. Review of toxicity of allicin from garlic. *Open Access Journal of Toxicology*, 4(5): 132-133.
- Al-Radadi, N. S. (2018). Artichoke (*Cynara scolymus* L.,) mediated rapid analysis of silver nanoparticles and their utilisation on the cancer cell treatments. *Journal of Computational and Theoretical Nanoscience*, 15(6-7), 1818-1829.
- Al gasyiya, N. W. (2018). Pengaruh Lama Fermentasi Beberapa Komponen Mutu Solo Black Garlic dari Bawang Putih varietas Lumbu Hijau. *Skripsi*.
- Alaqad, K., & Saleh, T. A. (2016). Gold and Silver Nanoparticles: Synthesis Methods, Characterization Routes and Applications towards Drugs. *Journal of Environmental & Analytical Toxicology*, 6(4)
- Albrakati, A. (2021). Aged garlic extract rescues ethephon-induced kidney damage by modulating oxidative stress, apoptosis, inflammation, and histopathological changes in rats. *Environmental Science and Pollution Research*, 28(6), 6818- 6829.

- Alisjahbana, S., Hendratno, S., & Naldi, Y. (2015). Pengaruh Senyawa Allicin dalam Ekstrak Bawang Putih terhadap Perkembangbiakan Bakteri *Escherichia Coli*. *Tunas Medika Jurnal Kedokteran & Kesehatan*, 2(1), 24–30.
- Amagase, H, Petesch BL, Matsuura H, Kasuga S, Itakura Y. 2001. Intake of garlic and its bioactive components. *Journal of Nutrition*, 131(3): 955–962.
- Ambarwati, N. S. S., Hanani, E., Azizahwati, & Mahayasih, P. G. M. W. 2020. Pengaruh pemberian kombinasi ekstrak *Acalypha indica* Linn dan *Peperomia pellucida* [L.] H.B.K. terhadap fungsi ginjal tikus putih. *Jurnal Sains dan Kesehatan*, 2(3): 159-165.
- Ansary, A. K. E., Kotb, M., Rizk, M. Z., & Siddiqi, N. J. 2014. Prooxidant mechanisms in toxicology. *BioMed Research International*, 2014: 1-2.
- Apsari, K., & Chaerunisa, A. Y. (2020). Review Jurnal: Upaya Peningkatan Kelarutan Obat. *Farmaka*, 18(2), 56–68.
- Aritonang, E. A., Sjarfjanto, A., & Solfaire, R. 2018. Gambaran makroskopis ginjal mencit (*Mus musculus*) jantan model urolithiasis dengan pemberian infusu seledri (*Apium graveolens*). *Seminar Nasional Cendekiawan ke 4 Buku 1: Teknik, Kedokteran Hewan, Kesehatan, Lingkungan, dan Lanskap*: 231-236.
- Arsad, S. S., N. M. Esa, & H. Hamzah. 2016. Histopathologic changes in liver and kidney tissues from male SpragueDawley rats treated with raphidophora decursiva (Roxb.) Schott extract. *Journal Cytol Histol*, S4: 001. Doi: 10.4172/2157-7099.S4-001.
- Asaad, S., & Aljumaily, A. (2021). *effects of crocin against doxorubicin-induced myocardial toxicity in rats*.
- Atale, N., Saxena, S., Nirmala, J. G., Narendhirakannan, R., Mohanty, S., & Rani, V. (2017). Synthesis and Characterization of *Syzygium cumini*

Nanoparticles for Its Protective Potential in High Glucose-Induced Cardiac Stress: a Green Approach. *Applied Biochemistry and Biotechnology*, 181(3), 1140–1154.

Atun, S., Aznam, N., Arianingrum, R., Senam, Devi, Y., & Melasari, R. (2021). Characterization and Biological Activity Test of Garlic and Its Fermentation as Antioxidant, Analgesic, and Anticancer. *Proceedings of the 7th International Conference on Research, Implementation, and Education of Mathematics and Sciences (ICRIEMS 2020)*, 528(Icriems 2020), 159–165.

Avula, P. R., Asdaq, S. M., & Asad, M. 2014. Effect of aged garlic extract and s-allyl cysteine and their interaction with atenolol during isoproterenol induced myocardial toxicity in rats. *Indian Journal of Pharmacology*, 46(1): 94-99.

Azhar, S. F., Y, K. M., & Kodir, R. A. (2021). Pengaruh Waktu Aging dan Metode Ekstraksi terhadap Aktivitas Antioksidan Black Garlic yang Dibandingkan dengan Bawang Putih (*Allium sativum* L.). *Jurnal Riset Farmasi*, 1(1), 16–23.

Azizah, Z., Yani, P., & Yetti, R. D. 2020. Antioxidant activity ethanol extract of garlic (*Allium sativum* L.) and black garlic. *International Journal of Research and Review*, 7(9): 94-103.

Badiah, H. I., Seede, F., Supriyanto, G., & Zaidan, A. H. (2019). Synthesis of Silver Nanoparticles and the Development in Analysis Method. *IOP Conference Series: Earth and Environmental Science*, 217(1).

Badshah, S. L., Faisal, S., Muhammad, A., Poulson, B. G., Emwas, A. H., & Jaremko, M. (2021). Antiviral activities of flavonoids. *Biomedicine and Pharmacotherapy*, 140.

Beyene, H. D., Werkneh, A. A., Bezabh, H. K., & Ambaye, T. G. (2017). Synthesis paradigm and applications of silver nanoparticles (AgNPs), a review. *Sustainable Materials and Technologies*, 13, 18–23.

- Borlinghaus, J., Foerster, J., Kappler, U., Antelmann, H., Noll, U., Gruhlke, M. C. H., & Slusarenko, A. J. 2021. Allicin, the odor of freshly crushed garlic: a review of recent progress in understanding allicin's effects on cells. *Molecules*, 26(6).
- Budiyanto, A. 2015. *Potensi Antioksidan, Inhibitor Tironase, dan Nilai Toksisitas dari Beberapa Spesies Tanaman Mangrove di Indonesia*. Bogor: Institute Pertanian Bogor.
- Burmana, F. (2015). Efek Allicin Pada Bawang Putih Sebagai Usaha Dalam Mencegah Diabetik Nefropati. *J Majority* , 4(6), 20–26.
- Chairunnisa, O. P. (2019). Efek Bawang Putih (*Allium Sativum* L) Sebagai Pengobatan Penyakit Jantung Koroner. *Jurnal Ilmiah Kesehatan Sandi Husada*, 10(2), 250–254.
- Devatha, C. P., & Thalla, A. K. (2018). Green Synthesis of Nanomaterials. In *Synthesis of Inorganic Nanomaterials: Advances and Key Technologies*.
- Dewantisari, W. F., Rumiyantri, L., & Rakhmawati, I. 2018. Rendemen dan skrining fitokimia pada ekstrak daun *Sansevieria* sp. *Jurnal Penelitian Pertanian Terapan*., 17(3): 197-202.
- Dewi, G. A. M. L., Margiani, N. N., & Ayusta, I. M. D. (2019). Rerata ukuran ginjal dewasa normal dengan computed tomography di RSUP sanglah tahun 2017. *Jurnal Medika Udayana*, 8(11), 1–6. Retrieved
- Ekstrak, E., Ashitaba, D., Histologi, G., Mencit, G., Of, F., & Mice, M. (2012). Efek Ekstrak Daun Ashitaba (*Angelica keiskei*) Terhadap Gambaran Histologi Ginjal Mencit (*Mus musculus*) Jantan. *Buletin Veteriner Udayana*, 4(2), 55–62.
- Eghbaliferiz, S., & Iranshahi, M. 2016. Prooxidant Activity of Polyphenols, Flavonoids, Anthocyanins and Carotenoids: Updated Review of

Mechanisms and Catalyzing Metals. *Phytotherapy Research*, 30(9), 1379–1391.

- Fatirah, N., Gama, S. I., & Rusli, R. 2019. Pengujian toksisitas produk herbal secara in vivo. *Proceeding of the 9th Mulawarman Pharmaceutical Conference*.
- Fahriansyah, F., Isdadiyanto, S., Mardiyati, S. M., & Sitasiwi, A. J. 2021. Gambaran histologi ren tikus putih (*Rattus norvegicus* L.) hiperglikemia setelah pemberian ekstrak etanol daun mimba (*Azadirachta indica* A. Juss). *Buletin Anatomi dan Fisiologi*, 6(2): 193-202.
- Febrianti, N., Setiawan, H., & Krestianto, R. (2020). The Protective Effect of Tropical Fruit Juice on Histopathological of Kidney Wistar Rats After Exposed Cigarette Smoke. *Ahmad Dahlan Medical Journal*, 1(2), 18–32.
- García-Villalón, A. L., Amor, S., Monge, L., Fernández, N., Prodanov, M., Muñoz, M., ... Granado, M. (2016). In vitro studies of an aged black garlic extract enriched in S-allylcysteine and polyphenols with cardioprotective effects. *Journal of Functional Foods*, 27, 189–200.
- Gosal, L., Hutomo, S., & Sooi, C. M. (2021). Garlic (*Allium sativum* L.) Ethanolic Extract Capability to Inhibit *Pseudomonas aeruginosa* Biofilm Formation. *Journal of Medicine and Health*, 3(1), 1–8.
- Gonzalez, A. L. C., Santana, R. A., Islas, C. A., S., Cardenas, M. E. C., Santamaria, A., & Malonadi, P. D. 2012. The antioxidant mechanisms underlying the aged garlic extract and S-allylcysteine-induced protection. *Oxidative Medicine and Cellular Longevity*, 2012: 906162.
- Gruhlke, M. C. H., Nicco, C., Batteux, F., & Slusarenko, A. J. 2017. The effects of allicin, a reactive sulfur species from garlic, on a selection of mammalian cell lines. *Antioxidants*, 6(1), 1-16.

- Ha, A. W., Ying, T., & Kim, W. K. 2015. The effects of black garlic (*Allium sativum*) extracts on lipid metabolism in rats fed a high fat diet. *Nutrition Research and Practice*, 9(1): 30-36.
- Hadist Riwayat Bukhari dari Abu Hurairah No. 5246.
- Hadist Riwayat Muslim dari Jabir No. 4084.
- Handayani, S., Najib, A., & Wati, N. P. (2018). Uji Aktivitas Antioksidan Ekstrak Daun Daruju (*Acanthus ilicifolius* L.) Dengan Metode Peredaman Radikal Bebas 1,1-Diphenyl-2-picrylhydrazil (DPPH). *Jurnal Fitofarmaka Indonesia*, 5(2), 299–308.
- HERNAWAN, U. E., & SETYAWAN, A. D. (2003). REVIEW: Organosulphure compound of garlic (*Allium sativum* L.) and its biological activities. *Biofarmasi Journal of Natural Product Biochemistry*, 1(2), 65–76.
- Iskandar, Y., Halimah, E., & Rumaseuw, E. S. (2018). Review: Pemberian Ekstrak Bawang Putih (*Allium Sativum*) Pada Proses Pemanasan Terhadap Penurunan Kadar Ldl Dan Hdl Pada Tikus Putih Jantan Galur Wistar. *Jurnal Kesehatan*, 9(1), 70–76.
- Jannah, D. R., & Budijastuti, W. 2022. Gambaran histologi toksisitas ginjal tikus jantan (*Rattus norvegicus*) yang diberi sirup umbi yakon (*Smallanthus sonchifolius*). *LenteraBio*, 11(2): 238-246.
- Jang, H. J., Lee, H. J., Yoon, D. K., Ji, D. S., Kim, J. H., & Lee, C. H. 2018. Antioxidant and antimicrobial activities of fresh garlic and aged garlic by-products extracted with different solvents. *Food Science and Biotechnology*, 27(1): 219-225.
- Jefferson, J. A., Shakland, S. J., & Pichler, R. H. 2008. Proteinuria in diabetic kidney disease: a mechanistic viewpoint. *International Society of Nephrology*, 74: 22-36.

- Jing, H. 2020. Black garlic: processing, composition change, and bioactivity. *eFood InPress*, 1(3): 1-5.
- Juan, G., Zoog, S. J., & Ferbas, J. 2011. Leveraging image cytometry for the development of clinically feasible biomarkers: evaluation of activated caspase-3 in fine needle aspirate biopsies. *Recent Advances in Cytometry, Part A-Instrumentation, Methods*, 309-320. doi: 10.1016/b978-0-12-374912-3.00012-2.
- Kamu, V. S., Abidjulu, J., & Kumaunang, M. 2012. Analisis in-silico protein tiol-disulfida isomerase *Bacillus* sp. RP1. *Jurnal Ilmiah Sains*, 12(1): 43-46.
- Kavitha, K. S., Baker, S., Rakshith, D., Kavitha, H. U., C, Y. R. H., Harini, B. P., & Satish, S. (2013). *Plants as Green Source towards Synthesis of Nanoparticles*. 2(6), 66–76.
- Khanmohamadi, S. A. (2014). In light of another's word: European ethnography in the middle ages. *In Light of Another's Word: European Ethnography in the Middle Ages*, 2, 1–211
- Kertanegara, F. M. 2015. *Efek Pemberian Ekstrak Nigella sativa terhadap Gambaran Histologik Ginjal Tikus Diabetes Melitus yang Telah Diinduksi Streptozotocin*. Jakarta: Fakultas Kedokteran dan Ilmu Kesehatan Universitas Islam Negeri Syarif Hidayatullah Jakarta.
- Kim, K. J., Kim, S. H., Shin, M. R., Kim, Y. J. Park, H. J., & Roh, S. S. 2019. Protective effect of s-allyl cysteine-enriched black garlic on reflux esophagitis in rats via NF-kB signaling pathway. *Journal of Functional Foods*, 58: 199-206.
- Kimura, S., Tung, Y. C., Pan, M. H., Su, N. W., Lai, Y. J., & Cheng, K. C. (2017). Black garlic: A critical review of its production, bioactivity, and application. *Journal of Food and Drug Analysis*, 25(1), 62–70.
- Kurniawidjaja, L. M., Lestari, F., Tejamaya, M., & Ramdhan, D. H. (2021). Konsep Dasar Toksikologi Industri. In *Fkm Ui*.

- Loyal, K. 2016. Peran Nrf2 dalam patogenesis stress oksidatif dan inflasi pada penyakit ginjal kronik. *Syifa 'MEDIKA*, 7(1): 16-24.
- Lee, Y. M., Gweon, O. C., Seo, Y. J., Im, J., Kang, M. J., Kim, M. J., & Kim, J.I. 2009. Antioxidant effect of garlic and aged black garlic in animal model of type 2 diabetes mellitus. *Nutrition Research and Practice*, 3(2): 156-161.
- Lee, T. W., Bae, E., Kim, J. H., Jang, H. N., Cho, H. S., Chang, S. H., & Park, D. J. (2019). The aqueous extract of aged black garlic ameliorates colistin-induced acute kidney injury in rats. *Renal Failure*, 41(1), 24–33.
- Lisiswanti, R., & Haryanto, F. P. (2017). Allicin pada Bawang Putih (*Allium sativum*) sebagai Terapi Alternatif Diabetes Melitus Tipe 2. *Jurnal Majority*, 6(2), 31–36.
- Liu, J., Zhang, G., Cong, X., & Wen, C. (2018). Black garlic improves heart function in patients with coronary heart disease by improving circulating antioxidant levels. *Frontiers in Physiology*, 9(NOV), 1–11.
- M. Hasibuan, V., Riza, H., Fajriaty, I., Prananda, Y., & Nasrullah. (2016). Pengaruh Pemberian Ekstrak Etanol Daun Simpup (*Dillenia Indica* L.) Terhadap Indeks Organ Limpa, Paru-Paru Dan Ginjal Pada Tikus Putih (*Rattus Norvegicus* L.) Galur Wistar. *Jurnal Mahasiswa Farmasi Fakultas Kedokteran UNTAN*, 3(1), 1–12.
- Mayori, R., Marusin, N., & Tjong, D. H. 2013. Pengaruh pemberian Rhodamin B terhadap struktur histologis ginjal mencit putih (*Mus musculus* L.). *Jurnal Biologi Universitas Andalas*, 2(1)

- McMahon, A. P. (2016). Development of the Mammalian Kidney. In *Current Topics in Developmental Biology* (1st ed., Vol. 117).
<https://doi.org/10.1016/bs.ctdb.2015.10.010>
- Metan, M. E., Ruminansia, T., & Hidayah, N. (2016). Pemanfaatan Senyawa Metabolit Sekunder Tanaman (Tanin dan Saponin) dalam Utilization of Plant Secondary Metabolites Compounds (Tannin and Saponin) to Reduce Methane Emissions from Ruminant Livestock. *Jurnal Sain Peternakan Indonesia*, 11(2),89–98.
- More, B. (2016). Overview of Medicine- Its Importance and Impact. *DJ International Journal Medical Research*, 1(1), 1–8.
- Moriyama, H., Hosoe, T., Wakana, D., Itabashi, T., Kawai, K. I., Iizuka, T., ... Lau, F. C. (2009). Assay-guided informatory screening method for antiplatelet effect of adenosine isolated from *Malbranchea filamentosa* IFM 41300: Inhibitory behaviors of adenosine in different solvents. *Journal of Health Science*, 55(1), 103–108.
- Moulia, M. N., Syarief, R., Iriani, E. S., Kusumaningrum, H. D., & Suyatma, N. E. (2018). Antimicrobial of Garlic Extract. *Jurnal Pangan*, 27(1), 55–66.
- Nasr, A. Y., & Saleh, H. A. M. (2014). Aged garlic extract protects against oxidativestress and renal changes in cisplatin-treated adult male rats. *Cancer Cell International*, 14(1), 1–12.
- Muhsi, A. M. A., Samsuri, Setiasi, N. L. E., & Berata, I. K. 2020. Kerusakan secara histologi otot jantung tikus putih akibat pemberian

tambahan ragi tape dalam pakan. *Indonesia Medicus Veterinus*, 9(6): 920-929.

- Nisa', L. C. 2012. Uji toksisitas subkronik polisakarida krestin dari ekstrak *Coriolus versicolor* terhadap histologi ginjal dan kadar kreatinin serum *Mus musculus*. *SKRIPSI*. Fakultas Sains dan Teknologi Universitas Airlangga, Surabaya.
- Nuningtyas, Y. F. 2014. Pengaruh penambahan tepung bawang putih (*Allium sativum*) sebagai aditif terhadap penampilan produksi ayam pedaging. *J. Ternak Tropika*, 15(1): 21-30.
- Nurhayati, T. D., Ariyanti, & Nurjanah. 2009. Kajian awal potensi ekstrak spons sebagai antioksidan. *Jurnal Kelautan Nasional*, 2(2): 43-51.
- O'Donovan, B., Rodgers, R. M., Cox, A. R., & Krska, J. (2019). 'You feel like you haven't got any control': A qualitative study of side effects from medicines. *Journal of Patient Safety and Risk Management*, 24(1), 13–24.
- Oktaviandari, P. R., Sudira, I. W., & Berata, I. K. (2020). Infiltrasi Sel-sel Radang pada Histologi Usus Halus Ayam Kampung yang Diberikan Jamu Daun Ashitaba dan Divaksinasi Tetelo. *Indonesia Medicus Veterinus*, 9(5), 716–726
- Onfrio, V. D., Gesuele, R., Mainone, A., Liguori, G., Liguori, R., Guida, M., Nigro, R., & Galdiero, E. 2019. Prevention of *Pseudomonas aeruginosa* biofilm formation on soft contact lenses by *Allium sativum* fermented extract (BGE) and cannabiol oil extract (CBD). *Antibiotics*, 8(4): 258.
- Prabowo, W. L. (2021). Teori Tentang Pengetahuan Peresepan Obat. *Jurnal MedikaHutama*, 02(04), 402–406.
- Pratiwi, R., Saputri, F. A., & Nuwarda, R. F. (2018). Tingkat Pengetahuan Dan Penggunaan Obat Tradisional Di Masyarakat: Studi Pendahuluan

Pada Masyarakat Di Desa Hegarmanah, Jatinangor, Sumedang.
Dharmakarya, 7(2),97–100

- Prastiwi, R., Siska, & Marlita, N. 2017. Parameter fisikokimia dan analisis kadar *Allyl Disulfide* dalam ekstrak etanol 70% bawang putih (*Allium sativum* L.) dengan perbandingan daerah tempat tumbuh parameter. *Pharmaceutical Sciences and Research*, 4(1): 32-47.
- Pritacindy, A. P., Supriyadi S., & Kurniawan, A. 2017. Uji efektifitas ekstrak bawang putih (*Allium sativum*). *ODONTO: Dental Journal*, 4(2): 122.
- Putra, I. P. W. J., Sartika, N. A., Winaya, I. B. O., & Adi, A. A. A. M. (2019). Perubahan Histologi Otot Jantung dan Aorta Mencit Jantan Pascapaparan Asap Rokok Elektrik (HISTOPATOLOGY CHANGES IN AORTA AND MYOCARDIUM OF MALE MICE POST EXPOSURE TO ELECTRIC CIGARETTE SMOKE). *Perubahan Histologi Otot Jantung Dan Aorta Mencit Jantan Pascapaparan Asap Rokok Elektrik EXPOSURE TO ELECTRIC CIGARETTE SMOKE*), 8(4), 541–551.
- Putranti, W., Maulana, A., & Fatimah, S. F. (2019). Formulasi Emulgel Ekstrak Bawang Putih (*Allium sativum* L.). *Jurnal Sains Farmasi & Klinis*, 6(1), 7.
- Rahal, A., Kumar, A., Singh, V., Yadav, B./., Tiwari, R., Chakraborty, S., & Dhama, K. 2014. Oxidative stress, prooxidants, and antioxidants: the interplay. *BioMed Reasearch International*, 2014: 1-19.
- Rahmidar, L., Al Fatih, H., & Sulastri, A. (2020). Pemanfaatan Nanopartikel LogamMulia untuk Mengukur Kadar Logam Berat dalam Berbagai Sampel Cair. *PENDIPA Journal of Science Education*, 4(3), 70–74.

- Rajabiah, N. (2017). Surface Plasmon Resonance (SPR) Phenomenon of the Oxidizing and Reducing Polypyrrole. *Turbo : Jurnal Program Studi Teknik Mesin*, 5(2). <https://doi.org/10.24127/trb.v5i2.247>
- Ramadhana Joko; Fikri, Kamalia, I. R. W. (2018). Ekstrak Etanol Daun Alpukat (*Persea americana* Mill.) Sebagai Penurun Edema Glomerulus Dan Kerusakan Sel Ginjal Tikus Putih (*Rattus norvegicus*). *Saintifika*, 20(No 2 (2018)), 11–21.
- Razali, M. F. (2021). Penggunaan manusia sebagai relawandalam ujicoba obat baru:kajian alquran, hadis dan kaedah fiqih. *El-Ussrah: Jurnal Hukum Keluarga*,4(1), 6475
- Richards, D. W., Doherty, C. J., Doherty, L., Clarke, D. J., Place, M., Govan, J. R. W., & Campopiano, D. J. 2014. Garlic revisited: antimicrobial activity of allicin-containing garlic extracts against *Burkholderia cepacia* complex. *Plos One*, 9(12): 1-13.
- Rosyidah, U. & Mas'udah, L. 2022. Larangan berlebih-lebihan dalam Al-Qur'an. *JADID: Journal of Quranic Studies and Islamic Communication*, 2(1): 138-162.
- Rumaseuw, E. S., Farm, S., Iskandar, Y., Si, M., Halimah, E., Si, M., ... Barat, J. (2019). *Perbandingan uji keamananantara bawang putih lanang dan bawanghitam lanang*. 34–38.
- Rumaseuw, E. S., Iskandar, Y., Halimah, E., & Zuhrotun, A. 2021. Characterization and acute toxicity test of black garlic ethanol extract based on OECD. *Interest: Jurnal Ilmu Kesehatan*, 10(2): 215-224.
- Sa'adah, H. & Nurhasnawati, H. 2015. Perbandingan pelarut etanol dan air pada pembuatan ekstrak umbi bawang tiwai (*Eleutherine americana*

- Merr) menggunakan metode maserasi. *Jurnal Ilmiah Mnuntung*, 1(2): 149-153.
- Sachdeva, S., & Gupta, M. (2013). Adenosine and its receptors as therapeutic targets: An overview. *Saudi Pharmaceutical Journal*, 21(3), 245–253.
- Saifudin, A., Rahayu, & Teruna. 2011. *Standarisasi Bahan Obat Alam*. Yogyakarta: Graha Ilmu.
- Sari, N. K. M., Mastra, N., & Habibah, N. 2018. Gambaran kadar enzim kolinesterase dalam darah pada kelompok tani mekar nadi di Desa Batunya Kecamatan Baturiti. *Meditory*, 6(2): 108-115.
- Saryono, S., Sarmoko, S., Nani, D., Proverawati, A., & Taufik, A. 2022. Black solo garlic protects hepatic and renal cell function on streptozotocin-induced rats. *Frontiers in Nutrition*, 9: 962993
- Senduk, T. W., Montolalu, L. A. D. Y., & Dotulong, V. 2020. Rendemen ekstrak air rebusan daun tua mangrove *Sonneratia alba*. *Jurnal Perikanan dan Kelautan tropis*, 11(1): 9-15.
- Septiva, E. B., Sitasiwi, A. J., & Isdadiyanto, S. 2019. Struktur mikroanatomi ginjal mencit (*Mus musculus*) betina setelah paparan ekstrak etanol daun mimba (*Azadirachta indica* A. Juss). *Jurnal Pro-Life*, 6(2): 180-90.
- Setiasih, I. S., Hanidah, I.-I., Wira, D. W., Rialita, T., & Sumanti, D. M. (2016). Uji Toksisitas Kubis Bunga Diolah Minimal (KBDM) Hasil Ozonasi. *Jurnal Penelitian Pangan (Indonesian Journal of Food Research)*, 1(1), 22–26.
- Setiawan, A. A., Purnomo, F. A., Karlowee, V., & Wijayahadi, N. (2021). The Effect of Black Garlic (*Allium sativum* Linn) on Cardiac and Aortic Histopathology in Experimental Studies in Obesity Rats. *Journal*

of Biomedicine and Translational Research, 7(2), 62–68.

Simpson, B. K. (2012). Principles/Food analysis. In *Food Biochemistry and Food Processing*

Siregar, D. J. S. 2017. Pemanfaatan tepung bawang putih (*Allium sativum*) sebagai feedaditif pada pakan terhadap pertumbuhan ayam broiler. *Jurnal Ilmiah Abdi Ilmu*, 10(2): 1823-1828.

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. *SKRIPSI*. Universitas Islam Negeri Maulana Malik Ibrahim. Malang.

Solati, E., & Dorrnian, D. (2015). Comparison Between Silver and Gold Nanoparticles Prepared by Pulsed Laser Ablation in Distilled Water. *Journal of Cluster Science*, 26(3), 727–742.
<https://doi.org/10.1007/s10876-014-0732-2>

Solichin, A., Widyorini, N., Surya, D., & Wijayanto, M. (2013). Pengaruh Ekstrak Bawang Putih (*Allium sativum*) dengan Dosis yang Berbeda terhadap Lepasnya Suckers Kutu Ikan (*Argulus sp.*) pada Ikan Koi (*Cyprinus carpio*). *Journal of Management of Aquatic Resources*, 2(2), 46–53.

Sumayyah, S., & Nada, S. (2017). Obat tradisional : antara khasiat dan efek samping. *Majalah Farmasetika*, 2(5), 1–4.

Supriyanto, S., Sinon, B/. Rivai, M/. & Yunianta. 2017. Uji fitokimia dan aktivitas antioksidan ekstrak daun mimba (*Azadirachta indica* A. Juss). *Prosiding SNATIF*, 523-529.

- Susilorini, S., Indrayani, U. D., & Soffan, M. Pengaruh ekstrak *Allium sativum* terhadap diameter glomeruli ginjal tikus *Sprague Dawley* jantan yang diinduksi streptozotocin. *Sains Medika*, 5(1): 11-16.
- Syamsul, E. S., Anugerah, O., & Supriningrum, R. 2020. Penetapan rendemen ekstrak daun jambu mawar (*Syzygium jambos* L. Alston) berdasarkan variasi konsentrasi etanol dengan metode maserasi. *Jurnal Riset Kefarmasian Indonesia*, 2(3): 147-157.
- Terakasi, M. Brunson, J. C., & Sardi, J. 2020. Analysis of the three dimensional structure of the kidney glomerulus capillary network. *Scientific Report*, 10:20334.
- Torres, I. P., Narvaez, J. C. T., Chaverri, J. P., Ruiz, M. E. R., Diaz, E. D., Mondragon, L. D. V., Memije, R. M., Lopez, E. V., & Lans, V. G. 2016. Effect of the aged garlic extract on cardiovascular function on metabolic syndrome rats. *Molecules*, 21(11): 1425.
- Tran, G.-B., Pham, T.-V., & Trinh, N.-N. (2020). Black Garlic and Its Therapeutic Benefits. *Medicinal Plants - Use in Prevention and Treatment of Diseases*, 1–13.
- Wahyuni, F. S., Putri, I. N., & Arisanti, D. (2017). Uji Toksisitas Subkronis Fraksi Etil Asetat Kulit Buah Asam Kandis (*Garcinia cowa* Roxb.) terhadap Fungsi Hati dan Ginjal Mencit Putih Betina. *Jurnal Sains Farmasi & Klinis*, 3(2), 202.
- Wahyuningsih, S. P. A., Ma'unah, I., & Winarni, D. 2016. Toksisitas kronis polisakarida krestin dari ekstrak *Coriolus Versicolor* pada histologi ginjal dan kadar kreatinin serum *Mus musculus* L. *Prosiding Seminar Nasional from Basic Science to Comprehensive Education*, 4(2): 32-39.
- Wakhidah, L. & Anggarani, M. A. 2021. Analisis senyawa bioaktif dan aktivitas antioksidan ekstrak bawang putih (*Allium sativum* L.) Probolinggo. *UNESA Journal of Chemistry*, 10(3): 356-366.

- Wardani, G. T. 2012. Kajian histologis pengaruh vaksin *Streptococcus agalactiae* yang diradiasi pada organ hati dan ginjal mencit (*Mus musculus*). *SKRIPSI*. Fakultas Kedokteran Hewan Institut Pertanian Bogor.
- Wati, E. M., Puspaningtyas, A. R., & Pangaribowo, D. A. 2016. Uji sitotoksitas dan proliferasi senyawa 1-(4-nitrobenzoioksi-metil)-5-fluorourasil terhadap sel kanker payudara MCF-7. *E-Journal Pustaka Kesehatan*, 4(3): 484-488.
- Wibisono, Y., Izza, N., Savitri, D., Rosalia Dewi, S., & Wahyu Putranto, A. (2020). EKSTRAKSI SENYAWA FENOLIK DARI BAWANG PUTIH (*Allium sativum* L.) UNTUK AGEN ANTI-BIOFOULING PADA MEMBRAN. *Jurnal Ilmiah Rekayasa Pertanian Dan Biosistem*, 8(1), 100–109.
- Yuniarifin, H., Bintoro, V. P., Suwarastuti, A. 2006. Pengaruh berbagai konsentrasi asam fosfat pada proses perendaman tulang sapi terhadap rendemen, kadar abu, dan viskositas gelatin. *Journal Indon Trop Anim Agric*, 31(1): 55-61.

UIN SUNAN AMPEL
S U R A B A Y A