

SKRIPSI

PENGARUH PEMBERIAN EKSTRAK BIJI BLUSTRU
(*Luffa cylindrica* Roem) SEBAGAI OBAT ANTIFERTILITAS
TERHADAP HISTOPATOLOGIS HATI DAN GINJAL
MENCIT (*Mus musculus*) JANTAN



OLEH :

SRI SUHARTINI

TUBAN - JAWA TIMUR

FAKULTAS KEDOKTERAN HEWAN
UNIVERSITAS AIRLANGGA
S U R A B A Y A
1 9 9 8

**PENGARUH PEMBERIAN EKSTRAK BIJI BLUSTRU
(*Luffa cylindrica* Roem) SEBAGAI OBAT ANTIFERTILITAS
TERHADAP HISTOPATOLOGI HATI DAN GINJAL
MENCIT (*Mus musculus*) JANTAN**

**Skripsi sebagai salah satu syarat untuk memperoleh gelar
Sarjana Kedokteran Hewan
Pada
Fakultas Kedokteran Hewan Universitas Airlangga**

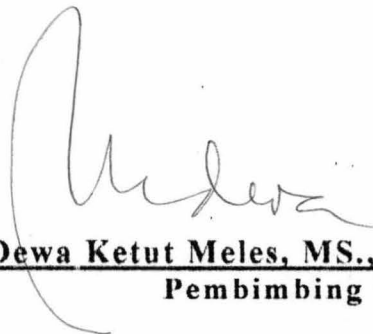
Oleh

**SRI SUHARTINI
NIM : 069312006**

**Menyetujui,
Komisi Pembimbing**



**Iwan Willyanto, MSc., Ph.D., drh
Pembimbing I**



**Dewa Ketut Meles, MS., drh
Pembimbing II**

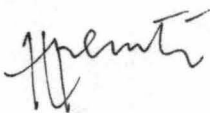
Setelah mempelajari dan menguji dengan sungguh-sungguh, kami berpendapat bahwa tulisan ini baik ruang lingkup maupun kualitasnya dapat digunakan sebagai skripsi untuk memperoleh gelar SARJANA KEDOKTERAN HEWAN.

Menyetujui

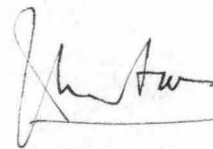
Panitia Penguji



Lianny Nangoi, M.Si., Drh.
Ketua



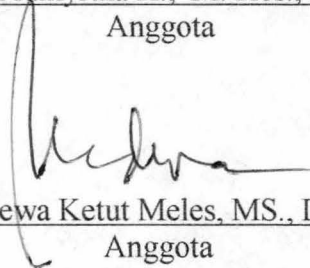
Hani Plumeriastuti, M. Kes., Drh.
Sekretaris



Eka Pramyrtha H., M. Kes., Drh.
Anggota



Iwan Willyanto, MSc., Ph. D, Drh.
Anggota



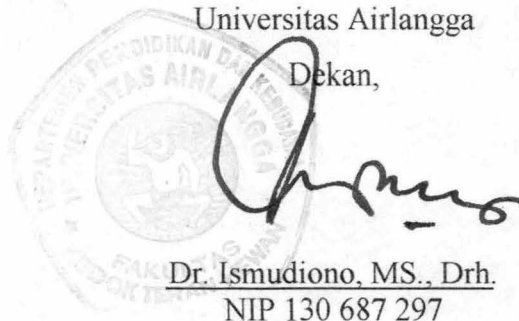
Dewa Ketut Meles, MS., Drh.
Anggota

Surabaya, 11 September 1998

Fakultas Kedokteran Hewan

Universitas Airlangga

Dekan,



Dr. Ismudiono, MS., Drh.
NIP 130 687 297

KATA PENGANTAR

Dengan memanjatkan puji syukur kehadirat Allah SWT yang telah memberikan kekuatan dan rahmatNya sehingga penulis telah dapat menyelesaikan makalah dengan judul: “ Pengaruh Pemberian Ekstrak Biji Blustru (*Luffa cylindrica* Roem) Sebagai Obat Antifertilitas Terhadap Histopatologis Hati dan Ginjal Mencit (*Mus musculus*) Jantan”.

Pada kesempatan ini penulis ingin menyampaikan ucapan terima kasih yang sebesar-besarnya kepada:

1. Bapak DR. Ismudiono, MS, drh selaku Dekan Fakultas Kedokteran Hewan.
2. Bapak Iwan Willyanto, M Sc., Ph D., drh. selaku pembimbing pertama dan Bapak Dewa Ketut Meles, MS., drh. selaku pembimbing kedua, atas saran dan bimbingannya dari awal penulisan sampai dengan selesainya penulisan makalah ini.
3. Dosen dan staf Laboratorium Patologi yang telah membantu dan memberi saran dalam penelitian ini.
4. Ayahanda dan Ibunda serta kakak dan adik yang tercinta.
5. Tidak lupa juga: Lily, Heny, Ita, Istar, Bambang serta rekan-rekan lainnya yang telah membantu dalam terselesaikannya makalah ini.

Akhirnya penulis masih menyadari bahwa makalah ini masih jauh dari kesempurnaan, maka penulis mengharapkan saran-saran untuk memperbaiki makalah ini. Walaupun demikian semoga hasil yang dituangkan dalam makalah ini bermanfaat bagi pengembangan ilmu pengetahuan.

Surabaya, Agustus 1998

Penulis

**PENGARUH PEMBERIAN EKSTRAK BIJI BLUSTRU
(*Luffa cylindrica* Roem) SEBAGAI OBAT ANTIFERTILITAS
TERHADAP HISTOPATOLOGIS HATI DAN GINJAL
MENCIT (*Mus musculus*) JANTAN**

Sri Suhartini

Abstrak

Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui pengaruh ekstrak biji Blustru (*Luffa cylindrica* Roem) yang diberikan secara oral, terhadap perubahan histopatologis pada hati dan ginjal mencit (*Mus musculus*) jantan.

Hewan percobaan yang digunakan sejumlah 24 ekor mencit jantan galur *Balance G* yang berumur 2,5-3 bulan dengan berat badan rata-rata 28 gram. Rancangan percobaan yang digunakan adalah rancangan acak lengkap (RAL) dengan empat perlakuan dan enam ulangan. Adapun empat perlakuan tersebut adalah pemberian aquadest sebagai kontrol, ekstrak biji Blustru dengan dosis 25 mg/kg berat badan (bb), dosis 50 mg/kg bb dan 100 mg/kg bb yang diberikan secara oral sekali sehari selama 35 hari. Pengambilan sampel dilakukan setelah 24 jam perlakuan terakhir. Data dianalisis menggunakan Analisis Statistik Non Parametrik Uji Kruskal Wallis yang dilanjutkan dengan Uji Z.

Hasil penelitian menunjukkan bahwa pemberian ekstrak biji Blustru secara oral pada dosis 25 mg/kg bb dan 50 mg/kg bb tidak berpengaruh nyata terhadap perubahan histopatologis hati dan ginjal, tetapi dosis 100 mg/kg bb atau lebih berpengaruh nyata ($p < 0,05$) terhadap perubahan histopatologis hati dan ginjal. Dari hasil penelitian ini dapat disimpulkan bahwa pemberian ekstrak biji Blustru secara oral pada dosis 100 mg/kg bb atau lebih, menimbulkan kerusakan pada hati dan ginjal mencit jantan.

DAFTAR ISI

	Halaman
DAFTAR TABEL.....	vi
DAFTAR GAMBAR.....	vii
DAFTAR LAMPIRAN.....	viii
BAB I : PENDAHULUAN.....	1
1.1. Latar Belakang Masalah.....	1
1.2. Perumusan Masalah.....	4
1.3. Landasan Teori.....	4
1.4. Tujuan Penelitian.....	5
1.5. Manfaat Penelitian.....	5
1.6. Hipotesa Penelitian.....	5
BAB II : TINJAUAN PUSTAKA.....	6
2.1. Tanaman <i>Luffa cylindrica</i> Roem.....	6
2.1.1. Klasifikasi.....	6
2.1.2. Nama Daerah.....	6
2.1.3. Penyebaran dan Tempat Tumbuh.....	7
2.1.4. Morfologi Tanaman.....	7
2.1.5. Kandungan Tanaman.....	8
2.1.5.1. Triterpenoid dan steroid.....	8
2.1.5.2. Sapogenin steroid.....	9
2.1.6. Kegunaan Tanaman.....	10
2.2. Tinjauan tentang Hati dan Ginjal.....	10
2.2.1. Hati.....	10
2.2.2. Ginjal.....	13
BAB III: MATERI DAN METODE.....	16
3.1. Tempat dan Waktu Penelitian.....	16
3.2. Materi Penelitian.....	16
3.2.1. Hewan Percobaan.....	16

3.2.2. Alat Penelitian.....	16
3.2.3. Bahan Penelitian.....	17
3.3. Metode Penelitian	17
3.3.1. Persiapan pada Mencit.....	17
3.3.2. Dosis Ekstrak	17
3.3.3. Perlakuan pada Hewan Percobaan.....	18
3.3.4. Pengambilan Sampel	19
3.3.5. Pemeriksaan Sampel.....	19
3.3.5.1. Pemeriksaan Histopatologi Hati.....	19
3.3.5.2. Pemeriksaan Histopatologi Ginjal.....	20
3.4. Rancangan Penelitian	21
3.5. Analisis Data.....	21
BAB IV: HASIL PENELITIAN.....	22
4.1. Secara Makroskopis	22
4.2. Secara Mikroskopis.....	22
4.3. Gambar Hasil Penelitian.....	25
BAB V : PEMBAHASAN.....	29
5.1. Kerusakan pada Hati	29
5.2. Kerusakan pada Ginjal.....	33
BAB VI : KESIMPULAN DAN SARAN	35
RINGKASAN	36
DAFTAR PUSTAKA	38
LAMPIRAN.....	43

DAFTAR TABEL

Nomor	Halaman
1. Nilai Skor Rata-rata dan Simpangan Baku Perubahan Histopatologis Hati pada Perlakuan Pemberian Ekstrak Biji Blustru	24
2. Nilai Skor Rata-rata dan Simpangan Baku Perubahan Histopatologis Ginjal pada Perlakuan Pemberian Ekstrak Biji Blustru	24
3. Perbandingan Luas Permukaan Antar Manusia dan Spesies Hewan Laboratorium	45

DAFTAR GAMBAR

Nomor	Halaman
1. Tanaman Blustru.....	15
2. Organ Hati yang Tidak Mengalami Kerusakan Sebagai Kontrol.....	25
3. Organ Hati yang Mengalami Kongesti, Degenerasi Keruh.....	25
4. Organ Hati yang Mengalami Degenerasi Hidrofik, Perdarahan Sinusoid.....	26
5. Organ Hati yang Mengalami Perdarahan Sinusoid, Degenerasi Melemak.....	26
6. Organ Ginjal yang Tidak Mengalami Kerusakan Sebagai Kontrol.....	27
7. Organ Ginjal yang Mengalami Degenerasi pada Sel-selTubulus, Perdarahan Interstitial.....	27
8. Organ Ginjal yang Mengalami Degenerasi pada Sel-sel Tubulus, Nekrosis Sel-sel Tubulus, Infiltrasi Sel Leukosit Interstitial.....	28
9. Organ Ginjal yang Mengalami Degenerasi Sel-sel Tubulus, Nekrosis sel-sel Tubulus, Perdarahan Glomerulus, Nekrosis Glomerulus, Infiltrasi Sel Leukosit Glomerulus.....	28

DAFTAR LAMPIRAN

Nomor	Halaman
1. Perhitungan Dosis Ekstrak Biji Blustru yang Diberikan pada Mencit secara Oral pada Berbagai Perlakuan.....	43
2. Hasil Pemeriksaan Histopatologis Hati	46
3. Hasil Pemeriksaan Histopatologis Ginjal.....	47
4. Analisis Statistik Skor Pemeriksaan Histopatologis pada Hati dengan Empat Kelompok Perlakuan Hewan Coba	48
5. Analisis Statistik Skor Pemeriksaan Histopatologis pada Ginjal dengan Empat Kelompok Perlakuan Hewan Coba	52
6. Pembuatan Sedian Histologis Hati dan Ginjal	56
7. Pembuatan Ekstrak Biji Blustru.....	60

BAB I

PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang Masalah

Jumlah penduduk yang besar sebagai akibat tingkat kelahiran yang tinggi masih merupakan masalah suatu negara. Indonesia sebagai negara sedang berkembang tidak terlepas dari masalah tersebut. Untuk mengatasinya, sejak tahun 1970 pemerintah telah melaksanakan program Keluarga Berencana (Pudji, 1987).

Dalam upaya meningkatkan keikutsertaan kaum pria dalam Keluarga Berencana, perlu dilakukan penelitian-penelitian untuk mendapatkan metode atau alat kontrasepsi baru yang dapat digunakan oleh kaum pria. Salah satu usaha yang sedang dilakukan adalah menemukan obat antifertilitas pria yang dapat diberikan peroral (Gde Astika, 1991).

Alat kontrasepsi pria yang telah dikembangkan adalah kontrasepsi yang mencegah bertemunya spermatozoa dengan ovum. Keadaan demikian dapat dilaksanakan dengan cara mekanis, yaitu: dengan pemakaian kondom atau menggunakan bahan spermisida-spermisida yaitu suatu zat yang bekerja

mematikan atau menghambat gerakan spermatozoa (Tadjudin, 1978).

Usaha mengembangkan kontrasepsi pria mengalami kesukaran karena: (1) yang dikendalikan berjuta-juta spermatozoa, (2) pengendalian produksi spermatozoa berpengaruh pada potensi seksual. Oleh karena itu penelitian yang seksama sangat dibutuhkan untuk mendapat kontrasepsi pria yang aman dan mudah digunakan (Koentjoro, 1982).

Menurut Kretser (1979) obat-obat antifertilitas pria berdasarkan aktivitasnya ada tiga, yaitu: (1) yang mempengaruhi sistem hormonal yang mengatur fungsi testis, (2) menghambat spermatogenesis dengan cara mempengaruhi secara langsung fungsi testis, (3) mempengaruhi daya fertilisasi spermatozoa.

Banyak sudah penelitian-penelitian untuk menghambat spermatogenesis yang dilakukan sampai saat ini. Namun keberhasilan penekanan spermatogenesis secara mutlak, tanpa efek samping, belum juga ditemukan (Adimoelja, 1990; Lobl, 1980; Neuman, 1980).

Penelitian pencarian bentuk kontrasepsi pria di Indonesia relatif belum berkembang, sehingga perlu diupayakan berbagai penelitian agar didapat suatu cara baru yang lebih aman tanpa mengganggu libido, murah dan beresiko kecil.

Pemanfaatan tumbuhan sebagai bahan obat atau yang dikenal sebagai obat tradisional diwariskan turun temurun. Dalam hal ini Indonesia yang merupakan salah satu negara yang kaya akan tanaman obat, sudah sepantasnya ikut mengembangkan upaya pencarian bahan kontrasepsi pria dengan meneliti kasiat tanaman sebagai obat (Rahayu, 1994)

Dari beberapa publikasi, penelitian untuk mencari bahan kontrasepsi pria banyak dilakukan pada tanaman suku *Cucurbitacea*, khususnya pada biji Blustru yang termasuk suku *Cucurbitaceae*, yang juga mengandung sterol (Vipin, 1986; Yantini, 1989).

Diketahui pula bahwa obat kontrasepsi oral yang sangat efektif digunakan sampai saat ini adalah senyawa-senyawa turunan steroid. Namun seperti halnya dengan obat-obat lain, obat ini juga mempunyai efek samping. Oleh karenanya pencarian obat antifertilitas yang baru dengan efek samping sekecil mungkin, terus dilakukan (Suharti, 1985). Khususnya pada organ hati dan ginjal, yang keduanya sangat berperan dalam metabolisme tubuh. Karena hati mempunyai multifungsi kompleks, misalnya: ekskresi, sekresi empedu, penyimpanan lemak dan vitamin, detoksifikasi, pembentukan darah merah. Sedangkan ginjal berperan penting dalam kelangsungan ekskresi bermacam-macam produk buangan dari dalam tubuh, menyaring plasma dan unsur-unsur plasma dari

darah dan kemudian secara selektif menyerap kembali air dan unsur-unsur yang berguna (Dellman and Brown, 1992; Frandson, 1992).

Berdasarkan hal tersebut diatas maka dilakukan penelitian pada biji Blustru yang berkasiat sebagai antifertilitas untuk mengetahui efek sampingnya yang mungkin terjadi terutama pada hati dan ginjal.

1.2 Perumusan Masalah

Dari latar belakang penelitian yang diuraikan diatas, maka timbul permasalahan yaitu: apakah ekstrak biji Blustru sebagai obat antifertilitas menimbulkan perubahan histopatologis pada hati dan ginjal mencit jantan.

1.3 Landasan Teori

Pada biji Blustru yang termasuk suku *Cucurbitaceae* sebagai antifertilitas terkandung sterol (Vipin, 1986; Yantini, 1989). Selain terdapat sterol, biji Blustru juga mengandung senyawa saponin triterpenoid, yang dapat bersifat racun bagi tubuh. Racun dari saponin ini disebut sapotoxin (Evans, 1986). Saponin dalam hati dapat menyebabkan kerusakan hati dan dalam ginjal terutama bagian glomerulus dapat menyebabkan kerusakan sel-sel epitelnya (Martindale, 1973; Laurens et al, 1994).

1.4 Tujuan Penelitian

Tujuan penelitian ini adalah untuk mengetahui pengaruh pemberian ekstrak biji Blustru secara oral sebagai antifertilitas terhadap gambaran histopatologis hati dan ginjal mencit jantan.

1.5 Manfaat Penelitian

Dari penelitian ini diharapkan dapat diketahui pengaruh pemberian ekstrak biji Blustru secara oral sebagai antifertilitas terhadap histopatologis hati dan ginjal mencit jantan. Demikian diharapkan hasil penelitian ini dapat mengetahui keamanan ekstrak biji Blustru sebagai obat antifertilitas.

1.6 Hipotesa Penelitian

Tidak ada pengaruh pada pemberian ekstrak biji Blustru sebagai obat antifertilitas terhadap gambaran histopatologis hati dan ginjal.

BAB II

TINJAUAN PUSTAKA

2.1 Tanaman *Luffa cylindrica* Roem

2.1.1 Klasifikasi

- Devisi : Spermatophyta
Anak devisi : Angiospermae
Klass : Dikotyledonae
Bangsa : Cucurbitales
Suku : Cucurbitaceae
Marga : *Luffa*
Jenis : *Luffa cylindrica* Roem

Luffa cylindrica Roem mempunyai nama lain *Luffa aegyptiaca* Mill, *Luffa petandra* Roxb dan *Luffa cestupivicena* Ser (Steenis, 1975; Heyne, 1987).

2.1.2 Nama Daerah

Luffa cylindrica Roem dikenal dengan nama daerah: Blustru-Jakarta, Larus Jawa-Palembang, Blestru, Blustru, Bestru-Jawa, Lopang, Oyong, Emas-Sunda, Dobadala-Halmahera, Podahala-Maluku, Petola-Medan (Steenis, 1975; Heyne, 1987).

2.1.3 Penyebaran dan Tempat Tumbuh

Luffa cylindrica Roem termasuk bangsa mentimun merupakan tumbuhan memanjat. Banyak ditanam di Indonesia maupun di Asia Tenggara yang diduga berasal dari Cina. Tanaman ini biasa yang ditanam dipekarangan rumah, dipinggir-pinggir kebun dan bukit yang tanahnya gembur. Tanaman ini tumbuh subur didaerah beriklim kering, tetapi dapat produktif didataran rendah sampai kepegunungan, yaitu 1-1200 meter diatas permukaan laut (Heyne, 1987; Soetomo, 1986).

2.1.4 Morfologi Tanaman

Morfologi tanaman ini adalah tumbuh-tumbuhan menjalar dan memanjat, berbau tidak enak yang berupa:

- Batang : bersegi, lancip, panjang 2-10 mm dan alat pembelit terbelah 2-5.
- Daun : bangun bulat telur, lebar hingga sempit, berbentuk ginjal, bersudut atau bertaju 5-7. Pangkal berbentuk tulang dan tulang daun sangat menonjol kebawah dengan panjang 7,5-27 cm. Pada ketiak daun terdapat dua tandan bunga jantan, kadang-kadang dengan bunga betina.
- Bunga : berbentuk bulat telur, silindris, panjang berparuh. Panjang 10-50 cm alur dalam. Sepanjang alur

terdapat bintik-bintik keputihan, sebelahnya berwarna hijau rumput.

Biji : biji dengan tepi bersayap, berwarna hitam atau coklat, jika segar berwarna putih dan licin, dengan ukuran 1,3 x 0,9 centimeter (Steenis, 1975; Setiawan dan Trisnawati, 1993).

2.1.5 Kandungan Tanaman

Tanaman ini mengandung antara lain silosa, manosa, ramnosa, galaktosa, saponin, sapogenin, triterpen, zat pahit luffamarin, vitamin A, vitamin B, vitamin C, lendir, lemak, sterol, zat putih telur (Heyne, 1987; Anonimus, 1985).

Biji Blustru mengandung triterpenoid, sterol, cucurbitasin, xilan, saponin, protein, asam lemak beracun, minyak lemak . Kandungan minyak lemaknya dapat mencapai 35- 40%, tetapi kandungan proteinnya hanya sebesar 30% (Wijaya Kusuma, 1994; Setiawan dan Trisnawati, 1993).

2.1.5.1 Triterpenoid dan Steroid

Triterpenoid adalah senyawa yang kerangka karbonnya berasal dari enam satuan isoprena dan secara biosintesis diturunkan dari hidrokarbon C₃₀ asiklik, yaitu skualena. Triterpenoid tertentu terkenal karena rasanya, terutama kepahitannya. Misalnya

cucurbitasin yang terdapat hanya dalam biji berbagai Cucurbitaceae, meskipun dapat juga dideteksi pada suku lain termasuk Cruciferae .

Sterol adalah triterpenol yang kerangka dasarnya sistim cincin siklopentana perhidrofenantrena. Dahulu sterol dianggap senyawa satwa (sebagai hormon kelamin, asam empedu dan lain-lain), tetapi pada tahun terakhir ini makin banyak senyawa tersebut yang ditemukan dalam jaringan tumbuhan. Sterol tumbuhan yang kurang dikenal secara umum ialah alpha spinal sterol, yaitu isomer stigmasterol (Harborne, 1996).

2.1.5.2 Sapogenin Steroid

Saponin steroid, saponin triterpenoid jarang ditemukan pada famili monokotil, tetapi banyak ditemukan pada famili dikotil. Diantaranya dapat ditemukan pada tanaman suku-suku ; Phytolaccaceae, Chenopodiaceae, Ranunculaceae, Berberidaceae, Papaveraceae, Cucurbitaceae, Araliaceae, Umbelliferae, Primulaceae, Oleaceae, Lobeliaceae, Campanulaceae, Rubiaceae dan Compositae (Evans, 1986).

Didalam tanaman, steroid sapogenin terdapat dalam bentuk glikosida saponin dan glikosalkaloid. Steroid saponin terdiri dari senyawa steroid sebagai aglikon (sapogenin) yang terikat dengan suatu oligosakarida melalui gugus hidroksil pada posisi 3B. Gugus gula biasanya adalah heksosa dan pentosa seperti D-glukosa, D-

silosa dengan panjang 2-6 gugus gula. Aglikon steroid didapat melalui hidrolisis lemah saponin steroid. Aglikon umumnya mempunyai dua rantai heterosiklis, tetrahidrofuran (cincin E) dan tetrahidropiran (cincin F). Cincin ini terikat pada atom C-16 dan C-17 dari intinya (Manitto, 1981).

Saponin glikosida menyebabkan iritasi mukosa membran, merusak korpuskel darah merah sehingga menyebabkan hemolisis, dan bersifat racun terutama terhadap darah beberapa hewan. Pada hidrolisa mereka menghasilkan suatu glikon yang disebut sapogenin. Racunnya adalah sapotoxin (Evans, 1986).

2.1.6 Kegunaan Tanaman

Daun Blustru digunakan untuk pengobatan haid tidak teratur, bisul, asma, keracunan, kurang darah dan panas. Buahnya untuk susu ibu, peluruh air seni, peluruh dahak, pencahar, meningkatkan kerja ginjal, membersihkan darah sehabis melahirkan dan untuk obat asma. Biji Blustru tersebut digunakan sebagai pencahar dan membersihkan darah (Anonimus, 1985; Soetomo, 1986).

2.2 Tinjauan Tentang Hati dan Ginjal

2.2.1 Hati

Hati merupakan organ yang terbesar dan dilihat dari sudut metabolik merupakan organ dalam yang terkomplek dalam tubuh.

Oleh karena itu gangguan metabolisme pada penyakit hati sangat khas dan mungkin membantu selama mendiagnosa penyakit. Bagaimanapun juga, hati mempunyai begitu banyak macam fungsi metabolik maka telah dilakukan banyak test untuk masing-masing fungsi, beberapa diantaranya secara klinik tidak dapat dilakukan dalam praktek. Lebih jauh lagi, test-test ini sangat berbeda dalam kepekaan terhadap berbagai proses patologi. Khususnya dalam menduga tingkat kerusakan pada hati, karena test yang kurang peka sekalipun dapat memberi hasil yang normal meskipun hanya sekitar 15% dari bagian hati saja yang difungsikan. Fungsi hati dapat diklasifikasikan dalam lima golongan utama: (1) fungsi sirkulasi atau peredaran, (2) fungsi sekresi empedu, (3) fungsi metabolisme, (4) fungsi detoksifikasi atau penangkal racun dan (5) fungsi hematologi (Harper, 1989).

Secara histologis terdapat tiga jenis jaringan yang penting yaitu: (1) sel parenkim hati; (2) susunan pembuluh darah; (3) susunan saluran empedu. Ketiga jaringan ini saling berhubungan erat, sehingga kerusakan satu jenis jaringan dapat mengakibatkan kerusakan jaringan lain (Darmawan dan Himawan, 1994).

Sel yang perlu mendapat perhatian khusus berkaitan dengan fungsi hati adalah sel hepatosit. Sel hati berbentuk poligonal dengan inti besar dan terkadang terdapat dua inti, tersusun radier dalam lobulus hati. Sel hepatosit yang membentuk lempeng-lempeng tipis

dan lembaran-lembaran yang terpisah oleh sinusoida-sinusoida sel retikulo endotelial yang fagositis membentuk selaput sinusoida. Sel fagosit dari RES (Retikulum Endoplasma Sel) ini disebut sel Kupffer. Sedangkan sel endotelnya dipisahkan dari hepatosit yang berdekatan oleh celah subendotel yang disebut celah Diss (Bevelander and Ramaley, 1988 ; Junqueiro and Kelley, 1992).

Sistem dari kapiler dan sinusoida berisi penyebaran darah dari lobulus mengelilingi masing-masing *cords* hati dan menyalurkan darah ke vena centralis, dimana darah meninggalkan hati (Harper, 1989). Dengan pewarnaan Hematoxylin eosin, selaput sinusoida tampak terdiri dari sel-sel yang terletak sepanjang tepi hepatosit. Nukleus sel-sel ini kecil dan berwarna gelap dan sitoplasma berlapiskan selaput sepanjang perbatasan sinusoida (Grundman and Geler, 1991).

Hati mudah rusak oleh bahan-bahan toksik yang diserap. Dengan demikian bila ada kelainan fungsi hati yang diakibatkan suatu zat-zat atau obat-obatan, dapat dilakukan pemeriksaan antara lain pengukuran diameter sel hepatosit, apakah ada kelainan seluler yang membengkak, degenerasi hidropik, *fatty liver* dan fibrosis (Lesson dkk, 1995).

Fungsi Detoksifikasi Hati

Fungsi detoksifikasi hati sangat penting bagi tubuh dan oleh enzim-enzim hati yang melakukan oksidasi, reduksi, hidrolisis atau

konjugasi zat-zat yang kemungkinan membahayakan tubuh, mengubahnya menjadi zat-zat yang secara fisiologis tidak aktif. Dalam hal ini hati bertanggung jawab atas biotransformasi zat-zat yang berbahaya menjadi zat-zat yang tidak membahayakan, yang kemudian diekskresikan oleh ginjal, misalnya: dalam metabolisme steroid, hati menginaktifkan dan mengekskresikan aldosteron, glukokortikoid, estrogen, progesteron dan testoteron (Price and Lorraine, 1992).

2.2.2 Ginjal

Ginjal terdapat sepasang yaitu kanan dan kiri, terdiri dari korteks yang berwarna gelap yaitu coklat kemerahan-merahan dan medula berwarna cerah yang berbatasan jelas dengan korteks serta merupakan salah satu alat pengeluaran zat-zat yang tidak terpakai oleh tubuh. Ginjal juga mengatur keseimbangan tubuh (Bailey, 1978). Karena ginjal adalah organ vital yang berperan sangat penting dalam mempertahankan kestabilan lingkungan dalam tubuh, maka ginjal mengatur keseimbangan cairan tubuh dan elektrolit serta asam basa dengan cara menyaring darah yang melalui ginjal, reabsorpsi selektif air, elektrolit dan non elektrolit serta mengekskresi kelebihannya sebagai kemih (Price and Lorraine, 1995).

Tiap bagian medula yang berbentuk piramid berwarna pucat

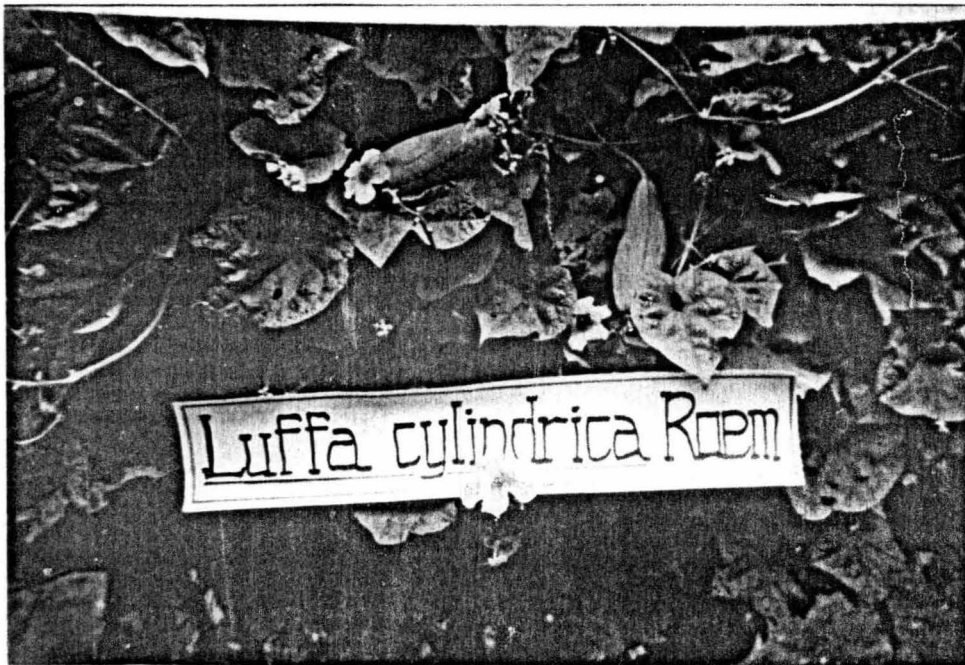
kelabu yang disebut pyramis renalis (Malpighi) dengan jaringan korteks yang membentuk tudung pada dasar serta menutup sisinya membentuk lobus yang merupakan unit anatomi ginjal. Tiap-tiap tubulus ginjal dan glomerulusnya adalah satu unit yang disebut nefron (Anderson, 1987; Ganong, 1989). Tiap ginjal terdiri atas 1-1,25 juta nefron. Tiap nefron terdiri atas glomerulus dan tubulus renalis. Tubulus renalis terdiri atas tiga bagian, yaitu: (1) Tubulus contortus proximalis, (2) ansa Henle dengan bagian descendens dan ascendens serta (3) Tubulus contortus distalis (Darmawan dan Himawan, 1994).

Glomerulus ialah suatu massa bulat, terdiri atas kapiler-kapiler yang timbul sebagai cabang-cabang arteriola afferens. kapiler ini menekan kedalam terminus tubulus contortus proximalis. Bagian dalam yang berbatasan dengan kapiler disebut lapisan visceral simpai Bowman serta mengikuti dan melapisi tiap kapiler, bagian luar disebut lapisan parietal simpai Bowman dan terpisah dari kapiler-kapiler oleh ruang glomerulus (ruang Bowman). Antara sel endotel dan sel epitel terdapat membrana basalis yang terdiri dari tiga bagian, yaitu: (1) lapisan dalam (lamina rara interna), (2) lapisan padat (lamina densa) dan (3) lapisan luar (lamina rara externa) (Darmawan dan Himawan, 1994).

Fungsi utama dari ginjal adalah untuk mempertahankan keseimbangan susunan darah dengan mengeluarkan dari darah air

yang berlebihan, garam-garam anorganik yang membahayakan dari makanan, zat-zat asing atau toksik umpamanya obat-obatan serta hasil penguraiannya dan sisa-sisa zat dari tubuh sendiri. Pengeluaran zat-zat ini terjadi sebagai larutan dalam air kemih (Ressang, 1984).

Untuk menganalisis kelainan pada ginjal akibat tidak dapat mengeluarkan sisa metabolisme atau zat toksik lainnya, dapat diperiksa dengan melihat apakah terdapat perdarahan intraseluler pada tubulus proksimal, kerusakan glomerulus, tubulus distalis dan tubulus koligentes (Bailey, 1978).



Gambar 1. Tanaman Blustru

BAB III

MATERI DAN METODE

3.1 Tempat dan Waktu Penelitian

Penelitian ini dilaksanakan di Laboratorium Patologi Fakultas Kedokteran Hewan Universitas Airlangga Surabaya, selama empat puluh dua hari, dimulai tanggal 30 Desember 1997 sampai 9 Februari 1998.

3.2 Materi Penelitian

3.2.1 Hewan Percobaan

Hewan percobaan yang digunakan pada penelitian ini adalah 24 ekor mencit (*Mus musculus*) jantan galur *Balance G* dirawat satu minggu sebelum penelitian. Hewan percobaan diperoleh dari Pusat Veterinaria Farma Surabaya.

3.2.2 Alat Percobaan

Alat yang digunakan dalam penelitian ini adalah : sonde, timbangan atau takaran obat, alat ekstraksi, gilingan biji, gelas obyek dan penutup, skalpel, gunting, pinset, papan seksi, mikroskop cahaya, delapan buah kandang mencit.

3.2.3 Bahan Penelitian

Bahan-bahan yang digunakan dalam penelitian adalah : biji Blustru yang telah dikeringkan, bahan ekstraksi: Etanol (Alkohol 96%), Buffer formalin 10%, Xilol, parafin, balsam Kanada, Gliserin, Hematoxilin Eosin, aquadest, CMC (Carboksimetilselulosa) Na 0,5%.

3.3 Metode Penelitian

3.3.1 Persiapan Pada Mencit (*Mus musculus*)

Pada tahap persiapan ini hewan percobaan diadaptasikan dalam kondisi dan pakan yang sama selama satu minggu. Setelah itu diberi nomor untuk seluruh hewan percobaan, lalu diadakan pemilihan secara acak dengan cara lotre untuk menentukan kelompok perlakuan. Terdiri dari tiga perlakuan dan satu sebagai kontrol. Masing-masing perlakuan terdiri dari enam ekor hewan percobaan. Selanjutnya dilakukan penimbangan berat badan seluruh hewan percobaan dan dicatat hasilnya. Sebelumnya dilakukan pembuatan ekstrak biji Blustru seperti pada lampiran 7.

3.3.2 Dosis Ekstrak

Dosis ekstrak biji Blustru yang digunakan adalah dalam mg/kg bb mencit, dan besarnya dosis yang diberikan dikaitkan dengan volume maksimal yang boleh diberikan pada mencit yaitu tidak melebihi satu mililiter tiap mencit dengan berat badan 20-30 gram.

Untuk pemberian yang berulang dianjurkan volume yang diberikan tidak melebihi 0,5 kali volume maksimal (Diah, 1993).

Dosis ekstrak biji Blustru yang digunakan berdasarkan dosis terapeutik menurut Mulyani (1992) dan perhitungan dalam lampiran 1 adalah sebagai berikut:

P0 : Kontrol diberikan aquadest

P1 : dosis 25 mg/ kg bb

P2 : dosis 50 mg/ kg bb

P3 : dosis 100 mg/ kg bb

3.3.3 Perlakuan pada Hewan Percobaan

Perlakuan yang diterapkan pada hewan percobaan, berdasarkan dosis tersebut, yang diberikan tiap hari selama 35 hari dengan cara sebagai berikut: mencit dipegang ekornya kemudian bagian tengkuk ditarik dengan jari telunjuk dan ibu jari. Posisi mencit terlentang dengan kepala menghadap ke atas. Kemudian bagian punggung mencit dijepit dengan jari yang lainnya dan ekornya dililitkan pada jari kelingking. Pada saat itu tangan kanan telah siap dengan sonde yang berisi 0,3 mililiter ekstrak biji Blustru, dimasukkan ke mulut sampai masuk kedalam lambung.

3.3.4 Pengambilan Sampel

Dilakukan setelah 24 jam hari terakhir perlakuan, karena dengan waktu sekian efek obat sudah ada. Semua mencit dibius satu per satu dan segera diambil hati dan ginjalnya, dengan cara: mencit diterlentangkan diatas papan seksi, kemudian bagian median perut dibedah dengan gunting dengan perkiraan organ dibawahnya tidak terkena. Setelah itu diambil organ hati dan ginjal mencit.

3.3.5 Pemeriksaan Sampel

3.3.5.1 Pemeriksaan Histopatologis Hati

Pemeriksaan mikroskopis sediaan histopatologis dilakukan dengan menentukan skor yang dibuat berdasarkan patologinya (Robbins and Kumar, 1992) dan derajat kerusakan atau keparahan dari suatu jaringan, sehingga skor dibuat bertingkat sesuai perubahan yang terjadi pada jaringan tersebut (Modifikasi dari Sulabda, 1995) yaitu:

Skor 1 : adanya kongesti

Skor 2 : degenerasi keruh

Skor 3 : degenerasi hidrofik

Skor 4 : degenerasi melemak

Skor 5 : nekrose fokal

Cara menghitung nilai masing-masing skor:

Pemeriksaan dilakukan dengan melihat lima lapangan pandang. Jika diantara kelima lapangan pandang tersebut terdapat adanya kongesti maka diberi nilai satu. Dan jika dalam lapangan pandang tersebut terdapat adanya kongesti dan degenerasi keruh maka dijumlahkan nilai dari masing-masing skor dan seterusnya. Tapi jika tidak terjadi perubahan diberi nilai nol.

3.3.5.2 Pemeriksaan Histopatologis Ginjal

Pemeriksaan histopatologis ginjal sama halnya dengan pemeriksaan pada hati, hanya kriteria skor menurut Zaenal Arifin dikutip dari Prihantoro (1993):

- A: Degenerasi pada tubulus kontortus proksimal
- B: Nekrosis pada tubulus kontortus proksimal
- C: Nekrosis pada glomerulus
- D: Infiltrasi sel leukosit polimorf disekitar daerah interstitialis
- E: Nekrosis pada tubulus kontortus distalis
- F: Hialin cast pada sel tubulus
- G: Perdarahan pada glomerulus
- H: Infiltrasi sel leukosit polimorf disekitar glomerulus

Cara menghitung nilai masing-masing skor :

Pemeriksaan dilakukan dengan melihat 5 lapangan pandang (masing-masing kriteria skornya adalah satu) . Jika diantara kelima

lapangan pandang tersebut terdapat dua jenis perubahan maka diberi skor dua dan jika terdapat tiga jenis perubahan maka diberi skor tiga dan seterusnya. Tapi jika tidak terjadi perubahan diberi skor nol.

3.4 Rancangan Penelitian

Pada penelitian ini digunakan rancangan acak lengkap (RAL) dengan 3 macam perlakuan, dan satu sebagai kontrol, masing-masing perlakuan terdiri dari 6 ulangan. Adapun parameter yang diamati adalah tingkat kerusakan jaringan hati dan ginjal (Kusriningrum R, 1990).

3.5 Analisis Data

Data yang diperoleh berupa skor nilai tingkat keparahan disusun dalam bentuk tabel lalu dianalisis. Untuk mengetahui perbedaan kerusakan akibat pemberian ekstrak biji Blustru dilakukan analisis statistik non parametrik dengan menggunakan uji Kruskal Wallis , derajat kerusakannya diolah dengan penilaian peringkat (rank) dan bila terdapat perbedaan dilanjutkan dengan uji Z (Siegel, 1990).

BAB IV

HASIL PENELITIAN

4.1 Secara makroskopis

Hasil pemeriksaan patologi anatomi dari organ hati dan ginjal pada kelompok kontrol tidak menunjukkan perubahan atau kelainan. Demikian pula pada perlakuan I yang diberi 25 mg / kg berat badan ekstrak biji Blustru pada pemeriksaan patologi anatomi organ hati dan ginjal tidak terlihat perubahan atau kelainan yang berarti. Pada perlakuan II dan perlakuan III yang masing-masing diberi 50 mg / kg berat badan dan 100 mg / kg berat badan ekstrak biji Blustru pada pemeriksaan patologi anatomi organ hati terlihat adanya perdarahan kapiler (ptechia), tetapi pada organ ginjal tidak menunjukkan perubahan atau kelainan.

4.2 Secara mikroskopis

Preparat sediaan organ hati dan ginjal yang sudah diwarnai dengan Haematoxilin Eosin diperiksa di bawah mikroskop dengan pembesaran 100x dan 450x untuk melihat perubahan yang terjadi. Pada pemeriksaan hati perubahan yang terjadi adanya kongesti pada semua perlakuan, sedangkan degenerasi keruh, degenerasi hidrofik dan

degenerasi melemak terdapat pada perlakuan II dan perlakuan III. Pada perlakuan III juga terjadi perdarahan sinusoid dan nekrose fokal.

Perhitungan statistik hasil pemeriksaan mikroskopis organ hati menunjukkan bahwa pada perlakuan III memberikan hasil kerusakan tertinggi, yang diikuti oleh perlakuan II dan perlakuan I. Perlakuan III berbeda nyata dengan kontrol, sedangkan perlakuan II dan Perlakuan I tidak berbeda nyata dengan kontrol. Hal ini menunjukkan bahwa pemberian ekstrak biji Blustru pada dosis 100 mg/ kg bb atau lebih, berpengaruh nyata terhadap perubahan histopatologis hati mencit. Adapun pada perlakuan II tidak berbeda nyata dengan perlakuan I dan kontrol (lihat tabel 1).

Hasil pemeriksaan mikroskopis organ ginjal pada perlakuan I dan II menunjukkan terjadi degenerasi tubulus, nekrosis tubulus dan infiltrasi sel leukosit interstitial. Adapun pada perlakuan III terjadi degenerasi tubulus, nekrosis tubulus, nekrosis glomerulus, infiltrasi sel leukosit interstitial dan glomerulus, hialin cast sel tubulus dan perdarahan pada glomerulus dan interstitial.

Perhitungan statistik hasil pemeriksaan mikroskopis organ ginjal menunjukkan bahwa pada perlakuan III memberikan hasil kerusakan tertinggi, diikuti oleh perlakuan II dan perlakuan I. Perlakuan III dan II berbeda nyata dengan kontrol. Sedangkan

pada perlakuan I tidak berbeda nyata dengan kontrol. Hal ini menunjukkan bahwa pemberian ekstrak biji Blustru pada dosis 100 mg/kg bb atau lebih berpengaruh nyata terhadap perubahan histopatologi ginjal mencit. Pada perlakuan I adalah paling rendah tingkat kerusakannya dan tidak berbeda nyata dengan kontrol.

Hasil diatas juga menunjukkan bahwa pada dosis 25 mg / kg berat badan dan dosis 50 mg/ kg berat badan ekstrak biji Blustru masih aman apabila diberikan sebagai obat antifertilitas.

Tabel 1: Nilai Skor Rata-rata dan Simpangan Baku Perubahan Histopatologi hati pada Perlakuan Pemberian Ekstrak Biji Blustru.

Perlakuan	Hasil ^{SD}
P0 (0 mg)	6,00 ^b ± 2,45
PI (25 mg)	7,00 ^b ± 3,09
PII (50 mg)	15,67 ^{ab} ± 2,04
PIII (100 mg)	21,33 ^a ± 1,81

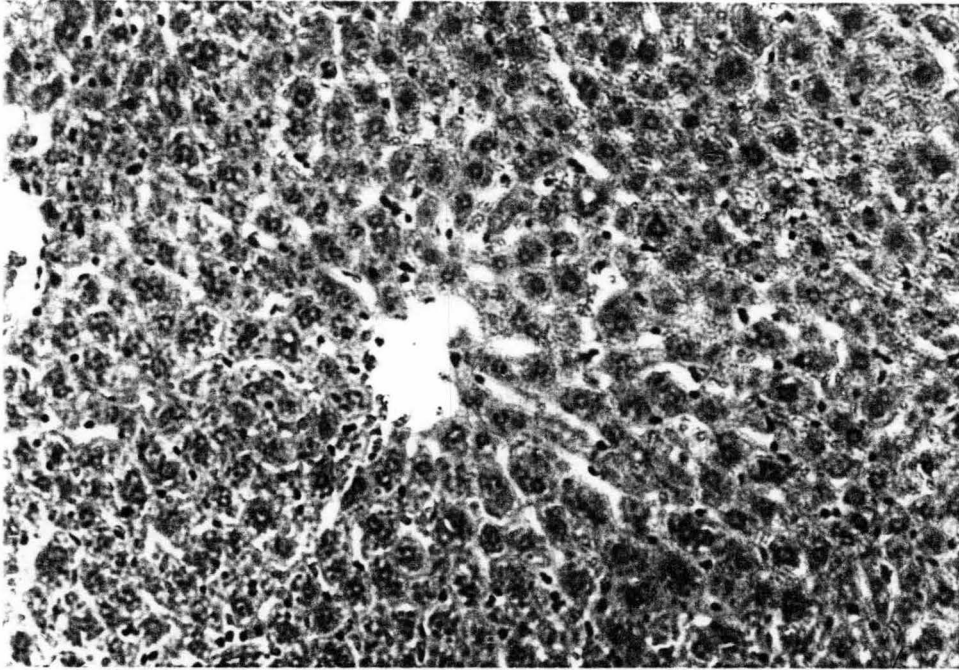
Superskrip a dan b yang berbeda pada kolom yang sama menunjukkan adanya perbedaan yang nyata ($p < 0,05$).

Tabel 2: Nilai Skor Rata-rata dan Simpangan Baku Perubahan Histopatologi Ginjal pada Perlakuan Pemberian Ekstrak Biji Blustru.

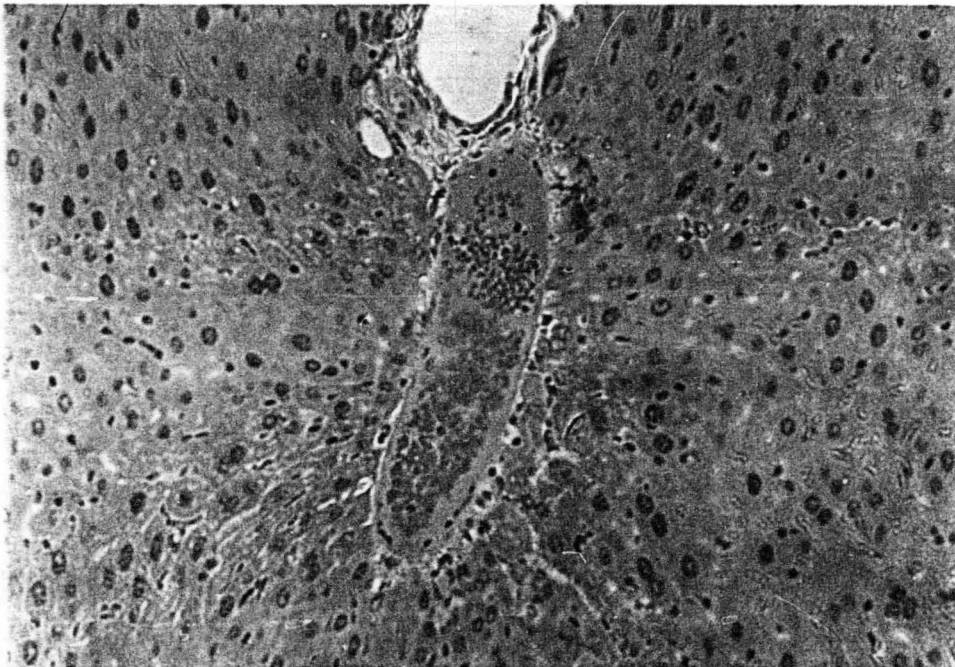
Perlakuan	Hasil
P0 (0 mg)	4,00 ^c ± 2,65
PI (25 mg)	9,33 ^{bc} ± 2,69
PII (50 mg)	15,17 ^{ab} ± 2,07
PIII (100 mg)	21,5 ^a ± 1,73

Superskrip a dan b yang berbeda pada kolom yang sama menunjukkan adanya perbedaan yang nyata ($p < 0,05$).

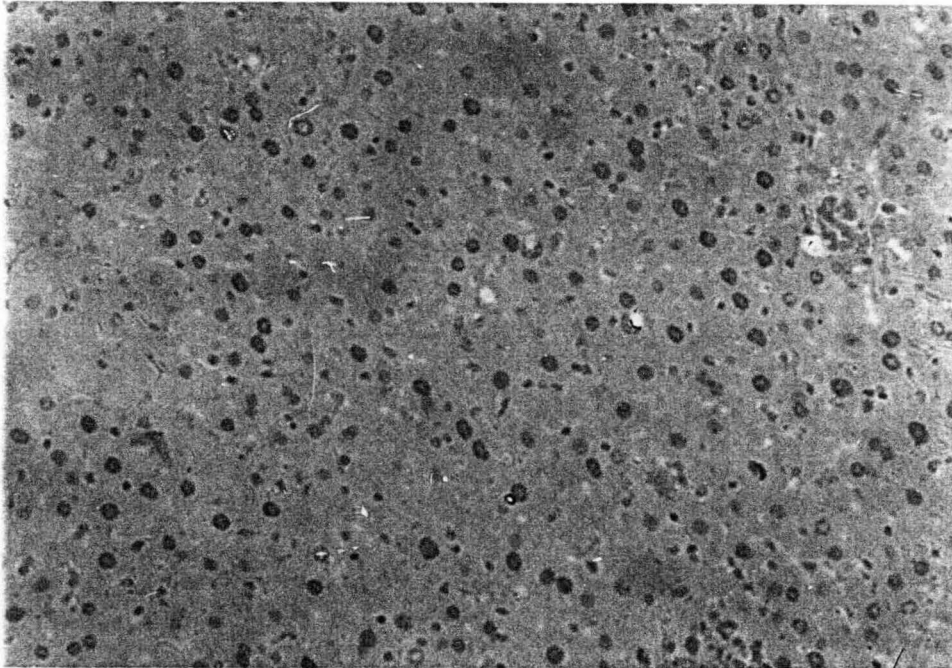
4.3. Gambar Hasil Penelitian



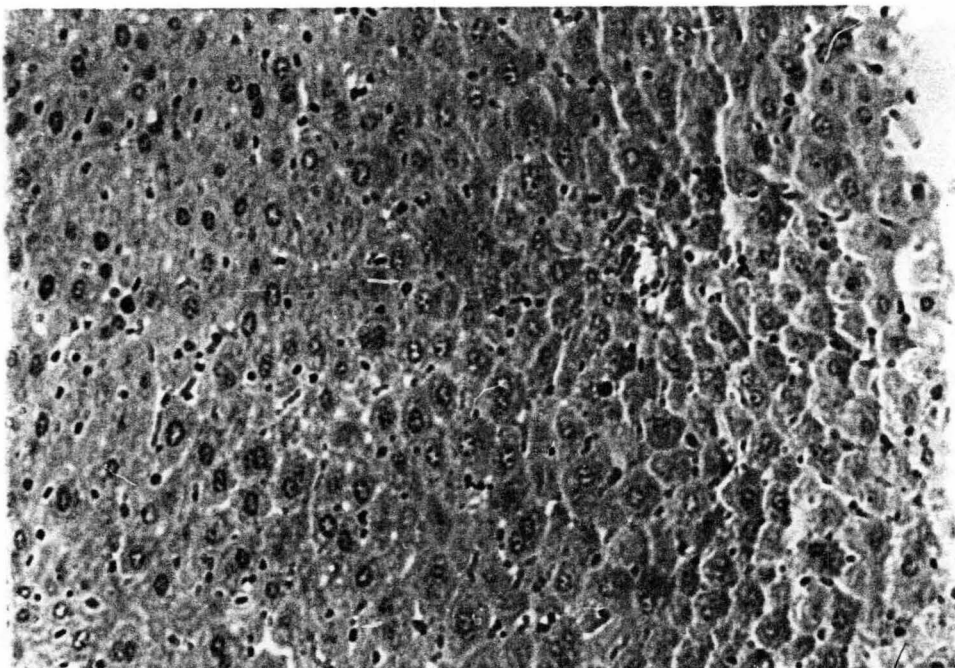
Gambar 2. Organ Hati yang tidak mengalami kerusakan, sebagai kontrol.



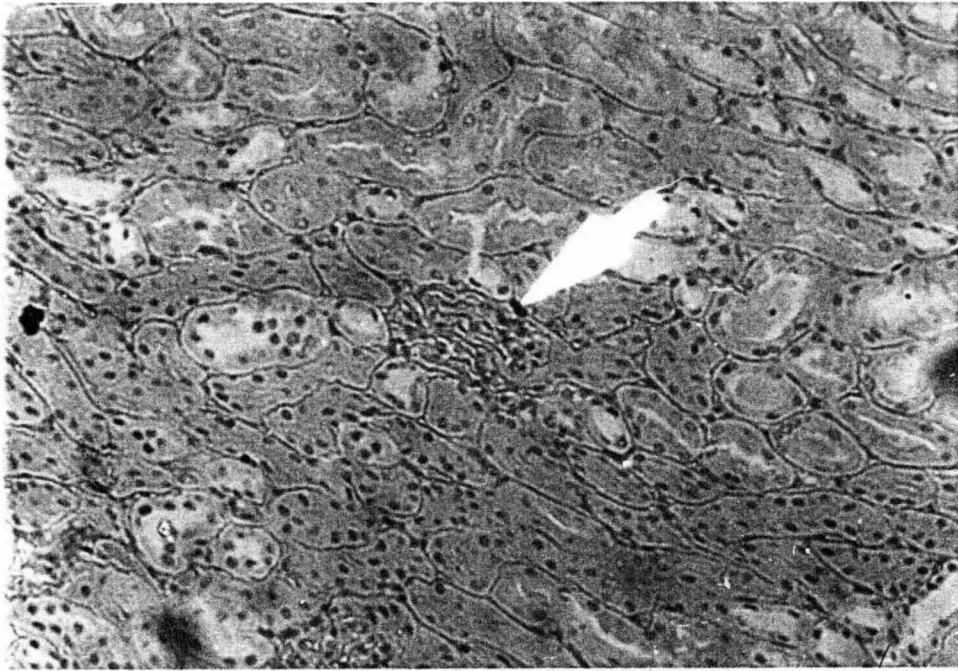
Gambar 3. Organ hati yang Mengalami Kongesti, Degenerasi Keruh



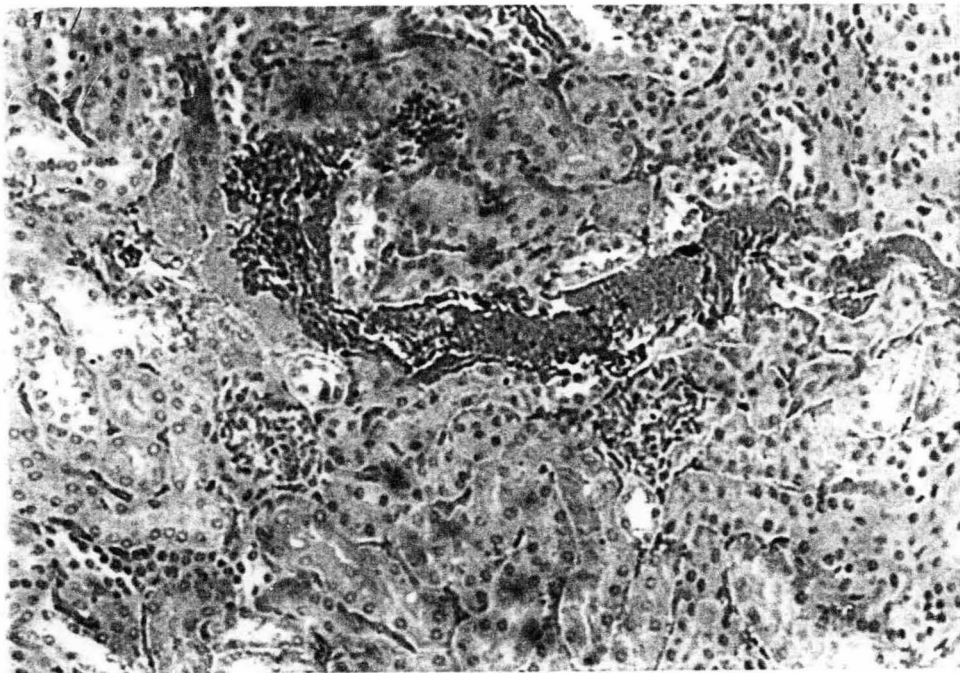
Gambar 4. Organ Hati yang Mengalami Degenerasi Hidrofik, Perdarahan Sinusoid.



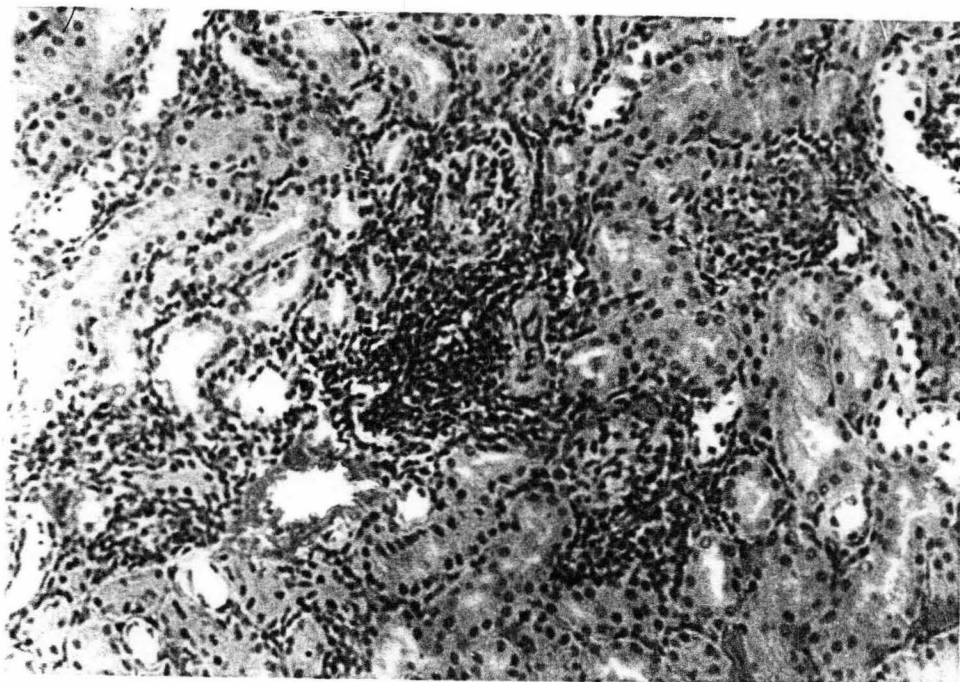
Gambar 5. Organ Hati yang Mengalami Perdarahan Sinusoid, Degenerasi Melemak



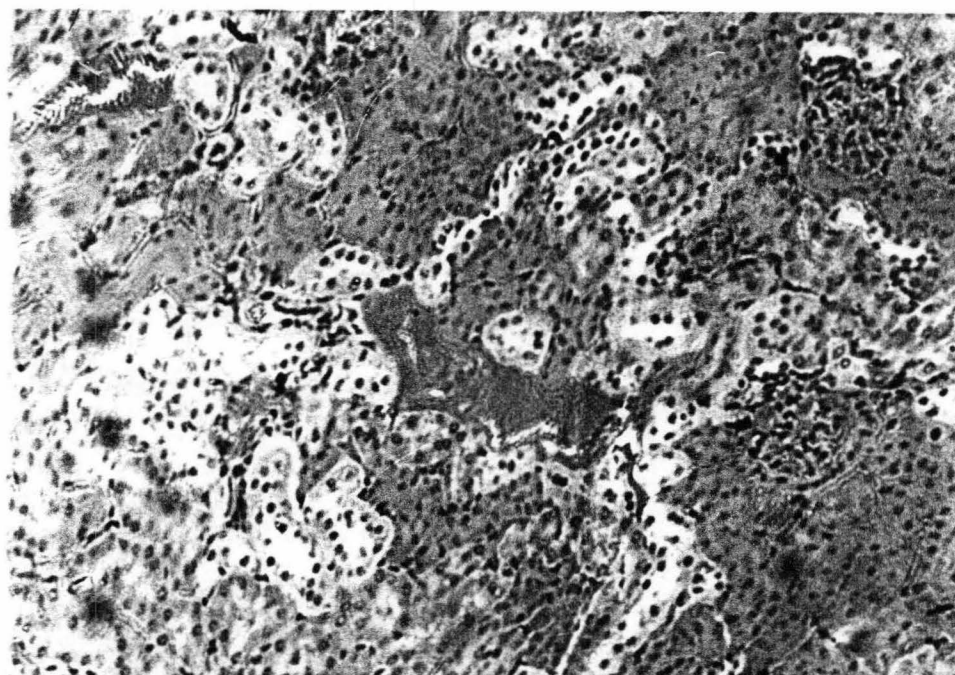
Gambar 6. Organ Ginjal yang Tidak Mengalami Kerusakan Sebagai Kontrol. Anak
Panah Menunjuk Glomerulus.



Gambar 7. Organ Ginjal yang Mengalami Degenerasi pada Sel-sel Tubulus,
Perdarahan Interstitial.



Gambar 8. Organ Ginjal yang Mengalami Degenerasi pada Sel-sel Tubulus, Nekrosis Sel-sel Tubulus, Infiltrasi Sel Leukosit interstitial.



Gambar 9. Organ Ginjal yang Mengalami degenerasi Sel-sel Tubulus, Nekrosis Sel-sel Tubulus, Perdarahan Glomerulus, Nekrosis Glomerulus, Infiltrasi Sel Leukosit glomerulus.

BAB V

PEMBAHASAN

5.1 Kerusakan pada Hati

Hasil analisis statistik menunjukkan bahwa pemberian ekstrak biji Blustru dengan dosis 100 mg/kg bb atau lebih, berpengaruh nyata ($p < 0,05$) terhadap tingkat kerusakan pada hati.

Kerusakan pada hati ini mungkin disebabkan oleh kandungan saponin dan cucurbitasin dalam ekstrak biji Blustru tersebut, karena pada waktu mengekstraksi terbentuk busa yang menandakan adanya saponin dan waktu dikocok ekstrak biji Blustru tersebut menghasilkan busa pada permukaan cairan. Sesuai dengan penjelasan Harborne (1996), terbentuknya busa pada waktu mengekstraksi tumbuhan atau memekatkan ekstrak tumbuhan merupakan bukti adanya saponin. Salah satu uji saponin yang sederhana ialah mengocok ekstrak alkohol-air dari tumbuhan dan diperhatikan ada terbentuk busa tahan lama pada permukaan cairan.

Kongesti terjadi pada semua ulangan perlakuan yaitu pada P1 (25), P2 (50), P3 (100) sedangkan pada P0 (0) yang dipergunakan sebagai kontrol hanya terjadi pada satu ulangan saja, hal ini mungkin disebabkan oleh kondisi tubuh hewan coba yang berbeda dengan ulangan lainnya. Sedangkan kongesti yang terdapat pada P1, P2, P3 mungkin disebabkan oleh kegagalan kerja jantung

sebagai akibat adanya saponin yang bersifat racun atau toksik sehingga menyebabkan bendungan pada hati. Berdasarkan hasil pemeriksaan mikroskopis terlihat bahwa hati yang mengalami pembengkakan adalah daerah centrolobulus kemudian meluas ke vena centralis dan sinusoid. Apabila kongesti berlangsung lama, maka seluruh tepi lobulus fungsional mengalami kongesti atau bendungan berupa vena centralis dan sinusoid yang melebar terisi eritrosit serta kadang-kadang atropi sel hati disekitar vena centralis (Darmawan dan Himawan, 1994).

Degenerasi keruh atau disebut juga *cloudy swelling* terjadi pada P2 dan P3 yang masing-masing dengan dosis 50 mg/kg bb dan 100 mg/kg bb ekstrak biji blustru. Pada hasil pemeriksaan mikroskopis degenerasi keruh ini menunjukkan sitoplasma yang tampak lebih gelap karena adanya butir-butir keruh yang disebabkan pengendapan protein dan sel hati membengkak. Disamping berwarna keruh, ukuran sitoplasma juga bervariasi dari normal. Hal ini akibat glikogen yang berkurang sehingga sitoplasma tampak lebih gelap dan sedikit bervariasi daripada biasa (Darmawan dan Himawan, 1994).

Degenerasi hidrofik terjadi pada P2 (50) dan P3 (100). Pada pemeriksaan mikroskopis kelainan tersebut menunjukkan bahwa terjadi vakuolisasi sitoplasma, tetapi vakuola tersebut tidak mengandung lemak atau glikogen, karena zat yang mengisi

sitoplasma menyerupai cairan. Disamping terdapat dalam sitoplasma degenerasi hidrofik juga terdapat dalam inti sel-sel hati, tetapi sangat jarang ditemukan. Vakuolisasi tersebut terjadi didalam hampir di seluruh sel dengan ukuran yang berbeda, dan tidak mengisi seluruh sitoplasma. Menurut Darmawan dan Himawan (1994) vakuolisasi inti disebabkan oleh perubahan keseimbangan cairan dalam sel hati akibat bertambahnya cairan. Kelainan ini agak reversibel dan tidak bergantung pada banyaknya glikogen intra nukleus.

Terjadinya degenerasi meleak dalam sel hati pada P2 dan terutama P3 menunjukkan bahwa dalam tubuh terdapat ketidakseimbangan proses normal yang mempengaruhi kadar lemak di dalam dan di luar jaringan hati akibat gangguan metabolisme. Salah satu penyebab terjadinya perlemakan pada sel hati adalah keracunan yaitu racun saponin (sapotoksin). Hal ini sesuai dengan suatu pendapat bahwa distribusi perlemakan pada hati dapat berbercak, zonal atau merata, disebabkan oleh penyakit gizi, hypoxia, keracunan, alkoholisme, orang gemuk, diabetes melitus, terlalu banyak makan karbohidrat dan penyakit hormon. Perlemakan yang terjadi pada hati dapat juga dikarenakan: (1) adanya pengangkutan lemak yang berlebihan, (2) mobilisasi lemak yang menurun didalam hati, (3) pemakaian lemak yang menurun, (4)

sintesis lemak yang bertambah pada sel hati, (5) pynocytosis chylomikron yang meningkat (Darmawan dan Himawan, 1994).

Menurut Ressay (1984) bahwa yang dapat menyebabkan perlemakan patologik hati ialah hipoksemia oleh karena hati tidak dapat membakar lemak atau oleh karena toksin-toksin yang mengurangi atau menghilangkan fungsi lipolitik hati. Perlemakan hipoksemik terlihat juga pada gangguan peredaran darah yaitu pada pembendungan darah. Tiap-tiap perlemakan patologik menunjukkan adanya kerusakan sel-sel. Pada kerusakan ini dapat ditemukan perubahan-perubahan mikroskopik, misalnya piknotis, karioreksis, kariolisis.

Kerusakan yang paling parah ialah nekrosis fokal terjadi pada perlakuan tiga. Nekrosis fokal ini merupakan kelanjutan dari kelainan-kelainan berupa degenerasi dan sifatnya tidak reversibel. Kematian sel dan kematian jaringan pada tubuh yang hidup disebut juga nekrosis. Pada pemeriksaan mikroskopis jaringan nekrotik berwarna kemerahan dan dengan pewarnaan Hematoxilin Eosin tidak mengambil zat warna hematoxilin sehingga tampak pucat. Perubahan yang paling terlihat pada nekrosis fokal tersebut adalah pada inti sel, berbeda dengan perubahan pada degenerasi yang hanya terdapat pada sitoplasma dan pada inti hanya sebagian kecil. Perubahan inti dapat berupa: hilangnya gambaran khromatin, inti menjadi keriput tidak vesikuler, inti tampak lebih padat berwarna

gelap hitam (piknotis), inti terbagi atas fragmen-fragmen robek (karyorrhexis) dan inti pucat tidak nyata (karyolisis) (Darmawan dan Himawan, 1994).

5.2 Kerusakan pada Ginjal

Hasil pemeriksaan mikroskopis histopatologis pada ginjal menyatakan bahwa pemberian ekstrak biji Blustru pada dosis 100 mg/kg bb atau lebih, berpengaruh nyata ($p < 0,05$) terhadap tingkat kerusakan pada ginjal. Kerusakan-kerusakan yang terjadi yaitu: degenerasi pada tubulus kontortus proximalis, nekrosis tubulus kontortus proximalis, nekrosis glomerulus, infiltrasi sel leukosit interstitial, nekrosis tubulus kontortus distalis, hyalin cast sel tubulus, perdarahan glomerulus, infiltrasi sel leukosit glomerulus.

Degenerasi pada tubulus kontortus proximalis dan nekrosis tubulus kontortus proximalis terjadi pada P1, P2 dan P3. Pada pemeriksaan mikroskopis tubulus ginjal mengalami kelainan epitelnya menunjukkan degenerasi bengkak keruh dan kadang terdapat degenerasi hidrofik. Lumen tubulus menyempit karena pembengkakkan epitel dan terisi oleh sel yang terlepas. Menurut Ressang (1984) degenerasi hidrofik pada parenkim disebabkan oleh gangguan metabolisme air dan protein dalam sel-sel.

Hasil pemeriksaan pada glomerulus terjadi nekrosis dan perdarahan pada P2 dan P3. Terdapat juga infiltrasi sel leukosit

glomerulus pada P3. Nekrosis glomerulus terbukti dengan adanya perubahan inti yang tampak lebih padat dan berwarna gelap, yang disebut sebagai piknosis. Perubahan-perubahan pada glomerulus, tubulus sering mengakibatkan radang dalam interstitium. Dalam interstitium ginjal sering ditemukan peradangan yang terdiri dari infiltrasi leukosit/limfosit atau kedua-duanya (Ressang, 1984). Kelainan tersebut juga ditemukan pada pemeriksaan histopatologis ginjal.

Semua jenis kelainan itu dapat disebabkan oleh zat saponin triterpen yang terkandung dalam ekstrak biji Blustru . Seperti yang dinyatakan oleh Dass and Mahatto (1983) bahwa tanaman *Luffa cylindrica* Roem mengandung saponin triterpen yang bersifat sitotoksik.

Berdasarkan pendapat tersebut dan hasil penelitian maka dapat dinyatakan bahwa pemberian ekstrak biji Blustru secara oral dapat bersifat toksik pada dosis 100 mg/kg bb atau lebih, terhadap hati dan ginjal. Sedangkan pada dosis 25 mg/kg bb dan 50 mg/kg bb masih aman dipergunakan sebagai obat kontrasepsi per oral karena sifat toksik dari saponin triterpen yang dikandung hanya menimbulkan kerusakan ringan dan sifatnya dapat pulih setelah perlakuan dihentikan.

BAB VI

KESIMPULAN DAN SARAN

6.1 Kesimpulan

Setelah dilakukan penelitian mengenai pengaruh pemberian ekstrak biji Blustru sebagai antifertilitas, terhadap perubahan histopatologis pada hati dan ginjal, maka dapat disimpulkan bahwa:

1. Pemberian ekstrak biji Blustru dengan dosis 100 mg/kg bb pada mencit jantan dapat menyebabkan terjadi perubahan histopatologis pada hati dan ginjal.
2. Pemberian ekstrak biji Blustru dengan dosis 25 mg/kg bb dan 50 mg/kg bb pada mencit jantan tidak menyebabkan perubahan yang bermakna pada pemeriksaan mikroskopis hati dan ginjal.

6.2 Saran

Dari hasil penelitian ini dapat disarankan bahwa untuk melengkapi informasi yang ada perlu dilakukan penelitian lebih lanjut tentang pengaruh pemberian ekstrak biji Blustru terhadap organ lambung dan usus dengan hewan coba yang lain.

RINGKASAN

SRI SUHARTINI. Pengaruh pemberian ekstrak biji blustru (*Luffa cylindrica* Roem) sebagai obat antifertilitas terhadap histopatologis hati dan ginjal mencit jantan, dibawah bimbingan bapak Iwan Willyanto, M Sc., Ph D., drh. sebagai pembimbing pertama dan bapak Dewa Ketut Meles, MS., drh. sebagai pembimbing kedua.

Tujuan penelitian ini adalah untuk mengetahui pengaruh pemberian ekstrak biji Blustru secara oral yang sebagai antifertilitas terhadap gambaran histopatologis hati dan ginjal mencit jantan.

Hewan percobaan yang digunakan adalah 24 ekor mencit (*Mus musculus*) galur *Balance G* yang berumur 2,5-3 bulan, dibagi menjadi empat kelompok perlakuan yang masing-masing terdiri dari enam ulangan. Setelah dilakukan adaptasi selama tujuh hari, diberikan perlakuan sebagai berikut: pemberian aquadest (sebagai kontrol/P0), ekstrak biji Blustru 25 mg/kg bb (P1), 50 mg/kg bb (P2) dan 100 mg/kg bb (P3), yang diberikan secara oral sekali sehari selama 35 hari.

Pengamatan terhadap perubahan histopatologis pada hati dan ginjal dilakukan dengan pemeriksaan mikroskopis hati dan ginjal dengan menggunakan pewarnaan Hematoxilin Eosin. Kerusakan tertinggi didapatkan pada perlakuan tiga (P3) dengan dosis 100

mg/kg bb ekstrak biji Blustru dan (PI) memberikan hasil kerusakan yang paling ringan. Dan bila PI dibandingkan dengan kontrol tidak ada perbedaan yang bermakna.

Hasil penelitian menunjukkan bahwa pemberian ekstrak biji Blustru pada dosis 25 mg/kg bb dan 50 mg/kg bb tidak menimbulkan perubahan histopatologis yang berarti pada hati dan ginjal mencit jantan, tetapi pada dosis 100 mg/kg bb atau lebih ekstrak biji Blustru menimbulkan perubahan histopatologis pada hati dan ginjal mencit jantan.

DAFTAR PUSTAKA

- Adimoelja, A. 1990. Terapi Infertilitas dan Motivasi Keluarga Berencana, dalam Pertemuan Ilmiah VIII PANDI, Bandung.
- Anderson, J. R. 1987. Textbook of Patology . Edward Arnold Ltd. London. p. 21.1-21.2
- Anonimus. 1985. Tanaman Obat Indonesia. Jilid I hal: 12, Jilid II hal 65 dan 77.
- Bailey, J. 1978. A Textbook of Histology. 10th edition. Asian ed 32. Igaka Showa Ltd. P. 315-418, 456-461.
- Bevelander, G and A. J. Ramaley. 1988. Penerjemah Wisnu Gunarso. Dasar-dasar Histologi Edisi 8. Penerbit Erlangga. Jakarta. Hal 316-337
- Darmawan S. dan Himawan S.. 1994. Patologi. Fakultas Kedokteran Bagian Patologi Anatomi Universitas Indonesia. Jakarta. Hal. 229-254.
- Dass M. C. and Mahato S. B. 1983. Rievew Triterpenoid. Jurnal of Phythochemistry vol. 22 no. 5 p. 1071 - 1095.
- Dellman, H. D. dan Brown, E. M. 1992. Penerjemah R. Hartono. Buku Teks Histologi Veteriner. Edisi Ketiga. Penerbit Universitas Indonesia. Hal. 392-393
- Diah, K. 1993. Pengaruh Pemberian Steroisida terhadap Reproduksi dan Perkembangan Embrio Tikus Putih. Disertasi. Universitas Airlangga.
- Evans. 1986. Farmacognosy 13th edition. Bailliere Tindall. Philadelpia. London. p. 480-484
- Frandsen, R. D. 1992. Anatomi dan Fisiologi Ternak. Edisi ke-4. Gajah Mada University Press. Hal. 649.
- Ganong, W. F. 1989. Review of Medical Physiology, Appleton and Lange. p. 336-370

- Gde Astika, N. 1991. Perspektif Kontrasepsi Herbal Pria. Kongres Nasional V, PANDI. Surabaya.
- ✓ Ghosh and Schield. 1971. Fundamentals of Experimental Farmacology. Scientific Book, Agency Calcuta I. p. 85.
- Grundmann, E. and S. A. Geller. 1991. Atlas Berwarna Histopatologi . Penerbit Buku Kedokteran. Hipokrates. Jakarta. Hal. 266
- Harborne, J.B. 1996. Metode Fitokimia. Edisi II. Penerbit ITB. Bandung. Hal. 147-151, 155-156.
- Hariani, T. J. 1996. Pengaruh Ekstrak Rimpang Pancing (*Costus spiciosus* Koen) Terhadap Spermatogenesis Mencit. Skripsi. Fakultas Kedokteran Hewan. Universitas Airlangga.
- ✓ Harper, H.A. 1989. Edisi 13. Review of Physiological Chemistry Maruzen Asian Edition. P. 363-364.
- Heyne, K. 1987. Tumbuhan Berguna II . Badan Litbang Departemen Kehutanan. Yayasan Sarana Waru Jaya. Jakarta. Hal. 1416.
- Junqueira, C. L. , J. Carneiro and R. O. Kelley. 1992. Basic Histology. Edition VII. Appleton and Lange. p. 320-324, 331.
- Koentjoro, S. 1982. Mencari Kontrasepsi Pria dengan Meneliti Kasiat Obat-Obat Tradisional. Medika. No.12. Tahun 8. Hal 971-973.
- Kretser, D. M. 1978. Fertility Regulation in the Male. Buletin of the World Health Organization.
- ✓ Kusriningrum R. 1990. Dasar Perancangan Percobaan dan Rancangan Acak Lengkap. Fakultas Kedokteran Hewan Universitas Airlangga Surabaya. Hal 38.
- Laurens-WE, Vanrentergehem-YF, Steels-PS, Van-Damme-BJ. 1994. A new single nephron model of focal and segmental glomerulosclerosis in the Munich-Wistar rat. Abstr. 143-9
- Leeson, C. Roland; Tomas. S. dan Paparo A. 1985. Histologi. Diterjemahkan oleh Koespartisiswojo dkk. Jakarta. Penerbit Buku Kedokteran. BGC. Fungsi Hepar (Leeson and Leeson). Hal 383-393, 427

- Lobl, T. J. 1980. Pharmacologic Agents Producing Infertility by Direct Action on the Male Reproductive Trant. on.: Research Frontiers in Fertility Regulation. J. J. Harper and Row Publishers, pp: 93-104.
- Manitto, P. 1980. Biosynthesis of Natural Products. John Willey and Sons, New York.
- Martindale. 1973. The Extra Pharmacopoeia. Twenty Sixth edition. London. p. 393
- Mulyani. 1992. Pengaruh Isolat Biji Blustru (*Luffa cylindrica* Roem) pada Spermatogenesis Mencit. Skripsi. Fakultas Farmasi. Universitas Airlangga.
- Neuman, P.S. 1980. Antiandrogen, Basic Concepts and Clinical Trials. In: Regulation of Male Infertility. Martinus Nijhof, the Haque, pp: 93-104.
- Price, S. A. and Lorraine M. Wilson. 1992. Alih Bahasa Adji Dharma. Patofisiologi. Edisi ke-2. Penerbit EGC. Hal. 769-772.
- Prihantoro, E. 1993. Skripsi. Pengaruh Merkuri dan Selenium terhadap Perubahan Histopatologi Ginjal Mencit. Fakultas Kedokteran Hewan. Universtas Airlangga.
- Pudji, L. 1987. Metode Keluarga Berencana untuk Pria. Cermin Dunia Kedokteran, no. 43.
- Rahayu, S. 1994. Aktifitas Antifertilitas Ekstrak Biji Lamtoro Gung dan Pengaruhnya terhadap Ginjal dan Hepar Mencit. Tesis. Pascasarjana. Universitas Airlangga.
- Ressang, A.A. 1984. Patologi Khusus Veteriner. Denpasar Bali Cattle Disease Inventigation Unit. Hal. 47-52, 94, 104.
- Robbin, S.L. and V. Kumar. 1992. Buku Ajar Patologi I. Edisi ke empat.
- Setiawan, A. I. dan Trisnawati, Y. 1993. Pare dan Labu. Penerbit Swadaya. Jakarta. Hal. 17.

- Siegel, Sidney. 1990. Statistik Non Parametrik Untuk Ilmu-Ilmu Sosial. Edisi IV. PT. Gramedia. Jakarta. Hal 230-239.
- Soetomo, S. 1986. Bertanam Sayuran Buah. Badan Penerbit Karya Tani. Jakarta. Hal. 18.
- Steenis, Van C. G. G. J. 1975. Flora Untuk Sekolah di Indonesia. Pradnya Paramita. Jakarta.
- Suharti, K.S. 1985. Provil Metabolik Kontrasepsi Oral. Kumpulan Naskah Simposium Kontrasepsi Steriod Nabati. Fakultas Kedokteran Universitas Indonesia.
- Sulabda IN. 1995. Efek Pemberian Sulfamethoksasol Terhadap Histologi Hepar, Ginjal, Gambaran Kromosom Induk dan Keadaan Fetus Mencit (*Mus musculus*). Tesis. Pascasarjana. Universitas Airlangga.
- Tadjudin, M. K. 1978. Penelitian Kontrasepsi Dalam Metodologi Penelitian Kesehatan Reproduksi. Edisi I. Consortium Medical Science.
- Thomas, C. 1988. Histopatology. Edisi 10. Jakarta. EGC. p. 153-157, 215-217.
- Vipin, K.G, Willian R. Nes. 1986. Occurrence of 5-sterol in Plant Producing Predominantly 7- sterol, Studies on the Sterol Composition of Six Curcubitaceae Seeds, Jurnal of Phitochemistry, vol.25, no.11.
- Wijaya Kusuma, H. M. 1994. Tanaman Berkasiat Obat di Indonesia. PT. Gramedia. Jakarta. Hal. 30-31.
- Yantini, A. 1989. Isolasi dan Karakterisasi Sterol dari Biji *Luffa cylindrica* Roem. Skripsi. Fakultas Farmasi. Universitas Airlangga Surabaya.

Lampiran

Lampiran I: Perhitungan Dosis Ekstrak Biji Blustru yang Diberikan pada Mencit secara Oral pada Berbagai Perlakuan.

Menurut Wijaya Kusuma (1994) dosis biji Blustru tersebut dalam keadaan kering adalah 10 gram untuk manusia. Untuk menentukan dosis bagi hewan coba dipakai dengan menggunakan tabel perbandingan luas permukaan antar manusia dan spesies hewan laboratorium (Ghosh and Schild, 1971). Dikonversikan ke mencit sebagai berikut:

$$= 10 \text{ gram} \times 0,0026$$

$$= 10.000 \text{ mg} \times 0,0026$$

$$= 26 \text{ mg} / 20 \text{ gram berat badan mencit}$$

Dalam penelitian ini berat rata-rata mencit jantan yang digunakan adalah 28 gram maka dosis biji blustru kering untuk mencit tersebut adalah:

$$= 28 / 20 \times 26 \text{ mg}$$

$$= 0,036 \text{ gram} / 28 \text{ gram berat badan mencit jantan}$$

Hasil ekstraksi yang dilakukan di Laboratorium Makanan Ternak adalah 10,33 gram dari 265,63 gram biji Blustru kering, maka perbandingan hasil ekstraksi dengan berat bubuk biji Blustru kering: 0,04.

Dosis efektif ekstrak biji Blustru untuk mencit berat badan 28 gram ialah:

$$= \frac{10,33}{265,63} \text{ gram} \times 0,036 \text{ gram}$$

$$= 0,0014 \text{ gram} / 28 \text{ gram bb mencit}$$

$$= 1,4 \text{ mg} / 28 \text{ gram bb mencit}$$

$$= 50 \text{ mg} / \text{kg bb mencit}$$

Dengan cara logaritma:

$$P_0 = \log 1 \times 50 \text{ mg} / \text{kg bb} = 0$$

$$P_1 = \log 3 \times 50 \text{ mg} / \text{kg bb} = 25 \text{ mg} / \text{kg bb mencit}$$

$$P_2 = \log 10 \times 50 \text{ mg} / \text{kg bb} = 50 \text{ mg} / \text{kg bb mencit}$$

$$P_3 = \log 100 \times 50 \text{ mg} / \text{kg bb} = 100 \text{ mg} / \text{kg bb mencit}$$

Jadi dosis yang digunakan adalah sebagai berikut:

$$P_0 = 0 \text{ mg} / \text{kg bb mencit}$$

$$P_1 = 25 \text{ mg} / \text{kg bb mencit}$$

$$P_2 = 50 \text{ mg} / \text{kg bb mencit}$$

$$P_3 = 100 \text{ mg} / \text{kg bb mencit}$$

Perhitungan Pemberian Ekstrak Per Hari sebagai berikut:

Perlakuan I : dosis 25 mg / kg bb mencit

Ekstrak yang dibutuhkan 6 ulangan dalam satu kali perlakuan: $28 /$

$$1000 \times 25 \times 6 = 4,2 \text{ mg ekstrak biji Blustru.}$$

CMC Na 0,5% (berarti 0,5 gram CMC Na dalam 100 ml aquadest)

yang dibutuhkan: $0,3 \times 6 = 1,8 \text{ ml CMC Na } 0,5\%$.

Perlakuan II : dosis 50 mg / kg bb mencit

Ekstrak yang dibutuhkan untuk 6 ulangan dalam satu kali perlakuan:

$$28 / 1000 \times 50 \text{ mg} \times 6 = 8,4 \text{ mg ekstrak biji Blustru.}$$

CMC Na 0,5% yang dibutuhkan : $0,3 \times 6 = 1,8 \text{ ml CMC Na } 0,5\%$.

Perlakuan III: dosis 100 mg / kg bb mencit

Ekstrak yang dibutuhkan untuk 6 ulangan dalam satu kali perlakuan:

$28 / 1000 \times 100 \text{ mg} \times 6 = 16,8 \text{ mg}$ ekstrak biji Blustru. CMC Na 0,5% yang dibutuhkan: $0,3 \times 6 = 1,8 \text{ ml}$ CMC Na 0,5%.

Tabel 3: Perbandingan Luas Permukaan Antar Manusia dan Spesies Hewan Laboratorium (Ghosh and Schild, 1971):

SURFACE AREA RATIOS OF SOME COMMON LABORATORY SPECIES AND MAN								
	20g Mouse	200g Rat	400g Guinea pig	1.5kg Rabbit	2kg Cat	4kg Monkey	12kg Dog	70kg Man
20g Mouse	<u>1.0</u>	7.0	12.25	27.8	29.7	64.1	124.2	387.9
200g Rat	0.14	<u>1.0</u>	1.74	3.9	4.2	9.2	17.8	56.0
400g Guinea pig	0.08	0.57	<u>1.0</u>	2.25	2.4	5.2	10.2	31.5
1.5kg Rabbit	0.04	0.25	0.44	<u>1.0</u>	1.08	2.4	4.5	14.2
2kg Cat	0.03	0.23	0.41	0.92	<u>1.0</u>	2.2	4.1	13.0
4kg Monkey	0.016	0.11	0.19	0.42	0.45	<u>1.0</u>	1.9	6.1
12kg Dog	0.008	0.06	0.10	0.22	0.24	0.52	<u>1.0</u>	3.1
70kg Man	0.0026	0.018	0.031	0.07	0.076	0.16	0.32	<u>1.0</u>

Lampiran 2 : Hasil Pemeriksaan Histopatologis Hati

Perlakuan	Ulangan	KRITERIA					Σ Nilai
		A	B	C	D	E	Skor
P ₀	1	-	-	-	-	-	0
	2	-	-	-	-	-	0
	3	-	-	-	-	-	0
	4	-	-	-	-	-	0
	5	+	-	-	-	-	1
	6	-	-	-	-	-	0
P ₁	1	-	-	-	-	-	0
	2	-	-	-	-	-	0
	3	-	-	-	-	-	0
	4	+	-	-	-	-	1
	5	+	-	-	-	-	1
	6	-	-	-	-	-	0
P ₂	1	+	+	-	-	-	3
	2	+	+	-	-	-	3
	3	+	+	+	-	-	6
	4	+	+	+	+	-	10
	5	+	+	+	-	-	6
	6	+	+	+	-	-	6
P ₃	1	+	+	+	+	+	15
	2	+	+	+	+	+	15
	3	+	+	+	+	+	15
	4	+	+	+	+	-	10
	5	+	+	+	+	-	10
	6	+	+	+	+	+	15

Keterangan :

- A = Kongesti
- B = Degenerasi keruh
- C = Degenerasi hidrofik
- D = Degenerasi lemak
- E = Nekrosis fokal

Lampiran 3 : Hasil Pemeriksaan Histopatologis Ginjal

Perlakuan	Ulangan	KRITERIA								Σ Nilai
		A	B	C	D	E	F	G	H	Skor
P ₀	1	+	+	+	-	-	-	-	-	3
	2	-	-	-	-	-	-	-	-	0
	3	-	-	-	-	-	-	-	-	0
	4	-	-	-	-	-	-	-	-	0
	5	-	-	-	-	-	-	-	-	0
	6	+	-	-	-	-	-	-	-	1
P ₁	1	+	+	-	+	+	-	-	-	4
	2	+	+	-	-	-	-	-	-	2
	3	+	+	-	+	-	-	-	-	3
	4	+	+	-	-	-	+	-	-	3
	5	+	+	-	+	-	+	-	-	4
	6	+	+	-	-	-	-	-	-	2
P ₂	1	+	+	+	+	+	-	-	-	5
	2	+	+	+	+	+	-	-	-	5
	3	+	+	+	-	+	-	-	-	4
	4	+	+	+	-	+	-	-	-	4
	5	+	+	+	+	+	-	-	-	5
	6	+	+	+	+	+	-	-	-	5
P ₃	1	+	+	+	+	+	+	-	-	6
	2	+	+	+	+	+	+	+	-	7
	3	+	+	+	+	+	+	+	-	7
	4	+	+	+	+	+	+	+	-	7
	5	+	+	+	+	+	+	+	+	8
	6	+	+	+	+	+	+	+	+	8

Keterangan :

- A = Degenerasi pada tubulus contortus proksimalis
- B = Nekrosis tubulus contortus proksimalis
- C = Nekrosis glomerulus
- D = Infiltrasi sel leukosit interstitial
- E = Nekrosis tubulus contortus distalis
- F = Hialin cast sel tubulus
- G = Perdarahan glomerulus
- H = Infiltrasi sel leukosit glomerulus

Lampiran 4 : Analisis Statistik Skor Pemeriksaan Histopatologis pada Hati dengan Empat Kelompok Perlakuan Hewan Coba

N	P ₀		P ₁		P ₂		P ₃	
	S	R	S	R	S	R	S	R
1	0	5	0	5	3	13,5	15	22,5
2	0	5	0	5	3	13,5	15	22,5
3	0	5	0	5	6	16	15	22,5
4	0	5	1	11	10	19	10	19
5	1	11	1	11	6	16	10	19
6	0	5	0	5	6	16	15	22,5
Σ R	36		42		94		128	
R	6		7		15,67		21,33	
Σ R ²	1296		1764		8836		16384	

Keterangan :

P₀ = Kelompok kontrol (tanpa pengobatan)

P₁ = Kelompok perlakuan dengan dosis 25 mg/kg BB secara oral

P₂ = Kelompok perlakuan dengan dosis 50 mg/kg BB secara oral

P₃ = Kelompok perlakuan dengan dosis 100 mg/kg BB secara oral

N = Jumlah ulangan

S = Skor

R = Rank

Σ R = Jumlah rank

R = Rata-rata rank

Penilaian peringkat (rank) diperoleh dari menjumlah nilai skor pemeriksaan histopatologis hati terkecil lalu dibagi dengan banyaknya nilai derajat perubahan histopatologis hati tersebut maka diperoleh :

Nilai skor pemeriksaan histopatologis hati 0 mempunyai rank :

$$\frac{1 + 2 + 3 + \dots + 9}{9} = 5$$

Nilai skor pemeriksaan hitopatologis hati +1 mempunyai rank :

$$\frac{10 + 11 + 12}{3} = 11$$

Nilai skor pemeriksaan hitopatologis hati +3 mempunyai rank :

$$\frac{13 + 14}{2} = 13,5$$

Nilai skor pemeriksaan hitopatologis hati +6 mempunyai rank :

$$\frac{15 + 16 + 17}{3} = 16$$

Nilai skor pemeriksaan hitopatologis hati +10 mempunyai rank :

$$\frac{18 + 19 + 20}{3} = 19$$

Nilai skor pemeriksaan hitopatologis hati +15 mempunyai rank :

$$\frac{21 + 22 + 23 + 24}{4} = 22,5$$

$$H_{hitung} = \frac{12}{N(N+1)} \sum_{j=1}^K \frac{R_j^2}{n_j} - 3(N+1)$$

N = Jumlah sampel keseluruhan

n = Jumlah ulangan setiap perlakuan

$$H_{hitung} = \frac{12}{24(25)} \frac{(1296 + 1764 + 8836 + 16384)}{6} - 3(25)$$

$$= 19,27$$

Karena dalam data terdapat angka kembar, maka dimasukkan rumus:

$$H_{hitung \text{ terkorksi}} = \frac{H_{hit}}{1 - \frac{T}{N^3 - N}}$$

$T = t^3 - t$; $t =$ jumlah angka kembar

$$T_0 = 9^3 - 9 = 720$$

$$T_1 = 3^3 - 3 = 24$$

$$T_3 = 2^3 - 2 = 6$$

$$T_6 = 3^3 - 3 = 24$$

$$T_{10} = 3^3 - 3 = 24$$

$$T_{15} = 4^3 - 4 = 60$$

$$\text{Total} = 858$$

$$H_{\text{hitung terkoreksi}} = \frac{19,27}{1 - \frac{858}{24^3 - 24}} = 20,54$$

Untuk db (3) = H tabel (0,05) = 7,82

H hitung > H tabel

Ada perbedaan yang bermakna antar perlakuan ($p < 0,05$).

Untuk mengetahui perbedaan antar perlakuan dilanjutkan dengan uji Z.

$$\text{Rumus } |T_1 - T_2| > Z_{\alpha/k} (k-1) \sqrt{N \frac{(N+1)}{12} \left(\frac{1}{n_1} + \frac{1}{n_2} \right)}$$

$$= Z_{0,05/4} (3) \sqrt{24 \frac{(25)}{12} \left(\frac{1}{6} + \frac{1}{6} \right)}$$

$$= 0,0042 \times \sqrt{16,67}$$

$$= 2,63 \times 4,083$$

$$= 10,74$$

Lampiran 5: Analisis Statistik Skor Pemeriksaan Histopatologis Ginjal Empat Kelompok Perlakuan Hewan Coba.

N	P ₀		P ₁		P ₂		P ₃	
	S	R	S	R	S	R	S	R
1	3	9	4	12,5	5	16,5	6	19
2	0	2,5	2	6,5	5	16,5	7	21
3	0	2,5	3	9	4	12,5	7	21
4	0	2,5	3	9	4	12,5	7	21
5	0	2,5	4	12,5	5	16,5	8	23,5
6	1	5	2	6,5	5	16,5	8	23,5
Σ R	24		56		91		129	
R	4		9,33		15,17		21,5	
Σ R ²	576		3136		8281		16641	

Keterangan :

P₀ = Kelompok kontrol (tanpa pengobatan)

P₁ = Kelompok perlakuan dengan dosis 25 mg/kg BB secara oral

P₂ = Kelompok perlakuan dengan dosis 50 mg/kg BB secara oral

P₃ = Kelompok perlakuan dengan dosis 100 mg/kg BB secara oral

N = Jumlah ulangan

S = Skor

R = Rank

Σ R = Jumlah rank

R = Rata-rata rank

Penilaian peringkat (rank) diperoleh dari menjumlah nilai skor pemeriksaan histopatologis ginjal terkecil lalu dibagi dengan banyaknya nilai derajat perubahan histopatologis ginjal tersebut maka diperoleh :

Nilai skor pemeriksaan histopatologis ginjal 0 mempunyai rank :

$$\frac{1 + 2 + 3 + 4}{4} = 2,5$$

Nilai skor pemeriksaan hitopatologis ginjal +1 mempunyai rank :

$$\frac{5}{1} = 5$$

Nilai skor pemeriksaan hitopatologis ginjal +2 mempunyai rank :

$$\frac{6 + 7}{2} = 6,5$$

Nilai skor pemeriksaan hitopatologis ginjal +3 mempunyai rank :

$$\frac{8 + 9 + 10}{3} = 9$$

Nilai skor pemeriksaan hitopatologis ginjal +4 mempunyai rank :

$$\frac{11 + 12 + 13 + 14}{4} = 12,5$$

Nilai skor pemeriksaan hitopatologis ginjal +5 mempunyai rank :

$$\frac{15 + 16 + 17 + 18}{4} = 16,5$$

Nilai skor pemeriksaan histopatologis ginjal +6 mempunyai rank :

$$\frac{19}{1} = 19$$

Nilai skor pemeriksaan histopatologis ginjal +7 mempunyai rank :

$$\frac{20 + 21 + 22}{3} = 21$$

Nilai skor pemeriksaan hitopatologis ginjal +8 mempunyai rank :

$$\frac{23 + 24}{2} = 23,5$$

$$H_{hitung} = \frac{12}{N(N+1)} \sum_{j=1}^K \frac{R_j^2}{n_j} - 3(N+1)$$

N = Jumlah sampel keseluruhan

n = Jumlah ulangan setiap perlakuan

$$H_{hitung} = \frac{12}{24(25)} \frac{(576 + 3136 + 8281 + 16641)}{6} - 3(25)$$

$$= 20,45$$

Karena dalam data terdapat angka kembar, maka dimasukkan rumus:

$$H_{hitung \text{ terkorksi}} = \frac{H_{hit}}{1 - \frac{T}{N^3 - N}}$$

$T = t^3 - t$; t = jumlah angka kembar

$$T_0 = 4^3 - 4 = 60$$

$$T_1 = 1^3 - 1 = 0$$

$$T_2 = 2^3 - 2 = 6$$

$$T_3 = 3^3 - 3 = 24$$

$$T_4 = 4^3 - 4 = 60$$

$$T_5 = 4^3 - 4 = 60$$

$$T_6 = 1^3 - 1 = 0$$

$$T_7 = 3^3 - 3 = 24$$

$$T_8 = 2^3 - 2 = 6$$

Total = 240

$$H_{\text{hitung terkoreksi}} = \frac{20,45}{1 - \frac{240}{24^3 - 24}} = 20,87$$

Untuk db (3) = H tabel (0,05) = 7,82

H hitung > H tabel

Ada perbedaan yang bermakna antar perlakuan ($p < 0,05$).

Untuk mengetahui perbedaan antar perlakuan dilanjutkan dengan uji Z.

$$\text{Rumus } |T_1 - T_2| > Z_{\alpha/k} (k-1) \sqrt{N \frac{(N+1)}{12} \left(\frac{1}{n_1} + \frac{1}{n_2} \right)}$$

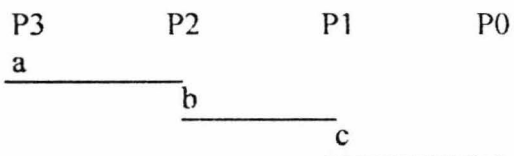
$$= Z_{0,05/4} (3) \sqrt{24 \frac{(25)}{12} \left(\frac{1}{6} + \frac{1}{6} \right)}$$

$$= 0,0042 \times \sqrt{16,67}$$

$$= 2,63 \times 4,082$$

$$= 10,74$$

Perlakuan	Rata-rata (x)	Beda			Uji Z 0,05
		(x-P0)	(x-P1)	(x-P2)	
P ₃	21,5 ^a	17,5*	12,17*	6,33	10,74
P ₂	15,17 ^{ab}	11,17*	5,84	-	
P ₁	9,33 ^{bc}	5,33	-	-	
P ₀	4,00 ^c	-	-	-	



Lampiran 6: Pembuatan Sediaan Histologis Hati dan Ginjal.

Pembuatan sediaan histologis dilakukan dengan tahap-tahap sebagai berikut :

1. Fiksasi dan Pencucian

Tujuan : Mematikan kuman dan bakteri.

Menjadikan jaringan lebih keras sehingga menjadi lebih mudah dipotong.

Reagan : Larutan Formalin 10%

Cara Kerja : Setelah hati dan ginjal diambil, dimasukkan dalam larutan Formalin 10% sekurang-kurangnya 24 jam dan kemudian dilakukan pencucian dengan air kran yang mengalir selama setengah jam.

2. Dehidrasi dan Clearing

Tujuan : Untuk menarik air dari jaringan, membersihkan dan menjernihkan

Reagen : Alkohol 70%, 80%, 95%, 96%, alkohol absolut I, II, III, Xylol I dan Xylol II.

Cara Kerja : Hati dan ginjal yang telah dicuci dengan air kran selama setengah jam. Dimasukkan ke dalam reagen dengan urutan alkohol 70%, 80%, 95%, 96%, alkohol absolut I, II, III, xylol I dan xylol II masing- masing setengah jam.

3. Infiltrasi (embedding)

- Tujuan : Untuk memfiltrasi jaringan dengan parafin akan menembus ruangan antar sel dan dalam sel sehingga lebih tahan terhadap pemotongan.
- Reagen : Parafin I dan parafin II
- Cara kerja : Jaringan dimasukkan dalam parafin I yang mencair, kemudian dimasukkan dalam oven selama setengah jam selanjutnya dimasukkan dalam parafin II dan oven selama setengah jam pada suhu 60°C.

4. Pembuatan Balok Parafin

- Tujuan : Supaya jaringan mudah dipotong
- Reagen : parafin cair
- Cara Kerja : Beberapa cetakan besi yang sebelumnya diolesi gliserin dengan maksud untuk mencegah melekatnya parafin pada cetakan, kemudian organ dimasukan dengan pinset ke dalam cetakan dan menunggu sampai parafin membeku.

5. Pengirisan dengan Mikrotom

- Tujuan : Untuk memotong jaringan setipis mungkin agar dilihat di bawah mikroskop.
- Alat : Mikrotom
- Cara kerja : Organ yang telah diblocking, diletakkan pada holder, kemudian di potong dengan mikrotom

setebal 5-7 mikron diambil dan dicelupkan dalam air hangat dengan suhu 20 °C sampai 30 °C agar jaringan mudah mengembang dengan baik, selanjutnya pada gelas obyek yang sebelumnya telah diolesi egg albumin, kemudian di keringkan diatas hot plate.

6. Pewarnaan

Tujuan : Memudahkan melihat perubahan jaringan. Digunakan pewarnaan Hematoxilin Eosin (HE). Dengan pewarnaan HE dapat dilihat dengan jelas bentuk-bentuk masing-masing selnya, sitoplasma berwarna merah sedangkan intinya berwarna biru.

Cara Kerja : Pewarnaan HE dilakukan dengan metode Harris, dengan cara sebagai berikut :

- jaringan yang telah kering dimasukkan ke dalam xylol I, selama tiga menit dengan tempat khusus dan selama satu menit pada xylol II, kemudian alkohol absolut I dan II, alkohol 96%, 80%, 70%, dan air kran masing-masing satu menit. Selanjutnya organ dimasukkan kedalam zat warna Hematoxylin selama 5-10 menit, air kran 2-5 menit, asam

alkohol 3-10 celupan, air kran 4-7 celupan, amoniak enam celupan, air kran 10 menit, aquades secukupnya, zat warna eosin selama 15 detik, kemudian dimasukkan lagi ke dalam aquades. Selanjutnya dimasukkan dalam alkohol 70%, 80%, masing-masing selama 30 detik, alkohol 96%, alkohol absolut I dan II selama 1 menit, yang terakhir dimasukkan xylol I dan II masing-masing selama 1-2 menit dan selanjutnya dibersihkan dari sisa-sisa pewarnaan.

7. Mounting

Cara Kerja : Penutupan gelas obyek dengan gelas penutup yang sebelumnya telah ditetesi Canada Balsem.

Lampiran 7: Pembuatan Ekstrak Biji Blustru

Biji Blustru kering didapat dari Desa Ngumber, Kecamatan Kepuh Baru, Kabupaten Bojonegoro. Pembuatan ekstrak dilakukan di laboratorium Makanan Ternak, Fakultas Kedokteran Hewan Universitas Airlangga.

Pertama-tama biji Blustru yang sudah kering digiling dengan penggiling Arthur H. Thomas, sehingga didapat bubuk yang halus. Bubuk biji Blustru sebanyak 265,63 gram dibasahi dengan cairan penyari (alkohol 96 %) kurang lebih 500 cc kemudian mengaduk dan meratakan pembasahan sehingga seluruh bagian bubuk biji Blustru benar-benar terbasahi. Bubuk biji Blustru yang sudah dibasahi dipindahkan ke dalam alat Soxhlet. Selanjutnya menuangkan cairan penyari secukupnya hingga bahan terendam semua dan membiarkan selama 24 jam, setelah itu melakukan penampungan ekstrak cair dengan kecepatan konstan. Kemudian menambahkan pelarut bila bagian atas bahan alat Soxhlet sudah mulai tidak terendam lagi. Penampungan ekstrak cair dihentikan bila telah didapatkan sampai 80 % dari jumlah pelarut. Sisa didalam alat Soxhlet diperas dengan kain flanel dan ditambahkan pada penampungan pertama. Kemudian menghitung jumlah ekstrak yang didapat.

Ekstrak cair disimpan dalam wadah tertutup selama dua hari. Pemekatan dilakukan dengan alat pemekat, selanjutnya dimasukkan ke dalam oven sampai didapatkan ekstrak kental. Setelah itu dimasukkan ke dalam waterbath, sehingga ekstrak yang dihasilkan sebanyak 10,33 gram (Hariani, 1996).