

**HUBUNGAN ASUPAN *BLACK GARLIC* TERHADAP GAMBARAN
HISTOPATOLOGI GINJAL TIKUS PUTIH (*Rattus norvegicus*) Galur
Sprague-Dawley YANG DIINDUKSI MINYAK JELANTAH**

(Skripsi)

Oleh:

Dimas



**PENDIDIKAN DOKTER
FAKULTAS KEDOKTERAN
UNIVERSITAS LAMPUNG
BANDAR LAMPUNG
2022**

**HUBUNGAN ASUPAN *BLACK GARLIC* TERHADAP GAMBARAN
HISTOPATOLOGI GINJAL TIKUS PUTIH (*Rattus norvegicus*) Galur
Sprague-Dawley YANG DIINDUKSI MINYAK JELANTAH**

Oleh

Dimas

Skripsi

**Sebagai Salah Satu Syarat Untuk Mencapai Gelar
SARJANA KEDOKTERAN**

Pada

**Program Studi Pendidikan Dokter
Fakultas Kedokteran
Universitas Lampung**



**PROGRAM STUDI PENDIDIKAN DOKTER
FAKULTAS KEDOKTERAN
UNIVERSITAS LAMPUNG
BANDAR LAMPUNG
2022**

ABSTRACT

RELATION OF BLACK GARLIC TO WHITE RATS (*Rattus norvegicus*) *Sprague-Dawley* LINE WITH KIDNEY HISTOPATOLOGY IMAGING INDUCED BY ORAL REUSED COOKING OIL

By
Dimas

Background: Reused cooking oil taken orally contains toxic substance were induced kidney cells damage. *Black garlic* contains antioxidant matters that giving substantial advantages of anti-toxic activity.

Method: This study is an experimental study using posttest only control group design to find is there any relation of *black garlic* usage evaluated by analyzed rats kidney histopatology were induced by oral reused cooking oil. There was twenty five rats divided into 5 groups: aquades control group (K1), reused cooking oil control group (K2), 200mg/kgBW group (P1), 400mg/kgBW group (P2), and 800mg/kgBW group of *black garlic* (P3). The microscopical aspect such as cellular infiltration, edema, and necrosis were analyzed to evaluate kidney histopatology of these groups. Data was analyzed with *Oneway-ANOVA* and *Post-hoc LSD*.

Result: *One-Way ANOVA* statistical result obtained $p=0,000$ and group P3 obtain lowest histopatology damage compared to the P1 and P2 groups.

Conclusion: There is an relation of *black garlic* to white rats (*Rattus norvegicus*) *sprague-dawley* line with kidney histopatology imaging induced by oral reused cooking oil and group with 800mg/kgBW *black garlic* has the lowest histopatology damage compared to others treatment group.

Keywords: *Black garlic*, kidney, reused cooking oil

ABSTRAK

HUBUNGAN ASUPAN *BLACK GARLIC* TERHADAP GAMBARAN HISTOPATOLOGI GINJAL TIKUS PUTIH (*Rattus norvegicus*) Galur *Sprague-Dawley* YANG DIINDUKSI MINYAK JELANTAH

Oleh
Dimas

Latar Belakang: Minyak jelantah yang dikonsumsi secara oral mengandung zat toksik yang dapat menyebabkan kerusakan sel ginjal. *Black garlic* mengandung zat antioksidan yang dapat memberikan efek aktivitas anti-toksik.

Metode: Penelitian ini merupakan penelitian *true* eksperimental menggunakan *posttest only control group design* untuk mencari apakah terdapat hubungan asupan *black garlic* terhadap gambaran histopatologi ginjal tikus putih (*Rattus norvegicus*) galur *Sprague-dawley* yang diinduksi minyak jelantah. Terdapat 25 tikus yang dibagi menjadi 5 kelompok: kelompok kontrol dengan akuades (K1), kelompok kontrol dengan minyak jelantah (K2), kelompok 200mg/kgBB (P1), 400mg/kgBB (P2), dan 800mg/kgBB dari dosis *black garlic* (P3). Aspek mikroskopis seperti infiltrasi seluler, edema, and nekrosis dinilai untuk mengevaluasi histopatologi ginjal. Data dilakukan uji statistik dengan *One-Way ANOVA* dan *PostHoc LSD*.

Hasil: Berdasarkan hasil uji statistik *One-Way ANOVA* didapatkan nilai $p=0,000$ dan kelompok P3 memiliki kerusakan histopatologi ginjal terendah dibandingkan dengan kelompok P1 dan P2.

Simpulan: Terdapat hubungan asupan *black garlic* terhadap gambaran histopatologi ginjal tikus putih (*Rattus norvegicus*) galur *Sprague-dawley* yang diinduksi minyak jelantah dan kelompok dengan *black garlic* dosis 800mg/kgBB memiliki kerusakan histopatologi ginjal terendah dibandingkan dengan kelompok perlakuan lainnya.

Kata Kunci: *Black garlic*, ginjal, minyak jelantah

Judul Skripsi : **HUBUNGAN ASUPAN *BLACK GARLIC* TERHADAP GAMBARAN HISTOPATOLOGI GINJAL TIKUS PUTIH (*Rattus norvegicus*) Galur *Sprague-Dawley* YANG DIINDUKSI MINYAK JELANTAH**

Nama Mahasiswa : **Dimas**

Nomor Pokok Mahasiswa : 1658011050


Program Studi : Pendidikan Dokter

Fakultas : Kedokteran

MENYETUJUI

1. Komisi Pembimbing


dr. Rizki Hanriko, Sp.PA.
NIP 19790701 200812 1 003


dr. Putu Ristyning A. S., Sp.PK(K), M.Kes.
NIP 2314017622201

2. Dekan Fakultas Kedokteran


Prof. Dr. Dyah Wulan Samekar RW, S.K.M., M.Kes.
NIP 19720628 199702 2 001

MENGESAHKAN

1. Tim Penguji

Ketua : dr. Rizki Hanriko, Sp.PA.



**Sekretaris : dr. Putu Ristyning Ayu Sangging,
Sp.PK(K), M.Kes.**



**Penguji
Bukan Pembimbing : dr. Waluyo Rudiyanto, S.Ked., M.Kes.**



2. Dekan Fakultas Kedokteran

**Prof. Dr. Dyah Wulan Sumekar RW, S.K.M., M.Kes.
NIP 19720628 199702 2 001**



Tanggal Lulus Ujian Skripsi : 20 Juli 2022

SURAT PERNYATAAN

Saya yang bertanda tangan di bawah ini:

Nama : Dimas

Nomor Pokok Mahasiswa : 1658011050

Tempat Tanggal Lahir : Bandar Lampung, 2 Maret 1997

Alamat : Jl. Pangeran Antasari Villa Citra 2 Blok N1 No. 23
Jagabaya 3, Wayhalim, Bandar Lampung

Dengan ini menyatakan bahwa skripsi dengan judul “Hubungan Asupan Black Garlic Terhadap Gambaran Histopatologi Ginjal Tikus Putih (*Rattus norvegicus*) Galur Sprague-Dawley Yang Diinduksi Minyak Jelantah” adalah benar hasil karya penulis, bukan menjiplak hasil karya orang lain. Jika dikemudian hari ternyata ada hal yang melanggar dari ketentuan akademik universitas, maka saya akan bersedia bertanggung jawab dan diberi sanksi sesuai dengan peraturan yang berlaku.

Demikian surat pernyataan ini saya buat dengan sebenar-benarnya. Atas perhatiannya saya mengucapkan terima kasih.

Bandar Lampung, 27 Mei 2022



Dimas

RIWAYAT HIDUP

Penulis dilahirkan di kota Bandar Lampung pada 2 maret 1997, sebagai anak kedua dari tiga bersaudara pasangan Bapak Rusli amin dan Ibu Siti Rohmah. Penulis memiliki satu kakak Perempuan yang bernama Desla Citra Ayu dan memiliki satu adik laki-laki yang bernama M Rizky Ananda.

Pendidikan Taman Kanak-kanak (TK) diselesaikan di TK Taman Siswa Bandar Lampung pada tahun 2003, Sekolah Dasar (SD) diselesaikan di SD Taman Siswa Bandar Lampung pada tahun 2009, Sekolah Menengah Pertama (SMP) diselesaikan di SMP Darma Bangsa Bandar Lampung pada tahun 2012, dan Sekolah Menengah Atas (SMA) diselesaikan di SMP Darma Bangsa Bandar Lampung pada tahun 2015.

Tahun 2016, penulis terdaftar sebagai mahasiswi Fakultas Kedokteran Universitas Lampung melalui jalur Seleksi Mandiri Perguruan Tinggi Negeri Tahun 2016 Selama menjadi mahasiswa, penulis pernah terdaftar pada organisasi PMPATD PAKIS 2017-2018 dan 2018-2019. Penulis pernah melakukan Kuliah Kerja Nyata (KKN) di Desa Ojolali, Kecamatan Blambangan Umpu, Kabupaten Waykanan.

SANWACANA

Puji dan syukur penulis haturkan kepada Allah SWT yang Maha Pengasih, Maha Penyayang, Maha Kuasa, pemilik seluruh alam beserta isinya, yang memberikan segala nikmat dan karunia-Nya selama penyusunan skripsi ini sehingga penulis dapat menyelesaikan skripsi yang berjudul “Hubungan Asupan *Black Garlic* Terhadap Gambaran Histopatologi Ginjal Tikus Putih (*Rattus Norvegicus*) Galur *Sprague-Dawley* Yang Diinduksi Minyak Jelantah”

Selama proses penulisan skripsi ini, penulis mendapatkan banyak bantuan, saran, bimbingan, dan kritik dari berbagai pihak. Maka dengan segala kerendahan hati penulis ingin menyampaikan rasa terimakasih yang mendalam kepada:

1. Allah SWT yang senantiasa memberikan limpahan rahmat dan karunia-Nya sehingga penulis dapat diberikan nikmat sehat dan dapat menjalani segala aktivitas dan selalu memberikan kekuatan untuk penulis menyelesaikan skripsi ini.
2. Prof. Dr. Karomani, M. Si., selaku Rektor Universitas Lampung.
3. Dr. Dyah Wulan Sumekar RW, S.K.M., M. Kes, selaku Dekan Fakultas Kedokteran Universitas Lampung.
4. dr. Rizki Hanriko, Sp. PA., selaku Pembimbing I yang senantiasa memberikan masukan serta bimbingan, dan motivasi yang sangat berharga bagi penulis, terima kasih atas waktu dan pelajaran yang sudah diberikan.

5. dr. Putu Ristyaning Ayu Sangging, Sp.PK(K)., M.Kes., selaku Pembimbing II yang selalu memberikan saran dan bimbingan kepada penulis, serta senantiasa memberikan motivasi serta perhatian kepada penulis.
6. dr. Waluyo Rudiyanto, S. Ked., M. Kes., selaku Penguji Utama yang telah memberikan saran, ilmu, dan bimbingan yang amat berharga kepada penulis.
7. Dr. dr. Susianti, M.Sc., selaku Pembimbing Akademik yang senantiasa memberikan bimbingan, motivasi, dan masukan selama proses perkuliahan.
8. Seluruh dosen, staf, dan karyawan Fakultas Kedokteran Universitas Lampung atas ilmu, waktu, bantuan yang telah diberikan selama proses perkuliahan dan penyusunan skripsi.
9. Kedua orangtuaku tercinta, Papa Rusli amin dan mama Siti Rohmah yang sangat penulis cintai dan sayangi, yang tiada henti selalu mendoakan, mendukung, mendidik, memberikan kasih sayang, perhatian, serta semangat sepanjang waktu, yang selalu menyertai setiap langkah penulis.
10. Kakak Desla Citra Ayu yang senantiasa mendoakan, menemani, memberi motivasi serta memberikan kasih sayang kepada penulis dalam kehidupan ini.
11. Adik M. Rizki ananda yang senantiasa mendoakan, menemani, men
motivasi serta memberikan kasih sayang kepada penulis dalam kehidupan ini.
12. Keluarga besar Bapak Rusli Amin dan Ibu Siti Rohmah yang senantiasa mendoakan, memberi dukungan dan motivasi kepada penulis.
13. Mas Bayu, pak Bukhori, seluruh staf Laboratorium Histopatologi Anatomi dan Animal house yang telah memberikan izin dan dengan baik hati bersedia meluangkan waktunya untuk membantu penulis dalam pengambilan data selama penelitian skripsi ini.

14. Jihan Audini Karim. Terimakasih karena telah menjadi sumber inspirasi, penyemangat, pemberi solusi terbaik, dan tulus membantu dalam banyak hal.
15. Sahabatku tersayang Ikhlasul Amal, Dave Avi Pratama, Muhammad Iqbal, M. Rizky Hardiansyah, Muhammad Kamal, Rizky Lazuardi, I Gede Arka dan Adon yang selalu menemani dalam suka duka, mendoakan dan memberikan motivasi serta bantuan yang amat berharga kepada penulis.
16. Sahabat Sepermainan Mahardika raka, Naymo, Aryadi, Alung, Panjul, Okto Berlin, Gebri, Syahrul Mubarak, alm Rahmat Mochtar, Okta Prima, Kalvari, Audrey, Hafiz, Ayos dan Ridho yang selalu memberikan motivasi, bantuan serta menemani hari-hari selama perkuliahan kepada penulis.
17. Sahabat seperjuangan selama perkuliahan Bachtiar Yusuf Habibi, Syachroni Ibrahim, Rifadly Yusril, Agung Assiri, Vidi Ibrahim, Wanda Listianto dan Abiyoso yang selalu memberikan motivasi dan bantuan kepada penulis.
18. Guru Terbaik dan Partner Mancing Hendra Widjaya yang selalu memberikan motivasi serta selalu ada saat memancing.
19. Keluarga Kantin Uye yang selalu mendengarkan keluh kesah dan memberikan motivasi kepada penulis.
20. Bude slamet dan Pakde slamet yang selalu mendengarkan keluh kesah dan memberikan motivasi kepada penulis.
21. Teman-teman angkatan 2016 (TR16EMINUS) yang tidak dapat disebutkan satu persatu, terimakasih atas bantuan dan dukungan selama proses perkuliahan.
22. Teman-teman dan keluarga besar KKN desa Ojolali, Kecamatan Blambangan Umpu, Kabupaten Waykanan.

Akhir kata, penulis menyadari bahwa skripsi ini masih jauh dari kesempurnaan. Akan tetapi, penulis berharap semoga skripsi ini dapat bermanfaat dan berguna. Aamiin Yaa Robbal 'Aalamiin.

Bandar Lampung, 27 Mei 2022

Penulis

Dimas

DAFTAR ISI

DAFTAR ISI DAFTAR TABEL DAFTAR GAMBAR

BAB 1 PENDAHULUAN	1
1.1. Latar Belakang	1
1.2. Rumusan Masalah	6
1.3. Tujuan Penelitian.....	6
1.3.1. Tujuan Umum	6
1.3.2. Tujuan Khusus	6
1.4. Manfaat Penelitian.....	6
1.4.1. Bagi Ilmu Pengetahuan	6
1.4.2. Bagi Institusi	7
1.4.3. Bagi Peneliti Lain.....	7
BAB 2 TINJAUAN PUSTAKA	8
2.1. Ginjal	8
2.1.1. Anatomi Ginjal.....	8
2.1.2. Fisiologi ginjal	9
2.1.3. Histologi Ginjal.....	14
2.2. Minyak Goreng.....	18
2.3. Minyak Jelantah	19
2.4. Proses Kerusakan Ginjal Akibat Minyak Jelantah	22
2.5. Black Garlic.....	24
2.5.1. Definisi Black Garlic.....	24
2.5.2. Taksonomi Black Garlic	25
2.5.3. Pengolahan dan Kandungan <i>Black Garlic</i>	25
2.6. Tikus Putih (<i>Rattus norvegicus</i>)	27
2.7. Kerangka Teori.....	30
2.8. Kerangka Konsep	31

2.9. Hipotesis	31
BAB 3 METODE PENELITIAN	32
3.1. Jenis Penelitian	32
3.2. Tempat dan Waktu Penelitian	32
3.3. Penentuan Populasi dan Sampel	33
3.3.1. Populasi	33
3.3.2. Sampel	33
3.3.3. Kelompok dan Perlakuan	34
3.3.4. Kriteria Inklusi dan Eksklusi	35
a. Kriteria Eksklusi	35
3.4. Bahan dan Alat Penelitian	36
3.4.1. Bahan penelitian	36
3.4.2. Bahan dalam Pembuatan Preparat Histologi	36
3.4.3. Perangkat Penelitian	36
3.5. Prosedur Penelitian	37
3.5.1. Adaptasi Tikus	37
3.5.2. Prosedur Pemberian Aquades	37
3.5.3. Pemilihan Minyak Goreng dan Penentuan Dosis	37
3.5.4. Pemilihan <i>Black Garlic</i> dan Penentuan Dosis	38
3.5.5. Prosedur Pemberian Intervensi	40
3.5.6. Prosedur pengelolaan Hewan Coba Pasca Penelitian	40
3.5.7. Prosedur Pengambilan Bagian Ginjal	41
3.5.8. Prosedur Pemusnahan Hewan Uji Coba	41
3.5.9. Prosedur Operasional Pembuatan Preparat	42
3.6. Alur Penelitian	46
3.7. Identifikasi Variabel dan Definisi Operasional Variabel	47
3.7.1. Identifikasi Variabel	47
3.7.2. Definisi Operasional Variabel	48
3.8. Analisis Data	49
3.9. Ethical Clearance	49
BAB 4 HASIL DAN PEMBAHASAN	51
4.1. Hasil Penelitian	51
4.1.1. Gambaran Umum Penelitian	51
4.1.2. Gambaran Histopatologi Glomerulus	51
4.1.3. Analisis Histopatologi	56
4.2. Pembahasan	60

BAB 5 PENUTUP	64
5.1. Simpulan.....	64
5.2. Saran.....	64

DAFTAR PUSTAKA
LAMPIRAN

DAFTAR TABEL

Tabel	Halaman
1. Syarat Mutu Minyak.....	19
2. Taksonomi <i>Black Garlic</i>	25
3. Taksonomi <i>Rattus norvegicus</i>	27
4. Definisi Operasional Variable	46

DAFTAR GAMBAR

Gambar	Halaman
1. Anatomi Ginjal	8
2. Histologi Ginjal	14
3. Kerangka Teori.....	29
4. Kerangka Konsep	30
5. <i>Black Garlic</i> Cair.....	37
6. Diagram Alur Penelitian	44

BAB 1

PENDAHULUAN

1.1. Latar Belakang

Minyak goreng adalah salah satu kebutuhan pokok masyarakat dalam memenuhi kebutuhan hidup sehari-hari. Konsumsi minyak goreng sehari-hari sangat erat kaitannya dengan kesehatan (Badan Pusat Statistik, 2013). Konsumsi minyak goreng perkapita penduduk Indonesia tahun 2019 sebesar 0,228 liter/kapita/minggu (Survey Sosial Ekonomi Nasional, 2020). Minyak goreng banyak dimanfaatkan oleh masyarakat karena minyak goreng mampu menghantarkan panas, memberikan rasa gurih dan tekstur renyah dan mampu meningkatkan nilai gizi bahan pangan. Di kehidupan masyarakat, penggunaan minyak goreng berasal dari nabati seperti minyak kelapa sawit, kopra, kacang kedelai, biji jagung, biji bunga matahari dan biji zaitun (Ketaren, 2012).

Masyarakat Indonesia biasanya menggunakan cara *deep frying* dalam menggoreng bahan makanan, yaitu dengan merendam seluruh bahan makanan dalam minyak panas. Dengan cara tersebut, akan diperoleh minyak goreng bekas. Minyak goreng bekas tersebut biasanya akan digunakan kembali untuk menggoreng bahan makanan yang lain dengan atau tanpa menambahkan sedikit minyak goreng yang baru pada minyak goreng bekas. Minyak goreng

bekas yang digunakan secara berulang kali tersebut, biasa disebut sebagai minyak jelantah (Fransiska, 2010).

Pemanasan minyak goreng dengan suhu tinggi dan digunakan secara berulang dapat menyebabkan penurunan kualitas pada minyak goreng dan bahan pangan yang digoreng, penurunan kualitas yang ditimbulkan dapat berupa penurunan kualitas fisik dan penurunan kandungan gizi dalam bahan pangan. Proses pemanasan dengan suhu tinggi pada minyak akan menghasilkan asam lemak bebas, senyawa karbonil dan peroksida, minyak goreng yang telah rusak akan mengakibatkan proses oksidasi, polimerisasi dan hidrolisis, proses ini akan menghasilkan peroksida yang bersifat toksik dan asam lemak bebas yang sulit dicerna oleh tubuh manusia, pemanasan minyak ini akan menghasilkan radikal bebas dan peningkatan bilangan peroksida yang akan mengakibatkan stres oksidatif (Zahra dkk., 2013).

Stres oksidatif merupakan suatu kondisi yang terjadi karena adanya ketidakseimbangan antara produksi radikal bebas dengan sistem pertahanan antioksidan di dalam tubuh (Irianti dkk., 2016). Stress oksidatif terjadi akibat adanya inisiasi radikal bebas yang mengakibatkan kerusakan protein dan DNA melalui peroksidasi lipid (Kumar & Pandey, 2015). Faktor yang membentuk radikal bebas yaitu faktor endogen dan eksogen. Faktor endogen terdiri dari fosforilasi oksidatif di mitokondria, xanthine oksidase, NADPH oksidase, dan sel-sel inflamasi. Faktor eksogen berasal dari polutan atau limbah seperti minyak jelantah, toxin, rokok, hipoksia, radiasi seperti sinar matahari dan radiasi UV, mikroorganisme, alkohol, diet, dan beberapa obat-obatan (Small dkk., 2012 & Pandey dkk., 2012). Stress oksidatif

menyebabkan ketidakseimbangan radikal bebas dan kemampuan antioksidan dalam tubuh. Radikal bebas terdiri dari *Reactive Oxygen Species* (ROS) yaitu radikal superoksida (O_2^-) dan radikal hidroksil (OH^-), dan *Reactive Nitrogen Species* yaitu radikal peroksil (RO^-), nitrit oksida (NO), dan nitrogen dioksida (NO_2) (Small dkk., 2012).

Kejadian stress oksidatif dapat dilihat dari penanda lipid peroksidasi seperti *F2-isoprostanes*, *Malondialdehyde* (MDA), dan *Thiobarbituric Acid and Reactive Substance* (TBARS) yang dapat ditemukan pada ginjal (Small dkk., 2012). Peningkatan kadar TBARS yang signifikan didapatkan pada minyak goreng yang mengalami pemanasan berulang sebanyak lima dan sepuluh kali (Li dkk., 2019). Selain penanda lipid peroksidasi pada kejadian stress oksidatif, ditemukan penanda oksidasi protein dan nitrasi yaitu *Kidney Injury Molecule-1* (KIM-1) (Small dkk., 2012). *Kidney Injury Molecule-1* (KIM-1) dapat mendeteksi dini terjadinya *Acute Tubular Necrosis* (ANT) yang ditandai dengan adanya kerusakan sel tubulus akibat iskemia dan nefrotoksik (Rinawati & Aulia, 2011).

Stres oksidatif dapat mengakibatkan kerusakan ginjal, mulai dari gagal ginjal akut, nefropati obstruksi, hiperlipidemia, kerusakan glomerulus, sampai gagal ginjal kronis. Glomerulus lebih sensitif terhadap stres oksidatif dibandingkan dengan bagian nefron lainnya. Salah satu gangguan pada ginjal akibat produksi radikal bebas yang berlebih salah satunya adalah *Acute Tubular Necrosis* (ANT), secara patologis ditandai dengan kerusakan dan

kematian sel tubulus ginjal akibat iskemia atau nefrotoksik. Senyawa yang mampu menunda, memperlambat, atau menghambat reaksi oksidasi akibat radikal bebas ialah senyawa antioksidan (Halliwell & Gutteridge, 2015).

Antioksidan enzimatik terdiri dari superoksida dismutase (SOD), katalase (CAT), glutathion peroksidase (GPx) dan glutathion (GSH) (Birben dkk., 2012). Mitokondria memiliki antioksidan khusus seperti mangan-SOD mitokondria (Mn-SOD) untuk menetralkan terjadinya ROS. Mn-SOD atau Cu/Zn-SOD akan merubah O_2^- menjadi H_2O_2 , dan akan diuraikan menjadi H_2O dan O_2 oleh enzim katalase dan GPx (Small dkk., 2012). Pada ginjal, sintesis glutathion intraseluler yang berasal dari derivat asam amino seperti glisin, glutamat dan sistein menyumbang sebagian besar glutathione seluler dibandingkan dengan penyerapan glutathion ekstraseluler yang berasal dari membran basolateral di sel epitel tubular pada nefron ginjal (Small dkk., 2012).

Konsumsi antioksidan alami yang ada dalam buah, sayuran, bunga dan berbagai tanaman mempunyai manfaat besar terhadap kesehatan. Mikronutrien yang terkandung pada buah, sayur-sayuran dan tanaman lain seperti vitamin A, C, E, asam folat, antosianin, senyawa fenol dan flavonoid dapat dijadikan pengganti konsumsi antioksidan sintetis (Parwata, 2016).

Zat antioksidan yang terdapat pada tanaman yang sudah diolah salah satunya yaitu bawang hitam (*black garlic*). Bawang hitam (*black garlic*) merupakan

bawang putih yang telah *diaging* pada suhu 65-80°C dengan kelembaban relatif 70-80% selama 30-40 hari tanpa tambahan apapun sehingga kandungan airnya menurun (Wang dkk., 2011). Bawang hitam (*black garlic*) dapat menjadi pelindung ginjal karena mengandung zat antioksidan tinggi yang dapat menangkap radikal bebas dan mencegah terjadinya reaksi stres oksidatif. Bawang hitam (*black garlic*) dikenal dari Korea Selatan dan digunakan sebagai suplemen herbal yang memiliki aktivitas antioksidan yang lebih tinggi dibandingkan dengan bawang putih. Bawang hitam (*black garlic*) memiliki kandungan tinggi pada polisakarida, mengurangi gula, protein, senyawa fenolik, dan senyawa sulfur. Jumlah polifenol meningkat enam kali lipat dalam kupasan bawang hitam (*black garlic*). Selain itu, total polifenol dan jumlah flavonoid bawang hitam (*black garlic*) meningkat secara signifikan selama proses pemanasan (Lu dkk., 2017). *Black garlic* memiliki manfaat menurunkan kadar trigliserida, kolesterol total, dan *Low Density Lipoprotein* (LDL) dan juga meningkatkan kadar *High Density Lipoprotein* (LDL) (Tran dkk., 2018).

Berdasarkan latar belakang pada penelitian ini, peneliti tertarik untuk mengetahui hubungan asupan *black garlic* terhadap gambaran histopatologi ginjal tikus putih (*Rattus norvegicus*) galur *Sprague-Dawley* yang diinduksi minyak jelantah.

1.2. Rumusan Masalah

Berdasarkan latar belakang di atas, peneliti merumuskan masalah sebagai berikut: Apakah terdapat hubungan asupan *black garlic* terhadap gambaran histopatologi ginjal tikus putih (*Rattus norvegicus*) galur *Sprague-Dawley* yang diinduksi minyak jelantah.

1.3. Tujuan Penelitian

1.3.1. Tujuan Umum

Untuk mengetahui adanya hubungan asupan *black garlic* terhadap gambaran histopatologi ginjal tikus putih (*Rattus norvegicus*) galur *Sprague-Dawley* yang diinduksi minyak jelantah.

1.3.2. Tujuan Khusus

Untuk mengetahui dosis pemberian *black garlic* diantaranya 200mg/kgBB, 400mg/kgBB dan 800mg/kgBB yang paling efektif untuk mencegah kerusakan ginjal tikus putih (*Rattus norvegicus*) galur *Sprague-Dawley* yang diinduksi minyak jelantah.

1.4. Manfaat Penelitian

1.4.1. Bagi Ilmu Pengetahuan

Hasil penelitian ini diharapkan memberikan informasi ilmiah mengenai hubungan asupan *black garlic* terhadap gambaran histopatologi ginjal tikus putih (*Rattus norvegicus*) galur *Sprague-Dawley* yang diinduksi minyak jelantah.

1.4.2. Bagi Institusi

Meningkatkan penelitian di bidang *Fitofarmaka* sehingga dapat menunjang pencapaian visi Fakultas Kedokteran Universitas Lampung sebagai fakultas kedokteran sepuluh terbaik di Indonesia pada tahun 2025 dengan kekhususan *Agromedicine*.

1.4.3. Bagi Peneliti Lain

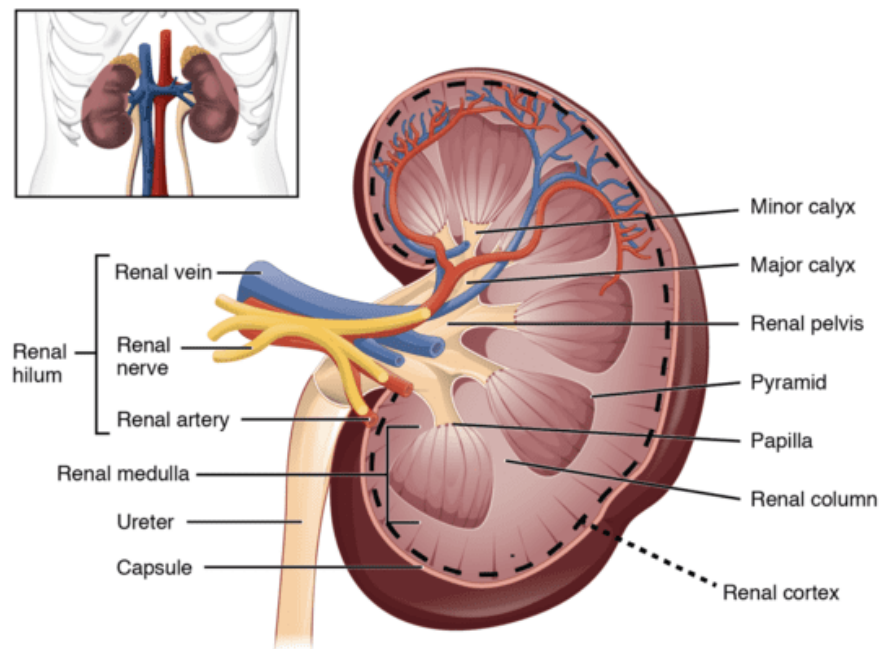
Dapat dijadikan bahan acuan untuk dilakukannya penelitian yang serupa berkaitan dengan hubungan asupan *black garlic* terhadap organ lainnya selain ginjal.

BAB 2

TINJAUAN PUSTAKA

2.1. Ginjal

2.1.1. Anatomi Ginjal



Gambar 1. Anatomi Ginjal (Moore *dkk.*, 2014)

Ginjal merupakan organ berbentuk *bean-shaped* yang terletak retroperitoneal terhadap posterior dinding abdomen dan berat masing-masing ± 150 gram. Ginjal berada setinggi kolumna vetebralis T12-L3, dengan panjang sekitar 10 cm, lebar ginjal 5 cm dan tebalnya kurang lebih 2,5 cm (Moore *dkk.*, 2014).

Posisi ginjal sebelah kanan lebih rendah dari ginjal sebelah kiri karena terdapat lobus hepatis dekstra yang lebih besar. Setiap pasang ginjal dibungkus oleh selaput tipis yang disebut kapsula fibrosa. Korteks renalis terdapat di bagian luar yang berwarna cokelat gelap dan medula renalis di bagian dalam berwarna cokelat lebih terang. Bagian medula berbentuk kerucut disebut pelvis renalis, yang akan terhubung dengan ureter sehingga urin yang terbentuk dapat lewat menuju vesika urinaria. Terdapat kurang lebih satu juta nefron yang merupakan unit fungsional ginjal dalam setiap ginjal. Nefron terdiri dari glomerulus, tubulus kontortus proksimal, lengkung henle, tubulus kontortus distalis dan tubulus kolektivus. Glomerulus merupakan unit kapiler yang disusun dari tubulus membentuk kapsula Bowman. Setiap glomerulus mempunyai pembuluh darah arteriola afferen yang membawa darah masuk glomerulus dan pembuluh darah arteriola efferen yang membawa darah keluar glomerulus. Pembuluh darah arteriola efferen bercabang menjadi kapiler peritubulus yang mengalir pada tubulus. Di sekeliling tubulus ginjal tersebut terdapat pembuluh kapiler, yaitu arteriola yang membawa darah dari dan menuju glomerulus, serta kapiler peritubulus yang mengalir pada jaringan ginjal (Verdiansah, 2016).

2.1.2. Fisiologi ginjal

Setiap pasang ginjal terdiri dari sekitar satu juta nefron yang memiliki tugas untuk membentuk urin. Ginjal tidak dapat membentuk nefron

baru, oleh karena itu, pada trauma ginjal, penyakit ginjal, dan penuaan ginjal akan mengakibatkan penurunan jumlah nefron secara perlahan. Saat berusia 40 tahun, jumlah nefron menurun setiap 10 tahun. Berkurangnya fungsi ini seharusnya tidak mengancam jiwa karena adanya proses adaptif tubuh terhadap penurunan fungsi faal ginjal (Sherwood, 2014).

Glomerulus dan tubulus merupakan komponen yang dimiliki setiap nefron. Glomerulus (kapiler glomerulus) dilalui sejumlah cairan yang difiltrasi dari darah sedangkan tubulus merupakan saluran panjang yang mengubah cairan yang telah difiltrasi menjadi urin dan dialirkan menuju keluar ginjal. Glomerulus tersusun dari jaringan kapiler glomerulus bercabang yang mempunyai tekanan hidrostatis tinggi (kira-kira 60 mmHg), dibandingkan dengan jaringan kapiler lain. Sel-sel epitel melapisi kapiler-kapiler glomerulus dan seluruh glomerulus dilingkupi dengan kapsula Bowman. Cairan yang difiltrasi dari kapiler glomerulus masuk ke dalam kapsula Bowman dan kemudian masuk ke tubulus proksimal, yang terletak pada korteks ginjal. Dari tubulus proksimal kemudian dilanjutkan ke lengkung Henle. Pada lengkung Henle terdapat bagian desenden dan asenden. Pada ujung cabang asenden tebal terdapat makula densa. Makula densa juga memiliki kemampuan untuk mengatur fungsi nefron. Setelah itu dari tubulus distal, urin menuju tubulus rektus dan tubulus koligenes modular hingga urin mengalir melalui ujung papilla renalis dan kemudian bergabung membentuk struktur pelvis renalis (Sherwood, 2014).

Filtrasi, reabsorpsi dan sekresi merupakan tiga proses utama pembentukan urin yang terjadi di nefron. Pembentukan urin diawali dengan filtrasi sejumlah besar cairan yang hampir bebas protein dari kapiler glomerulus ke kapsula bowman. Kebanyakan zat dalam plasma kecuali protein, difiltrasi secara bebas sehingga konsentrasinya pada filtrat glomerulus dalam kapsula bowman hampir sama dengan plasma. Awalnya zat akan difiltrasi secara bebas oleh kapiler glomerulus tetapi tidak difiltrasi kemudian direabsorpsi parsial, reabsorpsi lengkap dan kemudian akan dieksresi (Sherwood, 2014).

Fungsi ginjal yang banyak diketahui adalah ginjal sebagai organ yang bertanggung jawab untuk menghilangkan limbah metabolik dari tubuh. Meski hal ini tentunya merupakan fungsi utama ginjal, ada fungsi lain yang bisa dibilang lebih penting yaitu:

a. Pengaturan Air dan Elektrolit

Konsep keseimbangan menyebabkan tubuh seimbang dalam segala substansi ketika input dan output dari zat tersebut seimbang. Peningkatan atau penurunan jumlah zat di dalam tubuh disebabkan perbedaan antara input dan output. Input air dan elektrolit sangat bervariasi sesuai kebutuhan tubuh. Ginjal dapat memvariasikan output air dalam urin, dengan demikian dapat menjaga keseimbangan air di dalam tubuh (Guyton & Hall, 2014). Fungsi ginjal dapat mengatur kadar beberapa ion, yang paling penting ion natrium (Na^+), kalium (K^+), kalsium (Ca^{2+}), Cl^- , dan ion fosfat (HPO_4^{2+}) (Tortora, 2014).

Ginjal dapat mengatur masing-masing mineral secara terpisah, tubuh dapat mengonsumsi makanan dengan sodium tinggi, kalium rendah atau menjalankan diet rendah sodium, potassium tinggi, dan ginjal mampu menyesuaikan ekskresi masing-masing (Guyton & Hall, 2014).

b. Ekskresi Limbah Metabolik

Tubuh manusia dapat selalu membentuk produk akhir proses metabolisme. Produk hasil akhir metabolisme tidak berfungsi dan berbahaya pada konsentrasi tinggi. Beberapa produk limbah yaitu urea (dari protein), asam urat (dari asam nukleat), kreatinin (dari kreatin otot), produk hasil akhir dari kerusakan hemoglobin (yang memberi banyak warna pada urin), dan metabolit berbagai hormon (Guyton & Hall, 2014). Ginjal mengekskresikan limbah dengan membentuk urin. Membantu mengeluarkan zat yang tidak lagi berfungsi bagi tubuh (Tortora, 2014).

c. Ekskresi Zat Bioaktif (Hormon dan Obat)

Obat dan hormone di dalam darah biasanya dieksresikan di hati namun beberapa dieksresikan melalui ginjal (Sherwood, 2014).

d. Pengaturan Tekanan Darah Arteri

Penurunan volume darah akan menurunkan tekanan darah sedangkan peningkatan volume darah akan meningkatkan tekanan darah (Tortora, 2014). Ginjal dapat mengeluarkan enzim renin yang mengaktifkan jalur renin angiotensin aldosteron, peningkatan

renin akan menyebabkan peningkatan tekanan darah (Tortora, 2014).

e. Pengaturan Produksi Sel Darah Merah

Erythropoietin merupakan hormon peptida yang ikut serta dalam pengendalian produksi sel darah merah pada sumsum tulang. Sumber utama terdapat di ginjal, meski hati dapat mengeluarkan sejumlah kecil. Sel ginjal yang mengeluarkannya adalah kelompok sel tertentu di interstitium. Erythropoietin merangsang sumsum tulang untuk meningkatkan produksi eritrosit. Penyakit pada ginjal dapat menyebabkan sekresi eritropoietin yang berkurang, dan penurunan aktivitas sumsum tulang yaitu salah satunya dapat menyebabkan anemia kronik (Guyton & Hall, 2014).

f. Pengaturan Produksi Vitamin D

Bentuk aktif dari vitamin D (1,25-dihydroxyvitamin D₃) yaitu diproduksi pada ginjal, dan tingkat sintesisnya diatur oleh hormon yang mengendalikan keseimbangan kalsium dan fosfat (Sherwood, 2014).

g. Glukoneogenesis

Asupan karbohidrat dihentikan lebih dari 12 jam dapat menyebabkan tubuh mengaktifkan glukoneogenesis dari sumber non karbohidrat (asam amino dari protein dan gliserol dari trigliserida). Sebagian besar glukoneogenesis terjadi di hati, namun bisa juga di ginjal, terutama selama puasa yang berkepanjangan (Guyton & Hall, 2014). Ginjal dapat menggunakan asam amino

glutamin untuk glukoneogenesis. kemudian dapat melepaskan glukosa ke dalam darah untuk membantu menjaga kadar gula darah normal (Tortora, 2014).

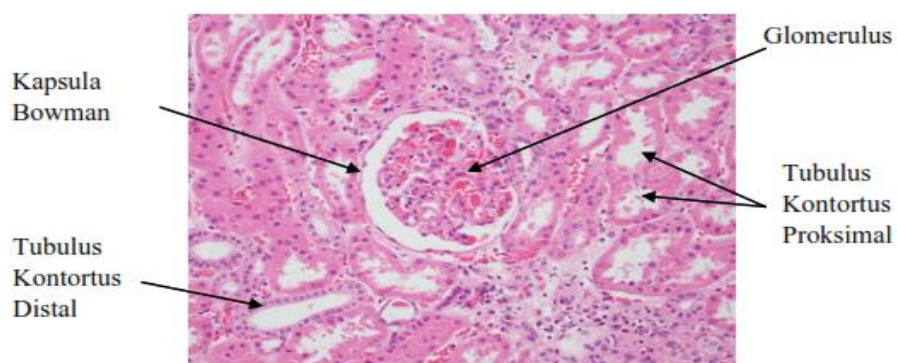
h. Pengaturan pH Darah

Ginjal mengekskresikan sejumlah ion hidrogen H^+ ke dalam urin dan mempertahankan ion karbonat (HCO_3^+), yang berperan penting dalam darah. Kedua mekanisme ini membantu mengatur pH dalam darah (Tortora, 2014).

i. Pemeliharaan Osmolaritas Darah

Dengan secara terpisah pengaturan pengeluaran air dan pengeluaran zat terlarut dalam urin, ginjal mempertahankan osmolaritas darah relatif konstan mendekati 300 mOsm/L (Tortora, 2014).

2.1.3. Histologi Ginjal



Gambar 2. Histologi Ginjal (Mescher, 2016)

Ginjal memiliki dua bagian yaitu korteks dan medula. Korteks terdapat di bagian luar dan medula di bagian dalam, medula memiliki 8-15 struktur yang memiliki bentuk kerucut yang disebut piramida ginjal,

yang dipisahkan oleh columna renalis dan membentuk suatu lobus ginjal (Mescher, 2016).

Setiap ginjal terdiri dari 1-1,4 juta nefron yang merupakan unit fungsional terkecil. Nefron memiliki cabang utama yaitu korpuskel ginjal yang merupakan pelebaran bagian awal di korteks, tubulus kontortus proksimal yang ada di korteks, ansa henle yang menurun ke dalam medula dan menanjak kembali ke korteks, tubulus kontortus distal, dan tubulus collingens (Mescher, 2016).

a. Korpuskel Ginjal

Ginjal memiliki korpuskel yang berukuran sekitar 200 μm yang mengandung seberkas kapiler, dan glomerulus yang di kelilingi kapsula Bowman. Kapsula bowman memiliki dua lapisan, yaitu lapisan internal yang menyelubungi kapiler glomerulus dan lapisan parietal eksternal yang membentuk permukaan luar kapsula bowman. Ruang kapsular atau perkemihan yang menampung cairan yang disaring melalui dinding kapiler dan lapisan viseral yang terletak di antara kedua lapisan kapsula bowman (Mescher, 2016).

Lapisan parietal eksternal terdiri dari epitel selapis gepeng yang ditunjang lamina basal dan selapis tipis serat retikular di luar, sedangkan lapisan internal terdapat podosit yang memiliki badan sel yang menjulurkan prosesus primer yang memiliki banyak prosesus sekunder atau pedikel yang berkaitan dengan glomerulus

(Mescher, 2016). Selain itu, terdapat aparatus jukstaglomerular yang terdiri sel otot polos, sel jukstaglomerular, dan makula densa (Eroschenko, 2010).

b. Tubulus Kontortus Proksimal (TKP)

Tubulus kontortus proksimal (TKP) memiliki epitel kuboid yang lebih panjang dibandingkan tubulus distal yang dapat mereabsorpsi 60-65 % air yang telah disaring korpuskel ginjal, nutrien, ion, vitamin dan protein plasma kecil yang akan diambil oleh kapiler peritubular. Sel-sel tubulus proksimal memiliki brush border yang banyak memiliki mikrovili untuk mereabsorpsi dan sel ini memiliki sitoplasma asidofilik karena adanya mitokondria. Selain itu, sel terdapat vesikel pinositik yang mengandung banyak protein plasma kecil dan invaginasi membran basal yang panjang dan interdigitasi lateral dengan sel-sel bersebelahan (Mescher, 2016).

c. Ansa Henle

Ansa henle ialah kelanjutan dari tubulus kontortus proksimal, memiliki bentuk lebih pendek dan lurus yang memasuki medulla lalu membentuk struktur U dengan segmen descendens dan ascendens. Keduanya terdiri atas selapis epitel kuboid di dekat korteks, tetapi berubah menjadi epitel skuamosa di dalam medula. Ansa henle memiliki diameter lebih sempit dari pada tubulus proksimal yaitu 12 μ m (Mescher, 2016). Segmen tipis ansa henle dilapisi oleh epitel selapis gepeng dan menyerupai kapiler. Yang

membedakan adalah pada ansa henle tipis epitelnya lebih tebal dan tidak terdapat darah di lumennya (Eroschenko, 2010).

d. Tubulus Kontortus Distal

Tubulus kontortus distal memiliki sel kuboid yang lebih kecil dan tidak memiliki brush border, hal ini dikarenakan tubulus memiliki banyak inti di dinding tubulus. Sel-sel tubulus memiliki banyak invaginasi membran basal dan mitokondria yang menunjukkan fungsi transpor-ionnya. Bagian awal tubulus distal memiliki apparatus jukstaglomerularis yang menciptakan suatu mekanisme umpan balik dan menjaga laju filtrasi dengan konstan. terdapat makula densa yang merupakan bagian kebal di dinding tubulus (Mescher, 2016).

e. Tubulus Colligens

Tubulus colligens dilapisi oleh epitel kuboid yang berdiameter 40 μm dan duktus colligens berdiameter 200 μm . Tubulus colligens merupakan bagian terakhir setiap nefron yang membentuk duktus colligens yang berjalan di tepi piramida ginjal dan akan bermuara kedalam calyx minor. Tubulus dan duktus ini memiliki epitheliocytus principalis (*principel cell*) yang mengandung sedikit organel dan mikrovili. Sel-sel duktus colligens mengandung banyak aquaporin yang merupakan protein integral pada membran sel yang berfungsi sebagai pori selektif untuk pasase molekul air (Mescher, 2016).

2.2. Minyak Goreng

Minyak goreng adalah minyak nabati yang diproduksi dari kelapa sawit, kelapa atau jagung. Minyak goreng merupakan bahan pangan yang sangat diperlukan masyarakat sebagai media penghantar panas, hasil penggorengan menggunakan minyak akan menimbulkan rasa gurih pada makanan serta menambah nilai gizi dan nutrisi pada makanan (*Food and Agriculture Organization*, 2015). Penggunaan minyak goreng sudah digunakan masyarakat awam dalam pengolahan makanan, hal ini disebabkan adanya anggapan masyarakat awam bahwa bahan makanan yang digoreng akan terasa lebih lezat dan gurih (Bangun, 2010). Setiap minyak goreng tidak hanya tersusun atas satu jenis asam lemak, karena minyak goreng selalu ada dalam bentuk campuran dari beberapa asam lemak. Asam lemak yang dikandung oleh minyak menentukan sifat kimia dan stabilitas minyak yang secara tidak langsung sangat menentukan mutu dari minyak (Haryono dkk., 2010). Adapun syarat mutu minyak goreng pada tabel yang dipakai masyarakat harus berdasarkan Departemen Perindustrian terlampir pada tabel 1.

Proses menggoreng adalah suatu proses pengolahan bahan makanan mentah menjadi makanan jadi dengan cara memanaskan bahan makanan di dalam wajan yang berisi minyak. Terdapat dua teknik menggoreng yaitu *deep frying* dan *pan frying*, *deep frying* adalah teknik menggoreng menggunakan suhu tinggi dan menggunakan minyak dalam jumlah yang banyak sehingga bahan makanan terendam di dalam minyak, sedangkan *pan frying* adalah teknik

menggoreng dengan minyak yang sedikit yang bertujuan untuk menumis atau menggoreng (Ketaren, 2012).

Tabel 1. Syarat Mutu Minyak Goreng

Kriteria uji	Satuan	Syarat
Keadaan, bau, warna dan rasa	-	Normal
Air	% b/b	Maks 0,30
Asam lemak bebas (dihitung sebagai asam laurat)	% b/b	Maks 0,30
Bahan makanan tambahan	Sesuai SNI. 022-M dan Permenkes No. 722/Menkes/Per/IX/88	
Cemaran Logam:		
- Besi (Fe)	Mg/kg	Maks 1,5
- Tembaga (Cu)	Mg/kg	Maks 0,1
- Raksa (Hg)	Mg/kg	Maks 0,1
- Timbal (Pb)	Mg/kg	Maks 40,0
- Timah (Sn)	Mg/kg	Mark 0,005
- Seng (Zn)	Mg/kg	Maks 40,0/250,0)*
Arsen (As)	% b/b	Maks 0,1
Angka Peroksida	% mg O ₂ /gr	Maks 1

Sumber. Departemen Perindustrian (01-3741-2013)

2.3. Minyak Jelantah

Minyak goreng yang sudah digunakan berulang kali atau yang lebih dikenal dengan minyak jelantah adalah minyak limbah yang bisa berasal dari jenis-

jenis minyak goreng seperti halnya minyak jagung, minyak sayur, minyak samin dan sebagainya. Minyak ini merupakan minyak bekas pemakaian kebutuhan rumah tangga yang dapat digunakan kembali untuk keperluan kuliner, akan tetapi bila ditinjau dari komposisi kimianya, minyak jelantah mengandung senyawa-senyawa yang bersifat karsinogenik, yang terjadi selama proses penggorengan sehingga dapat menyebabkan penyakit kanker dalam jangka waktu yang panjang (Tamrin, 2013).

Pemanasan minyak goreng dengan suhu yang sangat tinggi akan menyebabkan sebagian minyak teroksidasi. Hal ini akan mengakibatkan rusaknya minyak yang akan mempengaruhi kualitas dan nilai gizi makanan yang dimasak. Proses oksidasi terjadi saat minyak tersebut mengalami kontak dengan sejumlah oksigen, saat terjadi pemanasan minyak goreng akan menyebabkan terbentuknya senyawa peroksida dan hidro-peroksida yang merupakan radikal bebas. Proses pemanasan juga akan menyebabkan lepasnya asam lemak dari trigliserida sehingga asam lemak bebas mudah sekali teroksidasi menjadi aldehid, keton, asam-asam dan alkohol. Hasil dari proses oksidasi akan menyebabkan warna makanan kurang menarik, bau tengik dan rasa yang tidak enak, serta menyebabkan kerusakan beberapa vitamin dan asam lemak esensial di dalam minyak (Ketaren, 2012).

Selama proses penggorengan minyak akan mengalami reaksi oksidasi, polimerisasi dan hidrolisis (Ketaren, 2012) :

a. Reaksi Oksidasi

Perubahan warna minyak goreng diakibatkan adanya reaksi-reaksi yang terjadi selama proses menggoreng. Oksidasi minyak terjadi karena beberapa faktor, seperti paparan oksigen, cahaya, dan suhu tinggi. Oksidasi minyak terdiri atas tiga tahap yaitu, inisiasi, propagasi dan terminasi. Oksidasi diawali dengan pembentukan peroksida dan hiperoksida. Penguraian asam-asam lemak disertai dengan konversi hiperoksida menjadi aldehid dan keton serta asam-asam lemak bebas. Karbonil volatil, asam-asam hidroksi, asam-asam keto dan asam-asam epoksi ialah hasil oksidasi akan memunculkan aroma yang tidak diharapkan dan warna minyak menjadi gelap (Aminah, 2010).

b. Reaksi hidrolisis

Reaksi hidrolisis mengubah minyak menjadi asam lemak dan gliserol. Peningkatan asam lemak dikarenakan beberapa faktor, yaitu kadar air, jenis dan kandungan minyak, serta zat lain pada bahan yang dapat bereaksi dengan asam lemak bebas yang terdapat pada minyak goreng (Budiyanto dkk., 2010).

c. Reaksi polimerisasi

Reaksi polimerisasi akan membentuk senyawa polimer yang akan adisi dari asam lemak tak jenuh, hal ini akan membuat terbentuknya bahan menyerupai gum yang mengendap di dasar tempat penggorengan (Ketaren, 2012).

2.4. Proses Kerusakan Ginjal Akibat Minyak Jelantah

Minyak goreng yang baru digunakan memiliki kandungan lemak tak jenuh yang tinggi, hal ini memberikan nilai tambah. Sementara pada penggunaan minyak goreng berulang akan memiliki kandungan asam lemak jenuh yang semakin tinggi, sehingga pada akhirnya mengalami kerusakan. Asam lemak jenuh yang dihasilkan pada pengorengan berkali-kali akan berpotensi meningkatkan kolestrol darah, sedangkan asam lemak tak jenuh yang didapat dari pengorengan pertama dapat menurunkan kadar kolestrol dalam darah (Khomsan, 2010).

Terbentuknya radikal alkoksi, peroksi dan hidroksi yang merupakan radikal bebas golongan *reactive oxygen spesies* (ROS) mudah terserap dalam makanan (Meitha, 2020). Minyak goreng yang digunakan berulang kali dapat menyebabkan peningkatan kadar *Low Density Lipoprotein* (LDL) pada serum profil lipid (Tran dkk., 2018). Stress oksidatif dapat menyebabkan kerusakan ginjal yang diinduksi oleh hiperliproteinemia, terkait dengan akumulasi kadar LDL pada ginjal. LDL dapat menginduksi pembentukan ROS. LDL dapat merusak ginjal secara langsung maupun tidak langsung, oksidasi LDL dapat diinduksi dengan adanya infiltrasi leukosit. LDL dapat merangsang sekresi fibronektin oleh sel mesangial ginjal dan menstimulasi ekspresi gen fibronektin melalui sekresi autokrin *Transforming Growth Factor- β* (TGF- β) dapat mengakibatkan efibrosis dan glomeruloskelosis (Tamay dkk., 2016).

Stress oksidatif meningkatkan zat radikal bebas (ROS) yang menyebabkan peradangan pada ginjal. Molekul yang menyebabkan inflamasi berasal dari sel-sel glomerular dan akibat dari infiltrasi leukosit. Hal ini dapat mengaktivasi *Nuclear Factor-kB* (NF-kB) yang dapat menstimulasi terbentuknya sitokin yang diinduksi dengan TGF- β sehingga dapat meningkatkan permeabilitas membran terhadap albumin. NF-kB dapat menstimulasi molekul adhesi dan enzim inflamasi yang mengakibatkan kerusakan pada glomerular (Tamay dkk., 2016).

Epitel tubular ginjal yang terpapar zat kimia berbahaya, diantaranya LDL yang teroksidasi (LDL-ox), meta transisi, hemoglobin, mioglobin, dan obat-obatan yang berpotensi nefrotoksik. Stimulus ROS ini dapat menginduksi aktivasi heme oksigenase, enzim yang mengkatalisasi degradasi kelompok heme hemoglobin dan mioglobin, dua hemopigmen yang ditemukan di ruang glomerulopati yang tak terhitung banyaknya. Akumulasi makrofag dalam ruang interstisial korteks ginjal berperan patogen dalam kerusakan tubulus dan fibrosis pada penyakit ginjal kronis. Radikal bebas dapat menginduksi ekspresi gen dari mediator-mediator ini dalam sel epitel tubular. Pada sel tubular ginjal, ekspresi kemokin, seperti protein monocyte chemoattractant (MCP) -1, MCP-3, protein inflamasi makrofag-1 (MIP-1), dan aktivasi sel T gen 3 (TCA3), mendahului produksi infiltrat yang mengandung monosit, makrofag dan limfosit T, dalam eksperimental nefritis tubulointerstitial akut sehingga dapat menyebabkan kerusakan tubular intersisial (Tamay dkk., 2016).

Konsumsi makanan yang menggunakan minyak goreng dengan penggunaan yang berulang akan menyebabkan deposisi sel lemak di organ tubuh, yang secara tidak langsung dapat menyebabkan kerusakan pada berbagai organ seperti ginjal, jantung, hati dan arteri (Susianti, 2014).

Kerusakan ginjal yang diperantarai oleh stress oksidatif yaitu gagal ginjal akut, nefropati obstruksi, hiperlipidemia, kerusakan glomerulus dan gagal ginjal kronis. Glomerulus lebih sensitif terhadap stress oksidatif dibandingkan dengan bagian nefron lainnya. Acute Tubular Necrosis (ANT) adalah salah satu gangguan pada ginjal akibat produksi radikal bebas yang berlebih, secara patologis ditandai dengan adanya kerusakan dan kematian sel tubulus ginjal akibat nefrotoksik atau iskemia (Defriani, 2016 & Rinawati dkk., 2011).

2.5. Black Garlic

2.5.1. Definisi Black Garlic

Bawang hitam (*black garlic*) merupakan bawang putih segar (*Allium sativum L.*) yang telah dipanaskan dalam beberapa waktu dengan suhu tinggi pada kadar kelembapan yang tinggi (Kimura dkk., 2016). Saat pemanasan terjadi perubahan warna, aroma, rasa dan tekstur bawang putih. Warna dari umbi bawang putih berubah menjadi hitam, rasa dari bawang putih berubah lebih asam disertai rasa manis dan konsistensi dari tekstur bawang putih berubah menjadi kenyal atau seperti *jelly* (Bae dkk., 2014).

2.5.2. Taksonomi Black Garlic

Tabel 2. Taksonomi *Black Garlic*

Klasifikasi <i>Black Garlic</i>	
Kingdom	: <i>Plantae</i>
Phylum	: <i>Magnoliophyta</i>
Class	: <i>Lilopsida</i>
Order	: <i>Liliales</i>
Family	: <i>Liliaceae</i>
Genus	: <i>Allium L.</i>
Species	: <i>Allium savitum L.</i>

Sumber. (United States Department of Agriculture, 2018)

2.5.3. Pengolahan dan Kandungan *Black Garlic*

Bawang hitam (*black garlic*) mulai dikenal dari korea selatan dan dipergunakan sebagai suplemen herbal yang mempunyai kandungan antioksidan yang lebih tinggi dibandingkan dengan bawang putih. Cara pembuatan bawang hitam memakan waktu kurang lebih 90 hari, akan tetapi proses ini dapat disingkat menjadi 40 hari dengan menggunakan metode fermentasi yaitu bawang putih dimasukan ke mangkok *stainless steel* dan dibungkus dengan *aluminium foil*, kemudian mangkok dimasukan ke oven dengan suhu (50-70°C) dengan proses pengecekan setiap 4 atau 5 hari, hal ini dilakukan untuk menghindari adanya perubahan suhu. Tampilan bawang hitam selama proses pemanasan dengan variasi hari dimulai 10 sampai 90 hari. Dalam proses pembuatan bawang hitam (*black garlic*) terjadi reaksi non enzimatik

yang merubah senyawa gliko dan asam amino yang menghasilkan senyawa melanoidin dan senyawa larut air seperti *S-allyl-melkaptocystein* (SAMC) dan *S-allyl-cystein* (SAC) serta menghilangkan seluruh senyawa volatil yang ada di bawang putih. Terjadi peningkatan yang signifikan dari senyawa larut air yaitu SMAC dan SAC pada proses aging, hal ini memainkan peran kunci dalam antilipidemic dan aktivitas antioksidan (Ha dkk., 2015).

Pada saat proses pemanasan terjadi perubahan kandungan senyawa aktif pada bawang hitam antara lain *S-allyl-cystein* (SAC), vitamin, asam fenolik, dan senyawa flavonoid. Senyawa sulfur bawang hitam yaitu SAC mengalami peningkatan jumlah sebanyak lima sampai tujuh kali lebih tinggi dibandingkan bawang putih (Bae dkk., 2011). Menurut Kim dkk., 2012 bawang hitam (*black garlic*) memiliki kandungan SAC dua kali lipat lebih tinggi apabila dibandingkan dengan kandungan SAC bawang putih (Kim, 2012). Faktor-faktor yang mempengaruhi aktivitas antioksidan dari bawang hitam (*black garlic*) ialah metode pengolahan dan kondisi bawang putih dengan mengontrol suhu dan kadar air. Bawang hitam (*black garlic*) memiliki kandungan tinggi pada polisakarida, protein, senyawa fenolik dan senyawa sulfur. Akibat proses pemanasan polifenol meningkat enam kali lipat dibandingkan dengan kandungan polifenol yang ada di bawang hitam, serta adanya peningkatan secara signifikan dalam jumlah flavonoid (Lu dkk., 2017).

Hasil studi yang telah dilakukan ekstrak dari bawang hitam (*black garlic*) menunjukkan peningkatan antioksidan dibandingkan dengan antioksidan yang ada pada bawang putih segar, serta memiliki manfaat seperti anti alergi, anti diabetes dan anti inflamasi (kimura dkk., 2017).

2.6. Tikus Putih (*Rattus norvegicus*)

Tikus (*Rattus norvegicus*) albino atau yang dikenal sebagai tikus putih merupakan hewan yang paling sering digunakan sebagai model dalam penelitian biomedis. Oleh karena dapat mewakili sistem biologis mamalia, maka hewan ini tepat untuk dijadikan sebagai hewan coba dalam kajian praklinik (Sengupta, 2013).

Tabel 3. Taksonomi *Rattus norvegicus*

Kingdom	: <i>Animalia</i>
Filum	: <i>Chordata</i>
Kelas	: <i>Mamalia</i>
Ordo	: <i>Rodentia</i>
Subordo	: <i>Myomorpha</i>
Famili	: <i>Muridae</i>
Genus	: <i>Rattus</i>
Species	: <i>Rattus norvegicus</i>

Sumber. (Kartika dkk., 2013).

Tikus putih (*Rattus norvegicus*) dipilih sebagai hewan uji coba karena tikus merupakan hewan dari kelas mamalia dan dari segi kelengkapan organ, kebutuhan nutrisi, metabolisme biokimia, sistem reproduksi, pernafasan,

perederan darah dan eksresinya, keuntungan utama pada tikus untuk menjadi hewan uji coba adalah kemudahan dan ketenangan dalam penanganan (Janvier, 2017 & Stevani, 2016).

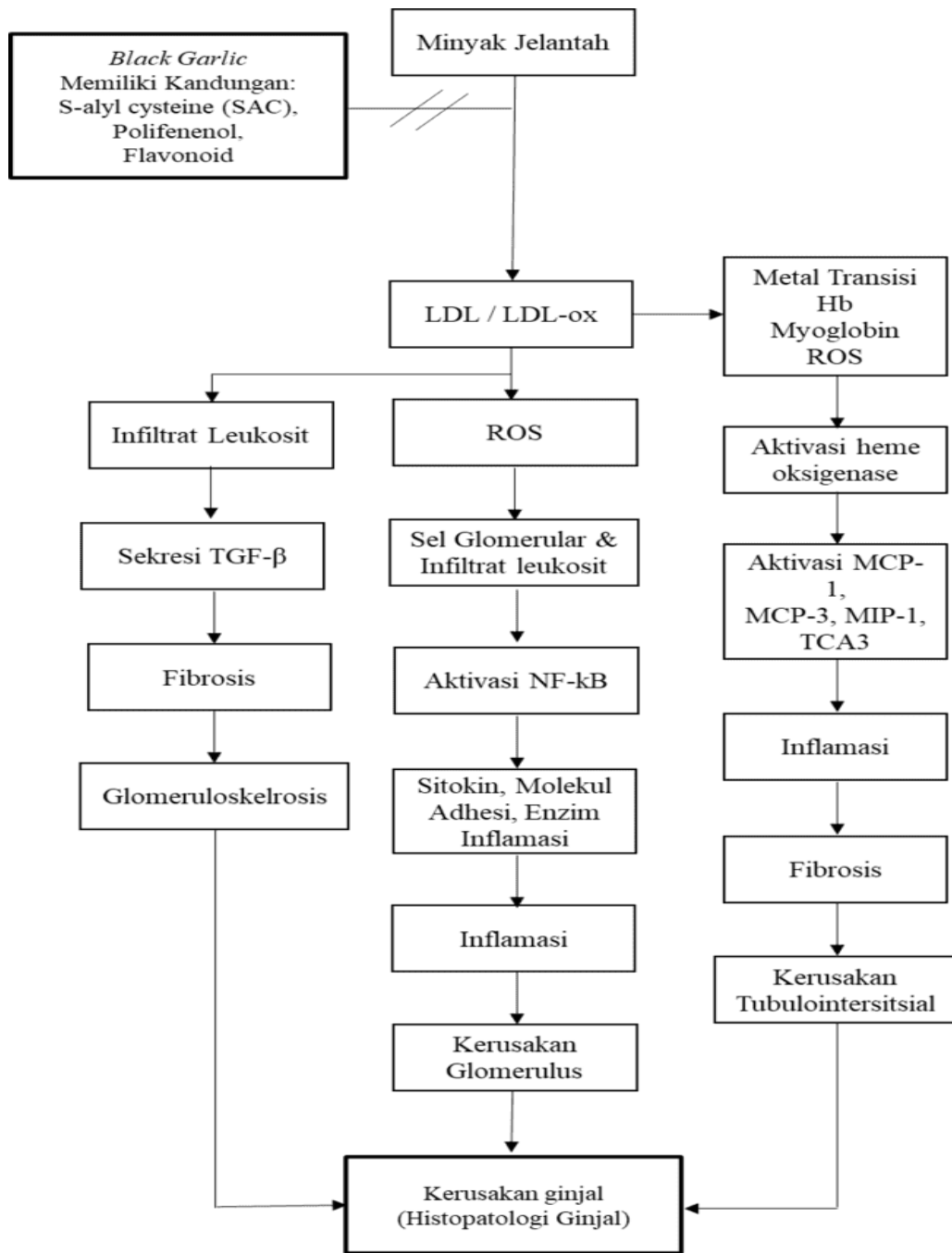
Penentuan umur biologis pada tikus sebagai model untuk dikolerasikan dengan manusia masih menjadi perdebatan. Berat badan jelas tidak dapat digunakan sebagai patokan. Sejumlah penelitian telah dilakukan, antar lain dengan membandingkan berat lensa mata, pertumbuhan gigi graham, perhitungan lapisan endosteal tibia, pertumbuhan muskulo skeletal dan penutupan epifisis, namun belum diperoleh hasil yang memuaskan (Sengupta, 2013).

Penentuan umur reproduktif pada tikus adalah dengan cara mempelajari fase-fase kehidupan dan perilakunya. Beberapa fase tersebut antara lain adalah: rentang hidup antara 2,0–3,5 tahun, mulai disapih saat umur 3 minggu (21 hari), fase kematangan seksual atau pubertas mulai umur 6 minggu (40–60 hari), fase pradewasa saat umur 63–70 hari, fase kematangan sosial saat umur 5–6 bulan (160–180 hari), dan fase penuaan saat umur 15–24 bulan (Sengupta, 2013).

Menurut Nursyah, 2012. Galur tikus yang sering digunakan antara lain *Sprague-Dawley*, *Wistar*, *Osborne-Mendel*, *Long-Evans*, *Holtzman*, *Slonaker* dan *Albany*. Namun, diantara galur tersebut *Sprague-Dawley* dan *Wistar* merupakan tikus yang paling populer digunakan untuk eksperimen.

Tikus yang sering digunakan dalam penelitian memiliki ukuran ginjal berupa panjang 20 mm dan lebar 10-15 mm. Pada level mikroskopis, ginjal tikus memiliki ukuran diameter 70-90 nm, sel tubulus kontortus proksimal dan distal memiliki ukuran sebesar 50-60 nm, sedangkan lumen tubulus kontortus proksimal dan distal berdiameter antara 20-30 nm. Tubulus kolektivus memiliki ukuran sel dengan besar yang sama namun lumennya berdiameter hampir dua kali lebih besar dibandingkan dengan tubulus kontortus proksimal dan distal (Maynard & Downes, 2019).

2.7. Kerangka Teori



Sumber.Tamay dkk., 2016

Gambar 3. Kerangka Teori Hubungan Asupan Black Garlic terhadap Gambaran Histopatologi Ginjal Tikus Putih (Rattus norvegicus) Galur Sprague-Dawley yang Diinduksi Minyak jelantah

Keterangan:

Menyebabkan →

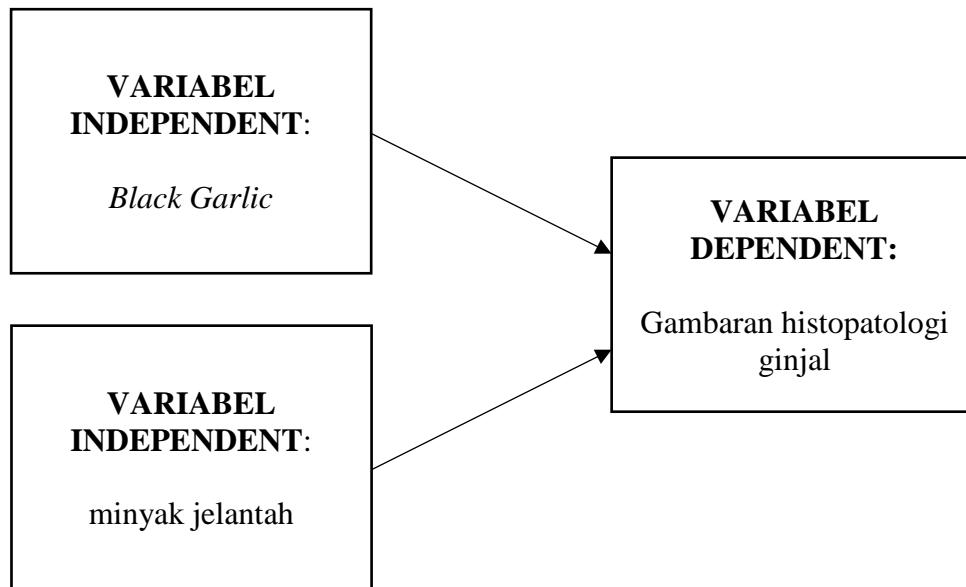
Menghambat //→

Yang Diteliti

Yang Tidak Diteliti



2.8. Kerangka Konsep



Gambar 4. Kerangka Konsep

2.9. Hipotesis

H1: Terdapat hubungan asupan *black garlic* terhadap gambaran histopatologi ginjal tikus putih (*Rattus norvegicus*) Galur *Sprague-Dawley* yang diinduksi minyak jelantah.

H0: Tidak terdapat hubungan asupan *black garlic* terhadap gambaran histopatologi ginjal tikus putih (*Rattus norvegicus*) Galur *Sprague-Dawley* yang diinduksi minyak jelantah.

BAB 3

METODE PENELITIAN

3.1. Jenis Penelitian

Penelitian ini merupakan penelitian eksperimental laboratorium. Penelitian ini menggunakan true experimental *Post Test Control Group Design*.

3.2. Tempat dan Waktu Penelitian

Pembuatan preparat dilakukan pada beberapa tempat yang berbeda. bawang hitam (*black garlic*) cair yang diperoleh dari Serambi Botani Institut Pertanian Bogor dengan kandungan ekstrak bawang hitam (*black garlic*) sebanyak 50% dan air 50%, pemeliharaan tikus dan pemberian intervensi dilakukan di Animal House Fakultas Kedokteran Universitas Lampung, pembuatan preparat histologi dan pembacaan preparat akan dilakukan di Laboratorium Patologi Anatomi & Histologi Fakultas Kedokteran Universitas Lampung. Waktu penelitian Oktober - November 2020.

3.3. Penentuan Populasi dan Sampel

3.3.1. Populasi

Populasi yang akan digunakan untuk penelitian ini adalah populasi penelitian ini adalah tikus putih jantan yang diperoleh dari *animal vet laboratory service* Bogor.

3.3.2. Sampel

Penelitian ini menggunakan populasi tikus putih (*Rattus norvegicus*) jantan galur *Sprague-Dawley* berusia sekitar 8-12 minggu, dengan berat badan 150-200 gram. Sampel penelitian sebanyak 30 ekor yang dipilih secara acak yang dibagi dalam 5 kelompok untuk mengetahui bagaimana keadaan normal ginjal, kerusakan ginjal yang diinduksi minyak jelantah, serta pengaruh bawang hitam (*black garlic*) terhadap kerusakan ginjal tersebut. Banyaknya jumlah sampel ditentukan dengan menggunakan rumus Freederer.

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

Keterangan:

n = besar sampel tiap kelompok

t = banyak kelompok

Besar sampel yang dibutuhkan untuk tiap kelompok:

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

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

$$n - 1 \geq 3,75$$

$$n \geq 4,75$$

$$n \geq 5 \text{ (pembulatan)}$$

Berdasarkan perhitungan tersebut, dalam percobaan ini digunakan sampel sebesar 5 ekor tikus putih untuk tiap kelompok, sehingga jumlah total sampel yang digunakan adalah 25 ekor. Untuk mengantisipasi adanya kriteria eksklusi maka dilakukan koreksi dengan menambahkan 10% dari jumlah anggota tiap kelompok.

$$10\% \times 5 = 0,5 \text{ per kelompok perlakuan}$$

Jadi, sampel yang dibutuhkan untuk cadangan sebanyak 1 ekor tikus putih per kelompok perlakuan.

3.3.3. Kelompok dan Perlakuan

Kelompok dan perlakuan yang akan dilakukan pada kelompok tikus putih sebagai kelompok kontrol adalah sebagai berikut:

- a. Kelompok kontrol negatif (K1), kelompok tikus putih yang hanya diberikan aquades sebanyak 2 mL per hari selama 28 hari (Ridwan, 2013 & Heiserman dkk., 2011).
- b. Kelompok kontrol positif (K2), kelompok tikus putih yang hanya diinduksi minyak jelantah 10x penggorengan dengan dosis 1,5 mL per hari selama 28 hari (Noventi dkk., 2019).
- c. Kelompok perlakuan 1 (P1), kelompok tikus putih yang diinduksi minyak jelantah 10x penggorengan dengan dosis 1,5 mL per hari bersama dengan pemberian bawang hitam (*black garlic*) dengan dosis 200 mg/kgBB selama 28 hari (Shin dkk., 2014 & Noventi dkk., 2019).
- d. Kelompok perlakuan 2 (P2), kelompok tikus putih yang diinduksi minyak jelantah 10x penggorengan dengan dosis 1,5 mL per hari

bersama dengan pemberian bawang hitam (*black garlic*) dengan dosis 400 mg/kgBB selama 28 hari (Shin dkk., 2014 & Noventi dkk., 2019).

- e. Kelompok perlakuan 3 (P3), kelompok tikus putih yang diinduksi minyak jelantah 10x penggorengan dengan dosis 1,5 mL per hari bersama dengan pemberian bawang hitam (*black garlic*) dengan dosis 800 mg/kgBB (Shin dkk., 2014 & Noventi dkk., 2019).

3.3.4. Kriteria Inklusi dan Eksklusi

a. Kriteria Eksklusi

Adapun kriteria eksklusi pada penelitian ini adalah tikus sakit ditandai dengan berikut:

1. Apabila adanya penurunan berat badan lebih dari 10% setelah masa adaptasi di laboratorium
2. Mati selama masa pemberian perlakuan

b. Kriteria Inklusi

Adapun kriteria inklusi pada penelitian ini adalah tikus sehat ditandai dengan berikut:

1. Rambut tidak kusam
2. Rontok, atau botak
3. Serta gerak aktif.

3.4. Bahan dan Alat Penelitian

3.4.1. Bahan penelitian

Bahan penelitian yang digunakan yaitu:

- 1) Tikus putih (*Rattus norvegicus*) jantan galur *Sprague-Dawley*
- 2) Air / aquades
- 3) Minyak jelantah dari minyak kemasan dengan 10x penggorengan
- 4) Pakan dan minum tikus
- 5) Ketamine-xylazine bawang hitam (*black garlic*)

3.4.2. Bahan dalam Pembuatan Preparat Histologi

Bahan yang digunakan untuk pembuatan preparat histologi yaitu larutan formalin 10% untuk fiksasi, alkohol 70%, alkohol 96%, alkohol absolut, etanol, xylol, pewarna Hematoksisilin dan Eosin (H & E) dan entelan.

3.4.3. Perangkat Penelitian

Peralatan yang dibutuhkan untuk penelitian yaitu:

- 1) Spuit oral 1cc dan 3cc
- 2) Neraca analitik untuk menimbang berat tikus
- 3) Kompor dan penggorengan
- 4) Sonde
- 5) Minor set, untuk membedah perut tikus (*laparotomy*)
- 6) Kapas dan alkohol
- 7) Alat pemeriksaan mikroskopis: mikroskop, gelas objek, cairan emersi.
- 8) Kandang dan wadah pakan tikus

3.5. Prosedur Penelitian

3.5.1. Adaptasi Tikus

Tikus putih sebanyak 30 ekor dibagi atas 5 kelompok diadaptasi selama 1 minggu di Animal House Fakultas Kedokteran Universitas Lampung dan dilakukan penimbangan dan penandaan untuk menentukan perlakuan perkelompok.

3.5.2. Prosedur Pemberian Aquades

Pada penelitian ini pemberian diberikan secara oral. Pemberian aquades yaitu sebesar 1% dari berat badan hewan (Ridwan, 2013 & Heiserman dkk., 2011). Hewan uji yang diberikan memiliki berat sekitar 200 gram, sehingga rumus perhitungan aquades yaitu:

$$\begin{aligned} & \text{Berat Badan} \times \text{Persen Pemberian} \\ & = 200 \text{ gr} \times 1\% \\ & = 200 \text{ gr} \times (1\text{ml}/100 \text{ gr}) \\ & = 2 \text{ ml/hari} \end{aligned}$$

3.5.3. Pemilihan Minyak Goreng dan Penentuan Dosis

a. Pemilihan Minyak Goreng

Minyak goreng yang telah digunakan untuk menggoreng sebanyak 4 sampai 8 kali dapat merusak organ tikus (Shastry dkk., 2011). Pada penelitian sebelumnya yang dilakukan oleh Muhartono dkk., (2018), pemberian minyak jelantah yang digunakan berasal dari minyak goreng kemasan 2 kali penyaringan yang digunakan untuk menggoreng tahu seberat 450 gram per 2 liter selama 10 menit pada suhu 150-165°C dengan teknik *deep fat frying* sebanyak 1

kali, 4 kali, 8 kali, dan 12 kali. Menurut pada penelitian sebelumnya oleh (Noventi dkk., 2019) pembuatan minyak jelantah menggunakan bahan baku tahu sebagai bahan yang digoreng. Pemilihan tahu karena mengandung kadar air yang cukup tinggi, sehingga cepat merusak minyak saat dipanaskan. Kandungan air tersebut menyebabkan terjadinya hidrolisis semakin cepat yang mempengaruhi peningkatan bilangan peroksida. Oleh karena itu pada penelitian ini pembuatan minyak jelantah dilakukan sendiri menggunakan minyak kemasan 2 kali penyaringan yang digunakan menggoreng tahu seberat 450 gram per 1 liter selama 10 menit dengan teknik *deep fat frying* sebanyak 10 kali penggorengan (Muhartono dkk., 2018).

b. Perhitungan Dosis

Pemberian minyak goreng jelantah kepada hewan percobaan mengacu pada penelitian sebelumnya. Dosis yang digunakan untuk menginduksi tikus putih galur *Sprague-Dawley* ialah 1,5 ml/hari per oral dosis tunggal selama 28 hari dapat mengakibatkan kerusakan ginjal akut (Noventi dkk., 2019).

3.5.4. Pemilihan *Black Garlic* dan Penentuan Dosis

a. Pemilihan *Black Garlic*

Black garlic yang digunakan pada penelitian ini ialah *black garlic* cair yang diperoleh dari Serambi Botani Institut Pertanian Bogor dengan kandungan ekstrak *black garlic* sebanyak 50% dan air 50%.



Gambar 5. *Black Garlic Cair*

b. Penentuan dosis

Pemberian bawang hitam (*black garlic*) dengan dosis 200, 400, atau 800 mg/kgBB pada tikus putih galur *Sprague-Dawley* obesitas yang diinduksi diet tinggi lemak selama 28 hari menunjukkan bahwa bawang hitam (*black garlic*) dapat menurunkan akumulasi lipid (Shin dkk., 2014). Peneliti memilih bawang hitam (*black garlic*) berbentuk cairan dengan rumus dosis sebagai berikut:

$$\text{Dosis } black\ Garlic\ (ml) = black\ Garlic\ (mg) \times \text{berat badan tikus (kg)}$$

Dengan berat badan tikus 200gr dan mengacu pada penelitian sebelumnya (Shin dkk., 2014) menggunakan bawang hitam (*black garlic*) bentuk padat dengan dosis 200 mg/kgBB, 400 mg/kgBB, dan 800 mg/kgBB maka didapatkan dosis bawang hitam (*black garlic*) yang dilakukan penelitian adalah 0,08 ml/hari pada

kelompok perlakuan 1 (P1), 0,16 ml/hari pada kelompok perlakuan 2 (P2), dan 0,32 ml/hari pada kelompok perlakuan 3 (P3).

3.5.5. Prosedur Pemberian Intervensi

Tikus putih (*Rattus norvegicus*) sebanyak 30 ekor, dikelompokkan dalam 5 kelompok. Kelompok 1, sebagai kontrol negatif hanya diberi aquades sebanyak 2 ml/hari. Kelompok 2, sebagai control positif, diberikan minyak jelantah 10x penggorengan dengan dosis 1,5 mL. kelompok 3, sebagai perlakuan 1 diberikan minyak jelantah 10x penggorengan dengan dosis 1,5 mL bersama dengan pemberian bawang hitam (*black garlic*) dengan dosis 200mg/kgBB. Kelompok 4, sebagai perlakuan 2 diberikan minyak jelantah 10x penggorengan dengan dosis 1,5 mL bersama pemberian bawang hitam (*black garlic*) dengan dosis 400mg/kgBB. Kelompok 5, sebagai perlakuan 3 diberikan minyak jelantah 10x penggorengan dengan dosis 1,5 mL bersama dengan pemberian bawang hitam (*black garlic*) dengan dosis 800mg/kgBB.

3.5.6. Prosedur pengelolaan Hewan Coba Pasca Penelitian

Pada akhir perlakuan, dilakukan laparotomi pada tikus yang telah dianastesi menggunakan ketamine-xylazine dengan dosis 75-100mg/kgBB ditambah 5-10mg/kgBB secara intraperitoneal selama 10-30 menit. Setelah dianastesi, tikus diterminasi dengan cara melakukan dislokasi servikal (AVMA, 2013). Setelah itu dilakukan pembedahan untuk mengambil organ ginjal pada tikus.

3.5.7. Prosedur Pengambilan Bagian Ginjal

Pada penelitian ini ginjal diambil untuk dibuat sediaan mikroskopis dengan metode paraffin dan pewarnaan hematoksilin dan eosin. Sampel ginjal difiksasi dengan formalin 10% dan dikirim ke Laboratorium Patologi Anatomi dan Histologi Fakultas Kedokteran Universitas Lampung untuk pembuatan sediaan mikroskopis jaringan ginjal. Pembuatan sediaan dikerjakan oleh staf ahli Laboratorium Patologi Anatomi dan Histologi Fakultas Kedokteran Universitas Lampung. Pembacaan histopatologi untuk menilai tingkat kerusakan pada jaringan ginjal dalam satu lapang pandang dengan membagi satu preparat menjadi 5 lapang pandang dengan menggunakan mikroskop cahaya dengan pembesaran 400 kali. Kriteria penilaian derajat kerusakan ginjal dapat diambil dari kerusakan tertinggi yang kemudian dihitung dari skor kerusakan tubulus ginjal dan skor kerusakan glomerulus dengan total kerusakan yaitu 0-6. Kerusakan glomerulus memiliki skor yaitu, 0 = Gambaran Normal, 1 = infiltrasi sel radang, 2 = edema spatium bowman, 3 = nekrosis, sedangkan kerusakan tubulus juga memiliki skor yaitu, 0 = gambaran normal, 1 = infiltrasi sel radang, 2 = pembengkakan sel epitel tubulus, 3 = nekrosis (Muhartono dkk., 2016).

3.5.8. Prosedur Pemusnahan Hewan Uji Coba

Bangkai hewan uji coba dikubur di tanah dengan kedalaman minimal 50cm dan luas lubang 0,25m². Setiap 1 lubang hanya digunakan untuk mengubur 10 tikus, hal ini untuk mencegah lubang digali kembali oleh

hewan lain seperti kucing dan anjing. Lubang lalu ditutup kembali dengan tanah dan dipadatkan agar tidak tercium bau bangkai tikus tersebut (Alexandru, 2011).

3.5.9. Prosedur Operasional Pembuatan Preparat

a. Fixation

1. *Specimen* berupa potongan organ telah dipotong secara *representative* kemudian segera difiksasi dengan formalin 10% selama 24 jam.

b. Trimming

1. Organ dikecilkan hingga ukuran ± 3 mm.
2. Potongan organ tersebut dimasukkan kedalam *tissue cassette*.
3. Dicuci dengan air mengalir sebanyak 3-5 kali.

c. Dehidrasi

1. Mengeringkan air dengan meletakkan *tissue cassette* pada kertas tisu.
2. Dehidrasi dengan:
3. Alkohol 70% selama 2 jam
4. Alkohol 70% selama 2 jam
5. Alkohol 80% selama 2 jam
6. Alkohol 96% selama 2 jam
7. Alkohol absolut I selama 2 jam
8. Alkohol absolut II selama 2 jam

d. *Clearing*

Untuk membersihkan sisa alkohol, dilakukan *clearing* dengan *xylol* I dan II, masing-masing selama 1 jam.

e. *Impregnasi*

Impregnasi dilakukan dengan menggunakan paraffin selama 1 jam sebanyak 2 kali dalam oven suhu 65°C.

f. *Embedding*

1. Sisa paraffin yang ada pada *pan* dibersihkan dengan memanaskan beberapa saat di atas api dan diusap dengan kapas.
2. Paraffin cair dituangkan ke dalam *pan*.
3. Dipindahkan satu persatu dari *tissue cassette* ke dasar *pan* dengan mengatur jarak yang satu dengan yang lainnya.
4. *Pan* dimasukkan ke dalam air.
5. Paraffin yang berisi potongan dilepaskan dari *pan* dengan dimasukkan ke dalam suhu 4-6°C beberapa saat.
6. Paraffin dipotong sesuai dengan letak jaringan yang ada dengan menggunakan skalpel/pisau hangat.
7. Siap dipotong dengan mikrotom.

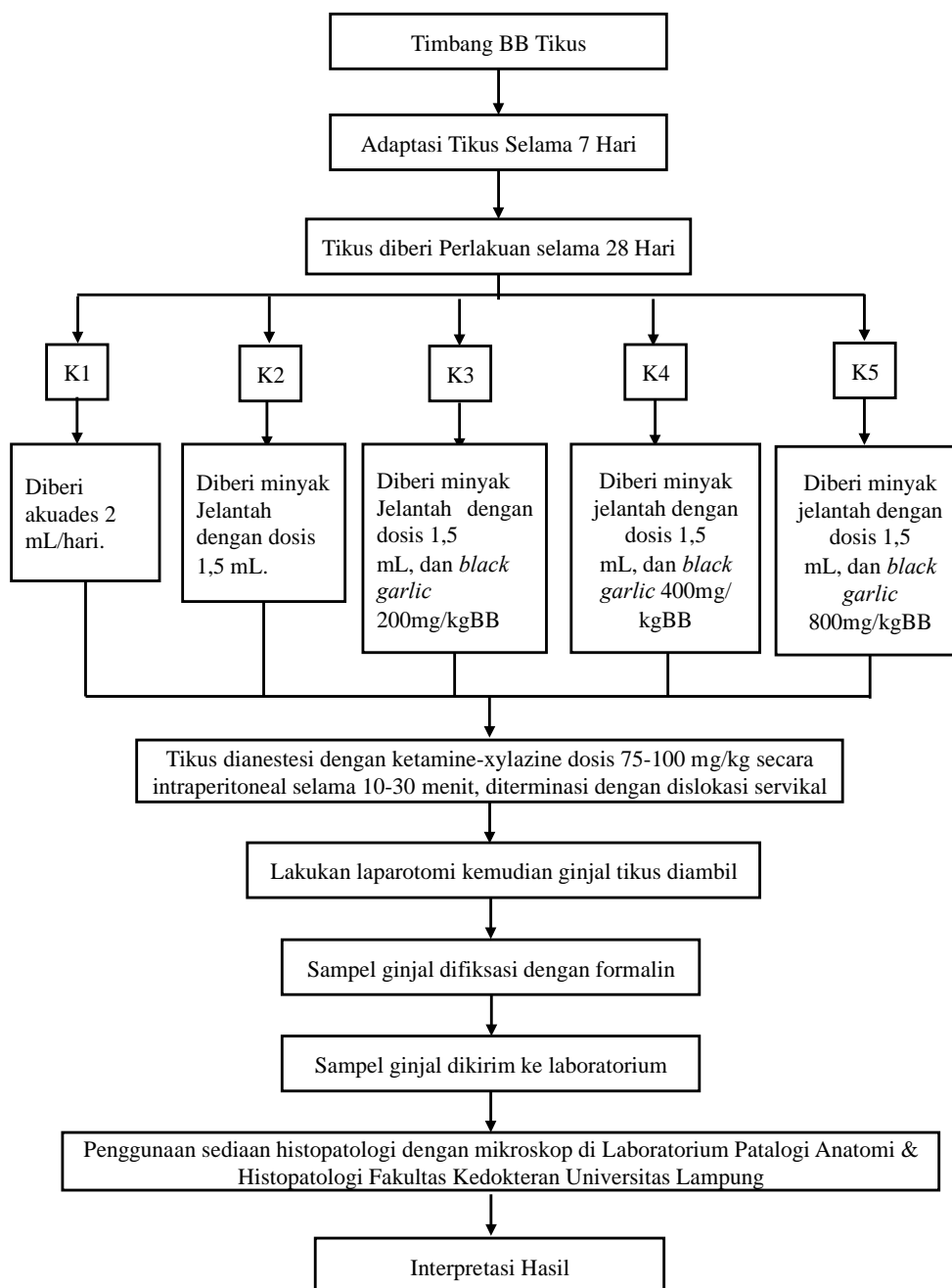
g. *Cutting*

1. Pemotongan dilakukan pada ruangan dingin.
2. Sebelum memotong, blok didinginkan terlebih dahulu di lemari es.

3. Dilakukan pemotongan kasar, lalu dilanjutkan dengan pemotongan halus dengan ketebalan 4-6 mikron. Pemotongan dilakukan menggunakan *rotary microtome* dengan *disposable knife*.
 4. Dipilih lembaran potongan yang paling baik, diapungkan pada air, dan dihilangkan kerutan.
 5. Lembaran jaringan dipindahkan ke dalam *water bath* pada suhu 90°C selama beberapa detik sampai mengembang sempurna.
 6. Dengan gerakan menyendok, lembaran jaringan tersebut diambil dengan slide bersih dan ditempatkan di tengah atau pada sepertiga atas atau bawah.
 7. Slide yang berisi jaringan ditempatkan pada *incubator* (suhu 40°C) selama 1 jam sampai jaringan melekat sempurna.
- h. *Staining* (pewarnaan) dengan prosedur pulasan Hematoksilin-Eosin
- Setelah jaringan melekat sempurna pada slide, dipilih slide yang terbaik lalu secara berurutan dimasukkan ke dalam zat kimia dibawah ini dengan waktu sebagai berikut:
1. Dilakukan deparafinisasi dalam:
 - a) Larutan xylol I selama 5 menit
 - b) Larutan xylol II selama 5 menit
 - c) Larutan xylol III selama 5 menit
 - d) Ethanol absolut selama 1 jam

2. *Hydrasi* dalam:
 - a) Alkohol absolut selama 3 menit
 - b) Alkohol 96% selama 3 menit
 - c) Alkohol 70% selama 3 menit
 - d) Air selama 10 menit
3. Pulasan inti dibuat dengan menggunakan:
 - a) Harris hematoksilin selama 15 menit
 - b) Air mengalir
 - c) Eosin selama maksimal 1 menit
4. Lanjutkan dehidrasi dengan menggunakan:
 - a) Alkohol 70% selama 1 menit
 - b) Alkohol 96% selama 1 menit
 - c) Alkohol absolut 1 menit
5. Penjernihan:
 - a) *Xylol* I selama 2 menit
 - b) *Xylol* II selama 2 menit
- i. *Mounting* dengan entelan lalu tutup dengan *deck glass* Setelah pewarnaan selesai, slide ditempatkan diatas kertas tisu pada tempat datar, ditetesi dengan bahan mounting yaitu entelan dan ditutup dengan *deck glass*, cegah jangan sampai terbentuk gelembung udara.
- j. *Slide* diperiksa dibawah mikroskop cahaya. Preparat histopatologi dikirim ke laboratorium patologi anatomi untuk dikonsultasikan dengan ahli patologi anatomi.

3.6. Alur Penelitian



Gambar 6. Diagram Alur Penelitian

3.7. Identifikasi Variabel dan Definisi Operasional Variabel

3.7.1. Identifikasi Variabel

1. Variabel Independen
 - a. Perlakuan 1: Pemberian minyak jelantah 10x penggorengan dengan dosis 1,5 mL dan bawang hitam (*black garlic*) dengan dosis 200mg/kgBB/hari (Shin dkk., 2014 & Noventi dkk., 2019).
 - b. Perlakuan 2: Pemberian minyak jelantah 10x penggorengan dengan dosis 1,5 mL dan bawang hitam (*black garlic*) dengan dosis 400mg/kgBB/hari (Shin dkk., 2014 & Noventi dkk., 2019).
 - a. Perlakuan 3: Pemberian minyak jelantah 10x penggorengan dengan dosis 1,5 mL dan bawang hitam (*black garlic*) dengan dosis 800mg/kgBB/hari (Shin dkk., 2014 & Noventi dkk., 2019).
 - a. Perlakuan kontrol positif: Pemberian minyak jelantah 10x penggorengan dengan dosis 1,5 mL tanpa bawang hitam (*black garlic*) (Noventi dkk., 2019).
 - b. Perlakuan kontrol negatif: Pemberian akuades 2 mL (Ridwan, 2013 & Heiserman dkk., 2011).
2. Variabel dependen adalah gambaran histopatologi ginjal tikus putih.

3.7.2. Definisi Operasional Variabel

Variabel	Definisi	Alat Ukur	Hasil Ukur	Skala
Ekstrak <i>black garlic</i> (<i>Allium sativum</i>)	Bawang hitam (<i>black garlic</i>) adalah salah satu olahan produk bawang putih yang telah melalui proses fermentasi serta pemanasan temperature tinggi (50-70°C) selama beberapa minggu (Hadik, 2015).	Alat ukur dosis	Pemberian bawang hitam (<i>black garlic</i>) ke tikus putih jantan <i>Sprague-Dawley</i> dengan dosis 200, 400, dan 800 mg/kgBB (Shin dkk., 2014).	Nominal
Histopatologi Ginjal	Skor penilaian Gambaran kerusakan ginjal tikus dilihat dengan melakukan Pengamatan sediaan histopatologi pada 5 lapang pandang	Mikroskop Cahaya dengan pembesaran 400x	<ul style="list-style-type: none"> • Kerusakan glomerulus 0 = gambaran normal 1 = infiltrasi sel radang 2 = edema spatium bowman (peningkatan celah & diameter glomerulus >90nm) 3 = nekrosis • Kerusakan tubulus 0 = gambaran normal, 1 = infiltrasi sel radang 2=edema sel epitel tubulus (>60 nm) 3 = nekrosis 	Nominal
Minyak jelantah	Minyak jelantah yang telah digoreng sebanyak 10x (Mustikasari dkk., 2019).	Alat ukur dosis	Pemberian minyak Jelantah kepada ke tikus putih jantan galur <i>Sprague-Dawley</i> dengan dosis 1,5 ml/hari (Noventi dkk., 2019)	Nominal

3.8. Analisis Data

Data yang diperoleh dari hasil pengamatan histopatologi dibawah mikroskop diuji dengan menggunakan analisis statistik. Hasil penelitian dianalisis secara statistik dengan menggunakan uji normalitas data *Shapiro-Wilk*. Setelah menguji normalitas data, dilakukan uji untuk mengetahui apakah dua atau lebih kelompok data memiliki varians yang sama atau tidak dengan uji Levene. Jika didapatkan data yang berdistribusi normal dan homogen maka dilanjutkan dengan uji parametrik *One Way ANOVA*. Namun bila tidak memenuhi syarat untuk dilakukan uji parametrik, pengujian akan menggunakan uji non-parametrik Kruskal-Wallis, hipotesis dapat dikatakan diterima ketika nilai $p < 0,05$.

3.9. Ethical Clearance

Penelitian ini telah disetujui oleh Komisi Etik Penelitian Kesehatan Fakultas Kedokteran Universitas Lampung dengan nomor surat 2827/UN26.18/PP.05.02.00/2021. Proses pelaksanaannya di lapangan akan melewati informed consent yang berisi kerahasiaan informasi terkait hal-hal penelitian meliputi prinsip 3R, yaitu *replacement*, *reduction*, dan *refinement*.

1. *Replacement*, prinsip yang digunakan adalah *replacement* relatif, yaitu tetap memanfaatkan hewan coba sebagai donor organ. Setelah membaca literatur untuk melakukan penelitian yang akan saya lakukan maka tetap dibutuhkan hewan uji coba tikus sebagai sampel penelitian.
2. *Reduction*, telah dilakukan pertimbangan dan perhitungan sampel untuk menggunakan hewan coba seminimal mungkin agar mendapatkan

hasil perbandingan yang signifikan antar kelompok percobaan. Pada penelitian ini menggunakan 24 sampel.

3. *Refinement*, metode yang digunakan penelitian ini seminimal mungkin menimbulkan rasa tidak nyaman pada hewan coba. Dalam penilitan hewan coba akan diperlakukan dengan baik dan dihindari dari stres dengan tetap mengikuti 5 prinsip kebebasan hewan coba, yaitu:
 - a. *Freedom from hungry and thirsty* (Bebaskan hewan coba dengan memperhatikan makanan dan minuman untuk hewan coba selama penelitian berlangsung).
 - b. *Freedom from discomfort* (Pada penelitian ini, hewan coba akan diletakkan pada lingkungan yang bersih dan memadai serta diberikan kandang khusus sebagai tempat tinggal).
 - c. *Freedom from pain, injury, and disease* (Penelitian ini akan menggunakan prosedur yang paling kecil menghasilkan nyeri pada hewan coba. Selain itu, pada akhir penelitian, hewan coba akan diberikan anesthesia terlebih dahulu sebelum dilakukan terminasi).
 - d. *Freedom from fear and distress* (Pada penelitian ini, hewan coba akan diperlakukan sebaik mungkin serta adaptasi lingkungan sebelum melakukan penelitian agar terhindar dari rasa takut dan stress berkepanjangan).
 - e. *Freedom to express natural behavior*, Hewan coba diberikan kebebasan untuk tetap berekspresi seperti bermain dan berlari (tetap di dalam kandang) selama penelitian berlangsung.

BAB 5

PENUTUP

5.1. Simpulan

Berdasarkan hasil penelitian dapat disimpulkan bahwa :

1. Terdapat hubungan asupan *black garlic* terhadap gambaran histopatologi ginjal tikus putih (*Rattus norvegicus*) Galur *Sprague-Dawley* yang diinduksi minyak jelantah.
2. Pemberian *black garlic* dengan dosis 800mg/kgBB merupakan dosis yang paling efektif untuk mencegah kerusakan ginjal tikus putih (*Rattus norvegicus*) galur *Sprague-Dawley* yang diinduksi minyak jelantah.

5.2. Saran

Adapun saran untuk penelitian berikutnya adalah:

1. Pada penelitian ini didapatkan kerusakan ginjal pada kelompok kontrol negatif, baiknya pada penelitian selanjutnya variabel-variabel yang dapat menjadi faktor penyebab kerusakan ginjal seperti faktor psikologi disertakan dalam metode penelitian. Selain itu keadaan ginjal tikus sebelum penelitian juga sebaiknya dinilai terlebih dahulu

agar didapatkan semua sampel memulai penelitian dalam kondisi yang sama.

DAFTAR PUSTAKA

- Abdou AM, Kim M, Sato K. 2013. *Chapter 5: Functional proteins and peptides of hen's egg origin*. Diunduh dari www.interchopen.com
- Alexandru I. 2011. *Experimental use of animals in research spa*, *Balneo research Journal*. 2(1):65-9.
- Aminah S. 2010. *Bilangan peroksida minyak goreng curah dan sifat organoleptik tempe pada pengulangan penggorengan*. *Jurnal Pangan dan Gizi*. 1(1): 7-14.
- AVMA. 2013. *AVMA guidelines for the euthanasia of animals*. Schaumburg: American Veterinary Medical Association.
- Badan Pusat Statistik. 2020. *Survey Sosial Ekonomi Nasional*.
- Badan Standarisasi Nasional. 2013. *SNI-3741-2013 (Standart Mutu Minyak Goreng)*. Badan Standarisasi Nasional : Jakarta.
- Bae SE, Cho SY, Won YD, Lee SH, Park HJ. 2011. *A Comparative Study of the Different Analytical Methods for Analysis of S- allyl Cystein in Black Garlic by HPLC*. *LWT Food Science and Technology*. 46(2):532-35.
- Bae SE, Cho SY, Won YD, Lee SH, Park HJ. 2014. *Changes in S-allyl cysteine contents and physicochemical properties of black garlic during heat treatment*. *LWT-Food Science and Technology*. 55(1):397-02. doi: 10.1016/j.lwt.2013.05.006.
- Bakhrul, Ibnu M, Ali K, Sri AM. 2015. *Kualitas Minyak Goreng dan Produk Gorengan Selama Penggorengan di Rumah Tangga Indonesia*. *Jurnal Aplikasi Teknologi Pangan*. 4(2): 61-64
- Bangun D. 2010. *Memoar "Duta Besar" Sawit Indonesia*, Jakarta: Penerbit Buku Kompas.
- Birben E, Sahiner UM, Sackesen C. 2012. *Oxidative stress and antioxidant defense*. *WAO Journal*. 5(2):9-19.
- Budiyanto, Silsia D, Efendi Z, Janika R. 2010. *Perubahan kandungan β -karoten, asam lemak bebas dan bilangan peroksida minyak sawit merah selama pemanasan*. *Jurnal Agritech*. 30(2):75-9.

- Choe E; Min D.B.. 2006. *Chemistry and Reactions of reactive oxygen species in foods*. Critical. Review. Food Science. Nutrition. 46(1):1–22.
- Defriani P. 2012. *Tinjauan kepustakaan efek teh rosella terhadap faal ginjal pengguna alkohol*. Jurnal MBJ 2016. 4(2):1–8.
- Eroschenko VP. 2010. *Atlas Histologi di Fiore dengan Korelasi Fungsional*. Jakarta: EGC.
- Food and Agriculture Organization Stat. 2015. *FAO Statistical Pocketbook World Food and Agriculture*. Food and Agriculture Organization of The United Nations: FAO.
- Fransiska E. 2010. *Karakteristik, Pengetahuan, Sikap, dan Tindakan Ibu Rumah Tangga tentang Penggunaan Minyak Goreng Berulang Kali di Desa Tanjung Selamat Kecamatan Sunggal Tahun 2002* [Skripsi]. Medan. Fakultas Kesehatan Masyarakat Universitas Sumatera Utara.
- Guyton AC, Hall JE. 2014. *Buku Ajar Fisiologi Kedokteran*. Edisi 12. Jakarta : EGC, 1022
- Ha AW, Ying T, Kim WK. 2015. *The Effects of Black Garlic (Allium satvium) Extracts on Lipid Metabolism in Rats Fed a High Fat Diet*. Nutrition Research and Practice. 9(1):30-6
- Maradjabessy SISP, Faisal S, Tejasari M. 2021. *Scoping Review: Efek Nefroprotektif Black Garlic/Aged Garlic Pada Hewan Model Renal Injury*. Jurnal Integrasi Kesehatan dan Sains. 3(1): 86-92.
- Halliwell B, Gutteridge JMC. 2015. *Free radicals in biology and medicine (fifth edition)*. United Kingdom: Oxford University Press.
- Haryono, Sirin F, Yavita S, Ika R. 2010. *Pengolahan Minyak Goreng Kelapa Sawit Bekas menjadi Biodiesel Studi Kasus: Minyak Goreng Bekas dari KFC Dago Bandung, Pengembangan Teknologi Kimia untuk Pengolahan Sumber Daya Alam Indonesia, Prosiding Seminar Nasional Teknik Kimia “Kejuangan”*. Bandung. Jurusan Teknik Kimia, Institut Teknologi Nasional.
- Heiserman DL. 2011. *Factors Which Influence Drug Dosage Effects*. USA : Sweet Haven Publishing Services.
- Irianti T, Puspitasari A, Machwiyyah L, Rabbani HR. 2016. *The activity of radical scavenging of 2,2-diphenyl-1-picrylhydrazil (DPPH) by ethanolic extracts of mengkudu leaves (Morinda citrifolia L.), brotowali stem (Tinospora crispa L.), its water fraction and its hydrolized fraction*. Majalah Obat Tradisional. 20(3):140-48.

- Janvier. 2017. *Sprague dawley rat*. Janvier. [Diakses pada 9 mei 2021]. Tersedia dari : https://www.janvier-labs.com/en/fiche_produit/sprague_dawley_rat/
- Kartika AA, Siregar HCH, Fuah AM. 2013. *Strategi pengembangan usaha ternak tikus (Rattus norvegicus) dan mencit (Mus musculus) di fakultas peternakan IPB*. Jurnal Ilmu Produksi dan Teknologi Hasil Peternakan. 1(3):147-54.
- Ketaren S. 2012. *Pengantar Teknologi Minyak dan Lemak Pangan*. Jakarta: UI Press
- Khomsan A. 2010. *Pangan dan gizi untuk kesehatan*. Jakarta: PT. Raja grafindo Persada
- Kimura S, Tung YC, Pan MH, Su NW, Lai YJ, Cheng KC. 2017. *Black garlic: A critical review of its production, bioactivity, and application*. Journal of Food and Drug Analysis. 25(1):62-70.
- Kim JH, Nam SH, Rico CW, Kang MY. 2012. *A comparative study on the antioxidative and anti-allergic activities of fresh and aged black garlic extract*. International Journal Food Science Technol.
- Kumar S, Pandey AK. 2015. *Free radicals: health implications and their mitigation by herbals*. British Journal of Medicine & Medical Research. 7(6):438-57.
- Li CJ, Barkath AA, Abdullah MZ, Lingkan N, Ismail NHM, Pauzi SHM dkk. 2019. *The effects of citrus leaf extract on renal oxidative stress, renal function and histological changes in rats fed with heated palm oil*. Biomedical & Pharmacology Journal. 12(1):363-73.
- Lu X, Li N, Qiao X, Qiu Z, Liu P. 2017. *Composition analysis and antioxidant properties of black garlic extract*. Journal of Food and Drug Analysis. 25(2):340-49.
- Madison BN, Tavakoli S, Kramer S, Bernier NJ. 2015. *Chronic Cortisol and the Regulation of Food Intake and the Endocrine Growth Axis in Rainbow Trout*. Journal Endocrinol. 226(2):103-19
- Mescher AL. 2016. *Junqueira's Basic Histology Text and Atlas 14th ed*. USA : McGraw-HillEducation.
- Maynard RL, Downes N. 2019. *Anatomy and Histology of the Laboratory Rat in Toxicology and Biomedical Research*. USA: Elseiver.

- Meitha K, Pramesti Y, Suhandono, S. 2020. *Reactive Oxygen Species and Antioxidants in Postharvest Vegetables and Fruits*. International Journal of Food Science. 1(1):1-11.
- Moore KL, Dalley AF, Agur AMR. 2014. *Moore clinically oriented anatomy 7th ed*. Baltimore: Lippincott Williams & Wilkins.
- Muhartono, Yudistira A, Putri NT, Sari TN, Oktafany. 2018. *Minyak Jelutau Menyebabkan Kerusakan pada Arteri Koronaria, Miokardium, dan Hati Tikus Putih (Rattus norvegicus) Jantan Galur Sprague dawley*. Jk U 2(2):129-35.
- Mustikasari I, Saktini F, Gumay AR. 2019. *Pengaruh frekuensi pengorengan minyak jelantah terhadap hepar tikus wistar (Rattus norvegicus)*. Jurnal Kedokteran Diponegoro
- Noventi W, Hanriko R, Imanto M. 2019. *Pengaruh pemberian minyak jelantah terhadap gambaran histopatologi ginjal tikus putih (Rattus norvegicus) jantan galur Sprague dawley*. Jurnal Agromedicine. 6(1):159-66.
- Nursyah DA. 2012. *Penentuan siklus estrus tikus putih (Rattus norvegicus) ovariectomi yang diberi tepung daging teripang (Holothuria scabra)*. [Skripsi] Bogor: Fakultas kedokteran hewan institut pertanian bogor.
- Parwata MOA. 2016. *Bahan Ajar Antioksidan*. Kimia Terapan Pascasarjana, Bali: Universitas Udayana.
- Pandey AK, Mishra AK, Mishra A. 2012. *Antifungal and antioxidative potential of oil and extracts derived from leaves of indian spice plant*. Cell Mol Biol. 58(1):142-7.
- Ridwan E. 2013. *Etika Pemanfaatan Hewan Percobaan dalam Penelitian Kesehatan*. Jurnal Indon Med Assoc. 63(3):112-16.
- Rinawati W, Aulia D. 2011. *Kidney injury molecule-1 (KIM-1) sebagai penanda baru nekrosis tubular akut*. Majalah Kedokteran Indonesia. 61(2):81-5.
- Sengupta P. 2013. *The Laboratory rat: Relating its age with human's*. International Journal of Preventive Medicine. 4(6):624-30.
- Shastri CS, Patel NA, Joshi H. 2011. *Evaluation Of Effect Of Reused Edible Oils On Vital Organs Of Wistar Rats*. Journal of Health and Allied Sciences NU. 1(4):1-6.
- Sherwood L. 2014. *Fisiologi manusia : dari sel ke sistem*. Edisi 8. Jakarta : EGC.

- Shin JH, Lee CW, Oh SJ, Yun J, Kang MR, Han SB, dkk. 2014. *Hepatoprotective Effect of Aged Black Garlic Extract in Rodent*. Toxicological Research. 30(1): 49-54.
- Siswanto W, Mulasari. 2015. Pengaruh frekuensi penggorengan terhadap peningkatan peroksida minyak goreng curah dan fortifikasi vitamin A. Kesmas. Volume 9 (1). 1-10
- Small DM, Coombes JS, Bennet N, Johnson DW, Gobe GC. 2012. *Oxidative stress, anti-oxidant therapies and chronic kidney disease*. Nephrology. 17: 311-21.
- Stevani H. 2016. *Modul bahan ajar cetak farmasi: Praktikum farmakologi*. Jakarta: Kementerian Kesehatan RI.
- Susianti. 2014. *Pengaruh Minyak Goreng Bekas Yang Dimurnikan Dengan Buah Mengkudu (Morinda Citrifolia) Terhadap Gambaran Histopatologi Hepar Dan Jantung Tikus*. Majalah Kedokteran Andalas. 37(2): 54-59.
- Tamay-Cach F, Quintana-Pérez J, Trujillo-Ferrara J, Cuevas-Hernández R, Del Valle-Mondragón L, García-Trejo E dkk. 2016. *A review of the impact of oxidative stress and some antioxidant therapies on renal damage*. Renal Failure. 38(2):171-75.
- Tamrin. 2013. *Gasifikasi Minyak Jelantah Pada Kompor Bertekanan*. Jurnal Teknik Pertanian Universitas Lampung. 2(2):115-22.
- Tortora G, Derrickson B. 2014. *Principles of anatomy and physiology 14th. ed*. New Jersey: John Wiley and Sons.
- Tran GB, Dam SM, Le TNT. 2018. *Amelioration of single clove black garlic aqueous extract on dyslipidemia and hepatitis in chronic carbon tetrachloride intoxicated Swiss albino mice*. International Journal of Hepatology.
- United States Departement of Agriculture : Foreign Aggriculture Service. 2018. *Oilseeds: World Market and Trade Current Report*.
- Verdiansah. 2016. *Pemeriksaan Fungsi Ginjal*. Rumah Sakit Hasan Sadikin : Bandung, Indonesia. 43(2):148-54.
- Wang X, Jiao F, Wang QW, Wang J, Yang K, Hu RR, dkk. 2011. *Aged Black Garlic Extract Induces Inhibition of Gastric Cancer Cell Growth in Vitro and in Vivo*. The Journal of Molecular Medicine Reports. 5(1):66-72.
- Zahra SL, Dwiloka B, Mulyani S. 2013. *Pengaruh Penggunaan Minyak Goreng Berulang Terhadap Perubahan Nilai Gizi dan Mutu Hedonik pada Ayam Goreng*. Animal Agriculture Journal. 2(1):253-60.