

**UJI TOKSISITAS AKUT DOSIS TUNGGAL EKSTRAK ETANOL DAUN  
PUCUK MERAH (*Syzygium myrtifolium* Walp.) TERHADAP GAMBARAN  
HISTOPATOLOGI GINJAL TIKUS PUTIH (*Rattus norvegicus*) GALUR  
Sprague Dawley MENGGUNAKAN *GUIDELINE* UJI OECD NO. 423**

**(Skripsi)**

**Oleh**

**SYAFIRA ALIFIA AUDIANI  
1918011011**



**PROGRAM STUDI PENDIDIKAN DOKTER  
FAKULTAS KEDOKTERAN  
UNIVERSITAS LAMPUNG  
2023**

**UJI TOKSISITAS AKUT DOSIS TUNGGAL EKSTRAK ETANOL DAUN  
PUCUK MERAH (*Syzygium myrtifolium* Walp.) TERHADAP GAMBARAN  
HISTOPATOLOGI GINJAL TIKUS PUTIH (*Rattus norvegicus*) GALUR  
Sprague Dawley MENGGUNAKAN *GUIDELINE* UJI OECD NO. 423**

**Oleh**

**SYAFIRA ALIFIA AUDIANI  
1918011011**

**Skripsi**

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



**PROGRAM STUDI PENDIDIKAN DOKTER  
FAKULTAS KEDOKTERAN  
UNIVERSITAS LAMPUNG  
BANDAR LAMPUNG  
2023**

Judul Skripsi : **UJI TOKSISITAS AKUT DOSIS TUNGGAL EKSTRAK ETANOL DAUN PUCUK MERAH (*Syzygium myrtifolium* Walp.) TERHADAP GAMBARAN HISTOPATOLOGI GINJAL TIKUS PUTIH (*Rattus norvegicus*) GALUR Sprague Dawley MENGGUNAKAN *GUIDELINE* UJI OECD NO. 423**

Nama Mahasiswa : **Syafira Alifia Audiani**

No. Pokok Mahasiswa : 1918011011

Program Studi : PENDIDIKAN DOKTER

Fakultas : KEDOKTERAN



Pembimbing 1

**dr. Waluyo Rudiyanto, M.Kes., Sp. KKLK**  
NIP. 197610292003121002

Pembimbing 2

**Dr. dr. Ety Apriliana, M.Biomed.**  
NIP. 197804292002122002

2. Dekan Fakultas Kedokteran

The image shows a blue circular official stamp of Universitas Lamer. The outer ring contains the text 'KEMENTERIAN PENDIDIKAN, KEBUDAYAAN, HIGIENE DAN KESEHATAN REPUBLIK INDONESIA' at the top and 'UNIVERSITAS LAMER' at the bottom. In the center is a blue emblem with a figure holding a staff. A blue ink signature is written across the stamp.

**Prof. Dr. Dyah Wulan Sumekar RW, S.K.M., M.Kes.**  
NIP. 197206281997022001

**MENGESAHKAN**

1. Tim Penguji

Ketua : **dr. Waluyo Rudiyanto, M.Kes., Sp. KKL**



Sekretaris : **Dr. dr. Ety Apriliana, M.Biomed.**



Penguji  
Bukan Pembimbing : **Dr. dr. Susianti, M.Sc.**



2. Dekan Fakultas Kedokteran



**Prof. Dr. Dyah Wulan Sumekar RW, S.K.M., M.Kes.**  
NIP. 19720628199702001



**Tanggal Lulus Ujian Skripsi : 26 Januari 2023**

## LEMBAR PERNYATAAN

Dengan ini saya menyatakan bahwa:

1. Skripsi dengan judul “**Uji Toksisitas Akut Dosis Tunggal Ekstrak Daun Pucuk Merah (*Syzygium myrtifolium* Walp) Terhadap Gambaran Histopatologi Ginjal Tikus Putih Jantan (*Rattus norvegicus*) Galur Sprague Dawley Berdasarkan *Guideline* Uji OECD No.423**” adalah hasil karya saya sendiri dan tidak melakukan penjiplakan atas karya penulis lain dengan cara tidak sesuai tata etika ilmiah yang berlaku dalam akademik atau yang dimaksud dengan plagiarisme.
2. Hak intelektual atas karya ilmiah ini diserahkan sepenuhnya kepada Universitas Lampung.

Atas pernyataan ini, apabila dikemudian hari ditemukan adanya ketidakbenaran, saya bersedia menanggung akibat dan sanksi yang diberikan kepada saya.

Bandar Lampung, 6 Januari 2023

Pembuat pernyataan,



Syafira Alifia Audiani

## **RIWAYAT HIDUP**

Penulis merupakan anak perempuan yang dilahirkan di Bandar Lampung pada tanggal 14 April 2001, sebagai anak pertama dari dua bersaudara dari Bapak Hi. Aupansyah, S.P. dan Ibu Hj. Dewi Eka Putri, M.Pd. Penulis memiliki 1 adik laki-laki-laki yang bernama Muhammad Naufal Annajjar.

Penulis menyelesaikan Pendidikan Taman Kanak-Kanak (TK) di TK Qurrota A'yun Bandar Lampung pada tahun 2007, Sekolah Dasar (SD) penulis diselesaikan di SD IT Permata Bunda I Bandar Lampung pada tahun 2013, Sekolah Menengah Pertama (SMP) penulis diselesaikan di SMP Negeri 2 Bandar Lampung pada tahun 2016, dan Sekolah Menengah Atas (SMA) penulis diselesaikan di SMA Negeri 5 Bandar Lampung pada tahun 2019.

Penulis terdaftar sebagai mahasiswa Program Studi Pendidikan Dokter Fakultas Kedokteran Universitas Lampung pada tahun 2019 melalui jalur Seleksi Nasional Masuk Perguruan Tinggi (SNMPTN). Selama menjadi mahasiswa, penulis aktif mengikuti organisasi PMPATD PAKIS Rescue Team 2020-2021 dan menjadi Sekretaris Umum PMPATD PAKIS Rescue Team tahun 2021-2022. Selain itu, penulis juga menjadi Asisten Dosen mata kuliah histologi tahun 2022-2022.

**Ku persembahkan karya tulis ini untuk Ayah dan Ibu  
tersayang, Adek Naufal, Datuk, Andung, Keluarga,  
Sahabat yang senantiasa mendoakan dan menjadi sumber  
semangatku sampai saat ini...**

وَأَفْوِضْ أَمْرِي إِلَى اللَّهِ

**Dan aku menyerahkan urusanku kepada Allah**

**(Q.S Al - Ghafir : 44)**

## SANWACANA

Assalamualaikum Warahmatullahi Wabarakatuh

Alhamdulillah Rabbil alamiin. Puji syukur penulis panjatkan kepada Allah SWT yang Maha Pengasih lagi Maha Penyayang yang telah memberikan rahmat serta karunia-Nya selama penyusunan skripsi ini sehingga penulis dapat menyelesaikan skripsi yang berjudul “Uji Toksisitas Akut Dosis Tunggal Ekstrak Daun Pucuk Merah (*Syzygium myrtifolium* Walp) Terhadap Gambaran Histopatologi Ginjal Tikus Putih Jantan (*Rattus norvegicus*) Galur Sprague Dawley Berdasarkan *Guideline* Uji OECD No.423”.

Dalam proses penulisan skripsi ini, penulis mendapatkan bantuan, bimbingan, saran, dan kritik dari berbagai pihak. Oleh karena itu, dalam kesempatan ini penulis ingin mengucapkan rasa terimakasih kepada:

1. Prof. Dr. Ir. Lusmeilia Afriani, D.E.A.IPM. selaku Rektor Universitas Lampung.
2. Prof. Dr. Dyah Wulan Sumekar RW, S.K.M., M.Kes., selaku Dekan Fakultas Kedokteran Universitas Lampung.
3. dr. Waluyo Rudiyanto, M.Kes., Sp. KKLK selaku Pembimbing I, yang telah membimbing penulis dengan sebaik-baiknya serta memberikan masukan dan motivasi yang sangat berharga bagi penulis, terimakasih dokter atas waktu dan pelajaran yang sudah diberikan.
4. Dr. dr. Ety Apriliana, M.Biomed. selaku pembimbing II yang telah membimbing penulis dengan sebaik-baiknya serta memberikan masukan dan motivasi selama proses penulisan skripsi, terimakasih dokter telah memaklumi kekurangan penulis selama bimbingan.

5. Dr. dr. Susianti, M.Sc. selaku penguji utama, terimakasih dokter atas waktu, saran, ilmu dan motivasi yang telah diberikan dalam proses penulisan skripsi ini.
6. dr. Rasmi Zakiah Oktarlina, M.Farm. selaku pembimbing akademik, terimakasih dokter atas bimbingannya selama ini.
7. Dr. dr. Indri Windarti, Sp. PA yang telah membantu dan mengajarkan penulis dalam membaca preparat ginjal.
8. Kepada laboran Laboratorium Patologi Antomi dan Histologi FK Unila, Mas Bayu Putra Danan Jaya, S.ST., M.Si, yang telah memberikan waktu, tenaga dan masukan dalam membantu selama proses penelitian.
9. Seluruh dosen, staff, dan karyawan atas ilmu, waktu, dan bantuan yang telah diberikan selama proses perkuliahan sampai penyusunan skripsi.
10. Kepada kedua orang tua penulis, Ayah (Hi. Aupansyah, S.P.) dan Ibu (Hj. Dewi Eka Putri, M.Pd.) terimakasih atas segala doa, dukungan, motivasi, serta semangat selama ini.
11. Kepada adik penulis, M. Naufal Annajjar yang telah menjadi teman cerita sekaligus memberikan dukungannya dalam proses penelitian
12. Kepada kakek dan nenek penulis, terimakasih atas segala doa dan dukungannya selama ini.
13. Kepada seluruh keluarga besar penulis yang sudah membantu dan memotivasi dalam proses perkuliahan maupun penelitian.
14. Kepada teman planetku, Lutfia, Arifah, Ika dan Maul yang selalu mendengarkan segala cerita serta memberikan masukan maupun semangat kepada penulis.
15. Kepada teman 'saya suka semangat kalian' Dian, Indi, Lutfia, Dhipayasa, yang sudah senantiasa mewarnai kehidupan perkuliahan dan liburan, berbagi tawa, berbagi sedih, hingga berbagi masalah bersama.
16. Kepada teman penelitian, Nada dan Tito yang telah memberikan segala bentuk dukungan, tenaga, serta waktu dalam membantu menyelesaikan penelitian ini.
17. Seluruh teman-teman PAKIS SC14 dan Divisi Pengabdian Masyarakat, terimakasih atas segala semangat, canda tawa, serta dukungan yang telah diberikan selama ini.

18. Teman-teman angkatan 2019 (L19AMENTUM L19AND) yang tidak dapat disebutkan satu persatu, terimakasih atas bantuan dan dukungan selama proses perkuliahan.

19. Seluruh pihak yang tidak dapat disebutkan satu persatu yang telah membantu penyusunan skripsi ini.

Semoga Allah SWT senantiasa memberikan rahmat dan balasan yang berlipat atas segala bantuan dan kebaikan yang telah diberikan kepada penulis dalam menyelesaikan skripsi ini. Aamiin Ya Robbal'Alaamiin.

Bandar Lampung, 6 Januari 2023

Penulis

Syafira Alifia Audiai

## ABSTRACT

**SINGLE DOSE ACUTE TOXICITY TEST OF RED SHOOT LEAF  
EXTRACT (*Syzygium myrtifolium* Walp) ON KIDNEY HISTOPATHOLOGY  
OF SPRAGUE-DAWLEY  
MALE WHITE RATS (*Rattus norvegicus*)  
BASED ON *GUIDELINE* OECD  
TEST NO.423**

By

**SYAFIRA ALIFIA AUDIANI**

**Background:** Red shoot leaf extract has pharmacological activities including antioxidant, antibacterial, antifungal and antiviral. Toxicity testing is conducted to measure the degree of damage caused by a substance. This study aims to determine toxic dose and the effect of toxic doses ethanol extract of red shoots (*Syzygium myrtifolium* Walp.) on histopathological appearance of white rat's kidney (*Rattus norvegicus*) based on OECD test guideline No. 423.

**Method:** Red shoot leaf extract is given orally once based on OECD guidelines No.423, namely 5, 50, 300 and 2000 mg/kgBW with an initial dose of 2000 mg/KgBW. The experimental animals were observed for 24 hours to see any death. If there are 2-3 deaths, the dose reduced to 300 mg/Kg BW. However, if at dose of 2000 there is only 0-1 death, the dose will be increased to 5000 mg/KgBB. Kidney histopathology was observed in control group, 2000, and 5000 mg/kgBW.

**Results:** Toxic dose of red shoots leaf extract is 5000 mg/kgBW. Results of microscopic observations, there were damages like widening Bowman's space and tubular lumen, accumulation of debris cell, vacuolization, karyomegaly and bleeding.

**Conclusion:** There is an effect of toxic doses red shoot leaf extract on histopathological appearance of white rat's kidney based on the OECD test no.423

**Keywords:** Red Shoots Leaf Extract, Kidney Histopathology, OECD No.423, Acute Toxicity Test

## ABSTRAK

### UJI TOKSISITAS AKUT DOSIS TUNGGAL EKSTRAK DAUN PUCUK MERAH (*Syzygium myrtifolium* Walp) TERHADAP GAMBARAN HISTOPATOLOGI GINJAL TIKUS PUTIH (*Rattus norvegicus*) JANTAN GALUR SPRAGUE-DAWLEY BERDASARKAN GUIDELINE UJI OECD NO.423

Oleh

**SYAFIRA ALIFIA AUDIANI**

**Latar Belakang:** Ekstrak daun pucuk merah memiliki aktivitas farmakologi diantaranya antioksidan, antibakteri, antijamur dan antivirus. Pengujian toksisitas dilakukan untuk mengukur derajat kerusakan akibat suatu senyawa. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui dosis toksik dan pengaruh dosis toksik ekstrak etanol daun pucuk merah (*Syzygium myrtifolium* Walp.) terhadap gambaran histopatologi ginjal tikus putih (*Rattus norvegicus*) menggunakan *guideline* uji OECD No. 423

**Metode:** Ekstrak daun pucuk merah diberikan secara oral sebanyak satu kali dengan dosis yang telah ditentukan (*fixed dose*) berdasarkan *guideline* OECD No.423 yaitu 5, 50, 300, dan 2000 mg/kgBB secara bertahap dengan dosis awal 2000 mg/KgBB. Setelah pemberian dosis, hewan coba diamati selama 24 jam untuk melihat adanya kematian. Jika terdapat 2-3 kematian, dosis selanjutnya diturunkan menjadi 300 mg/KgBB. Namun, apabila pada dosis 2000 mg/KgBB hanya terdapat 0-1 kematian maka dosis akan dinaikkan ke 5000 mg/KgBB

**Hasil:** Dalam penelitian ini dilakukan pengamatan histopatologi ginjal pada kelompok kontrol, 2000mg/kgBB, dan 5000mg/kgBB. Dosis toksik ekstrak daun pucuk merah sebesar 5000mg/kgBB yang termasuk dalam zat hampir tidak toksik. Dari hasil pengamatan mikroskopik didapatkan adanya kerusakan berupa pelebaran ruang bowman dan lumen tubulus, akumulasi sel debris, vakuolisasi, kariomegali dan perdarahan.

**Simpulan:** Terdapat pengaruh dosis toksik pemberian ekstrak daun pucuk merah terhadap gambaran histopatologi ginjal tikus putih berdasarkan *guideline* uji OECD no.423

**Kata Kunci:** Ekstrak Daun Pucuk Merah, Histopatologi Ginjal, OECD No.423, Uji Toksisitas Akut

## DAFTAR ISI

	Halaman
<b>DAFTAR ISI</b> .....	<b>i</b>
<b>DAFTAR TABEL</b> .....	<b>.iii</b>
<b>DAFTAR GAMBAR</b> .....	<b>iv</b>
<b>BAB I PENDAHULUAN</b> .....	<b>1</b>
1.1 Latar Belakang .....	1
1.2 Rumusan Masalah .....	4
1.3 Tujuan penelitian.....	4
1.4 Manfaat Penelitian.....	4
1.4.1 Manfaat Bagi peneliti .....	4
1.4.2 Manfaat Bagi Institusi Penelitian .....	5
1.4.3 Manfaat Bagi Masyarakat .....	5
<b>BAB II TINJAUAN PUSTAKA</b> .....	<b>6</b>
2.1 Pucuk merah .....	6
2.1.1 Pucuk Merah .....	6
2.1.2 Taksonomi Pucuk Merah .....	6
2.1.3 Morfologi Pucuk Merah .....	7
2.1.4 Kandungan Daun Pucuk Merah .....	8
2.2 Ginjal .....	10
2.2.1 Anatomi Ginjal .....	10
2.2.2 Fisiologi Ginjal.....	12
2.2.3 Histologi Ginjal .....	13
2.2.4 Parameter Kerusakan Ginjal.....	16
2.2.5 Pengaruh Daun Pucuk Merah terhadap Ginjal .....	18
2.3 Uji OECD No.423 .....	19
2.3.1 Uji Toksisitas Akut.....	19
2.3.2 Definisi <i>Guideline</i> Uji OECD No. 423 .....	20
2.4 Kerangka Teori.....	22
2.5 Kerangka Konsep .....	23
2.6 Hipotesis .....	24
<b>BAB III METODE PENELITIAN</b> .....	<b>25</b>
3.1 Jenis Penelitian .....	25
3.2 Lokasi dan Waktu Penelitian.....	25

3.2.1 Tempat Penelitian.....	25
3.2.2 Waktu Penelitian .....	25
3.3 Populasi dan Sampel Penelitian .....	25
3.3.1 Populasi Penelitian .....	25
3.3.2 Sampel Penelitian .....	26
3.4 Kriteria Penelitian.....	26
3.4.1 Kriteria Inklusi .....	26
3.4.2 Kriteria Eksklusi.....	26
3.5 Alat dan Bahan Penelitian .....	26
3.5.1 Alat Penelitian .....	26
3.5.2 Bahan Penelitian.....	27
3.6 Identifikasi Variabel .....	27
3.6.1 Variabel bebas .....	27
3.6.2 Variabel Terikat.....	27
3.7 Definisi Operasional.....	28
3.8 Prosedur Penelitian.....	28
3.8.1 Pemilihan Bahan Daun Pucuk Merah ( <i>Syzygium myrtifolium</i> Walp.).....	28
3.8.2 Pembuatan Ekstrak Daun Pucuk Merah ( <i>Syzygium myrtifolium</i> Walp.).....	29
3.8.2 Pemeliharaan Hewan Coba .....	34
3.8.3 Prosedur Pemberian Perlakuan.....	35
3.8.4 Prosedur Pengelolaan Hewan Coba Pasca Penelitian .....	36
3.8.5 Pengambilan Sampel .....	36
3.9 Diagram Alur.....	39
3.10 Analisis Data .....	42
3.11 Etika Penelitian.....	42
<b>BAB IV PEMBAHASAN.....</b>	<b>43</b>
4.1 Hasil Penelitian .....	43
4.1.1 Hasil Gambaran Histopatologi Ginjal .....	45
4.1.2 Analisis Histopatologi Kerusakan Ginjal Tikus.....	48
4.2 Pembahasan .....	50
4.3 Keterbatasan Penelitian .....	56
<b>BAB V SIMPULAN DAN SARAN.....</b>	<b>57</b>
5.1 Simpulan.....	57
5.2 Saran.....	57
<b>DAFTAR PUSTAKA .....</b>	<b>58</b>
<b>LAMPIRAN.....</b>	<b>63</b>

**DAFTAR TABEL**

<b>Tabel</b>	<b>halaman</b>
1. Skoring Histopatologi Ginjal.....	17
2. Kategori Toksisitas Hodge dan Sterner.....	22
3. Definisi Operasional.....	28
4. Hasil Data Respon Hewan Uji Terhadap Dosis Penelitian.....	44
5. Hasil Rerata Skoring Kerusakan Ginjal.....	48
6. Hasil Uji Normalitas Saphiro-Wilk Histopatologi Ginjal.....	49
7. Hasil Uji One Way Anova.....	49
8. Hasil Uji Post-Hoc LSD.....	50

**DAFTAR GAMBAR**

<b>Gambar</b>	<b>Halaman</b>
1. Daun Pucuk Merah.....	7
2. Anatomi Ginjal.....	11
3. Anatomi Ginjal Bagian Dalam.....	12
4. Histologi Ginjal.....	14
5. Histologi Glomerulus dan Tubulus Ginjal.....	15
6. Alur Penelitian Berdasarkan <i>Guideline</i> OECD No.423.....	21
7. Kerangka Teori.....	23
8. Kerangka Konsep.....	24
9. Digram Alir.....	41
10. Gambaran Mikroskopis Ginjal Kelompok Kontrol.....	45
11. Gambaran Mikroskopis Ginjal Kelompok 2000mg/kgBB.....	46
12. Gambaran Mikroskopis Ginjal Kelompok 5000mg/kgBB.....	47

# **BAB I**

## **PENDAHULUAN**

### **1.1 Latar Belakang**

Indonesia merupakan negara agraris yang mempunyai hamparan lahan yang luas, keragaman hayati yang berlimpah, serta iklim dan kondisi alam yang sangat mendukung. Iklim tropis di Indonesia sangat mendukung bagi petani untuk dapat menanam sepanjang tahun karena ketersediaan sinar matahari sepanjang tahun. Faktor lain yaitu, struktur tanah Indonesia sangat memungkinkan bagi petani untuk menanam segala jenis tumbuhan (Fajar *et al.*, 2018).

Tanaman di Indonesia sangatlah beragam. Kekayaan flora ini didukung dari berbagai faktor sehingga memungkinkan tanaman tumbuh dan berkembang dengan baik termasuk tanaman hias. Tanaman hias adalah tanaman yang mampu menciptakan kesan keindahan dan daya tarik. Umumnya, tanaman hias dapat digolongkan menjadi tanaman hias bunga dan daun. Tanaman hias daun merupakan jenis tanaman hias yang menitik beratkan keindahannya pada daun (Adelita *et al.*, 2010).

Salah satu tanaman hias yang ada di alam dan perlu dikembangkan yaitu daun pucuk merah (*Syzygium myrtifolium* Walp). Pucuk merah merupakan tanaman hias populer dari famili *Myrtaceae* yang terdistribusi di Myanmar, Thailand, Semenanjung Malaysia, Singapura, Timur Laut India, Filipina dan Indonesia khususnya di pulau Sumatera dan Kalimantan (Haryati, 2015). Selain digunakan sebagai tanaman estetika, penelitian membuktikan bahwa tanaman pucuk merah ini juga memiliki kandungan senyawa kimia yang bermanfaat. Ekstrak pucuk merah dilaporkan mengandung beberapa senyawa metabolit

sekunder seperti flavonoid, kalkon, dan terpenoid yang memiliki aktivitas antitumor dan penghambat angiogenesis (Aisha *et al.*, 2013 dan Memon *et al.*, 2015).

Beberapa penelitian membuktikan bahwa ekstrak tanaman pucuk merah memiliki aktivitas farmakologi diantaranya memiliki aktivitas antioksidan, antibakteri, antijamur dan antivirus (Ahmad *et al.*, 2022). Tingginya total fenolik dan flavonoid dari ekstrak etanol dan etil asetat daun pucuk merah (*Syzygium myrtifolium* Walp) menunjukkan adanya aktivitas antoksidan (Anggaraini, 2015). Kandungan senyawa polifenol dalam daun pucuk merah berperan sebagai antioksidan yang mampu mengurangi stres oksidatif dan juga diduga mampu melindungi sel  $\beta$  pankreas dari efek toksik radikal bebas yang diproduksi di bawah kondisi hiperglikemia. Kandungan flavonoid dalam tanaman pucuk merah diduga memiliki peran penting dalam pencegahan diabetes dan komplikasinya (Jack, 2012). Ekstrak n-heksana dan etil asetat pucuk merah menunjukkan efek anti inflamasi (Sriwahyuni, 2014). Aktivitas antibakteri ekstrak etanol daun pucuk merah (*Syzygium myrtifolium* Walp) juga telah diteliti dan memiliki efek antibakteri terhadap bakteri *Staphylococcus aureus* dan *Escherichia coli* (Haryati *et al.*, 2015). Daun pucuk merah juga berperan dalam aktivitas antikanker pada sel kanker kolon manusia (HT-29) (Memon *et al.*, 2014). Sementara dalam penelitian yang dilakukan oleh Juwita (2017), tanaman pucuk merah (*Syzygium myrtifolium* Walp) memiliki aktivitas antihiperurisemia karna mengandung senyawa metabolit sekunder seperti saponin, alkaloid, triterpenoid, steroid, flavonoid dan fenolik.

Masyarakat Indonesia telah lama mengenal serta menggunakan obat-obatan alami atau yang dikenal dengan obat tradisional. Obat tradisional ini memiliki kelebihan seperti harga yang terjangkau dan mudah didapat sehingga sangat mudah diterima oleh masyarakat. Seiring perkembangan zaman yang semakin canggih, pemakaian dan penggunaan obat tradisional di Indonesia mengalami kemajuan yang sangat pesat. Obat-obatan tradisional kembali digunakan masyarakat sebagai salah satu alternatif pengobatan, disamping obat-obatan

modern yang berkembang di pasar (Prapanza & Marianto, 2003). Obat tradisional yang berasal dari tumbuhan dan bahan-bahan alami murni memiliki efek samping, tingkat bahaya dan resiko yang jauh lebih rendah dibandingkan dengan obat kimia (Muhlisah, 2006).

Dalam mengembangkan suatu obat dari tumbuhan dan bahan alami perlu diketahui efek penggunaan obat-obatan tersebut terhadap keamanan tubuh. Pengujian toksisitas sangat penting dilakukan untuk mengukur derajat kerusakan yang diakibatkan suatu senyawa terhadap material biologik maupun nonbiologik (Sasmito *et al.*, 2015). *The OECD Guidelines for the Testing of Chemicals* adalah standar yang telah diterima secara internasional untuk menguji keamanan suatu produk, meliputi bahan kimiawi, pestisida, perawatan dan lainnya. Uji toksisitas akut merupakan teknik pengujian yang dirancang untuk mengukur derajat efek toksik suatu senyawa yang terjadi dalam waktu singkat, yaitu 24 jam setelah pemberiannya dalam dosis tunggal (OECD, 2004).

Metode dalam uji toksisitas ini sangat beragam, salah satunya adalah dengan menggunakan *guideline* OECD No. 423 *Acute Oral Toxicity Class Method*. Keunggulan metode ini yaitu menggunakan hewan uji lebih sedikit sehingga lebih manusiawi karena dapat meminimalkan penggunaan hewan uji dan juga lebih ekonomis dalam segi ekonomi, serta waktu perlakuan relatif cepat (OECD, 2004). Produk yang diuji diberikan pada hewan coba dengan dosis yang berbeda, kemudian dilakukan pengamatan selama 14 hari. Kematian yang terjadi selama masa pengujian diamati, diuji secara morfologi, biokimia, patologi dan histopatologi dicatat dan diamati (Sasmito *et al.*, 2015)

Ginjal adalah organ utama untuk mengekskresikan produk sisa metabolisme yang tidak diperlukan lagi oleh tubuh. Ginjal tersusun dari jutaan nefron yang akan melakukan ultrafiltrasi (Sherwood, 2011). Dalam proses penyerapannya, ginjal akan berusaha mengeliminasi zat-zat toksik yang akan masuk ke dalam tubuh. Sirkulasi darah yang masuk ke dalam ginjal sebesar 25-30% yang nantinya akan difiltrasi oleh ginjal. Hal ini menjadi faktor utama yang

mempengaruhi kepekaan ginjal terhadap zat-zat toksik yang masuk ke dalam tubuh (Corwin, 2001). Bentuk toksisitas yang umumnya ditemukan pada ginjal diantaranya adalah nekrosis dan degenerasi sel yang dapat diamati melalui gambaran histopatologi (Suhita *et al.*, 2013).

Berdasarkan uraian tersebut peneliti tertarik untuk melakukan penelitian mengenai Uji Toksisitas akut dosis tunggal ekstrak etanol daun pucuk merah (*Syzygium myrtifolium* Walp.) terhadap gambaran histopatologi ginjal tikus putih (*Rattus norvegicus*) galur Sprague Dawley menggunakan *guideline* uji OECD No. 423

## **1.2 Rumusan Masalah**

Adapun rumusan masalah dalam penelitian ini adalah apakah terdapat pengaruh toksisitas pemberian ekstrak etanol dosis tunggal daun pucuk merah (*Syzygium myrtifolium* Walp.) terhadap gambaran histopatologi ginjal tikus putih (*Rattus norvegicus*) galur Sprague Dawley menggunakan *guideline* uji OECD No. 423?

## **1.3 Tujuan penelitian**

1. Mengetahui dosis toksik daun pucuk merah (*Syzygium myrtifolium* Walp.) menggunakan *guideline* uji OECD No. 423
2. Mengetahui pengaruh dosis toksik pemberian ekstrak etanol dosis tunggal daun pucuk merah (*Syzygium myrtifolium* Walp.) terhadap gambaran histopatologi ginjal tikus putih (*Rattus norvegicus*) galur Sprague Dawley menggunakan *guideline* uji OECD No. 423.

## **1.4 Manfaat Penelitian**

### **1.4.1 Manfaat Bagi peneliti**

Penelitian ini dapat memperluas ilmu pengetahuan peneliti mengenai pengaruh toksisitas pemberian ekstrak etanol dosis tunggal daun pucuk merah (*Syzygium myrtifolium* Walp.) terhadap gambaran histopatologi ginjal tikus putih (*Rattus norvegicus*) galur Sprague Dawley

menggunakan *guideline* uji OECD No. 423 dan juga untuk melatih peneliti dalam menulis sebuah karya ilmiah.

#### **1.4.2 Manfaat Bagi Institusi Penelitian**

Penelitian ini diharapkan dapat menambah referensi untuk keilmuan dan penelitian selanjutnya.

#### **1.4.3 Manfaat Bagi Masyarakat**

Dapat menjadi sumber informasi dan edukasi mengenai pengaruh pemberian ekstrak etanol dosis tunggal daun pucuk merah (*Syzygium myrtifolium* Walp.) terhadap gambaran histopatologi ginjal tikus putih (*Rattus norvegicus*) galur Sprague Dawley menggunakan *guideline* uji OECD No. 423

## **BAB II**

### **TINJAUAN PUSTAKA**

#### **2.1 Pucuk merah**

##### **2.1.1 Pucuk Merah**

Tanaman pucuk merah (*Syzygium myrtifolium* Walp) merupakan tanaman hias yang cukup populer di masyarakat Indonesia. Tanaman ini termasuk ke dalam jenis tanaman perdu dengan ciri khas memiliki daun yang berwarna merah dan hijau. Salah satu negara yang menjadi tempat ideal bagi tanaman pucuk merah adalah Indonesia karena tanaman ini sangat cocok hidup di daerah beriklim tropis (Murni, 2015). Pucuk merah sering digunakan sebagai tanaman pagar rumah yang ditanam secara merata di depan rumah bahkan di taman daerah perkotaan. Tanaman hias ini berasal dari famili *Myrtaceae* dengan distribusi asli di Timur Laut India, Myanmar, Thailand, Semenanjung Malaysia, Singapura, Sumatera, Kalimantan dan Filipina. Tanaman pucuk merah memiliki beberapa nama lain diberbagai negara seperti Chinese Red-Wood (China), Pokok Kelat Paya (Malaysia), Ubah Laut (Malaysia Timur), WildCinnamon, Red-lip, Australian Brush Cherry dan Kelat Oil (Memon *et al.*, 2014).

##### **2.1.2 Taksonomi Pucuk Merah**

Tanaman pucuk merah memiliki taksonomi sebagai berikut :

Kingdom : Plantae

Divisi : Spermatophyta

Class : Dicotyledoneae

Ordo : Myrtales

Famili : Myrtaceae

Genus : Syzygium

Spesies : Syzygium myrtifolium Walp. (Gea, 2017).

### 2.1.3 Morfologi Pucuk Merah

Tanaman pucuk merah termasuk dalam famili *Myrtaceae* dengan ciri-ciri pohon berukuran sedang yang dapat tumbuh hingga ketinggian 20 m dengan kanopi padat. Daun pucuk merah umumnya berbentuk elips, halus dan mengkilap, hijau, panjang 3-8 cm. Sementara itu, daun muda memiliki warna merah cerah dan akan menjadi warna yang lebih ringan jika terkena sinar matahari langsung. Batang tanaman pucuk merah berwarna coklat. Tanaman ini bisa mencapai ketinggian 3 m dalam waktu kurang dari 4 tahun. Selain itu tanaman ini juga tahan terhadap hama dan Penyakit (Fitra, 2017).



**Gambar 1. Daun Pucuk Merah**

Tanaman pucuk merah memiliki tangkai yang pendek. Daun pucuk merah termasuk kedalam macam daun tunggal dan memiliki bentuk lancet. Daun pucuk merah memiliki lebar sekitar dua sentimeter dan memiliki panjang sekitar enam sentimeter. Daun pada bagian atasnya tumbuh saling berhadapan (Lona, 2018).

#### 2.1.4 Kandungan Daun Pucuk Merah

Tanaman pucuk merah (*Syzygium myrtifolium* Walp.) biasa digunakan sebagai tanaman hias. Namun, tanaman pucuk merah ini juga memiliki kandungan senyawa kimia yang bermanfaat. Daun pucuk merah memiliki beberapa senyawa metabolit sekunder. Ekstrak total daun pucuk merah memiliki kandungan senyawa alkaloid, triterpenoid, steroid, saponin, fenolik, dan flavonoid. Telah dilaporkan bahwa ekstrak metanol daun pucuk merah mengandung senyawa fenolat, antioksidan flavonoid, dan betunilic acid dan digunakan sebagai penghambat angiogenesis dan antitumor pada tikus (Aisha *et al.*, 2013).

Pada fraksi n-heksana daun pucuk merah memiliki kandungan alkaloid, triterpenoid, dan steroid. Fraksi etil asetat daun pucuk merah memiliki kandungan senyawa alkaloid, triterpenoid, fenolik, dan flavonoid. Sementara itu, Fraksi etanol-air daun pucuk merah mengandung triterpenoid, saponin, dan fenolik (Haryati *et al.*, 2015). Dalam penelitian ekstrak daun hijau pucuk merah didapatkan hasil adanya kandungan alkaloid, triterpenoid, fenolik, saponin, flavonoid, dan minyak atsiri pada ekstrak etanolik. Fraksi etil asetat daun hijau pucuk merah mengandung senyawa alkaloid, triterpenoid, fenolik, dan saponin. Fraksi air ekstrak daun hijau pucuk merah didapatkan hanya mengandung senyawa fenolik dan saponin (Lona, 2018).

Daun pucuk merah memiliki kandungan senyawa flavonoid. Senyawa flavonoid dalam daun pucuk merah salah satunya yaitu dimethyl cardamonim. Senyawa ini termasuk kedalam golongan kalkon yang bersifat sitotoksik (Lona, 2018). Aktivitas antibakterial senyawa flavonoid dapat bekerja melalui tiga cara. Cara tersebut yaitu secara langsung membunuh bakteri, secara sinergis mengaktifasi antibiotik, dan melemahkan patogenisitas bakteri. Flavonoid membunuh bakteri secara langsung menggunakan tiga mekanisme. Mekanisme pertama yaitu menghambat sintesis asam nukleat (Xie, 2015). Flavonoid

memiliki cincin B yang dapat menghambat sintesis DNA dan RNA dengan cara menumpuk basa asam nukleat (Rahman *et al.*, 2017). Mekanisme kedua yaitu menghambat fungsi membran sitoplasma, dan mekanisme ketiga yaitu menghambat metabolisme energi (Xie, 2015). Proses respirasi bakteri dihambat oleh flavonoid. Hal ini menyebabkan terganggunya aktivitas biosintesis makromolekul bakteri dan terganggunya penyerapan metabolit (Rahman *et al.*, 2017). Flavonoid secara sinergis mengaktivasi antibiotik. Efek sinergis dari kombinasi molekul apigenin dan antibiotik ceftazidime resisten *E.coli* mengungkapkan kemungkinan mekanisme kerja oleh apigenin yaitu mampu menghambat sintesis peptidoglikan, mampu menghambat aktivitas enzim  $\beta$ -laktamase dan merubah permeabilitas membran luar dan membran sitoplasmik. Aktivitas antibakterial flavonoid memiliki cara ketiga dalam membunuh bakteri, yaitu melemahkan patogenesis bakteri. Molekul senyawa flavonoid seperti resveratrol dan quercetin dapat mengurangi produksi NO, menghambat kelangsungan hidup dan proliferasi sel yang terinfeksi, dan melindungi sel pejamu dari efek toksik infeksi bakteri dan mengurangi sel-sel pejamu yang mati (Xie, 2015).

Senyawa ini memiliki toksisitas terhadap bakteri. Fenol dapat bersifat toksik bagi mikroorganisme dengan cara penghambatan enzim oleh senyawa teroksidasi melalui reaksi dengan gugus sulfhydryl atau melalui interaksi non spesifik dengan protein (Gupta *et al.*, 2012).

Triterpenoid memiliki aktivitas antibakteri yang menyebabkan pertumbuhan bakteri terhambat. Hal ini dikarenakan bakteri tidak mendapat nutrisi dan permeabilitas dinding sel bakteri berkurang yang disebabkan kerusakan protein transmembran. Kerusakan protein transmembran disebabkan karena triterpenoid membentuk ikatan polimer yang kuat pada membran luar dinding sel bakteri (Lona, 2018). Senyawa triterpenoid yang terkandung dalam daun pucuk merah berupa

asam betulinat ( $3\beta$ -3-Hydroxy-lup-20(29)-en-28-oic acid) (Haryati *et al.*, 2015). Penelitian lain mengungkapkan bahwa berbagai aktifitas farmakologi ekstrak tanaman pucuk merah seperti adanya kandungan senyawa dimethyl cardamonin (DMC) dan adanya aktivitas antikanker pada sel kanker kolon manusia (HT-29) (Memon *et al.*, 2014).

Berdasarkan uji skrining fitokimia daun pucuk merah juga mengandung fenolik, flavonoid, steroid, dan terpenoid (Anggraini, 2015; Masyitah, 2015). Selain itu, daun merah dari tanaman pucuk merah ini mengandung alkaloid dan triterpenoid (Haryati *et al.*, 2015). Alkaloid memiliki sifat antibakteri dengan cara merusak sel bakteri pada bagian komponen penyusun peptidoglikan. Sel bakteri menjadi terbentuk secara tidak utuh. Hal ini mengakibatkan sel bakteri mengalami kematian (Lona, 2018). Saponin memiliki kandungan antibakteri yang dapat meningkatkan permeabilitas membran sel. Permeabilitas membran sel yang meningkat menyebabkan membran tidak stabil dan menyebabkan terjadinya hemolisis pada sel bakteri. Antibakteri yang dikandung senyawa saponin efektif memengaruhi bakteri gram positif (Rahman *et al.*, 2017).

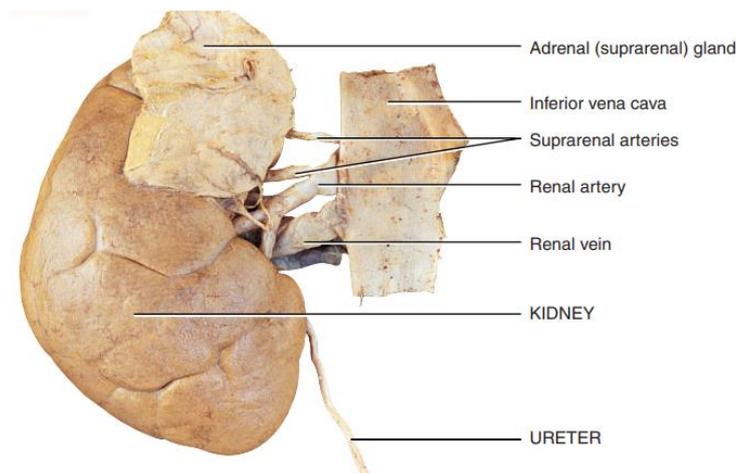
## **2.2 Ginjal**

### **2.2.1 Anatomi Ginjal**

Ginjal merupakan organ saluran kemih yang terletak tepat di atas pinggang antara peritoneum dan dinding posterior dari rongga abdomen, karena letaknya berada di posterior peritoneum, ginjal disebut juga sebagai organ retroperitoneum. Bentuk ginjal seperti biji kacang mede, kedudukan ginjal diperkirakan dari belakang, mulai dari ketinggian vertebra torakalis terakhir sampai vertebra lumbal ketiga (Tortora dan Derrickson, 2016).

Ginjal kanan sedikit lebih rendah daripada ginjal kiri, karena organ hati memenuhi ruang yang banyak di sebelah kanan superior terhadap ginjal. Pada ginjal orang dewasa umumnya memiliki panjang 10-12 cm dengan

lebar 5-7 cm dan tebalnya 3 cm. Besar dan berat ginjal sangatlah bervariasi, tergantung jenis kelamin dan umur. Ginjal laki-laki relatif lebih besar ukurannya daripada perempuan. Beratnya bervariasi antara 120 – 170 gram atau kurang lebih 0,4% dari berat badan (Syarifuddin, 2006).

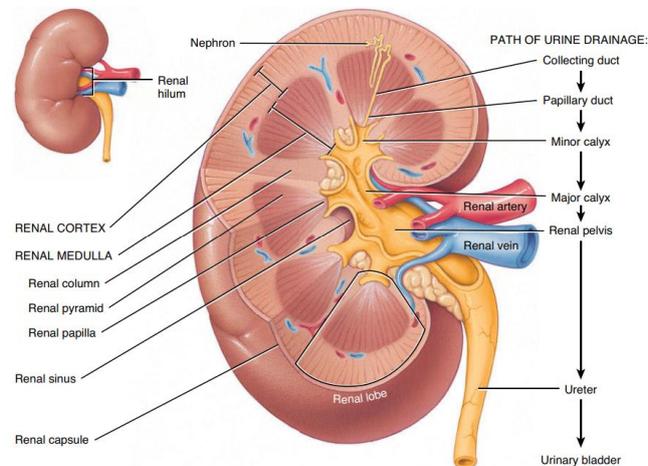


**Gambar 2. Anatomi Ginjal (Paulsen *et al.*, 2012)**

Terdapat tiga lapisan yang melindungi ginjal yaitu, lapisan paling dalam disebut kapsul ginjal. Kapsul ini merupakan jaringan ikat padat tak teratur yang halus dan transparan. Kapsul ginjal berfungsi sebagai sawar terhadap trauma dan membantu mempertahankan bentuk ginjal. Lapisan kedua adalah kapsula adiposa yang merupakan jaringan lemak mengelilingi seluruh kapsul ginjal. Lapisan paling luar atau superfisial adalah fascia renalis. Fascia renalis adalah lapisan tipis jaringan ikat padat tak teratur yang melekatkan ginjal ke struktur sekitarnya dan ke dinding abdomen (Tortora dan Derrickson, 2016).

Dalam potongan frontal ginjal, ditemukan dua lapisan ginjal di distal sinus renalis, yaitu korteks renalis (bagian luar) yang berwarna coklat gelap dan medulla renalis (bagian dalam) yang berwarna coklat terang. Di bagian sinus renalis terdapat bangunan berbentuk corong yang merupakan kelanjutan dari ureter dan disebut pelvis renalis. Masing-masing pelvis renalis membentuk dua atau tiga kaliks mayor dan

masing-masing kaliks mayor tersebut akan bercabang lagi menjadi dua atau tiga kaliks minor (Tortora dan Derrickson, 2016).



**Gambar 3. Anatomi Ginjal Potongan Coronal (Tortora dan Derrickson, 2016)**

### 2.2.2 Fisiologi Ginjal

Ginjal juga merupakan organ yang sangat penting yang memiliki peran di dalam melakukan pertahanan homeostatis tubuh juga mengatur volume tubuh, pH lingkungan internal, komposisi elektrolit juga dapat mengeluarkan sisa produk metabolik. Ginjal juga melakukan kerja sama dengan sistem saraf untuk dapat mengendalikan fungsinya (Sherwood, 2011).

Ginjal adalah organ utama untuk mengekskresikan produk sisa metabolisme yang tidak diperlukan lagi oleh tubuh. Produk-produk ini meliputi urea, kreatin asam urat, produk akhir dari pemecahan hemoglobin. Ginjal tersusun dari jutaan nefron yang akan melakukan ultrafiltrasi terkait dengan ekskresi dan reabsorpsi. Kerja ginjal dimulai saat dinding kapiler glomerulus melakukan ultrafiltrasi untuk memisahkan plasma darah dari sebagian besar air, ion-ion dan molekul-molekul. Ultrafiltrat hasil dari ultrafiltrasi dialirkan ke tubulus proksimal dilanjutkan ke tahap reabsorpsi melalui brush border dengan mengambil bahan-bahan yang diperlukan tubuh seperti gula, asam amino, vitamin

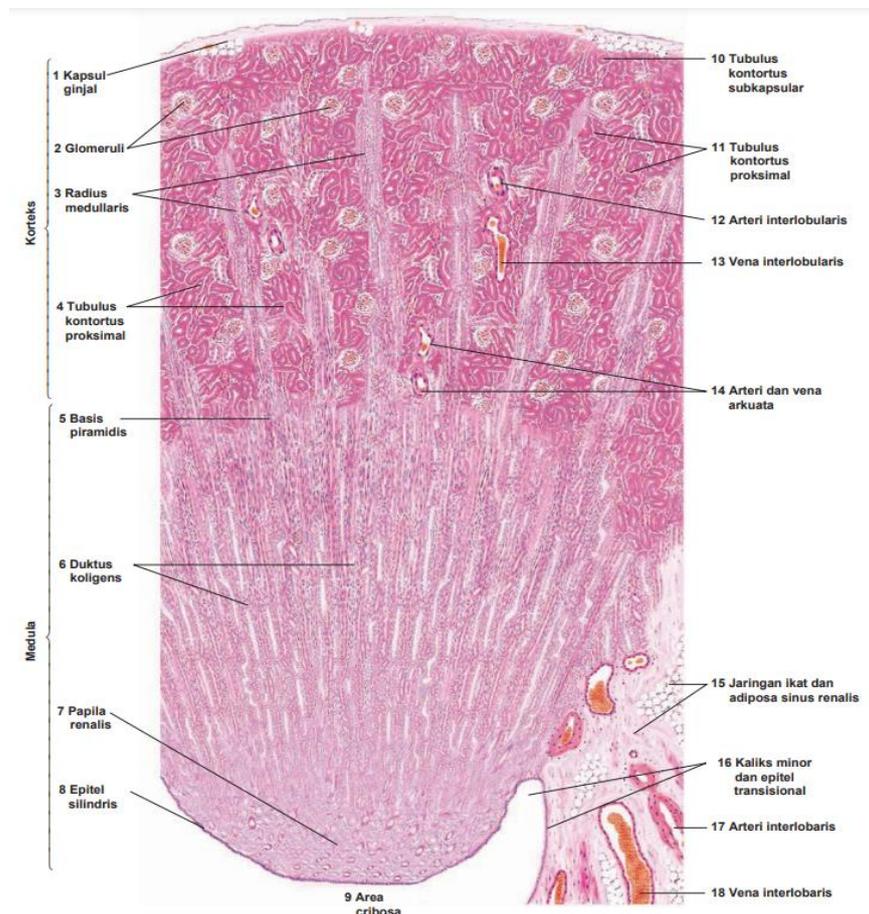
dan sebagainya. Sisa-sisa buangan yang tidak diperlukan disalurkan ke saluran penampung dan diekskresikan sebagai urin. Fungsi ini dilakukan dengan filtrasi darah plasma melalui glomerulus diikuti dengan reabsorpsi disepanjang tubulus ginjal (Sherwood, 2011).

Ginjal bekerja menjalankan fungsinya dengan melakukan tiga proses yakni filtrasi yang dilakukan dengan glomerulus, reabsorpsi tubulus juga sekresi tubulus. Filtrasi darah di korpuskulum ginjal difasilitasi oleh endotel glomerulus. Endotel di kapiler glomerulus adalah berpori (berfenestra) dan sangat permeabel terhadap banyak substansi di dalam darah, kecuali elemen darah yang terbentuk atau protein plasma. Karena itu, filtrat glomerulus yang masuk ke spatium capsulare bukanlah urin, melainkan ultrafiltrat yang mirip dengan plasma, kecuali tidak mengandung protein. Selanjutnya adalah proses reabsorpsi tubulus yakni terjadi perpindahan konstituen tertentu yang berasal dari lumen tubulus yang berjalan ke kapiler peritubulus ke sistem vena kemudian berjalan ke jantung untuk disirkulasi. Selanjutnya setelah terjadi proses reabsorpsi adalah proses sekresi tubulus dengan pindahnya bahan yang berasal dari darah kapiler peritubulus menuju ke dalam cairan tubulus dengan sangat spesifik (Sherwood, 2011).

### **2.2.3 Histologi Ginjal**

Unit fungsional setiap ginjal adalah tubulus uriniferus mikroskopik. Tubulus ini terdiri atas nefron (nephronum) dan duktus koligens yang menampung curahan dari nefron. Jutaan nefron terdapat disetiap korteks ginjal. Nefron, selanjutnya, terbagi lagi menjadi dua komponen, korpuskulum ginjal (corpusculum renale) dan tubulus ginjal (tubulus renalis). Korpuskulum ginjal terdiri atas suatu kumpulan kapiler yang disebut glomerulus merupakan sekumpulan kapiler yang dibetuk dari arteriol glomerulus kemudian dikelilingi oleh dua lapis sel epitel, yaitu kapsula bowman (Eroschenko, 2012).

Dalam potongan coronal, ginjal dibagi menjadi korteks terpus gelap di sebelah luar dan medula terpus terang di sebelah dalam. Korteks dilindungi oleh kapsula ginjal berupa jaringan ikat padat tidak teratur. Korteks mengandung tubulus kontortus proksimal dan distal, glomerulus dan radius medullaris. Arteri interlobularis dan vena interlobularis juga terdapat pada korteks. Radius medullaris dibentuk oleh bagian nefron yang lurus, pembuluh darah, dan tubulus koligens yang menyatu di medula untuk membentuk duktus koligens yang lebih besar. Radius medullaris tidak meluas ke kapsul ginjal karena adanya tubulus kontortus subkapsularis (Eroschenko, 2012).

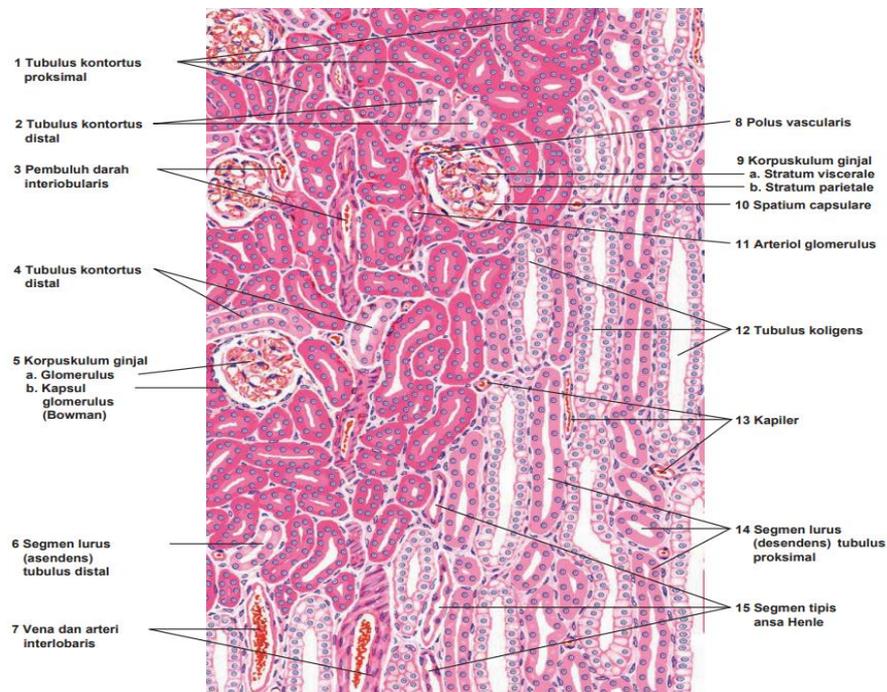


**Gambar 4. Histologi Ginjal (Eroschenko, 2012)**

Medula terdiri dari piramid-piramid ginjal. Basis setiap piramid akan berbatasan dengan korteks dan apeksnya membentuk papilla renalis yang

menonjol ke dalam struktur bentuk corong, kaliks minor yang menggambarkan bagian ureter yang lebar. Area kribrosa ditembus oleh lubang kecil, yang merupakan muara duktus koligens ke dalam kaliks minor. Ujung papila renalis biasanya dilapisi oleh epitel selapis silindris. Saat epitel selapis silindris papila renalis berlanjut ke dinding luar kaliks minor, epitel ini menjadi epitel transisional. Lapisan tipis jaringan ikat dan otot polos (tidak tampak) di bawah epitel ini selanjutnya menyatu dengan jaringan ikat sinus renalis (Eroschenko, 2012).

Di dalam sinus renalis terdapat cabang-cabang arteri dan vena renalis yaitu arteri dan vena interlobaris. Pembuluh interlobaris masuk ke ginjal dan melengkung di basis piramid di taut kortikomedular sebagai arteri dan vena arkuata. Pembuluh arkuata membentuk arteri interlobularis dan vena interlobularis yang lebih kecil dan berjalan secara radial ke dalam korteks ginjal dan membentuk arteri glomerulus aferen yang membentuk kapiler glomerulus (Eroschenko, 2012).



**Gambar 5. Histologi Glomerulus dan Tubulus Ginjal (Eroschenko, 2012)**

Bagian tubulus ginjal yang berawal di korpuskulum ginjal sangat berkelok atau melengkung dan oleh karena itu disebut tubulus kontortus proksimal. Awalnya, tubulus ini terletak di korteks, tetapi selanjutnya turun ke dalam medula untuk menjadi ansa Henle. Ansa Henle terdiri dari beberapa bagian yaitu bagian desendens yang tebal di tubulus kontortus proksimal, segmen asendens dan desendens yang tipis dan bagian asendens yang tebal yang disebut tubulus kontortus distal. Tubulus kontortus distal lebih pendek dan tidak begitu berkelok dibandingkan tubulus kontortus proksimal, dan tubulus ini naik ke dalam korteks ginjal. Karena tubulus kontortus proksimal lebih panjang daripada tubulus kontortus distal, tubulus ini lebih sering terlihat di dekat korpuskulum ginjal dan korteks ginjal. Filtrat glomerulus kemudian mengalir dari tubulus kontortus distal ke tubulus koligens. Tubulus koligens bergabung membentuk beberapa duktus koligens. Daerah di papilla yang memperlihatkan lubang duktus papilaris disebut area kribrosa (Eroschenko, 2012).

#### **2.2.4 Parameter Kerusakan Ginjal**

Ginjal adalah salah satu organ yang berperan penting dalam penyerapan zat toksik. Dalam proses penyerapannya, ginjal akan berusaha mengeliminasi zat-zat toksik yang akan masuk ke dalam tubuh. Sirkulasi darah yang masuk ke dalam ginjal sebesar 25-30% yang nantinya akan difiltrasi oleh ginjal. Aliran darah yang tinggi, peningkatan produk yang akan diekskresikan oleh ginjal dan diikuti reabsorpsi air yang ada di dalam tubulus merupakan faktor utama yang mempengaruhi kepekaan ginjal terhadap zat-zat toksik yang masuk ke dalam tubuh (Corwin, 2001).

Bentuk toksisitas yang umumnya ditemukan pada ginjal diantaranya adalah nekrosis sel. Nekrosis artinya kematian sel, sel pada ginjal yang mengalami nekrosis dapat disebabkan oleh beberapa faktor diantaranya racun yang kuat (misal: fosfor, jamur beracun seperti arsen dan lainnya), gangguan metabolik, infeksi virus yang menyebabkan bentuk fluminan atau biasa dikenal dengan maligna virus (Suhita *et al.*, 2013).

Selain nekrosis, toksisitas yang bisa ditemukan adalah degenerasi sel. Degenerasi sel merupakan kelainan pada sel yang terjadi akibat cedera ringan dimana cedera ringan ini mengenai struktur dalam sel yang menyebabkan proses metabolisme sel terganggu (Rosaliano *et al.*, 2012). Terdapat 2 jenis degenerasi pada sel diantaranya pembengkakan sel dan perubahan perlemakan. Pembengkakan pada sel biasanya disebabkan oleh sel yang tidak dapat mengatur keseimbangan ion serta cairan sehingga menyebabkan hidrasi pada sel sedangkan perubahan perlemakan bermanifestasi sebagai vakuola lemak dalam sitoplasma yang disebabkan oleh hipoksia ataupun bahan toksik (Cheville, 2006).

Pengamatan histopatologi jaringan ginjal dilakukan dengan menggunakan sistem skoring. Hal ini dapat digunakan untuk mempermudah peneliti dalam menghitung perubahan histopatologi yang terjadi. Skoring histopatologi ginjal yang digunakan dalam penelitian ini menggunakan sistem skoring Anggaraini, (2008) dengan membaca tiap preparat jaringan ginjal dalam 5 lapang pandang dengan menggunakan perbesaran 200 kali. Pada setiap lapang pandang, akan dicari kerusakan (jenis lesi) sesuai kriteria yang telah ditentukan setelah itu dimasukkan ke dalam kategori berikut yang tercantum dalam tabel 1.

**Tabel 1. Skoring Histopatologi Ginjal**

Skor	Kriteria Kerusakan Histopatologi Ginjal
1	Tidak terjadi kerusakan jaringan ginjal (pelebaran lumen tubulus, akumulasi sel-sel debris dalam lumen, vakuolisasi lumen tubulus, pelebaran ruang bowman, degenerasi, hiperplasia, kariomegali, dan benda-benda inklusi)
2	Bila ditemukan 1-2 kriteria diatas
3	Bila ditemukan 3-5 kriteria diatas
4	Bila ditemukan 6-8 kriteria diatas

Sumber : Anggaraini, 2008

Kelebihan penggunaan skoring Anggaraini adalah kriteria kerusakan yang dicari dapat mewakili kerusakan akut yang didasarkan pada lesi-lesi spesifik pada jaringan ginjal dan juga dapat menjelaskan mekanisme

kerusakan akibat perlakuan dengan melihat kerusakan umum yang sering terjadi pada setiap sampel. Dalam sistem skoring ini juga, setiap kategori memiliki batas yang jelas untuk menunjukkan mana yang lebih parah diantara kelompok perlakuan. Konsistensi interpretasi dalam system skoring ini dapat terjaga karena kriteria yang diamati mudah dibedakan dan tidak menyulitkan peneliti (Gibson *et al.*, 2013).

### **2.2.5 Pengaruh Daun Pucuk Merah terhadap Ginjal**

Daun pucuk merah memiliki beberapa senyawa metabolit sekunder. Ekstrak total daun pucuk merah memiliki kandungan senyawa alkaloid, triterpenoid, steroid, saponin, fenolik, dan flavonoid. Telah dilaporkan bahwa ekstrak metanol daun pucuk merah mengandung senyawa fenolat, antioksidan flavonoid, dan betunilic acid dan digunakan sebagai penghambat angiogenesis dan antitumor pada tikus (Aisha *et al.*, 2013). Tingginya total fenolik dan flavonoid dari ekstrak etanol dan etil asetat daun pucuk merah (*Syzygium myrtifolium* Walp) menunjukkan adanya aktivitas antoksidan (Anggaraini, 2015).

Sementara itu dalam penelitan Indriani *et al.*, (2021) ditemukan adanya lesi putih dan pembengkakan pada organ dalam mencit diduga disebabkan oleh kerusakan jaringan nekrotik. Sel yang mengalami nekrosis tidak dapat kembali ke keadaan sehat dan akan terus mati (Kumar *et al.*, 2007). Efek toksik muncul ketika toksin yang diserap ditransfer melalui sistem peredaran darah ke reseptor. Pemberian ekstrak etanol daun pucuk merah secara oral menyebabkan adanya zat aktif dalam daun pucuk merah untuk diserap melalui saluran pencernaan, dan zat aktif ini kemudian mengalami distribusi dan metabolisme (Katzung, 2002). Daun pucuk merah juga mengandung senyawa tanin yang diketahui menyebabkan efek toksik seperti nekrosis dan pendarahan. Semakin tinggi dosis ekstrak diberikan, semakin besar kerusakan yang terjadi pada organ hewan percobaan (Yunita, 2009).

Dalam penelitian Hasti *et al.* (2016) ekstrak etanol daun pucuk merah dapat meningkatkan persentase kerusakan glomerulus ginjal pada kelompok dosis 600 mg/kgBB dan 900 mg/kgBB. Sehingga dapat dikatakan bahwa semakin meningkatnya dosis maka persentase kerusakan juga meningkat. Kerusakan glomerulus diduga karena adanya kandungan senyawa metabolit sekunder seperti flavonoid, fenolik, serta steroid yang kadarnya sudah melebihi dosis sehingga mengakibatkan kerusakan pada glomerulus. Dosis merupakan salah satu yang dapat menyebabkan efek toksik jika diberikan secara berlebihan sehingga sel-sel pada ginjal akan mengalami nefrotoksik, karena adanya senyawa tersebut dibawa bersama aliran darah menuju ginjal (Ahmad *et al.*, 2022).

## **2.3 Uji OECD No.423**

### **2.3.1 Uji Toksisitas Akut**

Uji toksisitas akut adalah salah satu uji praklinik. Uji ini dirancang untuk mengukur derajat efek toksik suatu senyawa yang terjadi dalam waktu singkat, yaitu 24 jam setelah pemberiannya dalam dosis tunggal. Tolak ukur kuantitatif yang paling sering digunakan untuk menyatakan kisaran dosis letal atau toksik adalah dosis letal tengah (LD50). Pengujian toksisitas akut dilakukan untuk menentukan efek dari pemberian dosis tunggal suatu senyawa pada hewan. Umumnya direkomendasikan pengujian ini dilakukan terhadap dua jenis hewan (rodensia dan non rodensia). Produk yang diuji diberikan pada hewan coba dengan dosis yang berbeda, kemudian dilakukan pengamatan selama 14 hari. Kematian yang terjadi selama masa pengujian diamati, diuji secara morfologi, biokimia, patologi dan histopatologi dicatat dan diamati. Pengujian akut menghasilkan nilai Lethal dose (LD50) (Sasmito *et al.*, 2015).

Uji toksisitas akut oral memiliki tujuan untuk mendeteksi toksisitas intrinsik suatu zat, menentukan organ sasaran, kepekaan spesies, memperoleh informasi awal yang dapat digunakan untuk menetapkan

tingkat dosis yang aman hingga menimbulkan efek toksik, dan uji ini diharapkan dapat merancang uji toksisitas berikutnya serta memperoleh nilai LD50 (Lethal dose) suatu bahan terhadap hewan uji (BPOM RI, 2020). Nilai LD50 merupakan efek mematikan yang timbul pada 50% hewan uji. LD50 akan digunakan sebagai standar kuantitatif dalam uji toksisitas akut (Najah, 2019).

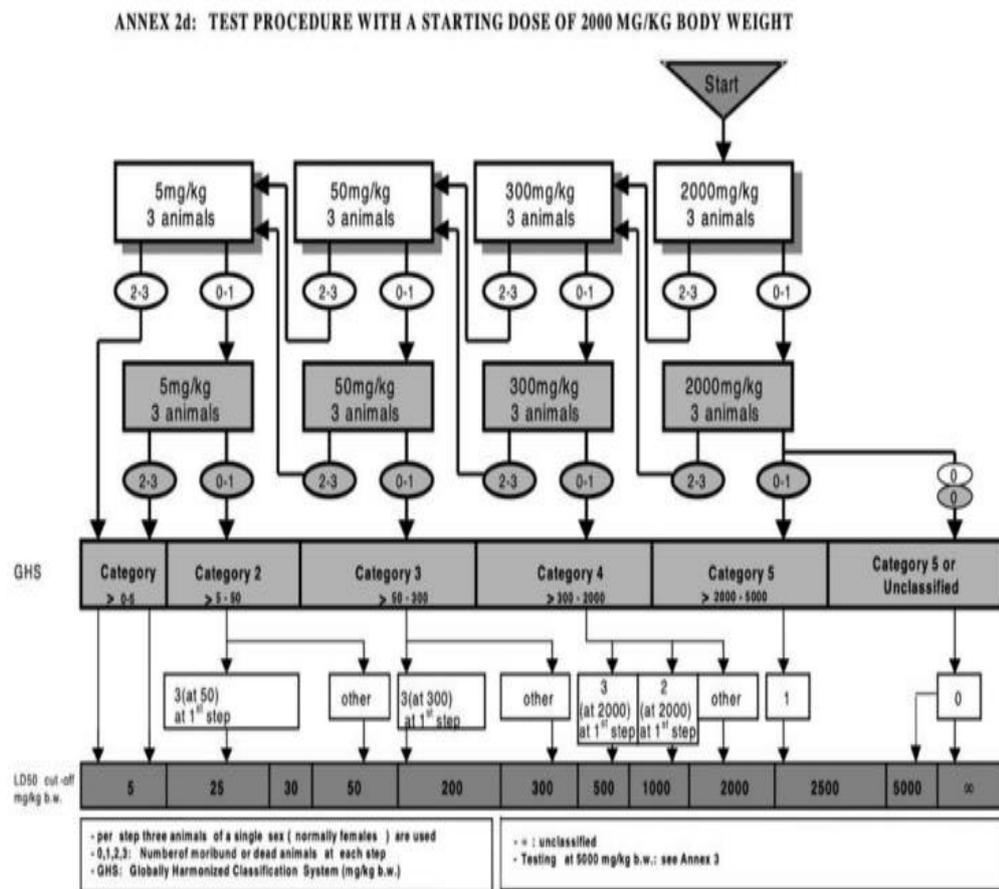
### 2.3.2 Definisi Guideline Uji OECD No. 423

The OECD *Guidelines* for the Testing of Chemicals (OECD, 2004) merupakan standar yang diterima secara internasional untuk menguji keamanan produk, meliputi bahan kimiawi, pestisida, perawatan dan lain-lain. Untuk mengetahui toksisitas akut dapat menggunakan metode OECD. Metode OECD memiliki berbagai variasi yang dapat digunakan. Diantaranya adalah *guideline* OECD No. 401 yang merupakan metode konvensional pertama kali yang dikeluarkan oleh OECD. Pada *guideline* OECD No. 401 penggunaan hewan coba tidak efektif sehingga metode 401 digantikan menjadi metode *guideline* Uji OECD No. 420 (*fixed dose*), *guideline* Uji OECD No. 423 (*acute toxic class*), dan *guideline* Uji OECD No. 425 (*up and down procedure*). Pada metode OECD 420 merupakan metode untuk mencari bukti toksisitas tidak mematikan (*termed evident toxicity*) dibandingkan dengan mencari tingkat dosis yang dapat sebabkan kematian. Sedangkan metode OECD 425 adalah untuk menentukan estimasi nilai dari LD50 serta dapat mengklasifikasikan nilai bahaya dari substansi kimia (OECD, 2001).

*Guideline* Uji OECD No.423 *Acute Oral Toxicity Class Method* adalah uji toksisitas akut secara per oral dengan menggunakan tiga hewan coba berjenis kelamin sama dalam tiap tahapan. Kematian hewan coba atau tidak terdapat kematian akan dievaluasi sebelum melanjutkan ke tahap berikutnya untuk menentukan dosis pemberian selanjutnya. Prinsip kerja *guideline* OECD No. 423 adalah dengan melakukan pengujian secara bertahap dan menggunakan hewan coba yang sangat minimal dalam

setiap tahapnya sehingga akan dihasilkan dosis toksik. Selain itu metode OECD sudah disesuaikan dengan kriteria toksisitas berdasarkan Global Harmonized System (GHS) yang berlaku internasional (OECD, 2001).

Dalam penentuan dosis letal tengah (LD50) menggunakan metode ketoksikan akut OECD 423. Keunggulan metode ini yaitu menggunakan hewan uji lebih sedikit sehingga lebih manusiawi karena dapat meminimalkan penggunaan hewan uji dan juga lebih ekonomis dalam segi ekonomi, serta waktu perlakuan relative cepat (OECD, 2001).



**Gambar 6. Alur Penelitian Berdasarkan *Guideline* OECD No.423 (OECD, 2001)**

Penentuan nilai LD50 dari ekstrak daun pucuk merah ini akan ditentukan diakhir penelitian. Nilai LD50 merupakan jumlah zat yang diberikan dalam satu kali pemberian yang dapat menyebabkan kematian pada 50% atau

setengah dari kelompok hewan coba. Nilai LD50 digunakan untuk memperkirakan dosis yang dapat menyebabkan kematian dan baik untuk memprediksi gejala keracunan setelah pemberian ekstrak dengan dosis yang berlebihan. Kategori nilai toksisitas LD50 berdasarkan kriteria Hodge dan Sterner dapat dilihat pada tabel 2.

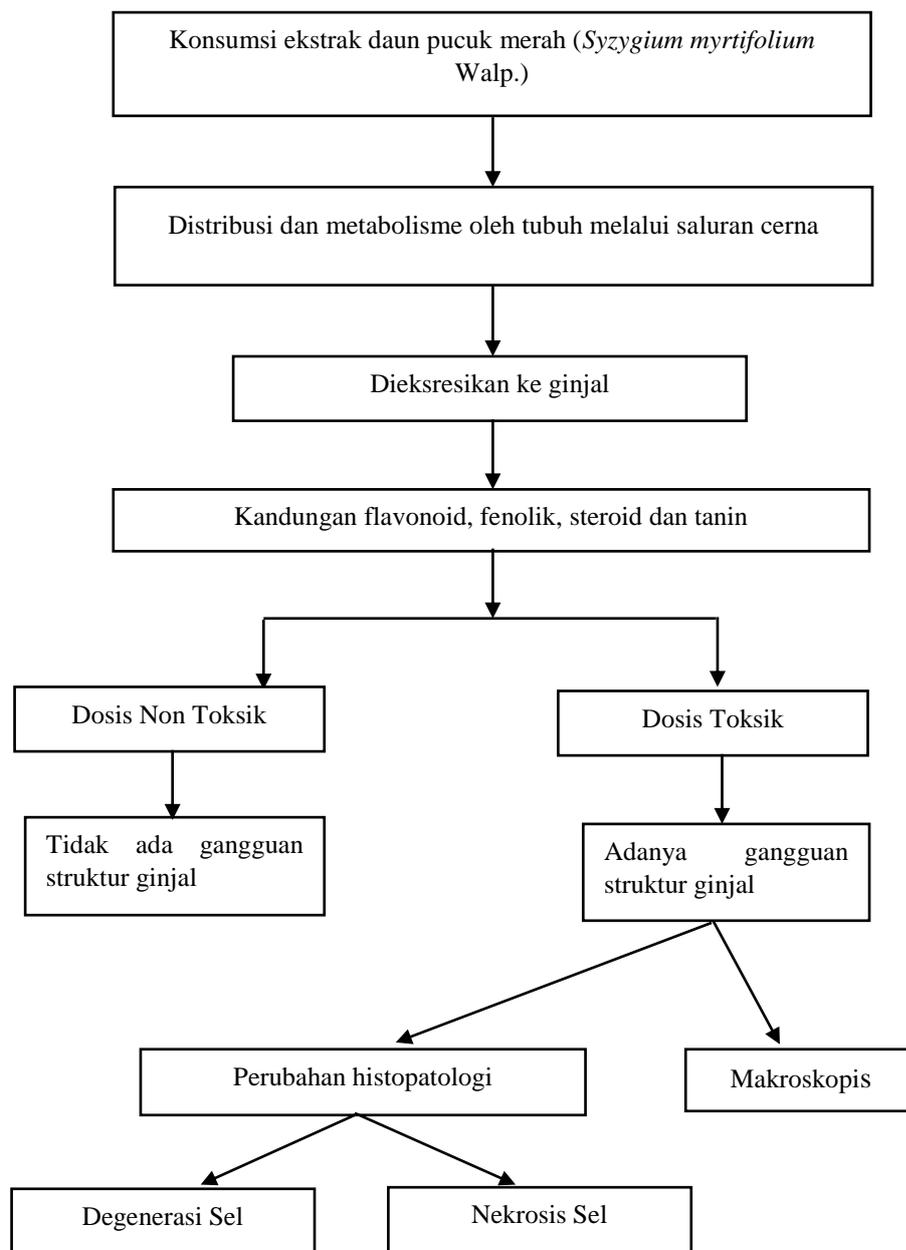
**Tabel 2. Kategori Toksisitas Hodge dan Sterner**

<b>Peringkat Toksisitas</b>	<b>Kategori Toksik</b>	<b>Oral LD50 (Single dose pada tikus mg/KgBB)</b>
1	Luar Biasa Toksik	1 atau kurang
2	Sangat Toksik	1 sampai 50
3	Cukup Toksik	50 sampai 500
4	Sedikit toksik	500 sampai 5.000
5	Hamper tidak toksik	5.000 sampai 15.000
6	Relatif tidak berbahaya	15.000 atau lebih

(Ahmed, 2015)

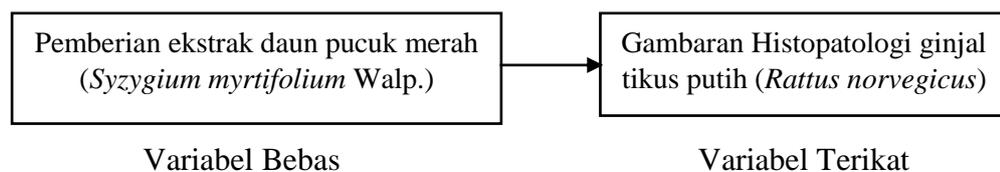
## 2.4 Kerangka Teori

Daun pucuk merah memiliki beberapa senyawa metabolit sekunder. Ekstrak total daun pucuk merah memiliki kandungan senyawa alkaloid, triterpenoid, steroid, saponin, fenolik, flavonoid dan tanin. Tingginya total fenolik dan flavonoid dari ekstrak etanol dan etil asetat daun pucuk merah (*Syzygium myrtifolium* Walp.) menunjukkan adanya aktivitas antoksidan (Anggaraini, 2015). Sementara itu, pemberian ekstrak etanol daun pucuk merah secara oral menyebabkan adanya zat aktif dalam daun pucuk merah untuk diserap melalui saluran pencernaan, dan zat aktif ini kemudian mengalami distribusi dan metabolisme (Katzung, 2002). Adanya kandungan senyawa metabolit sekunder seperti flavonoid, fenolik, steroid dan tanin yang kadarnya sudah melebihi dosis akan menyebabkan sel-sel pada ginjal mengalami nefrotoksik berupa nekrosis dan degenerasi sel, karena adanya senyawa tersebut yang dibawa bersama aliran darah menuju ginjal (Ahmad *et al.*, 2022). Kerangka teori dalam penelitian ini dapat dilihat pada gambar berikut.



**Gambar 7. Kerangka Teori**

## 2.5 Kerangka Konsep



**Gambar 8. Kerangka Konsep**

## 2.6 Hipotesis

H0: Tidak terdapat pengaruh toksisitas pemberian ekstrak daun pucuk merah (*Syzygium myrtifolium* Walp.) dosis tunggal terhadap gambaran histopatologi ginjal tikus putih (*Rattus norvegicus*) jantan galur Sprague-Dawley berdasarkan uji OECD *guideline* No.423 *Acute Oral Toxicity Class Method*.

H1: Terdapat pengaruh toksisitas pemberian ekstrak daun pucuk merah (*Syzygium myrtifolium* Walp.) dosis tunggal terhadap gambaran histopatologi ginjal tikus putih (*Rattus norvegicus*) jantan galur Sprague-Dawley berdasarkan uji OECD *guideline* No.423 *Acute Oral Toxicity Class Method*.

## **BAB III METODE PENELITIAN**

### **3.1 Jenis Penelitian**

Jenis penelitian ini merupakan *true experimental* dengan menggunakan metode rancangan penelitian berupa *post test only control group design*.

### **3.2 Lokasi dan Waktu Penelitian**

#### **3.2.1 Tempat Penelitian**

Penelitian dilakukan di Fakultas Kedokteran Universitas Lampung dengan pemeliharaan dan pemberian ekstrak daun pucuk merah (*Syzygium myrtifolium* Walp.) pada tikus putih (*Rattus norvegicus*) jantan galur Sprague-Dawley dilaksanakan di *Animal House* Fakultas Kedokteran Universitas Lampung. Pembuatan ekstrak daun pucuk merah (*Syzygium myrtifolium* Walp.) dilaksanakan di Laboratorium Kimia Organik Jurusan Kimia Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam. Pembuatan dan pembacaan preparat dilakukan pada Laboratorium Histologi dan Patologi Anatomi Fakultas Kedokteran Universitas Lampung.

#### **3.2.2 Waktu Penelitian**

Penelitian ini dilakukan pada bulan September 2022 sampai dengan Januari 2023.

### **3.3 Populasi dan Sampel Penelitian**

#### **3.3.1 Populasi Penelitian**

Populasi penelitian ini adalah tikus putih (*Rattus norvegicus*) jantan galur Sprague-Dawley, berumur 8-12 minggu dengan berat 200-300 gram yang diperoleh dari Palembang Tikus Center (PTC) Sumatera Selatan.

Penentuan jumlah sampel berdasarkan kepada *Guideline Uji OECD No. 423 Acute Oral Toxicity Class Method*.

### 3.3.2 Sampel Penelitian

Pada penelitian ini digunakan 18 tikus putih (*Rattus norvegicus*) jantan galur Sprague-Dawley yang dibagi kedalam 6 kelompok hewan coba yaitu 1 kelompok kontrol dan 5 kelompok perlakuan berdasarkan *guideline uji OECD No. 423 Acute Oral Toxicity Class Method*.

## 3.4 Kriteria Penelitian

Pada penelitian ini digunakan tikus putih (*Rattus norvegicus*) jantan galur Sprague-Dawley yang memiliki kriteria sebagai berikut.

### 3.4.1 Kriteria Inklusi

Kriteria inklusi sampel pada penelitian ini adalah:

- a. Tikus putih (*Rattus norvegicus*) jantan galur Sprague-Dawley.
- b. Sehat (gerak aktif, rambut tidak kusam, tidak agresif dan tidak rontok/botak).
- c. Memiliki berat badan 200-300 gram
- d. Berusia sekitar 8-12 minggu

### 3.4.2 Kriteria Eksklusi

Kriteria eksklusi sampel pada penelitian ini adalah:

- a. Terdapat penurunan berat badan lebih dari 10% setelah masa adaptasi di *animal house*.
- b. Tikus putih (*Rattus norvegicus*) jantan galur Sprague-Dawley yang mati selama masa adaptasi.

## 3.5 Alat dan Bahan Penelitian

### 3.5.1 Alat Penelitian

Adapun alat penelitian yang digunakan adalah kandang tikus yang terbuat dari kawat dan plastik sebanyak 6 kandang, botol minum tikus, sonde lambung, spuit 1 cc, 3 cc dan 5 cc, gelas ukur 10 ml dan 100 ml, rak tabung reaksi, pipet tetes, tabung erlen mayer, labu ukur 100ml dan

250 ml, neraca analitik, kamera, bak parafin, urine pot, *handscoon*, *object glass*, *minor set*, *rotatory evaporator*, alat pemeriksaan mikroskopis, dan *rotary microtome*.

### **3.5.2 Bahan Penelitian**

Bahan penelitian yang digunakan adalah tikus putih (*Rattus norvegicus*) jantan galur Sprague-Dawley dengan berat 200-300 gram, pakan tikus, sekam dan serbuk kayu, *aquadest*, etanol 96%, daun pucuk merah yang digunakan untuk ekstrak adalah daun pucuk merah yang telah dikeringkan, paraffin berupa larutan formalin 10%, alkohol bertingkat (70% - 80% - 90% - 100%), alkohol absolut xylol, entelan, ketamin dan pewarnaan hematoksisilin dan eosin.

## **3.6 Identifikasi Variabel**

### **3.6.1 Variabel bebas**

Variabel bebas pada penelitian ini adalah pemberian ekstrak daun pucuk merah (*Syzygium myrtifolium* Walp).

### **3.6.2 Variabel Terikat**

Variabel terikat pada penelitian adalah gambaran histopatologi ginjal pada Tikus putih (*Rattus norvegicus*) jantan galur Sprague-Dawley.

### 3.7 Definisi Operasional

**Tabel 3. Definisi Operasional**

Variabel	Definisi Operasional	Alat ukur	Hasil ukur	Skala
Ekstrak daun pucuk merah ( <i>Syzygium myrtifolium</i> Walp.)	Ekstrak daun pucuk merah ( <i>Syzygium myrtifolium</i> Walp.) dibuat dengan metode maserasi dengan pelarut etanol 96%.	Sprit 3 cc, sonde, dan tabung ukur untuk takaran dosis	K = Kontrol P1 = 2000 mg /kgBB P2 = 300 mg/kgBB P3 = 50 mg/kgBB P4 = 5mg/kgBB P5* = 5000 mg/kgBB  *Dilakukan apabila ditemukan sebanyak 0-1 hewan coba yang mengalami kematian pada kelompok P1.	Kategorik Ordinal
Histopatologi ginjal	Gambaran histopatologi ginjal dilihat dengan menggunakan mikroskop cahaya dengan perbesaran 200x kali pada 5 lapang pandang berbeda.	Mikroskop cahaya	Kerusakan pada gambaran histopatologi ginjal putih dilakukan penilaian berdasarkan skoring persentase menurut Anggraini, 2008 : 1. Tidak terjadi kerusakan jaringan ginjal (pelebaran lumen tubulus, akumulasi sel-sel debris dalam lumen, vakuolisasi lumen tubulus, pelebaran ruang bowman, degenerasi, hiperplasia, kariomegali, dan benda-benda inklusi). 2. Bila ditemukan 1-2 kriteria diatas. 3. Bila ditemukan 3-5 kriteria diatas. 4. Bila ditemukan 6-8 kriteria diatas.	Numerik

### 3.8 Prosedur Penelitian

#### 3.8.1 Pemilihan Bahan Daun Pucuk Merah (*Syzygium myrtifolium* Walp.)

Daun pucuk merah diambil dari Dinas Kehutanan Kota Agung. Bagian yang digunakan untuk pembuatan ekstrak daun pucuk merah (*Syzygium myrtifolium* Walp.) adalah daun pucuk merah urutan p1-5 yang dihitung

dari pucuk, selanjutnya disortasi basah untuk membersihkan daun dari pengotor seperti bagian daun yang sudah tua bersama tangkainya, atau bagian lain yang tidak termasuk dalam deskripsi. Kemudian daun dilakukan pencucian, dan dikeringkan menggunakan oven pada suhu 50-60° C. Uji determinasi dilakukan di Laboratorium Botani Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Lampung. Selanjutnya, uji fitokimia dan pembuatan ekstrak daun pucuk merah (*Syzygium myrtifolium* Walp.) dilakukan di Laboratorium Kimia Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Lampung.

### **3.8.2 Pembuatan Ekstrak Daun Pucuk Merah (*Syzygium myrtifolium* Walp.)**

Daun pucuk merah segar sebanyak 3 kg disortasi basah, ditimbang dan dikering-anginkan kemudian didapatkan daun pucuk merah kering. Selanjutnya dilakukan maserasi dalam larutan etanol 96% sebanyak 2000 ml selama 24 jam dengan menggunakan *shaker bath*. Setelah itu, dikentalkan dengan menggunakan *rotary evaporator* pada suhu 41°C selama 3-6 jam untuk mendapatkan ekstrak kental etanol daun pucuk merah dengan konsentrasi 100%.

Dosis pemberian ekstrak daun pucuk merah berdasarkan *guideline* OECD No.423 kepada hewan coba terbagi menjadi 4 tingkatan dosis yaitu: 2000 mg/kgBB, 300 mg/kgBB, 50 mg/KgBB, dan 5 mg/KgBB. Ekstrak daun pucuk merah dilarutkan ke dalam CMC-Na 1% dan diberikan kepada tikus dengan volume pemberian maksimal lambung tikus adalah 5 ml dan volume ideal pemberian adalah sebanyak 2,5 ml. Oleh karena itu, maka dilakukan perhitungan dosis pemberian ekstrak daun pucuk merah (*Syzygium myrtifolium* Walp.) kepada tikus putih (*Rattus Norvegicus*) jantan galur Sprague-Dawley dengan berat 250 mg sebagai berikut:

a. Perhitungan CMC-Na 1%

Satu kelompok tikus dibuatkan larutan stok CMC-Na 1% sebanyak 25 mL. Larutan CMC-Na 1% dilarutkan ke dalam aquadest. Jumlah CMC-Na yang dibutuhkan didapat dari perhitungan rumus berikut.

$$\text{Jumlah CMC - Na 1\%} = \frac{1 \text{ gr}}{100 \text{ ml}} \times 25 \text{ ml} = 0,25 \text{ gram}$$

Jadi sebanyak 0,25 gram CMC-Na dilarutkan kedalam 25mL aquadest.

b. Perhitungan ekstrak daun pucuk merah (*Syzygium myrtifolium* Walp.) dosis 2000mg/KgBB

Rata-rata berat badan tikus adalah 250 mg dan diberikan ekstrak daun pucuk merah (*Syzygium myrtifolium* Walp.) dengan dosis 2000mg/KgBB. Dilakukan perhitungan dosis pemberian ekstrak kepada tikus sebagai berikut:

$$\text{Dosis Pemberian} = \frac{2000 \text{ mg}}{1000 \text{ grBB}} \times 250 \text{ gr} = 500 \text{ mg}$$

Dosis ekstrak daun pucuk merah yang diberikan kepada tikus dengan berat 250 gram adalah sebanyak 500 mg. Tetapi volume pemberian maksimal pada tikus adalah sebanyak 5 mL dengan volume ideal adalah sebanyak 2,5 mL. Oleh karena itu maka dilakukan perhitungan kadar pemberian ekstrak daun pucuk merah sebagai berikut:

$$\text{Kadar Pemberian} = \frac{500 \text{ mg}}{2,5 \text{ mL}} = 200 \text{ mg/mL}$$

Untuk mengetahui jumlah ekstrak yang dibutuhkan dalam pembuatan larutan stok sebanyak 25 mL maka dilakukan perhitungan sebagai berikut:

$$\text{Dosis Stok} = 200 \text{ mg/mL} \times 25 \text{ mL} = 5000 \text{ mg} = 5 \text{ gram}$$

Jadi sebanyak 5 gram ekstrak daun pucuk merah (*Syzygium myrtifolium* Walp.) dilarutkan menggunakan CMC-Na 1% dan aquadest hingga mencapai 25 mL.

- c. Perhitungan ekstrak daun pucuk merah (*Syzygium myrtifolium* Walp.) dosis 300 mg/KgBB

Rata-rata berat badan tikus adalah 250 mg dan diberikan ekstrak daun pucuk merah (*Syzygium myrtifolium* Walp.) dengan dosis 300 mg/KgBB. Dilakukan perhitungan dosis pemberian ekstrak kepada tikus sebagai berikut:

$$\text{Dosis Pemberian} = \frac{300 \text{ mg}}{1000 \text{ grBB}} \times 250 \text{ gr} = 75 \text{ mg}$$

Dosis ekstrak daun pucuk merah yang diberikan kepada tikus dengan berat 250 gram adalah sebanyak 75 mg. Tetapi volume pemberian maksimal pada tikus adalah sebanyak 5 mL dengan volume ideal adalah sebanyak 2,5 mL. Oleh karena itu maka dilakukan perhitungan kadar pemberian ekstrak daun pucuk merah sebagai berikut:

$$\text{Kadar Pemberian} = \frac{75 \text{ mg}}{2,5 \text{ mL}} = 30 \text{ mg/mL}$$

Untuk mengetahui jumlah ekstrak yang dibutuhkan dalam pembuatan larutan stok sebanyak 25 mL maka dilakukan perhitungan sebagai berikut:

$$\text{Dosis Stok} = 30 \text{ mg/mL} \times 25 \text{ mL} = 750 \text{ mg} = 0,75 \text{ gram}$$

Jadi sebanyak 0,75 gram ekstrak daun pucuk merah (*Syzygium myrtifolium* Walp.) dilarutkan menggunakan CMC-Na 1% dan aquadest hingga mencapai 25 mL.

- d. Perhitungan ekstrak daun pucuk merah (*Syzygium myrtifolium* Walp.) dosis 50 mg/KgBB

Rata-rata berat badan tikus adalah 250 mg dan diberikan ekstrak daun pucuk merah (*Syzygium myrtifolium* Walp.) dengan dosis 50 mg/KgBB. Dilakukan perhitungan dosis pemberian ekstrak kepada tikus sebagai berikut:

$$\text{Dosis Pemberian} = \frac{50 \text{ mg}}{1000 \text{ grBB}} \times 250 \text{ gr} = 12,5 \text{ mg}$$

Dosis ekstrak daun pucuk merah yang diberikan kepada tikus dengan berat 250 gram adalah sebanyak 12,5 mg. Tetapi volume pemberian maksimal pada tikus adalah sebanyak 5 mL dengan volume ideal adalah sebanyak 2,5 mL. Oleh karena itu maka dilakukan perhitungan kadar pemberian ekstrak daun pucuk merah sebagai berikut:

$$\text{Kadar Pemberian} = \frac{12,5 \text{ mg}}{2,5 \text{ mL}} = 5 \text{ mg/mL}$$

Untuk mengetahui jumlah ekstrak yang dibutuhkan dalam pembuatan larutan stok sebanyak 25 mL maka dilakukan perhitungan sebagai berikut:

$$\text{Dosis Stok} = 5 \text{ mg/mL} \times 25 \text{ mL} = 125 \text{ mg} = 0,125 \text{ gram}$$

Jadi sebanyak 0,125 gram ekstrak daun pucuk merah (*Syzygium myrtifolium* Walp) dilarutkan menggunakan CMC-Na 1% dan aquadest hingga mencapai 25mL.

- e. Perhitungan ekstrak daun pucuk merah (*Syzygium myrtifolium* Walp.) dosis 5 mg/KgBB

Rata-rata berat badan tikus adalah 250 mg dan diberikan ekstrak daun pucuk merah (*Syzygium myrtifolium* Walp.) dengan dosis 5 mg/KgBB. Dilakukan perhitungan dosis pemberian ekstrak kepada tikus sebagai berikut:

$$\text{Dosis Pemberian} = \frac{5 \text{ mg}}{1000 \text{ grBB}} \times 250 \text{ gr} = 1,25 \text{ mg}$$

Dosis ekstrak daun pucuk merah yang diberikan kepada tikus dengan berat 250 gram adalah sebanyak 1,25 mg. Tetapi volume pemberian maksimal pada tikus adalah sebanyak 5 mL dengan volume ideal adalah sebanyak 2,5 mL. Oleh karena itu maka dilakukan perhitungan kadar pemberian ekstrak daun pucuk merah sebagai berikut:

$$\text{Kadar Pemberian} = \frac{1,25 \text{ mg}}{2,5 \text{ mL}} = 0,5 \text{ mg/mL}$$

Untuk mengetahui jumlah ekstrak yang dibutuhkan dalam pembuatan larutan stok sebanyak 25 mL maka dilakukan perhitungan sebagai berikut:

$$\text{Dosis Stok} = 0,5 \text{ mg/mL} \times 25 \text{ mL} = 12,5 \text{ mg} = 0,0125 \text{ gram}$$

Jadi sebanyak 0,0125 gram ekstrak daun pucuk merah (*Syzygium myrtifolium* Walp.) dilarutkan menggunakan CMC-Na 1% dan aquadest hingga mencapai 25mL.

- f. Perhitungan ekstrak daun pucuk merah (*Syzygium myrtifolium* Walp.) dosis 5000mg/KgBB

Rata-rata berat badan tikus adalah 250 mg dan diberikan ekstrak daun pucuk merah (*Syzygium myrtifolium* Walp.) dengan dosis 5000mg/KgBB. Dilakukan perhitungan dosis pemberian ekstrak kepada tikus sebagai berikut:

$$\text{Dosis Pemberian} = \frac{5000 \text{ mg}}{1000 \text{ grBB}} \times 250 \text{ gr} = 1250 \text{ mg}$$

Dosis ekstrak daun pucuk merah yang diberikan kepada tikus dengan berat 250 gram adalah sebanyak 1250 mg. Tetapi volume pemberian maksimal pada tikus adalah sebanyak 5 mL dengan volume ideal adalah sebanyak 2,5 mL. Oleh karena itu maka

dilakukan perhitungan kadar pemberian ekstrak daun pucuk merah sebagai berikut:

$$\text{Kadar Pemberian} = \frac{1250 \text{ mg}}{2,5 \text{ mL}} = 500 \text{ mg/mL}$$

Untuk mengetahui jumlah ekstrak yang dibutuhkan dalam pembuatan larutan stok sebanyak 25 mL maka dilakukan perhitungan sebagai berikut:

$$\text{Dosis Stok} = 500 \frac{\text{mg}}{\text{mL}} \times 25 \text{ mL} = 12.500 \text{ mg} = 12,5 \text{ gram}$$

Jadi sebanyak 12,5 gram ekstrak daun pucuk merah (*Syzygium myrtifolium* Walp.) dilarutkan menggunakan CMC-Na 1% dan aquadest hingga mencapai 25 mL.

### 3.8.2 Pemeliharaan Hewan Coba

Tikus putih (*Rattus norvegicus*) jantan galur Sprague-Dawley sebanyak 18 ekor sebelum dilakukan penelitian diadaptasikan selama satu minggu di *animal house* Fakultas Kedokteran Universitas Lampung untuk menyeragamkan makanan dan cara hidup. Pada tahap awal kesehatan hewan coba diperhatikan setiap hari. Kesehatan yang dinilai seperti gerakan yang aktif, keadaan rambut, keadaan umum tikus, proses defekasi, tremor, kejang, laju pernafasan, kebersihan kandang, frekuensi pemberian makanan, dan tidak ada kerusakan pada tubuh hewan coba.

Hewan coba pada *animal house* dikelompokkan menjadi 6 kelompok dengan setiap kelompok terdapat 3 hewan coba. Dasar kandang hewan coba dilapisi dengan serbuk kayu setebal 0.5-1 cm dan diganti satu kali setiap dua hari untuk mencegah terjadinya infeksi akibat kotoran tikus tersebut. Penutup dari kandang tikus terbuat dari kawat dan pada bagian pinggirnya terdapat kayu sehingga sirkulasi udara pada tikus tetap terjaga. Selain itu, makanan dan minuman diberikan *ad libitum* dalam wadah terpisah yang diganti setiap harinya. Makanan yang diberikan

pada tikus berupa pakan standar, sedangkan air minum yang diberikan berupa aquadest yang diletakkan dalam botol plastik yang disumbat pipa aluminium serta diletakkan diatas tutup dari kandang tikus. Pemberian ekstrak daun pucuk merah dilakukan sebanyak satu kali (*single dose*).

### 3.8.3 Prosedur Pemberian Perlakuan

Pada penelitian ini digunakan 18 tikus putih galur Sprague-Dawley yang dikelompokkan ke dalam 6 kelompok dengan kriteria setiap kelompok perlakuan yaitu:

- a. Kontrol (K): tikus diberi CMC-Na1% dengan volume 2,5 mL dengan frekuensi pemberian sebanyak satu kali pada awal penelitian.
- b. Perlakuan 1 (P1): tikus diberi ekstrak daun pucuk merah dosis 2000 mg/KgBB dalam 2,5 mL aquadest + ekstrak daun pucuk merah dosis 2,5 ml/250gramBB konsentrasi 200 mg/mL dengan frekuensi pemberian sebanyak satu kali secara per oral.
- c. Perlakuan 2 (P2): tikus diberi ekstrak daun pucuk merah dosis 300 mg/KgBB dalam 2,5 mL aquadest + ekstrak kopi robusta dosis 2,5 ml/250gramBB konsentrasi 30 mg/mL dengan frekuensi pemberian sebanyak satu kali secara per oral.
- d. Perlakuan 3 (P3): tikus diberi ekstrak daun pucuk merah dosis 50 mg/KgBB dalam 2,5 mL aquadest + ekstrak daun pucuk merah dosis 2,5 ml/250gramBB konsentrasi 5 mg/mL dengan frekuensi pemberian sebanyak satu kali secara per oral.
- e. Perlakuan 4 (P4): tikus diberi ekstrak daun pucuk merah dosis 5 mg/KgBB dalam 2,5 mL aquadest + ekstrak daun pucuk merah dosis 2,5 ml/250gramBB konsentrasi 0,5 mg/mL dengan frekuensi pemberian sebanyak satu kali secara per oral.
- f. Perlakuan 5 (P5): tikus diberi ekstrak daun pucuk merah dosis 5000 mg/KgBB dalam 2,5 mL aquadest + ekstrak daun pucuk merah dosis 2,5 mL/250gramBB konsentrasi 500 mg/mL dengan frekuensi pemberian sebanyak satu kali secara per oral.

### 3.8.4 Prosedur Pengelolaan Hewan Coba Pasca Penelitian

Dalam penelitian ini dilakukan terminasi pada tikus yang menunjukkan adanya tanda-tanda toksisitas setelah diberikan perlakuan atau bila selama dilakukan pengamatan menunjukkan adanya tanda-tanda toksisitas atau setelah dilakukannya pengamatan selama 14 hari tidak menunjukkan adanya tanda-tanda toksisitas. Tikus diterminasi dengan menggunakan anestesi ketamin dengan dosis 80 mg/kgBB secara intramuskular yang kemudian dilanjutkan dengan *cervical dislocation*. Cara melakukan *cervical dislocation* terhadap tikus yaitu dengan meletakkan ibu jari dan jari telunjuk di setiap sisi leher pada dasar tengkorak untuk memberi tekanan ke bagian posterior dasar tulang tengkorak dan sumsum tulang belakang, sementara tangan lainnya pada bagian ekor lalu ditarik dengan cepat sehingga terjadi pemisahan vertebra servikal dari tengkorak dan terjadi pemisahan sumsum tulang belakang dari otak. Pada *cervical dislocation* menyebabkan refleks kedip dan rangsangan rasa sakit menghilang segera sehingga hewan coba tak peka rasa sakit (Isbagio, 1992). Setelah tikus mati, dilakukan pembedahan untuk mengambil ginjal sebagai sediaan mikroskopis. Hewan coba kemudian dikuburkan pada tempat yang luas dengan tanah yang gembur dan tidak berdekatan dengan tempat-tempat pembuangan limbah seperti tempat pembuangan sampah.

### 3.8.5 Pengambilan Sampel

Pada akhir penelitian, diambil organ ginjal hewan coba untuk dijadikan preparat histopatologi serta dilakukan pengamatan. Preparat dibuat dengan pewarnaan hematoksisilin dan eosin yang kemudian diamati melalui mikroskop cahaya. Proses pembuatan preparat histopatologi meliputi (Suvarna *et al.*, 2019) :

a. Fiksasi

Potongan organ hepar yang telah dipotong secara representatif difiksasi menggunakan formalin buffer 10% selama 3 jam. Kemudian cuci dengan air mengalir sebanyak 3 sampai 5 kali.

b. *Trimming*

Organ dikecilkan hingga berukuran kurang lebih 3 mm, potongan tersebut dimasukkan ke tissue cassette.

c. Dehidrasi

Keringkan *tissue cassette* dengan cara diletakkan pada tisu pengering.

Lalu kemudian dilakukan dehidrasi dengan tahapan sebagai berikut:

1. Alkohol 70 % selama 45 menit
2. Alkohol 80 % selama 45 menit
3. Alkohol 96 % selama 30 menit
4. Alkohol absolut selama 45 menit
5. Alkohol absolut selama 45 menit

d. *Clearing*

Sisa alkohol diberikan dengan xylol I dan xylol II masing-masing selama 60 menit. Kemudian untuk impregnasi dilakukan dengan menggunakan parafin selama 1 jam, di dalam oven dengan suhu 65°C.

e. *Embedding*

1. Sisa parafin yang ada pada base mold dibersihkan dengan memanaskan beberapa saat di atas api dan diusap dengan kapas.
2. Parafin diletakkan ke dalam cangkir logam dan dimasukkan ke dalam oven dengan suhu diatas 58°C.
3. Parafin cair dituangkan ke dalam *base mold*.
4. Dipindahkan satu persatu dari *tissue cassette* ke dasar *base mold* dengan mengatur jarak yang satu dengan yang lainnya.
5. *Base mold* dimasukkan ke dalam air.
6. Parafin yang berisi potongan organ dilepaskan dari *base mold* dengan dimasukkan ke dalam suhu 4 – 6 °C beberapa saat.

7. Parafin dipotong sesuai dengan letak jaringan yang ada dengan menggunakan skapel/pisau hangat.
8. Siap dipotong dengan mikrotom.

f. *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 – 5 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 60°C selama beberapa detik sampai mengembang sempurna.
  6. Dengan gerakan menyendok, lembaran jaringan tersebut diambil dengan *object glass* bersih dan ditempatkan di tengah air atau pada sepertiga atas atau bawah.
  7. *Object glass* yang berisi jaringan ditempatkan pada inkubator (suhu 37°C) selama 24 jam sampai jaringan melekat sempurna.
- g. *Straining* (pewarnaan) dengan prosedur pulasan hematoksisilin eosin
- Setelah jaringan melekat pada *object glass*, dipilih slide yang baik lalu secara berurutan dimasukkan ke dalam zat kimia di bawah ini dengan waktu sebagai berikut:
1. Lakukan deparafinasi dalam:
    - a) Larutan xylol I selama 5 menit.
    - b) Larutan xylol II selama 5 menit.
    - c) Etanol absolut selama 60 menit.
  2. Lakukan hidrasi dalam:
    - a) Alkohol 96% selama 2 menit.
    - b) Alkohol 70% selama 2 menit.
    - c) Air selama 10 menit.
  3. Membuat pulasan inti dengan:

- a) Harris hematoksisilin selama 15 menit.
  - b) Air mengalir.
  - c) Eosin selama maksimal 1 menit.
4. Lakukan dehidrasi dengan:
- a) Alkohol 70% selama 2 menit.
  - b) Alkohol 96% selama 2 menit.
  - c) Air selama 10 menit.
5. Penjernihan dengan:
- a) Larutan xylol I selama 2 menit.
  - b) Larutan xylol II selama 2 menit.
- h. Mounting*
- Setelah dilakukannya pewarnaan kemudian *object glass* ditempatkan di atas kertas tisu pada tempat yang datar, kemudian tetesi dengan bahan mounting, yaitu perekat permount dan ditutup dengan menggunakan cover glass. Cegah jangan sampai terbentuk gelembung udara.
- i. Pembacaan preparat*
- Pembacaan preparat dilakukan dibawah mikroskop dengan perbesaran 200x. Pengamatan dilakukan untuk menemukan apakah terdapat tanda toksisitas seperti pelebaran lumen tubulus, akumulasi sel-sel debris dalam lumen, vakuolisasi lumen tubulus, pelebaran ruang bowman, degenerasi, hiperplasia, kariomegali, dan benda-benda inklusi.

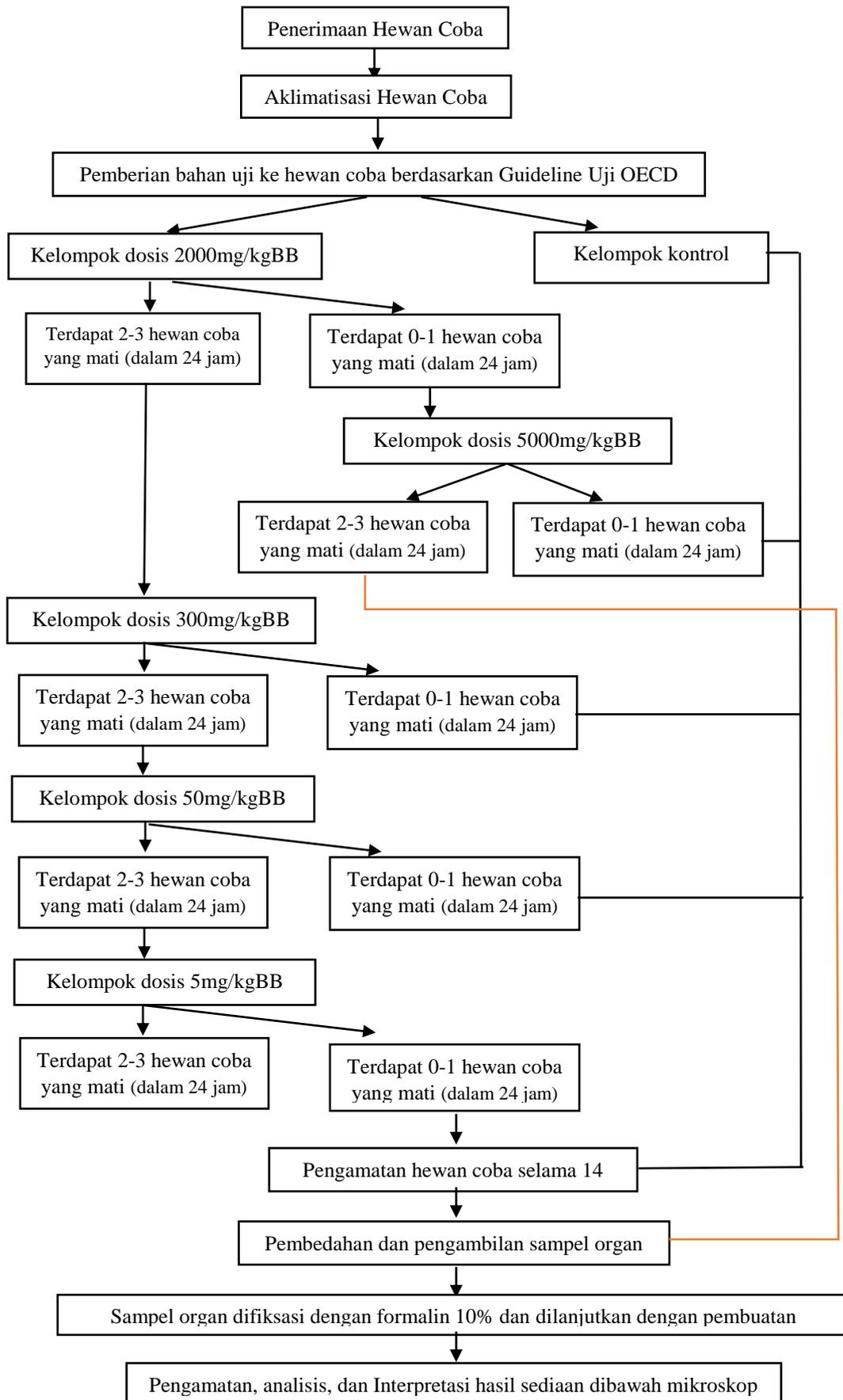
### 3.9 Diagram Alur

Pada penelitian uji toksisitas, hewan coba diberikan ekstrak daun pucuk merah secara *single dose* per oral berdasarkan *guideline* OECD No. 423 dengan dosis adalah 2000 mg/KgBB, 300 mg/KgBB, 50 mg/KgBB, dan 5 mg/KgBB. Pada setiap pemberian ekstrak daun pucuk merah (*Syzygium myrtifolium* Walp.) kepada hewan coba adalah sebanyak 2,5 ml. Sebelum dilakukan pemberian hewan coba dipuasakan selama 6 jam dan setelah diberikan perlakuan hewan

coba dipuaskan selama 4 jam. Pada tikus kelompok kontrol diberikan aquadest sebanyak 2,5 ml.

Berdasarkan *guideline* uji OECD No.423 tahapan pertama pada penelitian adalah kelompok pertama hewan coba diberikan ekstrak daun pucuk merah dengan dosis 2000 mg/kgBB secara *single dose*. Selanjutnya dilakukan pengamatan secara berkala selama 24 jam pertama setelah dilakukan pemberian perlakuan dengan tahapan yaitu: 30 menit kemudian, 4 jam kemudian, 8 jam kemudian, dan 24 jam kemudian.

Pada tahapan awal ini, apabila tidak ditemukan hewan coba yang mati atau hanya ditemukan 1 ekor saja hewan coba yang mati, maka berdasarkan kepada OECD *guideline* No.423 uji toksisitas dilanjutkan dengan dosis 5000 mg/KgBB. Pengujian dosis 5000 mg/kgBB hanya dilakukan apabila bahan uji memiliki relevansi untuk kesehatan atau potensi terapeutik dikarenakan pada dosis ini tidak *animal welfare*. Lain halnya pada saat dosis 2000 mg/kgBB ditemukan 2-3 ekor hewan coba yang mati, maka dilanjutkan pengujian pada kelompok dosis 300 mg/kgBB. Keseluruhan hewan uji yang tetap hidup setelah 24 jam pertama pada tiap tahapan maka dilakukan observasi selama 14 hari untuk melihat adanya kemungkinan *delayed death*. Alur penelitian dapat dilihat pada Gambar 9.



**Gambar 9. Diagram Alur**

### 3.10 Analisis Data

Kelompok penelitian terdiri dari lima kelompok yaitu kontrol dan empat kelompok perlakuan. Pada setiap data yang diperoleh, data tersebut dianalisis menggunakan komputer. Data dilakukan uji normalitas menggunakan uji Saphiro-Wilk dikarenakan jumlah sampel yang diteliti kurang dari 50. Jika data terdistribusi normal dan homogen, maka dilanjutkan dengan *One-way ANOVA*. Apabila data tidak terdistribusi normal dan homogen, maka digunakan uji *Kruskal-Wallis*. Jika didapatkan hasil yang signifikan, maka dilanjutkan dengan uji *Mann-Whitney*. Hipotesis dapat diterima ketika nilai  $p < 0,05$  atau menolak  $H_0$ . Selanjutnya dilakukan analisis *Post-Hoc* LSD untuk melihat perbedaan antar kelompok perlakuan.

### 3.11 Etika Penelitian

Penelitian ini telah mendapat izin penelitian dari Komite Etik Penelitian Kesehatan Fakultas Kedokteran Universitas Lampung dengan nomor persetujuan etik yaitu No : 019/UN26.18/PP.05.02.00/2022.

## **BAB V**

### **SIMPULAN DAN SARAN**

#### **5.1 Simpulan**

Berdasarkan hasil analisis dan pembahasan data, penulis memperoleh kesimpulan yang dapat diambil dari penelitian sebagai berikut :

1. Dosis toksik daun pucuk merah (*Syzygium myrtifolium* Walp.) menggunakan *guideline* uji OECD No. 423 adalah sebesar 5000 mg/kgBB .
2. Terdapat pengaruh dosis toksik pemberian ekstrak etanol dosis tunggal daun pucuk merah (*Syzygium myrtifolium* Walp.) terhadap gambaran histopatologi ginjal tikus putih (*Rattus norvegicus*) galur Sprague Dawley menggunakan *guideline* uji OECD No. 423 berupa atrofi glomerulus, atrofi tubulus, pelebaran ruang bowman, pelebaran lumen tubulus, vakuolisasi, kariomegali, dan adanya akumulasi sel debris.

#### **5.2 Saran**

Saran untuk penelitian selanjutnya adalah :

1. Dilakukan penelitian lebih lanjut mengenai pengaruh pemberian ekstrak daun pucuk merah (*Syzygium myrtifolium* Walp) menggunakan rentang dosis yang berulang atau repeated dose.
2. Dilakukan penelitian lebih lanjut mengenai pengaruh pemberian ekstrak daun pucuk merah (*Syzygium myrtifolium* Walp) pada organ lain.

## DAFTAR PUSTAKA

- Adelita., Hubeis M., Kadarisman D. 2010. Kelayakan dan Strategi Pengembangan Usaha Pembudidayaan Tanaman Hias di Kompleks Perumahan Bekasi. *Jurnal Manajemen IKM*, 5 (1) :32
- Adleend. 2015. Gambaran Histopatologi Ginjal Tikus Putih (*Rattus norvegicus*) Setelah Pemberian Meloxicam Dosis Toksik. Makassar: Universitas Hasanuddin
- Ahmad MA., Lim YH., Chan YS., Hsu CY., Wu TY., Sit NW. 2022. Chemical composition, antioxidant, antimicrobial and antiviral activities of the leaf extracts of *Syzygium myrtifolium*. *Acta Pharmaceutica*. 72(2) : 600-50.
- Ahmed M. 2015. Acute toxicity (lethal dose 50 calculation) of herbal drug somina in rats and mice. *Pharmacology & Pharmacy*. 6. 186-9.
- Aisha AFA., Ismail Z., Salah KMA., Shiddiqui JM., Gafar G., Majid AMSA. 2013. *Syzygium campanulatum* Korth methanolic extract inhiits angiogenesis and tumor growth in nude mice. *BMC Complementary and Alternative Medicine*, 13:168-78.
- Anggraini D. 2015. Uji aktivitas antioksidan, total flavonoid dan total fenolik dari ekstrak n-heksan, etil asetat dan etanol Pucuk Merah (*Syzygium myrtifolium* Walp.) [Skripsi]. Pekanbaru: Sekolah Tinggi Ilmu Farmasi Riau.
- Anggraini DR. 2008. Gambaran Makroskopis dan Mikroskopis Hati dan Ginjal Mencit Akinat Pemberian Plumbum Asetat. [Tesis]. Medan : Program Pasca Sarjana Universitas Sumatera Utara
- Badan Pengawasan Obat dan Makanan (BPOM). 2020. Pedoman uji toksisitas praklinik secara in vivo. Jakarta: Badan Pengawasan Obat dan Makanan.
- Corwin EJ. 2001. Buku Saku Patofisiologi. Alih Bahasa Brahm. Jakarta : Buku Kedokteran EGC. Jakarta.
- Cheville NF. 2006. Introduction to Veterinary Pathology. 3rd ed. United States of America: Blacwell Publishing.
- Donatus, IA. 2005, Toksikologi Dasar Edisi 2. Rasmedia Grafika. Yogyakarta : Fakultas Farmasi Universitas Gadjah Mada

- Eroschenko, VP. 2012. Atlas Histologi diFiore. Jakarta: EGC.
- Fajar RI., Wrasiasi LP., Suhendra L. 2018. Kandungan Senyawa Flavonoid Dan Aktivitas Antioksidan Ekstrak Teh Hijau Pada Perlakuan Suhu Awal Dan Lama Penyeduhan. Jurnal Rekayasa Dan Manajemen Agroindustri, 6(3) : 196–202. <https://doi.org/10.24843/jrma.2018.v06.i03.p02>.
- Fitra, M. 2013. Dye Solar Cell using *Syzygium oleana* Organic Dye. Journal Of Energy Procedia 36 : 341-48.
- Fraizer, KS., Seely JC., Hard GC., Betton G., Burnett R., Nakatsuji S., *et al.* 2012. Proliferative and Nonproliferative Lesions of the Rat and Mouse Urinary System. Toxicologic Pathology, 40: 14S-86S
- Gani JO., Wardhani FM. Tandanu E. 2021. Uji Toksisitas Akut Ekstrak Kunyit Putih (*Curcuma zedoaria*) pada Ginjal Tikus Wistar Jantan. Majalah Kesehatan. 8(4): 192-98.
- Gibson-Corley KN., Olivier AK., Meyerholz DK. 2013. Principles for Valid Histopathologic Scoring in Research. Vet Pathl, 50(6) : 1-22. doi: 10.1177/0300985813485099
- Gufron, M. 2001. Gambaran Struktur Histologi Hepar dan Ren (Ginjal) Tikus Setelah Pemberian Perlakuan Infus Akar Rimpang Jahe (*Zingiber officinale*) Dengan Dosis Bertingkat. Jurnal Kedokteran Yarsi, 2(1): 21-141.
- Gupta A., Naraniwal M., Kothari V. 2012. Modern Extraction Methods for Preparation of Bioactive Plant Extracts. International Journal of Applied and Natural Sciences. 1 (1) : 8-26
- Guyton AC., Hall JE. 1997. Buku Ajar Fisiologi Kedokteran. Setiawan I, editor. Ed 9. Jakarta : EGC
- Haryati NA., Saleh C., Erwin. 2015. Uji Toksisitas dan Aktivitas Antibakteri Ekstrak Daun Merah Tanaman Pucuk Merah (*Syzygium myrtifolium* Walp.) Terhadap Bakteri *Staphylococcus aureus* dan *Escherichia coli*. Jurnal Kimia FMIPA Universitas Mulawarman, 13(1) : 35–40.
- Hasti S., Emrizal, Susilawati F. 2016. Uji Aktivitas Antidiabetes Ekstrak N-Heksana Daun Pucuk Merah (*Syzygium mortifolium* Walp.) Terhadap Mencit Putih Diabetes. Pharmacy. 13 (02) : 172 – 81.
- Hau EER. 2016. Gambaran Histopatologi Ginjal Tikus (*Rattus rattus*) pada Pemberian Lamtoro Merah (*Acacia villosa*) Adaptasi dan Tanpa Adaptasi. J Partner. 21(1): 228 - 40.

- Indriani L., Effendi EM., Fadillah KC. 2021. Acute toxicity test of 96% ethanol extract of *Syzygium myrtifolium* leaves in white mice (*Mus musculus*). *Pharmacy Education*. 21(2) : 201 – 04.
- Isbagio, DW. 1992. Euthanasia pada hewan percobaan. *Jurnal Media Litbangkes*. 2(1) : 18-24.
- Jack. 2012. Synthesis of antidiabetic flavonoids and their derivatives. Master's Thesis. Tianjin University.
- Juwita R., Saleh C., Sitorus S. 2017. Uji aktivitas antihiperurisemia dari daun hijautanaman pucuk merah (*Syzygium myrtifolium* Walp.) terhadap Mencit Jantan (*Mus musculus*). *Jurnal Atomik*. 02(1) : 162 – 68
- Katzung, BG. 2002. *Farmakologi Dasar dan Klinik*. Jakarta: Salemba Medika
- Kumar V., Cotran RS., Robbins SL. 2007. *Buku Ajar Patologi*. Edisi 7 Alih Bahasa, Brahm U Pendt; editor Bahasa Indonesia, Huriawati Hartanto, Nurwany Darmaniah, Nanda Wulandari. Jakarta: EGC.
- Lona, AT. 2018. Uji Aktivitas Antibakteri Fraksi n-Heksana, Etil Asetat, Dan Air Dari Ekstrak Daun Hijau Tanaman Pucuk Merah (*Syzygium myrtifolium* Walp.) Terhadap Bakteri *Staphylococcus aureus* ATCC 25923. [Skripsi]. Surakarta : Fakultas Farmasi Universitas Setia Budi.
- Lusco MA, Fogo AB, Najafian B, Alpers CE. 2016. *AJKD Atlas of Renal Pathology: Tubular Atrophy*. 67(6): 33-4.
- Mansur. 2008. *Toksikologi dan Distribusi agent Toksik Edisi 2*. UI Press: Jakarta
- Masyitah, A. 2015. Uji Aktivitas Antidiabetes Ekstrak Etil Asetat Daun Pucuk Merah (*Syzygium myrtifolium* Walp) Terhadap Mencit Putih (*Mus musculus* L) Jantan. [Skripsi]. Pekanbaru : Sekolah Tinggi Ilmu Farmasi Riau.
- Memon AH., Ismail Z., Al-Suede FSR., Aisha AFA., Hamil MSR., Hashim S., *et al.* 2014. Isolation, Characterization, Crystal Structure Elucidation, and Anticancer Study of Dimethyl Cardamonin, Isolated from *Syzygium campanulatum* Korth. *Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine* : 1-11.
- Muhlisah, F. 2006. *Tanaman Obat Keluarga*. Penebar Swadaya. Penebar Swadaya.
- Murni, HP. 2015. *Identifikasi Senyawa Organik Bahan Alam Pada Daun Pucuk Merah (Syzygium oleana)*. [Skripsi]. Padang : Universitas Negeri Padang.
- Najah, AN. 2019. *Ketoksikan akut produksi soludia menggunakan metode Organization for Economic Cooperation and Development (OECD) 425*

pada tikus wistar betina dan gambaran histopatologis hati dan ginjal [Skripsi]. Yogyakarta: Universitas Islam Indonesia.

- Novrita S., Hati S. 2022. Pengaruh Pemberian Ekstrak Etanol Daun Pucuk Merah (*Syzygium myrtifolium* Walp) Terhadap Kadar Bilirubin Total Serum Mencit Putih (*Mus musculus* L.) Jantan. *Jurnal Pusat Penelitian Farmasi Indonesia*. 1 (1) : 14-8
- Oktiadina, G. 2015. Uji Fitokimia dan Aktivitas Antioksidan Ekstrak dan Fraksi Dari Daun Pucuk Merah (*Syzygium myrtifolium* Walp.) Dengan menggunakan Metode DPPH (1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl). [Skripsi]. Samarinda : FMIPA Universitas Mulawarman.
- Paulsen F., Waschake J. 2012. Sobotta atlas anatomi manusia organ-organ dalam jilid 2. Jakarta: EGC
- Prapanza I., Marianto LA. 2003. Khasiat dan Manfaat Sambiloto Raja Pahit Penakluk Aneka Penyakit. Agromedia Pustaka.
- Price S., Wilson L. 2005. Patofisiologi : Konsep Klinis Proses-Proses Penyakit. Edisi 6. Jakarta : EGC
- Rahman FA., Haniastuti T., Utami TW. 2017. Skrining Fitokimia dan Aktivitas Antibakteri Ekstrak Etanol Daun Sirsak (*Annona muricata* L.) pada *Streptococcus mutans* ATCC 35668. *Majalah Kedokteran Gigi Indonesia*, Vol 3 (1) : 1-7 <http://dx.doi.org/10.22146/majkedgiind.11325>
- Rita WS., Suirta IW., Sabikin A. 2008. Isolasi dan Identifikasi Senyawa yang Berpotensi sebagai Antitumor pada Daging Buah Pare (*Momordica charantia* L.). [Skripsi]. Bukit Jimbaran: Jurusan Kimia FMIPA Universitas Udayana
- Rohmah, M. 2014. Pengaruh Pemberian Infusa Daun Murbei (*Morus Alba* L.) terhadap Gambaran Histologi Glomerulus dan Tubulus Proksimal Tikus Putih (*Rattus Norvegicus*) Diabetes Mellitus Kronik. [Skripsi]. Malang : Fakultas Sains dan Teknologi Universitas Islam Negeri Maulana Malik Ibrahim
- Rosaliano MN., Silveira ND., Cavalini DCU, 2012. A Potencial Improves The lipid Profile of Diabetic Rats. *Brazil: Lipid and Health Disease*. 2(1): 114-15.
- Sasmito WA, Wijayanti AD, Fitriana I, Sari PW. 2015. Pengujian Toksisitas Akut Obat Herbal Pada Mencit Berdasarkan Organization for Economic Co-operation and Development (OECD). *Indonesian Journal of Veterinary Science*. 33(2) :234–39
- Sherwood, L. 2011. Fisiologi Manusia Dari Sel ke Sistem. Edisi IV. Jakarta: EGC.

- Siswadi., Saragih, G. 2018. Uji Toksisitas Akut Ekstrak Etanol Kulit Batang Faloak (*Sterculia quadrifida* R.Br) pada Tikus Sprague-Dawley. *Traditional Medicine Journal*. 23(2):127-34.
- Sriwahyuni, A. 2014. Uji efek antiinflamasi ekstral n-heksan dan etil asetat daun Pucuk Merah terhadap mencit putih (*Mus musculus* L.) Jantan. [Skripsi]. Pekanbaru: Sekolah Tinggi Ilmu Farnasi Riau.
- Suhita LPR., Sufira IW., Winaya IBO. 2013. Histopatologi Ginjal Tikus Putih Akibat Pemberian Ekstrak Pegangan (*Centella asiatica*) Peroral. *Buletin Veteriner Udayana: Fakultas Kedokteran Hewan Universitas Udayana*.
- Suvarna SK., Lyton C., Bancroft JD. 2019. Bancroft's theory and practice of histological techniques 8 th edition. China: Elsevier.
- Syaifuddin. 2006. *Anatomi Fisiologi Untuk Mahasiswa Keperawatan*. Ed.3. Jakarta : EGC
- Teke GN, Kuete V. 2014. *Acute and Subacute Toxicities of African Medicinal Plants*. Cameroon: Elsevier.
- The Organization of Economic Co-operation and Development (OECD). 2001. *The OECD Guideline for Testing of Chemical : 423 Acute Oral Toxicity*. France.
- Thompson, Weil CS. 1952. *Tables for Convenient Calculation of Median EffectiveDose (LD50 or ED50) And Instructions in Their Use*. *Biometrics* 8:249-63.
- Tortora GJ., Derrickson B. 2014. *Principles of Anatomy and Physiology, in Principles of Anatomy and Physiology*. 14th edn. United States of America: John Wiley & Sons
- OECD Guidelines for The Testing of Chemicals. 2004. Section 4. Test N0 423: *Acute toxicityAcute Toxic Class Method*. OECD iLibrary. 2- 14
- Xie Y., Yang W., Tang F., Chen X., Ren L. 2015. Antibacterial activities of flavonoids: structure – activity relationship and mechanism. *Current medicinal chemistry*. 22(1) : 132–49.
- Yunita, E. 2009. Pengaruh Ekstrak Daun Teklan Terhadap Mortalitas dan Perkembangan Larva *Aedes aegypti*. *BIOMA*. 11 (1) : 1410