

**UJI TOKSISITAS AKUT ORAL EKSTRAK ETANOL KULIT BATANG
BAKAU MINYAK (*Rhizophora apiculata*) TERHADAP
HISTOPATOLOGI GINJAL TIKUS PUTIH (*Rattus
norvegicus*) JANTAN GALUR *Sprague-Dawley*
DENGAN METODE *FIXED DOSE***

(Skripsi)

Oleh

**ILMA PUTERI HUTAMI
1658011049**



**FAKULTAS KEDOKTERAN
UNIVERSITAS LAMPUNG
BANDAR LAMPUNG
2023**

**UJI TOKSISITAS AKUT ORAL EKSTRAK ETANOL KULIT BATANG
BAKAU MINYAK (*Rhizophora apiculata*) TERHADAP
HISTOPATOLOGI GINJAL TIKUS PUTIH (*Rattus
norvegicus*) JANTAN GALUR *Sprague-Dawley*
DENGAN METODE *FIXED DOSE***

Oleh

ILMA PUTERI HUTAMI

Skripsi

Sebagai Salah Satu Syarat Untuk Mencapai Gelar
SARJANA KEDOKTERAN

Pada

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



**FAKULTAS KEDOKTERAN
UNIVERSITAS LAMPUNG
BANDAR LAMPUNG
2023**

Judul Skripsi : **UJI TOKSISITAS AKUT ORAL EKSTRAK ETANOL
KULIT BATANG BAKAU MINYAK (*Rhizophora
apiculata*) TERHADAP HISTOPATOLOGI GINJAL
TIKUS PUTIH (*Rattus norvegicus*) JANTAN GALUR
Sprague-Dawley DENGAN METODE *FIXED DOSE***

Nama Mahasiswa : **Ima Puteri Hutami**

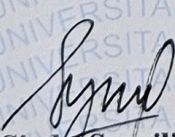
NPM : 1658011049


Program Studi : **PENDIDIKAN DOKTER**

Fakultas : **KEDOKTERAN**



1. **Komisi Pembimbing**


Dr. Si. dr. Syazili Mustofa, M.Biomed.
NIP. 198307132008121003


dr. Anisa Nuraisa Jausal, S.Ked.,M.K.M
NIP. 231806930731201

2. **Plt. Dekan Fakultas Kedokteran**



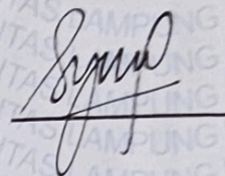
Dr. Eng. Suropto Dwi Yuwono, S.Si., M.T.
NIP. 197407052000031001

MENGESAHKAN

1. Tim Penguji

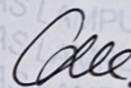
Ketua

: **Dr. Si. dr. Syazili Mustofa, M. Biomed**



Sekretaris

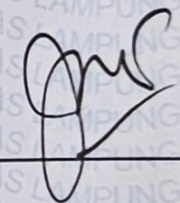
: **dr. Anisa Nuraisa Jausal, S.Ked., M.K.M.**



Penguji

Bukan Pembimbing

: **Dr. dr. Indri Windarti, S.Ked., Sp. PA.**



2. **Plt. Dekan Fakultas Kedokteran**



Dr. Eng. Satripto Dwi Yuwono. S.Si., M.T.

NIP. 197407032000031001

Tanggal Lulus Ujian Skripsi: 09 Juni 2023

LEMBAR PERNYATAAN

Dengan ini saya menyatakan dengan sebenarnya bahwa:

1. Skripsi dengan judul **“Uji Toksisitas Akut Oral Ekstrak Etanol Kulit Batang Bakau Minyak (*Rhizophora apiculata*) Terhadap Histopatologi Ginjal Tikus Putih (*Rattus norvegicus*) Jantan Galur *Sprague Dawley* dengan Metode *Fixed Dose*”** adalah hasil karya sendiri dan tidak ada melakukan penjiplakan atau pengutipan atas karya penulis lain dengan cara tidak sesuai dengan etika ilmiah yang berlaku dalam masyarakat akademik atau yang disebut plagiarisme.
2. Hak intelektual atas karya ilmiah ini diserahkan sepenuhnya kepada Universitas Lampung.

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

Bandar Lampung, 9 Juni 2023

Pembuat Pernyataan



Ilma Puteri Hutami

RIWAYAT HIDUP

Penulis dilahirkan di Bandar Lampung pada tanggal 05 September 1996, sebagai anak kedua dari 4 bersaudara, dari bapak Indra Utama dan Husniati.

Penulis menempuh Pendidikan Sekolah Dasar Negeri (SDN) 2 Rawa Laut pada tahun 2002 hingga 2008, Sekolah menengah pertama (SMP) AL-KAUTSAR pada tahun 2008 hingga 2011, dan Sekolah Menengah Atas (SMA) AL-KAUTSAR pada tahun 2011 hingga 2014. Pada tahun 2014 penulis melanjutkan pendidikan di negara Jerman. Pada tahun 2015 penulis di terima di *Studienkolleg* Greifswald. Pada tahun 2016 diterima di *Privates Studienkolleg* Leipzig-Halle-Neuzelle. Pada tahun 2016 penulis diterima sebagai mahasiswa di Program Studi Pendidikan Dokter Fakultas Kedokteran Universitas Lampung.

*Skripsi Ini Di
Persembahkan Untuk
Papa, Mama, Abang
Tama, Aisyah, Dan
Kak Ratih.*

SANWACANA

Puji Syukur penulis panjatkan kepada Allah SWT, Tuhan yang Maha Pengasih dan Maha Penyayang, yang telah memberikan nikmat dan karunia-Nya sehingga skripsi ini dapat diselesaikan. Shalawat dan salam semoga senantiasa tercurahkan kepada nabi Muhammad SAW.

Skripsi dengan judul **“Uji Toksisitas Akut Oral Ekstrak Etanol Kulit Batang Bakau Minyak (*Rhizophora Apiculata*) Terhadap Histopatologi Ginjal Tikus Putih (*Rattus Norvegicus*) Jantan Galur *Sprague-Dawley* Dengan Metode *Fixed Dose*”** ini disusun sebagai salah satu syarat untuk memperoleh gelar Sarjana Kedokteran di Program Studi Pendidikan Dokter Fakultas Kedokteran Universitas Lampung.

Dalam kesempatan ini penulis mengucapkan terima kasih banyak kepada semua pihak yang telah berperan dalam membantu memberikan dorongan, saran dan kritik yang membangun, dan bimbingan sehingga skripsi ini dapat terselesaikan. Rasa terima kasih ini saya berikan kepada :

1. Prof. Dr. Ir. Lusmeilia Afriani, D.E.A., PhD., IPM selaku Rektor Universitas Lampung.
2. Dr. Eng. Suropto Dwi Yuwono, S.Si., M. T. selaku Plt. Dekan Fakultas Kedokteran Universitas Lampung.
3. Dr. dr. Indri Windarti, S.Ked., Sp. PA., selaku Ketua Jurusan Pendidikan Dokter Fakultas Kedokteran Universitas Lampung.
4. Dr. dr. Khairun Nisa Berawi, S.Ked., M. Kes., AIFO., selaku Ketua Program Studi Pendidikan Dokter Fakultas Kedokteran Universitas Lampung.

5. Dr. dr. Syazili Mustofa, S.Ked, M.Biomed., selaku pembimbing satu saya yang telah bersedia meluangkan waktu dan tenaga untuk memberikan bimbingan, saran, nasehat maupun kritik yang bermanfaat dalam skripsi ini.
6. dr. Anisa Nuraisa Jausal, S.Ked, M.K.M., selaku pembimbing dua saya yang telah bersedia meluangkan waktu dan tenaga untuk memberikan bimbingan, saran, nasehat maupun kritik yang bermanfaat dalam skripsi ini.
7. Dr. dr. Indri Windarti, S.Ked., Sp. PA., selaku pembahas dan pembimbing akademik saya yang telah bersedia meluangkan waktu dan tenaga untuk memberikan bimbingan, saran, nasehat maupun kritik yang bermanfaat dalam skripsi ini.
8. Seluruh Staf Dosen Fakultas Kedokteran Universitas Lampung terima kasih atas ilmu yang telah diberikan kepada penulis untuk menambah wawasan selangkah lebih dekat dalam menggapai cita-cita menjadi seorang dokter.
9. Keluarga tercinta Papa, Mama, Abang, Adek, dan Kakak yang selalu mendoakan, memberikan motivasi, bantuan, dukungan, kepada penulis.
10. Mas Aji Kurnia Irawan, S.Pd., mas Bayu Putra DJ, A.Md., AK., mba Nuriah, S.Si terima kasih telah membantu selama pengerjaan penelitian ini
11. Bapak Bukhori dan Bapak Kalyadi terima kasih telah membantu saya selama di *Animal House* Fakultas Kedokteran Universitas Lampung.
12. Seluruh civitas akademik Fakultas Kedokteran Universitas Lampung, terima kasih atas bantuan serta kerjasamanya selama ini.
13. Tim penelitian bakau, Dwi Sarwinda , Isnamurti Ciptaningrum, Caesaria Sinta Zuya, Rifadly Yusril dan Rheza Paleva. Terima kasih atas bantuan dan memotivasi saya untuk melakukan penelitian skripsi ini
14. Terima kasih kepada Ismalia Qanit yang telah membantu sehingga penelitian ini terselesaikan.
15. Terimakasih kepada sahabat-sahabatku sedari sekolah Nay, Alin, Cony, Acil, Kiki, Cindy, Lia, dan Bunyir, yang selama ini selalu mendengarkan dan mendoakan.
16. Terima kasih kepada sahabatku Firinda, Dian, Lian, Karin, Agus, dan Mila, yang memberikan motivasi, dukungan, doa, dan dorongan kepada saya selama ini.

17. Terima kasih kepada teman-teman semester akhir seperjuangan skripsi, Alka, Angela, Yovani, Farid, Ashilah, Nadia, Bili, Danang, dan Arif, yang selama ini memberikan dukungan, dan doa.
18. Teman-teman seperjuangan Angkatan 2016 Trigemini, terima kasih untuk kebersamaan, suka dan duka selama ini yang telah kita hadapi bersama, semoga kita semua menjadi dokter yang Amanah.

Semoga semua doa, bantuan dan kebaikan yang telah diberikan kepada penulis mendapatkan balasan dari Allah SWT. Demikian skripsi ini dibuat, penulis menyadari masih banyak kekurangan dan kesalahan dalam penulisan, semoga skripsi ini dapat bermanfaat dan berguna untuk banyak orang, Amin.

Bandar lampung, 7 juni 2023

Penulis,

Ilma Puteri Hutami

ABSTRACT

ORAL ACUTE TOXICITY TEST OF ETHANOL EXTRACT OF OIL MANGROVE (*Rhizophora apiculata*) BARK TOWARDS KIDNEY HISTOPATHOLOGY OF MALE WHITE RATS (*Rattus norvegicus*) Sprague-Dawley STRAIN WITH FIXED DOSE METHOD

By

ILMA PUTERI HUTAMI

Background: *Rhizophora apiculata* is a type of mangrove plant that was previously identified to contain active components such as steroids, triterpenes, saponins, flavonoids, alkaloids, and tannins. The source of the active ingredients in mangrove plant extracts has been used as a traditional medicine in anticancer, antitumor, antidiabetic, and antimicrobial healing.

Methods: This study was designed to determine the acute toxicity effect of ethanol extract of mangrove oil bark against the kidneys of male white rats (*Rattus norvegicus*) Sprague Dawley strain using a fixed-dose method through preliminary and main tests. Ethanol extract from Mangrove oil bark was given to 4 treatment groups at doses of 5, 50, 300, and 2000 mg/kg BW (body weight) compared to the control group. These animals were observed continuously for 14 days to see whether there were signs of acute toxicity. On the 15th day, they were terminated for kidney organ harvesting. Data were analyzed using Kruskal-Wallis and continued with the Mann Whitney Post Hoc test.

Results: The results of this study suggested that there were no toxic symptoms such as seizures and death. The results of the average damage assessment of the microscopic appearance of the kidney, at doses of 5, 50, 300 and 2000 mg/kg BW, were 0.4; 0.6; 1.4; 2.4 and in the control group, the average damage was 0. The results of the Kruskal-Wallis test found $P < 0.05$, namely, there was a difference in the level of kidney damage between groups, while the results of the Mann Whitney Post Hoc test showed a significant difference between the control group and the treatment group 3 and 4.

Conclusion: In conclusion, administration of *Rhizophora apiculata* extract did not cause symptoms of acute toxicity clinically in white rats, however, histopathological examination of the kidneys at a dose of 300 mg/kg BW found inflammatory cells and a dose of 2000 mg/kg BW resulted in significant damage in the form of tubular thyroidization and inflammatory cells.

Keywords: Kidney histology, *Rhizophora apiculata*, Fixed dose method, Acute toxicity.

ABSTRAK

UJI TOKSISITAS AKUT ORAL EKSTRAK ETANOL KULIT BATANG BAKAU MINYAK (*Rhizophora apiculata*) TERHADAP HISTOPATOLOGI GINJAL TIKUS PUTIH (*Rattus norvegicus*) JANTAN GALUR *Sprague-Dawley* DENGAN METODE *FIXED DOSE*

Oleh

ILMA PUTERI HUTAMI

Latar Belakang: *Rhizophora apiculata* merupakan salah satu jenis tanaman bakau yang sebelumnya teridentifikasi mengandung komponen aktif seperti steroid, triterpene, saponin, flavonoid, alkaloid, dan tannin. Sumber bahan aktif dalam ekstrak tanaman bakau telah dimanfaatkan sebagai obat tradisional dalam penyembuhan antikanker, antitumor, antidiabetes, dan antimikroba.

Metode: Penelitian ini dirancang untuk menentukan efek toksisitas akut ekstrak etanol kulit batang tanaman bakau terhadap ginjal tikus putih (*Rattus norvegicus*) jantan Sprague Dawley dengan metode dosis tetap melalui uji pendahuluan dan uji utama. Ekstrak kulit batang bakau diberikan ke 4 kelompok perlakuan dengan dosis bertingkat 5, 50, 300, dan 2000 mg/kgBB yang dibandingkan dengan kelompok kontrol. Hewan-hewan tersebut diamati selama 14 hari terus menerus untuk melihat ada atau tidaknya tanda-tanda toksisitas akut dan pada hari ke 15 di terminasi untuk pengambilan organ ginjal. Data di analisis menggunakan *Kruskal-Wallis* dan dilanjutkan uji *Post Hoc Mann Whitney*.

Hasil: Hasil dari penelitian ini menunjukkan bahwa tidak ada gejala toksik seperti kejang hingga kematian. Hasil penilaian rata-rata kerusakan gambaran mikroskopis ginjal, pada dosis 5,50,300, dan 2000 mg/kgBB yaitu 0,4; 0,6; 1,4; 2,4 dan pada kelompok kontrol rerata kerusakan 0. Hasil dari uji *Kruskal-Wallis* didapatkan $P < 0,05$ yaitu terdapat perbedaan tingkatan kerusakan ginjal antar kelompok, sedangkan hasil uji *Post Hoc Mann Whitney* terdapat perbedaan yang bermakna antara kelompok kontrol dan kelompok perlakuan 3 dan 4.

Kesimpulan: Pemberian ekstrak *Rhizophora apiculata* tidak menyebabkan gejala toksisitas akut secara klinis pada tikus putih, namun pada pemeriksaan histopatologi ginjal dengan dosis 300mg/kgBB ditemukan sel radang dan dosis 2000 mg/kgBB mengakibatkan rusak secara signifikan berupa tiroidisasi tubulus, dan sel radang.

Kata kunci: Histologi ginjal, *Rhizophora apiculata*, Metode *fixed dose*, Toksisitas akut.

DAFTAR ISI

	Halaman
SANWACANA.....	i
DAFTAR ISI.....	iv
DAFTAR TABEL.....	vi
DAFTAR GAMBAR.....	vii
I. PENDAHULUAN.....	1
1.1 Latar Belakang.....	1
1.2 Perumusan Masalah.....	4
1.3 Tujuan Penelitian.....	4
1.4 Manfaat Penelitian.....	4
II. TINJAUAN PUSTAKA.....	6
2.1 Tanaman Bakau Minyak (<i>Rhizophora apiculata</i>).....	6
2.1.1 Deskripsi <i>Rhizophora apiculata</i>	6
2.1.2 Taksonomi.....	7
2.2 Kandungan Zat Aktif.....	7
2.2.1 Peranan Antioksidan bagi Tubuh.....	7
2.3 Uji Toksisitas.....	8
2.3.1 Uji Toksisitas Akut Oral.....	9
2.3.2 Metode Uji Toksisitas Akut.....	9
2.3.3 <i>Fixed Dose Method</i>	10
2.3.4 Uji Pendahuluan.....	10
2.3.5 Uji Utama.....	12
2.3.6 Uji Batasan.....	14
2.3.7 Pengamatan.....	14
2.4 Ginjal.....	15
2.4.1 Anatomi Ginjal.....	15
2.4.2 Fisiologi Ginjal.....	16
2.4.3 Histologi Ginjal.....	17
2.4.4 Kerusakan Pada Ginjal.....	18
2.4.5 Histopatologi Ginjal.....	18
2.5 Tikus Putih (<i>Rattus norvegicus</i>) Galur <i>Sprague Dawley</i>	22
2.5.1 Taksonomi.....	22
2.6 Kerangka Teori.....	24
2.7 Kerangka Konsep.....	25
2.8 Hipotesis.....	25

III. METODE PENELITIAN.....	26
3.1 Jenis Penelitian.....	26
3.2 Waktu Dan Tempat Penelitian.....	26
3.2.1 Tempat Penelitian.....	26
3.2.2 Waktu Penelitian.....	26
3.3 Populasi dan Sampel.....	26
3.3.1 Populasi.....	26
3.3.2 Sampel.....	27
3.4 Kriteria Penelitian.....	29
3.4.1 Kriteria Inklusi.....	29
3.4.2 Eksklusi.....	29
3.5 Alat dan Bahan.....	30
3.5.1 Alat-Alat.....	30
3.5.2 Bahan.....	31
3.6 Indentifikasi Variabel dan Definisi Operasional Variabel.....	32
3.6.1 Indentifikasi Variabel.....	32
3.6.2 Definisi Operasional Variabel.....	32
3.7 Prosedur dan Alur Penelitian.....	33
3.7.1 Alur Penelitian.....	33
3.7.2 Prosedur Pembuatan Preparate.....	35
3.7.3 Pewarnaan Hematoksilin Eosin (HE)	36
3.8 Rencana Pengolahan dan Analisis Data.....	37
3.8.1 Pegolahan Data.....	37
3.8.2 Analisis Data.....	37
3.9 Etik Penelitian.....	38
IV. HASIL DAN PEMBAHASAN.....	39
4.1 Hasil Penelitian.....	39
4.1.1 Gambaran Histopatologi Ginjal.....	40
4.1.2 Analisis Univariat Histopatologi Ginjal.....	43
4.1.3 Analisis Bivariat Histopatologi Ginjal.....	46
4.2 Pembahasan Penelitian.....	47
V. KESIMPULAN DAN SARAN.....	51
5.1 Kesimpulan	51
5.2 Saran	51
DAFTAR PUSTAKA.....	52
LAMPIRAN.....	58

DAFTAR TABEL

Tabel	Halaman
1. Kelompok Perlakuan.....	29
2. Definisi Operasional Variabel.....	32
3. Hasil Rerata Kerusakan Ginjal Tikus Putih.....	44
4. Uji Normalitas Data.....	45
5. Analisis Univariat Kerusakan Ginjal.....	45
6. Uji Normalitas setelah Transformasi Data.....	46
7. Uji <i>Kruskal-Wallis</i>	46
8. Uji <i>Post Hoc Mann-Whitney</i>	47

DAFTAR GAMBAR

Gambar	Halaman
1. <i>Rhizophora apiculata</i>	6
2. Uji Pendahuluan Dosis 5, dan 50 mg/kg BB.....	11
3. Uji pendahuluan dosis 300 dan 2000 mg/kg BB.....	12
4. Uji utama dosis 5 dan 50 mg/kg BB	13
5. Uji utama dosis 300 dan 2000 mg/kg BB	14
6. Anatomi ginjal.....	15
7. Glomerulus.....	17
8. 1. Tubulus Proksimal dan 2. Tubulus Distal.....	18
9. Gambaran Histopatologi Ginjal A.....	19
10. Gambaran Histopatologi Ginjal B.....	20
11. Gambaran Histopatologi Ginjal C.....	21
12. Tikus Putih (<i>Rattus norvegicus</i>) Galur Sprague Dawley.....	23
13. Kerangka Teori Uji Toksisitas Akut Oral Ekstrak Etanol Kulit Batang Bakau <i>Rhizophora apiculata</i> Terhadap Histopatologi Ginjal Tikus Putih.....	24
14. Kerangka Konsep.....	25
15. Alur penelitian.....	33
16. Histologi Ginjal Kelompok Kontrol (KK) 400X. A. Tubulus B. Glomerulus.....	40
17. Gambaran Histologi Ginjal Kelompok Perlakuan 1 (KP1) 400X A. Tubulus B. Glomerulus.....	41
18. Gambaran Histologi Ginjal Kelompok Perlakuan 2 (KP2) 400X A. Tubulus B. Glomerulus.....	41
19. Gambaran Histologi Ginjal Kelompok Perlakuan 3 (KP3) 400X A. Tubulus B. sel radang.....	42
20. Gambaran Histologi Ginjal Kelompok Perlakuan 4 (KP2) 400X A. Sel radang, B. Tiroidisasi Tubulus.....	43

I. PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

Hutan bakau (*mangrove*) adalah sekumpulan pohon dan semak-semak yang tumbuh di perairan laut dan dimuara sungai yang membentuk *estuary* namun sebagian kecil saja dapat tumbuh di perairan tawar. Indonesia adalah salah satu negara tropis yang memiliki luasan hutan bakau terluas di dunia sekitar 45 spesies tanaman bakau. Tanaman bakau dapat hidup subur seperti di tempat-tempat dimana model topografi kepulauannya yang tidak terlalu lebar dan memiliki banyak sungai sehingga memudahkan sebaran dan ketersediaan nutrisi bagi kelangsungan hidupnya. Lingkungan alami tanaman *mangrove* terdiri dari kumpulan kompleks abiotik dan biotik yang diantaranya memanifestasikan kondisi buruk/stres oleh beberapa faktor diantaranya salinitas, logam berat, oksigen rendah, banjir, UV-B, patogen mikroba (virus, bakteri dan jamur), nematoda, serangga dan lain-lain, Namun, tanaman *mangrove* dapat menahan kondisi stres ini melalui adaptasi morfologi dan fisiologis dan pengembangan sistem pertahanan antioksidan yang efisien (Das *et al.*, 2016). Di alam diketahui bakau terdiri dari 16 keluarga, 24 genus, dan 84 spesies. *Rhizophora apiculata*, *Rhizophora mucronate*, dan *Rhizophora stylosa* adalah tiga jenis yang paling banyak ditemukan di Indonesia (Firdaus *et al.*, 2013).

Tanaman mangrove *Rhizophora apiculata* memiliki potensi yang besar sebagai tanaman obat (Rupidara *et al.*, 2020). Studi etnobotanik mengungkapkan salah satu potensi terapeutik dari spesies tanaman ini adalah untuk menyembuhkan gigitan ular, cacar, maag, detoksifikasi, pengendalian kelahiran, gangguan saluran kemih, gangguan lambung,

penghambat tumor, penyakit kuning, malaria, sakit gigi, penyakit kulit, diare, mual, muntah, kolera, dan lain-lain (Ratnasari *et al.*, 2017).

Kandungan herbal dari tanaman bakau adalah sumber dari berbagai bioaktivitas komponen aktif seperti steroid, triterpene, saponin, flavonoid, alkaloid, dan tanin yang telah terdeteksi sebagai antikanker (Rahmania *et al.*, 2018) antitumor, antidiabetes, antimikroba (Laith, 2021) dan antioksidan (Haryoto dan Frista, 2019).

Rhizophora apiculata mengandung senyawa *dichloromethane* dari ekstrak *pyroligneous acid*. *Pyroligneous acid* adalah senyawa polipenol yang mengandung antioksidan. *Pyroligneous acid* disebut juga cuka kayu sebagai hasil kondensasasi penguapan (distilasi) asap dalam proses pembuatan arang (Pimenta *et al.*, 2018). Asam *pyroligneous* pertama kali dikembangkan di Jepang yaitu pada saat para ilmuwan dan peneliti menemukan bahwa cuka kayu dari beberapa pohon memiliki kemampuan detoksifikasi yang kuat, dan telah dikonfirmasi melalui ratusan percobaan. Hasil penelitian sebelumnya menunjukkan bahwa bakau memiliki aktifitas sebagai antioksidan (Mohan *et.al.*, 2021). Sedangkan hasil dari penelitian lainnya menunjukkan bahwa ekstrak daun bakau dengan pelarut etil asetat dapat menghasilkan aktivitas antioksidan terbaik, sehingga pemberian ekstrak ini dapat menormalkan berbagai parameter biokimia (Hardiningtyas *et al.*, 2014).

Pada penelitian sebelumnya, dosis 56,55 mg/KgBB dari ekstrak kulit batang bakau (*Rhizophora apiculata*) dapat melindungi kerusakan paru (Mutia, 2018), mampu memperbaiki motilitas, morfologi dan jumlah spermatozoa (Marini, 2018), dan mencegah penebalan arteri koronaria tikus putih (*Rattus norvegicus*) yang disebabkan paparan asap rokok (Mustofa *et al.* 2019). Ekstrak kulit batang *mangrove* dapat melindungi pankreas tikus putih dari kerusakan akibat asap rokok (Mustofa *et al.* 2018). Temuan penelitian lainnya ditemukan bahwa ada efek

perlindungan dari ekstrak etanol kulit batang *R. apiculata* terhadap kerusakan testis yang disebabkan oleh asap rokok pada tikus. Dosis terbaik dari ekstrak tersebut yang berpengaruh dalam mengantisipasi efek samping asap rokok adalah 113,10 mg/KgBB (Mustofa dan Hanif, 2019).

Pemberian dosis dari ekstrak bakau harus tepat agar tidak mengakibatkan toksik pada tubuh. Dosis kurang dari 700ppm, ekstrak kulit batang *mangrove* tidak membahayakan ikan, namun pada dosis lebih dari 750ppm, kematian ikan sebesar 50 persen selama 24 jam. Hal ini menunjukkan bahwa ikan lebih sering mati pada dosis ekstrak yang lebih tinggi (Jampil et al., 2017). Uji toksisitas subakut *Rhizophora apiculata* pada dosis ekstrak 114 mg/kg menunjukkan tanda-tanda toksisitas pada hati tikus, sedangkan pada dosis 228 mg/kg ditemukan efek muncul di pancreas (Mustofa et al. 2020).

Ginjal berperan penting dalam menjaga kesehatan tubuh, mulai dari aktivitas hormon hingga mempertahankan kadar molekul yang stabil dalam darah hingga ekskresi racun. Sebagian besar menganggap ginjal merupakan organ nomor dua setelah hati untuk menghilangkan racun. Namun, sekitar 20% hingga 25% curah jantung melewati organ-organ kecil ini, memungkinkan ginjal menyaring darah sebanyak 60 kali per hari, sehingga dapat dikatakan bahwa ginjal sebenarnya lebih penting untuk menghilangkan racun dibandingkan organ hati. Ginjal membersihkan tubuh dari produk metabolisme seperti amonia, asam urat, kreatinin, urea, produk akhir metabolisme hemoglobin, dan metabolit hormone (Pizzorno, 2015).

Oleh karena itu setelah mempertimbangkan beberapa hasil penelitian-penelitian sebelumnya, anais tertarik untuk mengarahkan penelitian tentang efek toksisitas akut dari ekstrak kulit batang bakau pada ginjal tikus putih (*Rattus norvegicus*) jantan *Sprague Dawley*, dengan adanya

penelitian ini diharapkan dapat memperhitungkan kadar dosis yang mengakibatkan toksik pada tubuhnya.

1.2 Perumusan Masalah

1. Apakah terdapat tanda-tanda toksisitas akut pada tikus putih (*Rattus norvegicus*) yang diberikan ekstrak kulit batang bakau minyak (*Rhizophora apiculata*)?
2. Berapakah dosis toksik akut ekstrak kulit batang bakau minyak (*Rhizophora apiculata*) yang dapat merubah gambaran histologi pada ginjal tikus putih (*Rattus norvegicus*) jantan galur *Sprague Dawley*?

1.3 Tujuan Penelitian

Tujuan penelitian yang berdasarkan rumusan masalah, yaitu

1. Mengetahui apakah tikus putih (*Rattus norvegicus*) jantan *Sprague Dawley* mengalami gejala toksik setelah pemberian ekstrak kulit batang bakau minyak (*Rhizophora apiculata*) dengan pemberian dosis toksik secara akut.
2. Mengetahui dosis toksik akut ekstrak kulit batang bakau minyak (*Rhizophora apiculata*) terhadap gambaran histologi ginjal tikus putih.

1.4 Manfaat Penelitian

1.4.1 Bagi Ilmu Pengetahuan

Hasil dari penelitian, diharapkan dapat memberi sebuah informasi mengenai uji toksisitas akut oral ekstrak kulit batang bakau minyak (*Rhizophora apiculata*) terhadap histopatologi ginjal tikus putih (*Rattus norvegicus*) menggunakan metode *fixed dose*.

1.4.2 Bagi Institusi Pendidikan

Diharapkan temuan dari penelitian ini dapat dibaca oleh banyak orang sehingga dapat memberikan sedikit informasi bagi ilmu

kesehatan serta berkontribusi mengembangkan pengetahuan di bidang tanaman obat.

1.4.3 Bagi Mahasiswa Kedokteran dan Kesehatan

Diharapkan penelitian ini memberikan wawasan, informasi serta menginspirasi untuk melanjutkan penelitian.

II. TINJUAN PUSTAKA

2.1 Tanaman Bakau Minyak (*Rhizophora apiculata*)

2.1.1 Deskripsi *Rhizophora apiculata*

Indonesia merupakan negara yang memiliki berbagai jenis tanaman bakau. Sekitar 45 spesies tanaman bakau tersebar di seluruh Indonesia seperti *Rhizophora apiculata*, *Rhizophora mucronate*, dan *Rhizophora stylosa* (Firdaus, 2013).



Sumber: Tan, 2007

Gambar 1. *Rhizophora apiculata*

Rhizophora apiculata (Gambar 1) memiliki ketinggian mencapai 30 m dengan diameter mencapai 50 cm. Tanaman ini banyak ditemukan pada daerah pesisir pantai, dan dapat tumbuh pada tanah berpasir, tergenang maupun berlumpur (Hadi *et al.*, 2016).

2.1.2 Taksonomi

Rhizophora apiculata di klasifikasikan sebagai berikut:

Kingdom	: <i>Plantae</i>
Devisi	: <i>Magnoliophyta</i>
Kelas	: <i>Magnoliopsida</i>
Ordo	: <i>Myrtales</i>
Famili	: <i>Rhizophoraceae</i>
Genus	: <i>Rhizophora</i>
Jenis	: <i>Rhizophora apiculata</i> (Hadi <i>et al.</i> , 2016)

2.2 Kandungan Zat Aktif

Tanaman bakau (*Rhizophora sp.*) mengandung zat aktif seperti steroid, *triterpene*, *saponin*, *flavonoid*, *alkaloid*, dan *tannin* (Hadi *et al.*, 2016). Tanaman bakau minyak (*Rhizophora apiculata*) memiliki kandungan antioksidan alami yang dapat ditemukan pada bagian batang, buah dan daun. Kandungan zat aktif bagian batang kayu minyak (*Rhizophora apiculata*) seperti fenolik, alkaloid, glikosida, minyak esensial, dan senyawa organik lainnya. Senyawa tanin pada kulit batang *Rhizophora apiculata* memiliki aktivitas antioksidan tertinggi dapat menangkap radikal bebas (Berawi dan Marini, 2018).

2.2.1 Peranan Antioksidan bagi Tubuh

Antioksidan adalah molekul yang berfungsi menghambat atau mencegah proses oksidasi molekul lain. Antioksidan juga didefinisikan sebagai senyawa yang dapat melindungi sel dari efek berbahaya radikal bebas oksigen reaktif berkaitan dengan beberapa penyakit degeneratif yang berkontribusi terhadap risiko penuaan, kanker dan aterosklerosis. Komponen kimia yang berperan sebagai antioksidan adalah senyawa dari golongan fenolik dan polifenolik. Upaya pengembangan mencari sumber antioksidan alami lebih tinggi jika dibandingkan antioksidan sintetik agar lebih aman digunakan sebagai bahan tambahan makanan atau bahan medis. Antioksidan memiliki peranan penting

bagi tubuh karena antioksidan bermanfaat sebagai antibakteri (Rahayu, 2019), antikanker (Faoziyah dan Kurniawan, 2017) dan anti inflamasi (Cendekia, 2015).

2.2.1.1 Antibakteri

Potensi bioaktif dari ekstrak bagian akar, batang dan daun *Rhizophora apiculata* mampu menghambat pertumbuhan dari koloni bakteri untuk *E. coli* lebih luas (23,9 mm diameter cakram) dari pada *S. aureus* (14 mm) (Rahayu, 2019). Isolasi jamur endofit berwarna putih gading dan jamur berwarna putih serabut dari bagian daun *Rhizophora apiculata* juga memberikan daya hambat pertumbuhan terhadap bakteri *Pseudomonas aeruginosa* (gram negatif) dan *Staphylococcus aureus* (gram positif) (Santoso *et al.*, 2015).

2.2.1.2 Antikanker

Daun *mangrove* (*Rhizophora mucronate*) memiliki potensi sebagai zat aktif pembuatan nano emulsi terapi anti kanker (Faoziyah dan Kurniawan, 2017).

2.2.1.3 Anti inflamasi

Kayu batang bakau minyak (*Rhizopora mucronate*) teridentifikasi mengandung senyawa sterol (β -sitosterol). Konsentrasi 0,6 mg/mL memiliki aktifitas anti inflamasi lebih efektif dari pada konsentrasi 1,4 mg/mL (Cendekia, 2015).

2.3 Uji Toksisitas

Uji toksisitas merupakan suatu proses uji untuk mendeteksi efek toksik dari suatu zat pada system biologi disertai dosis respon, sehingga dapat memberikan informasi tentang derajat bahaya paparan atau pemakaian

terlalu lama suatu zat. Pengembangan obat baru dan kosmetik, dilakukan uji toksisitas menggunakan pedoman uji toksisitas praklinik secara *in vivo* pedoman untuk menjaga keamanan (BPOM, 2022).

Uji toksisitas tersedia dalam berbagai bentuk, yaitu: uji toksisitas akut oral, subkronik oral, kronik oral, akut dermal, subkronik dermal, uji iritasi mata, uji iritasi mukosa vagina, uji iritasi akut dermal (BPOM, 2022).

2.3.1 Uji Toksisitas Akut Oral

Uji toksisitas akut oral bertujuan untuk mendeteksi hasil toksik dengan cepat setelah pemberian sediaan secara oral. dosis yang diberikan adalah dosis tunggal maupun berulang dalam waktu 24 jam. Pengujian ini dilakukan secara bertingkat pada beberapa kelompok hewan uji dengan dosis berkelompok, pengamatan dilakukan pada hewan yang terdapat tanda-tanda toksik, dan hewan yang bertahan hidup maupun mati hingga akhir penelitian akan dilakukan otopsi untuk mengevaluasi adanya gejala toksisitas pada organ. Tujuan dari penelitian ini untuk mendeteksi kandungan yang bersifat toksik pada saat penggunaan zat secara akut. Tidak hanya memperoleh informasi tersebut, melakukan uji toksisitas akut dapat menentukan tingkatan dosis, merancang uji toksisitas selanjutnya, memperoleh nilai LD₅₀ (BPOM, 2022).

2.3.2 Metode Uji Toksisitas Akut

Metode konvensional dapat digunakan untuk melakukan uji toksisitas akut, namun pendekatan ini memiliki kekurangan karena mengharuskan sejumlah besar hewan uji untuk menetapkan parameter akhir, yang bertentangan dengan kesejahteraan hewan (*animal welfare*). Tahun 1984 dibuat metode alternatif yang merupakan revisi metode *OECD* dimana hewan yang digunakan lebih sedikit jumlahnya. Metode alternatif yang dapat digunakan

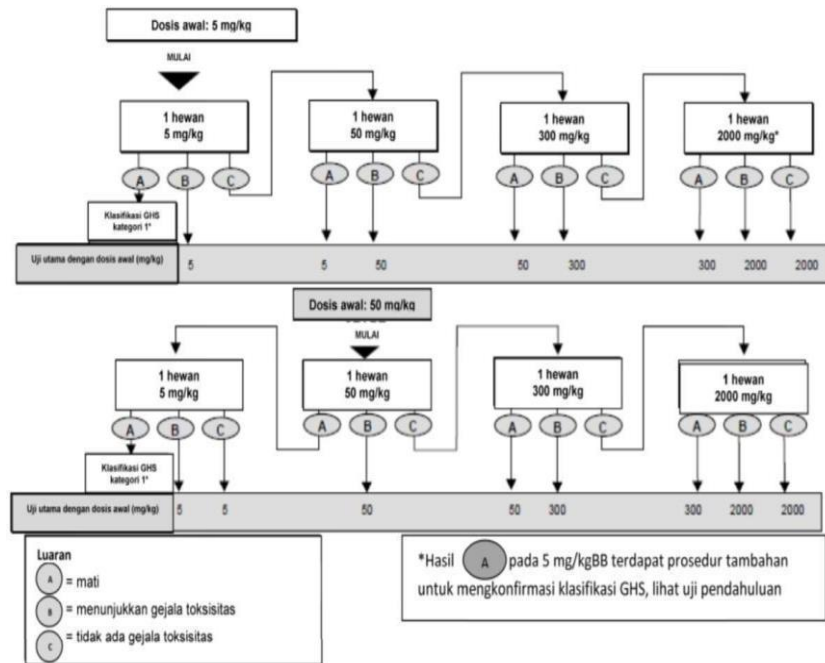
yaitu metode *Up dan Down Procedure*, metode *Fixed Dose*, dan metode *Toxic Class* (BPOM, 2022).

2.3.3 Metode *Fixed Dose*

Metode *Fixed Dose* dapat digunakan pada uji toksitas sedang dengan dosis yang dipilih tidak menimbulkan kematian, nyeri hebat maupun iritatif/ korosif. Sekelompok hewan uji dengan jenis kelamin yang sama akan dirawat dan mereka akan menerima dosis yang bervariasi dari 5, 50, 300, dan 2000 mg/kgBB (dosis maksimum adalah 5000 mg/kgBB). Uji utama dilakukan setelah uji pendahuluan yang berguna untuk menentukan dosis awalan yang tidak menimbulkan gejala toksisitas berat atau kematian (BPOM, 2022).

2.3.4 Uji Pendahuluan

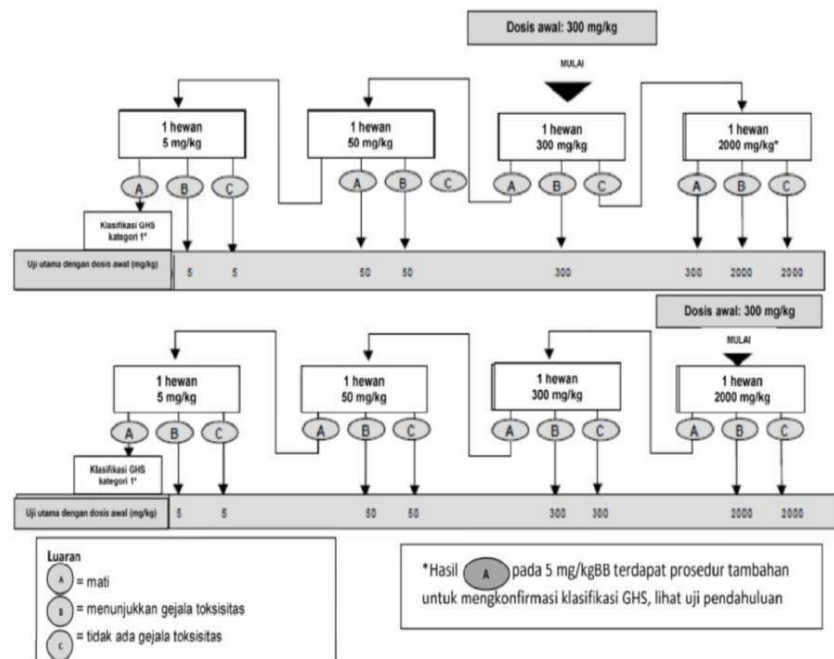
Dosis awala yang tepat untuk uji utama ditentukan oleh uji pendahuluan. Gambar 2 dan Gambar 3 merupakan uji pendahuluan yang dapat dipilih dari tingkatan *fixed dose* yaitu 5, 50, 300, 2000 mg/kgBB. Dosis tersebut diharapkan memiliki efek toksik. Pengamatan 24 jam dilakukan untuk setiap dosis, dan semua hewan harus diamati setidaknya selama 14 hari (BPOM, 2022).



Sumber : BPOM, 2022

Gambar 2. Uji Pendahuluan Dosis 5, dan 50 mg/kg BB

Penelitian harus dihentikan tanpa uji utama bila terjadi kematian pada dosis 5mg/kgBB yang termasuk kategori 1 GHS. Nilai batasan LD50 adalah 5 mg/kgBB, namun jika nilai LD50 perlu diverifikasi maka Langkah yang dapat diambil yaitu hewan uji kedua diberikan dosis 5mg/kgBB. GHS kategori 1 terkonfirmasi, dan eksperimen diakhiri jika hewan kedua ini mati. Tiga ekor hewan uji lainnya diberikan zat uji dengan dosis 5mg/kgBB jika hewan tersebut masih hidup. Untuk menentukan apakah seekor hewan akan bertahan hidup atau tidak, periode waktu antara masing-masing hewan uji harus cukup. Pemberian zat uji dihentikan pemberiannya kepada hewan keempat dan kelima apabila hewan uji ketiga meninggal dunia. (BPOM, 2022).

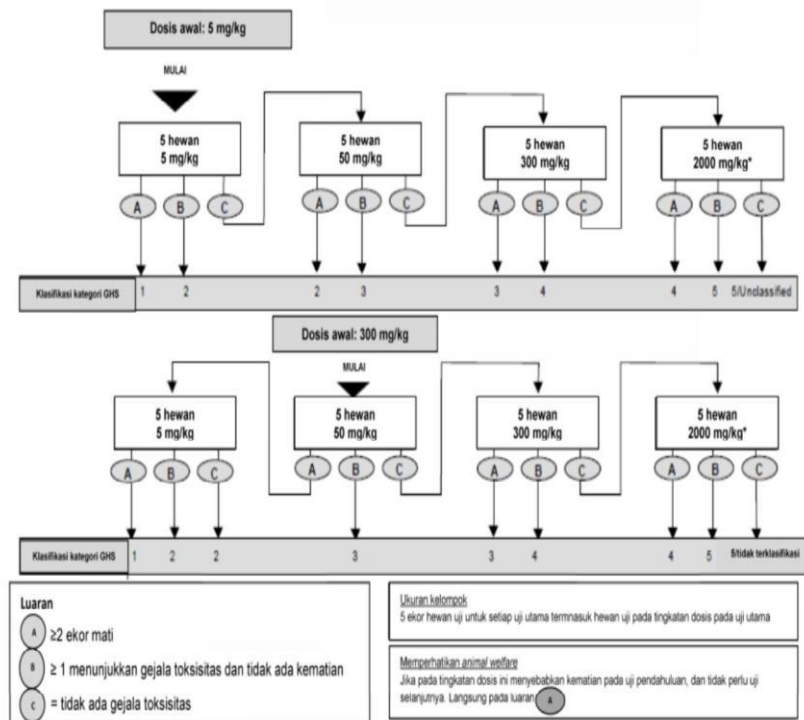


Sumber : BPOM, 2022

Gambar 3. Uji pendahuluan dosis 300 dan 2000 mg/kg BB

2.3.5 Uji Utama

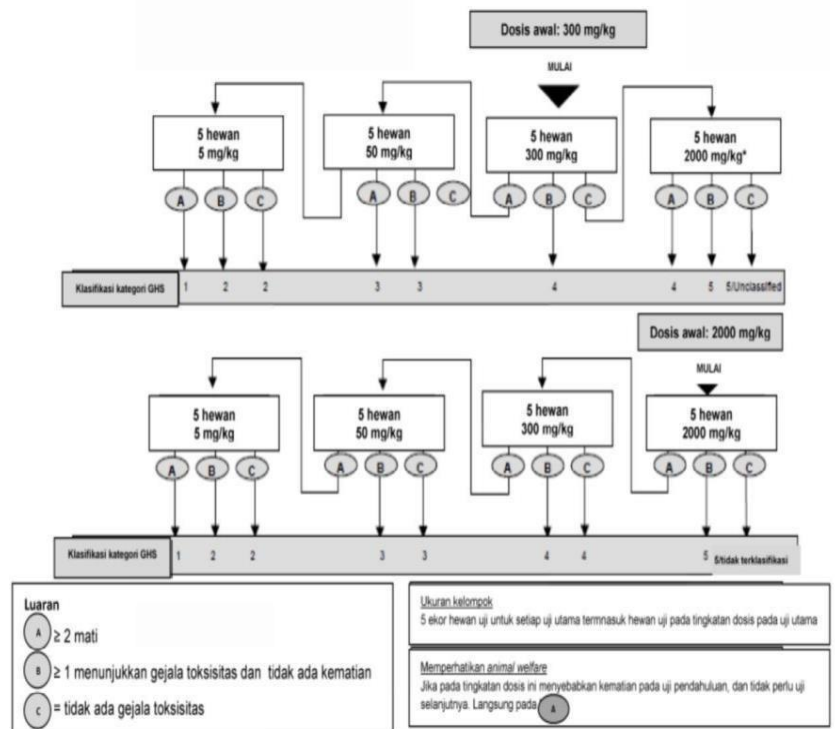
Tingkatan dosis dimana uji pendahuluan mengakibatkan kematian berfungsi sebagai dasar untuk uji utama (Gambar 4 dan Gambar 5). Waktu munculnya gejala toksik digunakan untuk menentukan dosis yang berda diantara setiap level, sampai ditentukan apakah hewan tersebut masih hidup atau mati, pengujian pada dosis selanjutnya dihentikan. Secara umum terdapat tiga pilihan yaitu menghentikan uji, melanjutkan dengan dosis yang lebih rendah atau melanjutkan dengan dosis yang lebih tinggi (BPOM, 2022).



Sumber : BPOM, 2022

Gambar 4. Uji utama dosis 5 dan 50 mg/kg BB

Setiap kelompok membutuhkan lima ekor hewan uji untuk uji utama: satu ekor hewan uji pendahuluan dan empat ekor hewan tambahan. Penundaan pemberian zat uji diperlukan sampai bukti kelangsungan hidup hewan uji diperoleh. Masa transisi diperlukan selama 3 sampai empat hari, namun dapat diperpanjang jika hasilnya tidak pasti (BPOM, 2022).



Sumber : BPOM, 2022

Gambar 5. Uji utama dosis 300 dan 2000 mg/kg BB

2.3.6 Uji Batasan

Pemberian dosis lebih besar dari 2000mg/kgBB tidak diperlukan jika pada uji pendahuluan tidak ada hewan yang mati, dan pada uji utama hanya satu atau tidak ada hewan uji yang mati pada dosis tersebut (BPOM, 2022).

2.3.7 Pengamatan

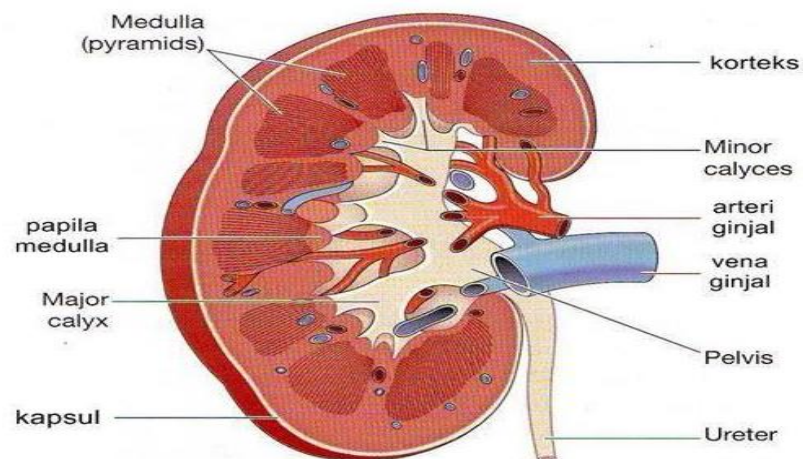
Setelah penerimaan sediaan uji, hewan diamati secara individual minimal 30 menit pertama, kemudian diamati setiap 4 jam selama 24 jam pertama dan sekali sehari selama 14 hari, namun tergantung pada reaksi toksik, serta waktu onset dan lama pemulihan, durasi pengamatan dapat bervariasi dan diperpanjang. Penting untuk menyimpan catatan terperinci tentang permulaan dan hilangnya gejala toksik setiap hewan, terutama jika tanda-tanda toksik lebih mungkin muncul lebih lama. Observasi tambahan perlu dilakukan jika hewan menunjukkan gejala

toksisitas secara terus-menerus. Pengamatan yang dilakukan termasuk pada: kulit, bulu, mata, membran mukosa dan juga sistem pernafasan, sistem syaraf otonom, sistem syaraf pusat, aktivitas somatomotor serta tingkah laku. Selain itu, perlu juga pengamatan pada kondisi: gemetar, kejang, hipersalivasi, diare, lemas, tidur dan koma. Hewan dalam kondisi sekarat dan hewan yang menunjukkan gejala nyeri yang berat atau tampak menderita harus dikorbankan. Hewan uji yang dikorbankan atau ditemukan mati, waktu kematiannya harus dicatat (BPOM, 2022).

2.4 Ginjal

2.4.1 Anatomi Ginjal

Ginjal merupakan sepasang organ yang terletak retroperitoneal pada dinding abdomen posterior setinggi T12-L3. Ginjal (Gambar 6) menyerupai kacang, bagian ginjal yang menghadap medial berbentuk cekungan disebut sebagai hilus renalis. Bagian dalam hilus renalis terdapat apeks pelvis renalis dan struktur lain seperti pembuluh darah, sistem limfatik, dan sistem saraf (Purnomo, 2016).



Sumber : Moore dan dalley, 2013

Gambar 6. Anatomi ginjal

Melalui penyaringan darah, ginjal bertugas menjaga kestabilan tubuh, seperti keseimbangan cairan, elektrolit, dan asam basa (Rivandi dan Yonata, 2015). Salah satu peranan penting organ ginjal yaitu penyerapan zat toksik dan berusaha untuk mengeliminasi zat-zat toksik yang masuk kedalam tubuh (Jannah dan Budijastuti, 2022).

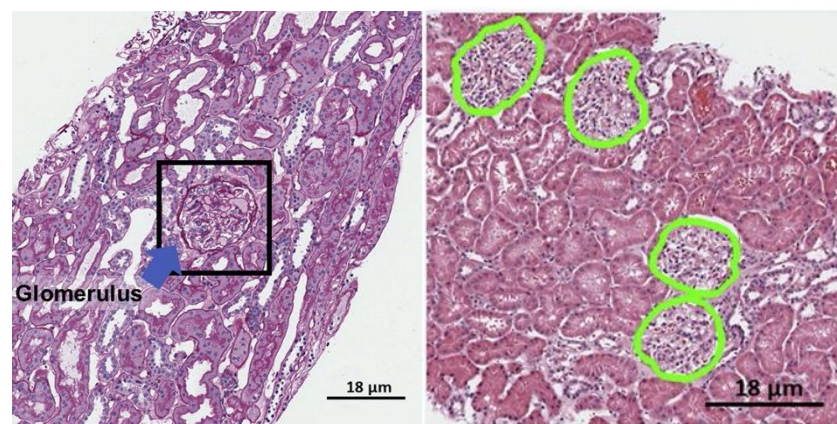
2.4.2 Fisiologi ginjal

Ginjal memiliki beragam fungsi, seperti :

1. Mempertahankan keseimbangan air (H_2O) dalam tubuh.
2. Mempertahankan osmolaritas cairan tubuh yang sesuai, terutama melalui regulasi keseimbangan H_2O .
3. Meregulasi jumlah dan konsentrasi Sebagian besar ion CES, termasuk natrium (Na^+), klorida (Cl^-), kalium (K^+), kalsium (Ca^{2+}), ion hidrogen (H^+), bikarbonat (HCO_3^-), fosfat (PO_4^{2-}), dan magnesium (Mg^{2+}).
4. Mempertahankan volum plasma yang tepat
5. Membantu mempertahankan keseimbangan asam-basa tubuh yang tepat
6. Ekskresi produk-produk akhir (limbah) metabolisme tubuh, misalnya urea (dari protein), asam urat (dari asam nukleat), kreatinin (dari kreatin otot), bilirubin (dari hemoglobin), dan metabolit hormone. Penumpukan limbah ini bersifat toksik
7. Ekskresi banyak senyawa asing seperti obat-obatan, aditif makanan, pestisida, dan bahan oksogen takbernutrisi lain yang masuk ke dalam tubuh
8. Menghasilkan renin (Sherwood, 2018)

2.4.3 Histologi Ginjal

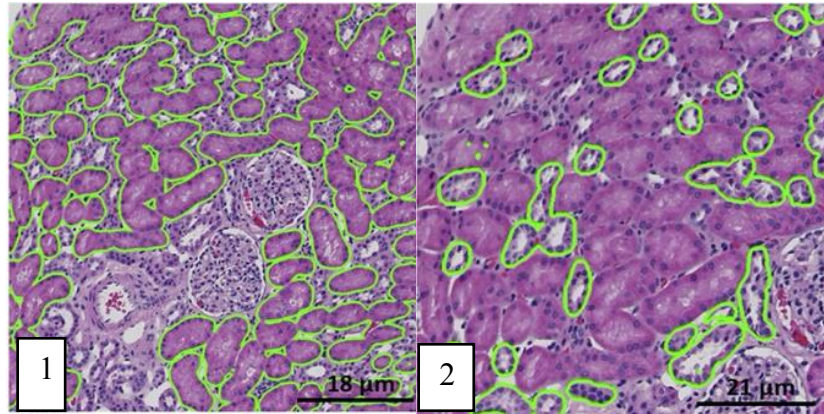
Ginjal memiliki bagian luar yang disebut korteks dan bagian dalam yang disebut medulla. Medulla terdiri dari 8-15 piramida ginjal yang dipisahkan oleh *columna renalis*. Ginjal kaya akan nefron, cabang utamanya yaitu korpus ginjal yang merupakan pelebaran awal korteks, tubulus proksimal yang berada di korteks, ansa henle yang menurun ke dalam medulla dan menanjak ke korteks, tubulus distal dan tubulus *collingens* (Mescher, 2016).



Sumber : Jayapandian *et al.*, 2021

Gambar 7. Glomerulus

Glomerulus (Gambar 7) merupakan massa kapiler yang dapat ditemukan disepanjang arteriol. Gambaran histologi dari tubulus proksimal dan distal (Gambar 8) terletak didalam korteks. Perbedaan dari tubulus proksimal dan distal adalah sel tubulus proksimal lebih besar, terdapat *brush border*, mengandung mitokondria yang banyak sehingga asidofil lebih banyak, sedangkan lumen tubulus distal lebih besar, pada potongan yang sama terlihat lebih banyak sel dan inti karna bentuk tubulus distal lebih pendek dan lebih kecil dibanding dengan tubulus proksimal. Tidak ada *brush border* dan asidofil lebih kurang dari tubulus proksimal (Mescher, 2016)



Sumber : Jayapandian *et al.*, 2021

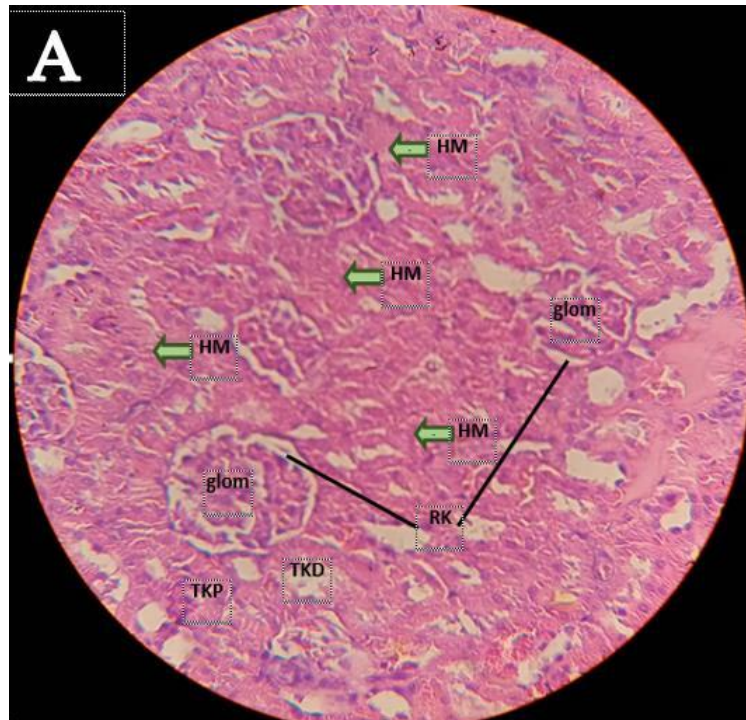
Gambar 8. 1. Tubulus Proksimal dan 2. Tubulus Distal

2.4.4 Kerusakan Pada Ginjal

Salah satu penyebab kerusakan pada ginjal adalah konsumsi obat-obatan yang digunakan secara berlebihan dan konsumsi pangan yang memiliki suatu kandungan zat kimia yang berlebihan dan dapat menyebabkan kerusakan pada ginjal. Konsumsi obat-obatan yang dapat menyebabkan kerusakan pada ginjal harus dilakukan secara hati-hati dengan dosis yang tepat dan dilakukan monitoring dan evaluasi terhadap fungsi ginjal. Obat-obatan golongan aminoglikosida seperti Streptomisin, Gentamisin, merupakan obat-obatan yang dapat mempengaruhi fungsi ginjal (Purnasari *et al.*, 2018).

2.4.5 Histopatologi Ginjal

Kerusakan akibat zat toksik pada ginjal dapat dilihat dari perubahan histologi ginjal yaitu terdapat nekrosis sel radang, sel mengalami degenerasi, destruksi epitel tubulus proksimal. Tubulus proksimal memiliki epitel yang tipis dan mudah pecah.



Sumber : Jannah dan Budijastuti, 2022

Keterangan :

TKD : Tubulus Dantortus Distal

HM : Hemoragi

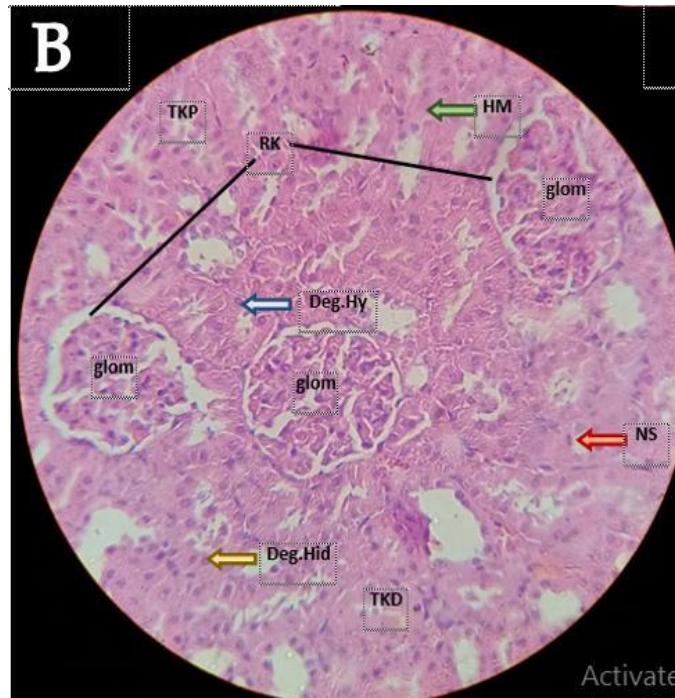
RK : Ruang Kapiler

Glom : Glomerulus

TKP : Tubulus Kontortus Proksimal

Gambar 9. Gambaran Histopatologi Ginjal A

Gambaran ginjal (Gambar 9) terdapat gambaran sel radang. Glomerulonephritis akut merupakan peradangan pada glomerulus yang diakibatkan oleh zat toksik dan kompleks antigen antibodi yang mengganggu kapiler glomerulus. Edema glomerulus merupakan tanda pertama pada toksik glomerulonephritis dan peradangan merupakan respon kerusakan sel yang disebabkan oleh pembuluh darah dan jaringan ikat, yang dapat membantu menyeimbangkan pertahanan dan memperbaiki masalah struktur dan fungsi jaringan yang disebabkan oleh bahaya.



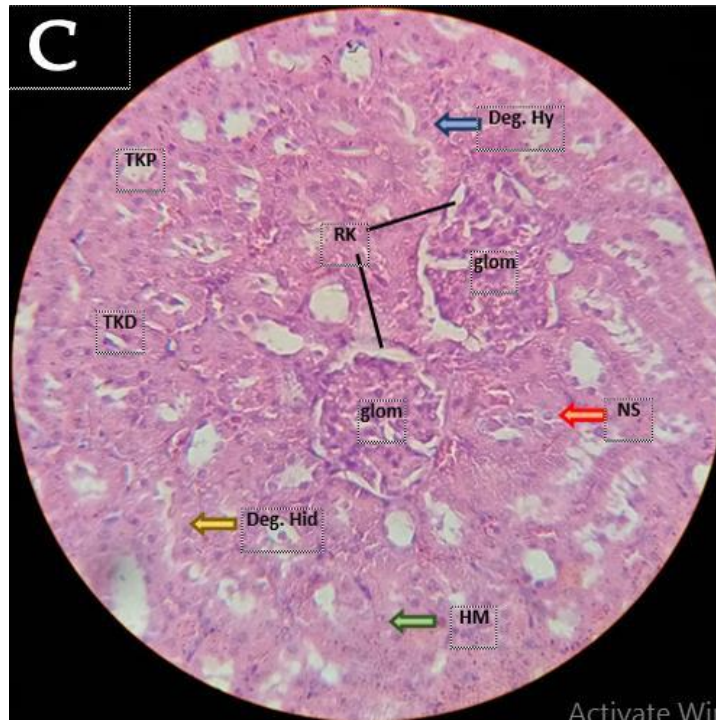
Sumber : Jannah dan Budijastuti, 2022

Keterangan :

- Deg. Hid : Degenerasi Hidrofilik
- HM : Hemoragi
- TKD : Tubulus Kontortus Distal
- Glom : Glomerulus
- RK : Ruang Kapiler
- TKP : Tubulus Kontortus Proximal
- Deg. Hy : Degenerasi Hyalin
- NS : Nekrosis Sel

Gambar 10. Gambar Histopatologi Ginjal B

Pada gambaran histopatologi ginjal (Gambar 10) yang menggambarkan terdapat hemoragik pada ginjal. Hemoragik digambarkan dengan keluarnya darah dalam vascular akibat adanya kerusakan dinding vaskular. Salah satu penyebab terjadinya hemoragik yaitu adanya paparan dari zat toksik (Armita *et al.*, 2021).



Sumber : Jannah dan Budijastuti, 2022

Keterangan :

HM	: Hemoragi
Glom	: Glomerulus
RK	: Ruang Kapiler
TKP	: Tubulus Kontortus Proximal
TKD	: Tubulus Kontortus Distal
Deg. Hy	: Degenerasi Hyalin
Deg. Hid	: Degenerasi Hidrofilik
NS	: Nekrosis Sel

Gambar 11. Gambar Histopatologi Ginjal C.

Kerusakan ginjal akibat zat toksik dapat dikenali dari perubahan struktur histologi seperti pada Gambar 11 ditemukan gambaran nekrosis (Jannah dan Budijastuti, 2022).

2.4.5.1 Skoring

Penilaian preparate ginjal menggunakan mikroskop cahaya dengan perbesaran 400x. Pengamatan jaringan ginjal menggunakan metode Mitchel, untuk menentukan tingkatan kerusakan tubulus ginjal, dibagi menjadi 4 tingkatan yaitu normal bila tidak ada kerusakan pada tubulus, (+) merupakan kerusakan ringan bila ditemukan kerusakan sel sebanyak 25% dalam 8 lapang pandang,

(++) yaitu kerusakan sedang yang ditemukan kerusakan sebesar 50% dan (+++) merupakan kerusakan berat bila ada ditemukan kerusakan 75%. Kerusakan pada tubulus ditandai dengan adanya nekrosis, sel radang, vakuolisasi tubulus (Gufron, 2001). Sistem klasifikasi skor Arshad digunakan untuk menilai sel yang rusak setelah menentukan presentasinya (Jannah dan Budijastuti, 2022) yaitu:

- 0 : tidak menunjukkan perubahan
- 1 : kerusakan ringan (perubahan kurang dari 30%)
- 2 : kerusakan sedang (perubahan kurang dari 50%)
- 3 : kerusakan berat (perubahan lebih dari 50%)

2.5 Tikus Putih (*Rattus norvegicus*) Galur *Sprague Dawley*

Tikus putih (*Rattus norvegicus*) terbagi menjadi beberapa Galur dengan kekhususan untuk digunakan sebagai penelitian. Hewan percobaan yang dapat digunakan seperti *Sprague dawley*, *Wistar*, *Long evans* dan *Holdzman* (Fitria dan Sarto, 2014).

2.5.1 Taksonomi

Kingdom	: <i>Animalia</i>
Filum	: <i>Chordata</i>
Subfilum	: <i>Craniata</i>
Kelas	: <i>Mamalia</i>
Subkelas	: <i>Theria</i>
Intrakelas	: <i>Eutharia</i>
Ordo	: <i>Rodentia</i>
Subordo	: <i>Myomorpha</i>
superfamili	: <i>Muroidea</i>
Famili	: <i>Muridae</i>
Subfamili	: <i>Murinae</i>
Genus	: <i>Rattus</i>

Spesies : *Rattus norvegicus* (Sharp dan Villano, 2013).

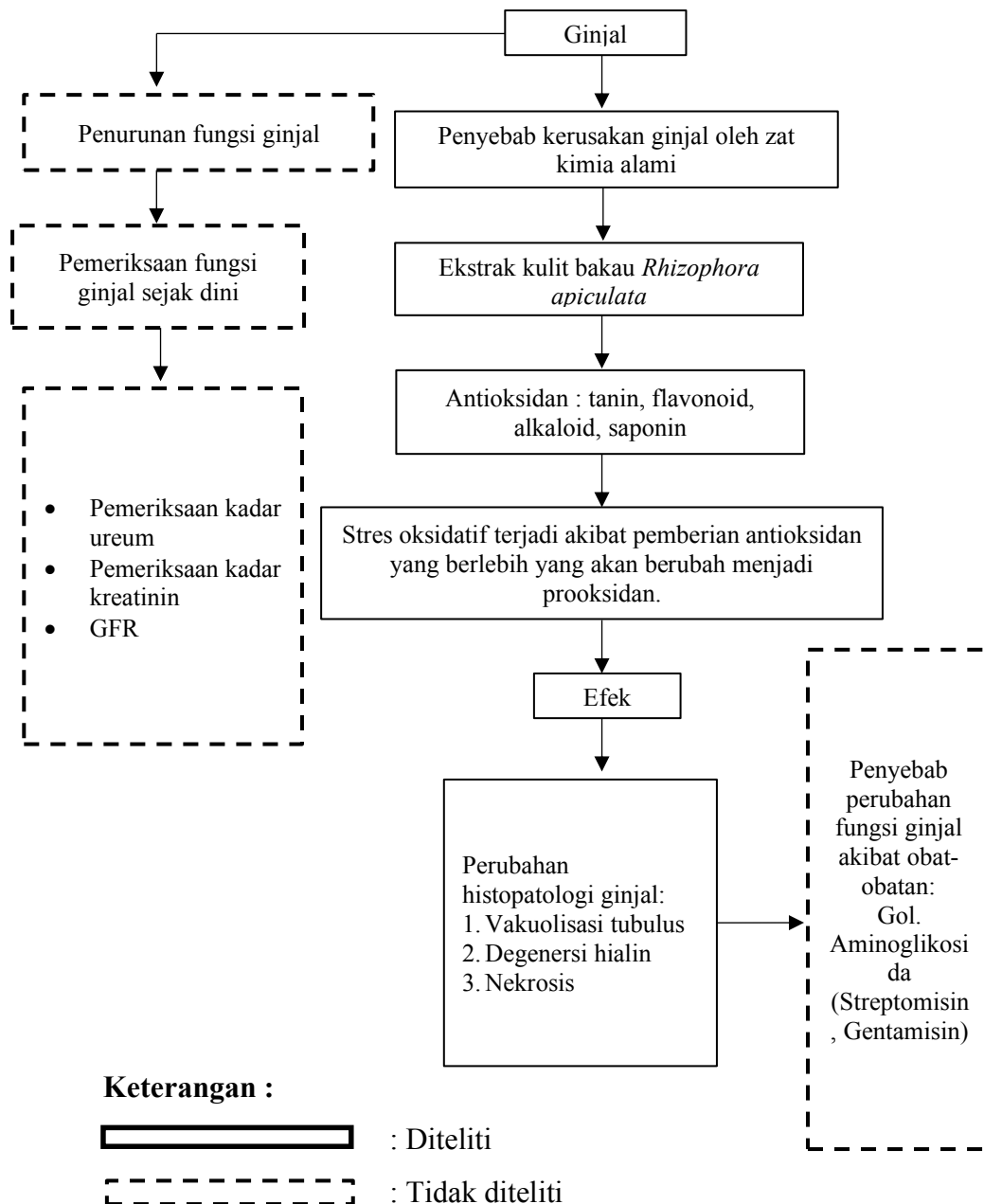


Sumber : Estina, 2016

Gambar 12. Tikus Putih (*Rattus norvegicus*) Galur *Sprague Dawley*.

2.6 Kerangka Teori

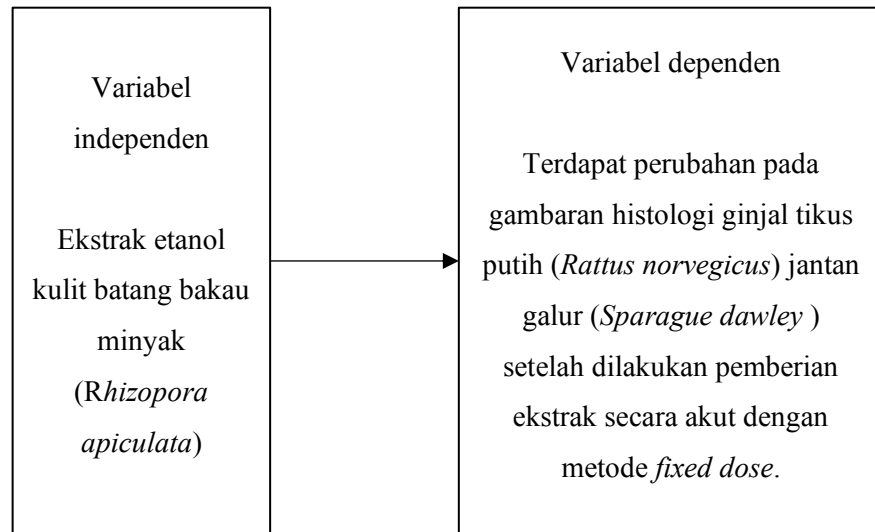
Kerangka teori (Gambar. 13) menjelaskan mengenai organ ginjal yang dapat mengalami kerusakan akibat zat kimia alami pada saat mengkonsumsi berlebihan (Armita *et al.*, 2021, Verdiansah, 2016, Jannah dan Budijastuti, 2022, Purnasari *et al.*, 2018).



Gambar 13. Kerangka Teori Uji Toksisitas Akut Oral Ekstrak Etanol Kulit Batang Bakau *Rhizophora apiculata* Terhadap Histopatologi Ginjal Tikus Putih.

2.7 Kerangka Konsep

Kerangka konsep pada penelitian ini tertera pada Gambar 14.



Gambar 14. Kerangka Konsep

2.8 Hipotesis

Ho : Ekstrak kulit batang bakau minyak (*Rhizophora apiculata*) tidak memberikan efek toksik akut pada tikus putih (*Rattus norvegicus*).

H1:

1. Tidak ada tanda-tanda toksisitas akut pada tikus putih (*Rattus norvegicus*).
2. Terdapat efek toksisitas ekstrak kulit batang bakau minyak (*Rhizophora apiculata*) terhadap gambaran histologi ginjal tikus putih galur (*Rattus norvegicus*)

III. METODE PENELITIAN

3.1 Jenis Penelitian

Penelitian eksperimental laboratorium merupakan metode yang akan digunakan. Desain kelompok kontrol *post test only* digunakan untuk desain penelitian. Informasi berupa data yang diambil pada akhir penelitian setelah hewan uji diberikan perlakuan dengan membandingkan hasil dari kelompok kontrol dengan kelompok perlakuan 1, 2, 3, 4.

3.2 Waktu dan Tempat Penelitian

3.2.1 Tempat Penelitian

Universitas Lampung, termasuk Fakultas Kedokteran dan Fakultas MIPA, menjadi lokasi penelitian. Laboratorium Kimia Organik Fakultas MIPA menjadi tempat pembuatan ekstrak bakau. *Animal house* Fakultas Kedokteran digunakan untuk memelihara tikus, dan gambar histopatologi ginjal dibaca dan disiapkan di laboratorium Histologi dan Patologi Anatomi Fakultas Kedokteran.

3.2.2 Waktu Penelitian

Penelitian dilakukan dari bulan Januari hingga Mei 2023

3.3 Populasi dan Sampel

3.3.1 Populasi

Tikus putih jantan (*Rattus norvegicus*) dari Galur *Sprague Dawley* dengan umur rata-rata delapan hingga sepuluh minggu dan berat badan 200 sampai 250 gram, digunakan sebagai populasi hewan uji. Hewan uji didapatkan dari IPB.

3.3.2 Sampel

30 ekor tikus *Sprague Dawley (Rattus norvegicus)* jantan digunakan sebagai sampel penelitian, yang dibagi menjadi lima kelompok (Tabel 1): Kelompok perlakuan 1,2,3,4, dan kelompok kontrol. Rumus Federer digunakan untuk mengetahui sampel ini.

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

Keterangan:

(n) : Besar sampel yang dibutuhkan

(t) : Banyak kelompok perlakuan

Berikut perhitungan berdasarkan rumus Federer :

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

$$(5-1)(n-1) \geq 15$$

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

$$4n-4 \geq 15$$

$$4n \geq 19$$

$$n \geq 4,97$$

$$\mathbf{n \geq 5 \text{ (dibulatkan)}}$$

Penggunaan rumus dibawah ini, diharapkan untuk pencegahan *drop out* sehingga jumlah hewan uji akan ditambah :

$$N = \frac{n}{1-f}$$

Keterangan:

N : Besar sampel setelah penambahan

n : Jumlah sampel awal

F : Perkiraan jumlah *drop out* sebesar 10%

Berikut adalah perhitungan yang dilakukan dengan menggunakan rumus referensi:

$$N = \frac{n}{1-f}$$

$$N = \frac{5}{1-10\%}$$

$$N = \frac{5}{1-0,1}$$

$$N = \frac{5}{0,9}$$

$$N = 5,55$$

$$N = 6 \text{ (dibulatkan)}$$

Penelitian ini menggunakan 30 ekor tikus putih (*Rattus norvegicus*) jantan Galur *Sprague Dawley* sebagai ukuran sampel akhir setelah dilakukan perhitungan menggunakan kedua rumus tersebut.

Tabel 1. Kelompok Perlakuan

NO	KELOMPOK	PERLAKUAN
1	Kelompok perlakuan 1 (P1)	5mg/kgBB ekstrak etanol kulit batang bakau minyak (<i>Rhizophora apiculata</i>) diberikan pada kelompok P1
2	Kelompok perlakuan 2 (P2)	50mg/kgBB ekstrak etano kulit batang bakau minyak (<i>Rhizophora apiculata</i>) diberikan pada kelompok P2
3	Kelompok perlakuan 3 (P3)	300mg/kgBB ekstrak kulit batang bakau minyak (<i>Rhizophora apiculata</i>) diberikan pada kelompok P3
4	Kelompok perlakuan 4 (P4)	2000mg/kgBB ekstrak kulit batang bakau minyak (<i>Rhizophora apiculata</i>) diberikan pada kelompok P4
5	Kelompok kontrol (KK)	Kelompok yang tidak diberikan perlakuan

3.4 Kriteria Penelitian

3.4.1 Kriteria Inklusi

Berikut ini adalah kriteria inklusi penelitian:

1. Tikus putih jantan (*Rattus norvegicus*) Galur *Sprague Dawley*
2. Sehat tidak tampak sakit maupun tidak memiliki kelainan anatomis
3. Usia delapan hingga sepuluh minggu
4. Berat badan 200 hingga 250 gram
5. Tempat pembiakan yang sama
6. Pemeliharaan waktu yang sama
7. Pemberian pakan yang sama

3.4.2 Eksklusi

Berikut ini adalah kriteria eksklusi untuk penelitian:

1. Hewan uji tampak sakit
2. Hewan uji mati saat pelaksanaan penelitian

3. Penurunan berat badan >10% setelah masa adaptasi (satu minggu)

3.5 Alat dan Bahan

3.5.1 Alat-Alat

3.5.1.1 Alat-Alat yang Dibutuhkan Selama Pembuatan Ekstrak

Alat- alat yang dibutuhkan selama pembuatan ekstrak yaitu:

1. Kertas saring
2. Mesin penggiling
3. Gelas ukur
4. Labu erlemeyer
5. Pipet ukur
6. *Rotatory evaporator*

3.5.1.2 Alat-Alat yang Dibutuhkan Selama Perlakuan

Selama penelitian, alat-alat yang dibutuhkan, yaitu:

1. *Handscoon*, masker
2. Kandang hewan uji
3. Tempat makan dan minum
4. Neraca elektronik
5. Sonde tikus
6. Spuit oral 1cc
7. Spuit oral 10cc
8. Alat bedah minor
9. Kamera digital
10. Gelas ukur dan pengaduk
11. Mikroskop cahaya

3.5.1.3 Alat-Alat yang dibutuhkan Selama Pembuatan Preparat Histopatologi

1. *Object glass*
2. *Cover glass*
3. *Rotary microtome*
4. *Tissue cassette*
5. *Platening table*
6. *Autotechnicome processor*
7. *Staining jar*
8. *Staining jack*
9. Kertas saring
10. *Histoplast*
11. *Waterbath*
12. *Paraffin dispenser*

3.5.2 Bahan

3.5.2.1 Bahan Dalam Pembuatan Ekstrak

1. Kulit batang bakau minyak (*Rhizophora apiculata*)
2. Etanol 80%

3.5.2.2 Bahan Selama Perlakuan

1. Tikus putih jantan (*Rattus norvegicus*) Galur *Sprague Dawley*
2. Air minum untuk hewan uji
3. Pakan hewan uji
4. Sekam

3.5.2.3 Bahan Dalam Pembuatan Preparat Histopatologi

1. Fiksasi : larutan formalin 10%
2. Alkohol 70% dan alkohol absolut
3. Xylol
4. Pewarnaan Hematoksilin dan Eosin (HE)

3.6 Identifikasi Variabel dan Definisi Operasional Variabel

3.6.1 Identifikasi Variabel

1. Variabel independen (bebas)

Ekstrak kulit batang bakau minyak (*Rhizophora apiculata*) merupakan variabel bebas penelitian.

2. Variabel dependen (terikat)

Gambaran histologi ginjal tikus putih jantan (*Rattus norvegicus*) Galur *Sprague Dawley*

3.6.2 Definisi Operasional Variabel

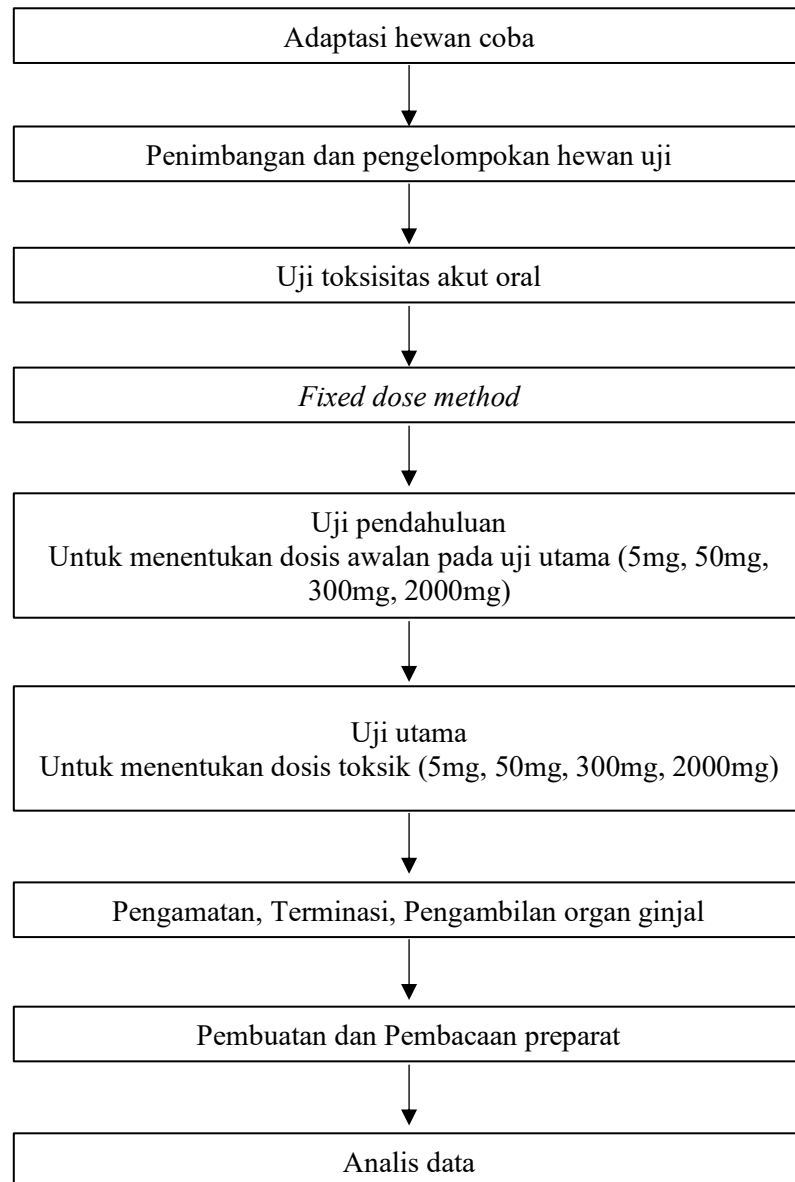
Table 2 merupakan definisi operasional dari penelitian ini.

Tabel 2. Definisi Operasional Variabel

Variabel	Definisi Operasional	Alat Ukur	Hasil Ukur	Skala Ukur
Ekstrak kulit batang bakau minyak (<i>Rhizophora apiculata</i>)	Ekstrak kulit batang bakau minyak dari proses ekstraksi dengan pelarut secara kimiawi dan mekanik	Sput, sonde dan gelas ukur	KK : Kelompok Kontrol KP1 : Dosis 5mg/kgBB KP2 : Dosis 50mg/kgBB KP3 : Dosis 300mg/kgBB KP4 : Dosis 2000mg/kgBB	Ordinal
Histopatologi ginjal tikus putih jantan (<i>Rattus norvegicus</i>) Galur <i>Sprague Dawley</i>	Gambaran histopatologi ginjal, dilihat dengan mikroskopik cahaya pada perbesaran 100x dan 400x	Mikroskop cahaya	Kerusakan Tubulus : 0 : Normal 1 : Ringan 2 : Sedang 3 : Berat	Ordinal

3.7 Prosedur dan Alur Penelitian

3.7.1 Alur Penelitian



Gambar 15. Alur Penelitian

Penelitian ini murni eksperimental dan dilakukan di Universitas Lampung. Tujuan penelitian ini adalah untuk mengetahui apakah pemberian ekstrak etanol kulit batang bakau minyak (*Rhizophora apiculata*) kepada tikus putih jantan (*Rattus norvegicus*) memiliki efek berbahaya pada histopatologi ginjal. Tikus putih (*Rattus norvegicus*) jantan Galur *Sprague Dawley* dibagi kedalam lima kelompok, masing-masing kelompok terdiri dari lima tikus dan satu tikus tambahan.

Sebelum mendapatkan perlakuan, hewan uji harus dipuaskan selama kurang lebih 14 sampai 18 jam. Hewan uji ditimbang dan diberikan sediaan uji. Setelah diberikan perlakuan, hewan uji dapat diberikan pangan setelah 3-4 jam. Masing-masing kelompok diambil 1 ekor tikus untuk dilakukan uji pendahuluan dan di observasi selama 24 jam dan lihat apakah ada tanda-tanda toksik berat maupun kematian. Uji utama dilakukan setelah uji pendahuluan, apabila uji pendahuluan tidak ditemukan tanda-tanda toksik berat atau kematian, maka dosis awal pada uji utama mulai dari dosis 5mg/kgBB. Hewan uji diamati selama 30 menit pertama setelah sediaan diberikan, setiap 4 jam selama 24 jam pertama, dan sekali sehari selama 14 hari setelahnya.

Setelah 14 hari perlakuan, setiap lima ekor tikus dari masing-masing kelompok akan diberikan *ketamin-xylazine* dengan dosis 75 hingga 100mg/kg : 510 mg/Kg (10:1) secara intraperitoneal sehingga hewan uji tidak sadar dan mengurangi rasa kecemasan maupun nyeri, selanjutnya dilakukan *cervical dislocation* yaitu meletakkan ibu jari dan telunjuk pada dasar tengkorak untuk memberikan tekanan ke-posterior tengkorak dan sumsum tulang belakang, sementara tangan lainnya menarik ekor dengan cepat mengakibatkan pemisahan servikal dari tengkorak dan sumsum tulang belakang dari otak.

Setelah tikus dipastikan mati, dilakukan pembedahan untuk mengambil organ ginjal yang nantinya akan dibuat menjadi preparat. Metode paraffin dan pewarnaan HE digunakan untuk menyiapkan preparate mikroskopis, selanjutnya dilakukan pembacaan preparate menggunakan mikroskop cahaya dengan perbesaran 400x.

3.7.2 Prosedur Pembuatan Preparat

Tata cara pembuatan preparat ginjal adalah sebagai berikut:

1. Fiksasi

Jaringan yang akan dibuat sediaan histopatologinya akan difiksasi didalam larutan *Buffer Neutral Formalin* (BNF) 10% selama minimal 48 jam hingga mengeras (matang). Sampel organ yang sudah terfiksasi dengan sempurna akan dilakukan *trimming* setebal $\pm 0,5$ cm. Potongan jaringan tersebut kemudian dimasukkan dalam *tissue cassette* untuk dimasukkan dalam *automatic tissue processor*

2. Dehidrasi

Proses dehidrasi dimasukkan untuk menarik air dari jaringan dan mencegah terjadinya pengerutan sampel yang diuji. Dehidrasi dilakukan dengan cara merendam sampel dalam larutan alkohol dengan konsentrasi bertingkat (75%, 95% dan alkohol absolut). Proses perendaman pada masing- masing konsentrasi alkohol dilakukan selama 2 jam. Mesin otomatis yaitu *automatic tissue processor*, digunakan untuk melakukan proses dehidrasi.

3. *Clearing Process*

Penggunaan xylol I dan xylol II pada dua tahap penjernihan. Xylol digunakan untuk melarutkan parafin dan alkohol

4. Infiltrasi

pengisian pori-pori jaringan dikenal dengan infiltrasi atau impregnasi. Tujuan mengisi pori-pori jaringan yaitu untuk

mengeraskan jaringan sehingga pisau mikrotom dapat dengan mudah memotongnya. Parafin yang digunakan adalah parafin histoplast.

5. *Embedding* dan *Blocking Embedding*

Embedding atau *Blocking* merupakan proses penanaman jaringan dalam blok. Prosesnya dilakukan menggunakan alat *tissue embedding console*.

6. *Sectioning*

Proses pemotongan jaringan menggunakan mikrotom dengan ketebalan empat hingga lima μm . Pemotongan dilakukan menggunakan alat *rotary microtome spencer*. Sediaan diletakan pada gelas objek dan disimpan selama 24 jam pada suhu 37°C .

3.7.3 Pewarnaan Hematoksilin Eosin (HE)

Sebelum dilakukan pewarnaan, menggunakan larutan xylol I dan II selama dua menit untuk proses penjernihan, selanjutnya dilakukan proses dehidrasi, dengan cara mencelupkan sediaan kedalam alkohol secara bertingkat. Perendaman alkohol 95% dan 80% dilakukan selama satu menit, selanjutnya sediaan dicuci menggunakan air mengalir, selanjutnya sediaan dapat diwarnai menggunakan pewarna Mayer's Hematoxyllin.

1. Selama delapan menit, preparate direndam dalam larutan Mayer's Hematoxyllin
2. Setelah direndam selama delapan menit, cuci preparate menggunakan air mengalir
3. Selama 15 hingga 30 detik celupkan kedalam larutan lithium karbonat
4. Cuci preparate selama dua menit
5. Selama dua hingga tiga menit, preparate direndam dalam larutan eosin
6. Cuci dengan air

7. Preparate dicelupkan kedalam larutan alkohol 95% dan alkohol absolut sebanyak 10 kali, ansolut II selama dua menit, xylol I selama satu menit dan xylol II selama dua menit.
8. *Mounting*, setelah proses pewarnaan, preparate ditetesi oleh perekat *permount* dan ditutup dengan cover glass.

3.8 Rencana Pengolahan dan Analisis Data

3.8.1 Pengolahan Data

Data hasil penelitian akan disusun menjadi table-tabel, kemudian data dimasukkan menggunakan perangkat lunak pengolahan data. Proses ini melibatkan beberapa langkah, antara lain:

1. *Editting*

Pemeriksaan kelengkapan data, kebenaran pengisian, keseragaman ukuran, keterbacaan tulisan dan konsistensi data.

2. *Coding*

Pemberian kode berupa angka kepada setiap respon dari setiap pertanyaan.

3. *Entry*

Memasukan data yang telah dikodingkan kedalam program komputer.

4. *Cleaning*

Proses pembersihan data sebelum diolah secara statistic yang mencakup pemeriksaan konsistensi dan perlakuan respon yang hilang.

3.8.2 Analisis Data

Program perangkat lunak pengolahan data statistic akan digunakan untuk analisis statistic untuk memproses data yang diperoleh dan menentukan apakah data yang diperoleh terdistribusi normal atau tidak. Uji *Shapiro-Wilk* dan *Kolmogrof-Smirnov* adalah dua opsi untuk pengujian. Uji *Shapiro-Wilk*

digunakan bila sampel berjumlah <50 , sedangkan *Kolmogorof-Smirnov* digunakan pada sampel berjumlah >50 .

Uji parametrik *One Way Anova* dilakukan bila data yang diperoleh seragam dan normal. Uji *Kruskal-Wallis* non parametrik dapat digunakan dalam pengujian jika data yang diperoleh tidak normal atau homogen. Jika nilai $p < 0,05$ maka hipotesis *valid*. Uji *Post Hoc Mann-Whitney* digunakan setelah uji parametrik *Kruskal-Wallis* untuk menentukan perbedaan antara kelompok perlakuan.

3.9 Etik Penelitian

Penelitian ini telah disetujui oleh komisi Etik Penelitian Kesehatan Fakultas Kedokteran Universitas Lampung dengan nomor surat 1346/UN26.18/ PP.05.02.00/2023.

V. KESIMPULAN DAN SARAN

5.1 Kesimpulan

1. Pemberian ekstrak etanol kulit batang bakau minyak (*Rhizophora apiculata*) secara akut dengan dosis 5, 50, 300 2000mg/kgBB tidak mengakibatkan adanya gejala toksik akut secara klinis pada tikus putih (*Rattus norvegicus*) seperti gemetar, tingkah laku yang berbeda, jalan mundur, kejang, koma, termor, hipersaliva, menyakiti diri sendiri dan mati, sehingga aman secara klinis.
2. Pemberian ekstrak etanol kulit batang bakau minyak (*Rhizophora apiculata*) dengan dosis akut 300 mg/kgBB menyebabkan peradangan, dan pada organ ginjal dengan dosis akut 2000 mg/kgBB mengakibatkan perubahan gambaran mikroskopis ginjal yang signifikan berupa tiroidisasi tubulus, dan sel radang.

5.2 Saran

1. Perlu dilakukan penelitian lebih lanjut dengan beragam organ seperti jantung, testis, paru-paru.
2. Perlu dilakukan uji toksisitas mengenai *Rhizophora apiculata* menggunakan beragam jenis uji toksisitas seperti uji toksisitas kronis oral.
3. Pada penelitian lebih lanjut dapat dilakukan pemeriksaan fungsi ginjal seperti pemeriksaan ureum, kreatinin, sebagai indikator fungsi ginjal.
4. Bagi mahasiswa kedokteran maupun Kesehatan, terutama untuk mahasiswa kedokteran Universitas Lampung, diharapkan untuk melanjutkan penelitian yang terfokus pada tanaman bakau.

DAFTAR PUSTAKA

- Abrori, C. Nurfadhila, K. Sakinah, EN. 2019. Uji toksisitas akut ekstrak etanol daun kemangi (*Ocimumsanctum*) diukur dari LD50 dan histopatologi ginjal. *Journal of Agromedicine and Medical Sciences*. Vol. 5(1):13-19.
- Armita, IP. Miftahurrahmah. Justitia, B. 2021. Gambaran histopatologi ginjal pada tikus putih jantan galur wistar setelah pemberian madu intraperitoneal post laparotomi. *Jurnal of Medical Studies*. Vol. 1(2): 68-75.
- Berawi, KN. Marini, D. 2018. Epektifitas kulit batang bakau minyak (*Rhizophora apiculata*) sebagai antioksidan. *Jurnal Kesehatan dan Agromedicine*. Vol.5(1): 412-417.
- Berniyanti, T. 2018. Biomarker Toksisitas Paparan Logam Tingkat Molekuler. Surabaya: Airlangga University Press.
- BPOM. 2022. Peraturan Kepala Badan Pengawasan Obat dan Makanan Republik Indonesia nomor 10 tahun 2022 tentang pedoman uji toksisitas praklinik secara in vivo. Jakarta: BPOM
- Cendekia, D . 2015. *Isolasi dan indentifikasi senyawa antiinflamasi dari kayu batang tumbuhan Rhizophora apiculata*. Skripsi. Universitas Lampung. Lampung
- Estina. 2016. Jenis dan ciri-ciri tikus laboratorium disertai gambar. Tersedia dari: <https://dokterternak.wordpress.com/2010/11/05/jenis-dan-ciri-ciri-tikus-labolatorium-disertai-gamba/>.

- Faoziyah, AR. Kurniawan, W. 2017. Pemanfaatan ekstrak daun mangrove (*Rhizophora apiculata sp.*) dengan variasi pelarut sebagai bahan aktif sediaan farmasi terapi anti kanker. *Jurnal of Health*. Vol.4(2):68-74.
- Fitria, L. Sarto, M. 2014. Profil hematologi tikus (*Rattus norvegicus* Berkenhout 1769) galur wistar jantan dan betina umur 4, 6 dan 8 minggu. *Biogenesis*. Vol.2(2):94-100.
- Firdaus, M, Prihanto, AA. Nurdiani, R. 2013. Tanaman Bakau dan Bioaktivitas. Malang: Universitas Brawijaya Press (UB Press)
- Gufron, M. 2001. Gambaran struktur histologi hepar dan ren (ginjal) tikus setelah pemberian perlakuan infus akar rimpang jahe (*Zingerber officinale*) dengan dosis bertingkat. *Jurnal Kedokteran Yarsi*. 2(1): 21-141.
- Hadi, AM. Irawati, MH. Suhadi. 2016. Karakteristik morfo-anatomi struktur vegetatis spesies *Rhizopora spiculata* (Rhizoporaciae). *Jurnal Pendidikan*. 1(9):1688–1692.
- Hardiningtyas, SD. Purwaningsih, S. Handharyani, E. 2014. Aktivitas Antioksidan dan efek Hepatoprotektif Dau Bakau Api-Api Putih. *Jurnal Pengolahan Hasil Perikanan Indonesia*. 17(1):80-91.
- Haryoto, H. Frista, A. 2019. Aktivitas Antioksidan Ekstrak Etanol, Fraksi Polar, Semipolar dan Non Polar dari Daun *Mangrove* Kacangan (*Rhizophora apiculata*) dengan Metode DPPH dan FRAP. *Jurnal Sains dan Kesehatan*. 2 (2): 131-138.
- Hall, JE. 2016. Guyton and Hall Textbook of Medical Physiology. 13th ed. Philadelphia (PA): Elsevier, Inc.

- Hutomo, NA. 2022. *Gambaran histopatologi ginjal mencit (Mus musculus) pada uji toksisitas akut ekstrak daun kembang bulan (Tithonia diversifolia)*. Skripsi. Universitas Wijaya Kusuma. Surabaya
- Jampil, TH. Syawal, H. Riauwaty, M. 2017. Sensitivitas ekstrak kulit batang mangrove *Rhizophora sp.* terhadap bakteri *Aeromonas salmonicida*. Riau: Faculty of Fisheries and Marine.
- Jannah, DR. Budijastuti, W. 2022. Gambaran histopatologi ginjal tikus jantan (*Rattus norvegicus*) yang diberi sirup umbi yakon (*Smallanthus sonchifolius*). *Lenterabio*. Vol.11(2): 238-246
- Jayapandian, CP. Chen, Y. Janowczyk, AR. Palmer, MB. Cassol, CA. Sekulic, M. *et al.* 2021. Development and evaluation of deep learning-based segmentation of histologic structures in the kidney cortex with multiple histologic stains. *Kidney International*. 99:86-101
- Kumar, V. Abbas, AK. Aster, JC. 2015. Jejas sel, kematian sel, dan adaptasi. *Buku Ajar Patologi Robbins*. Edisi 9. Singapura: Elsevier.
- Laith, AA. 2021. Phytochemical analysis and antimicrobial activities of mangrove plant (*Rhizophora apiculata*) against selected fish pathogenic bacteria. *Earth and Environmental Science*. 718 (012076) : 1-10.
- Makiyah, A. Tresnayanti, S. 2017. Uji toksisitas akut yang diukur dengan penentuan LD50 ekstrak etanol umbi iles-iles (*Amorphophallus variabilis BI.*) pada tikus putih strain wistar. *Bandung Medical Jurnal*. Vol.49 (3):145-155.
- Marini, D. 2018. *Pengaruh pemberian ekstrak etanol 95% kulit batang bakau minyak (Rhizophora apiculata) terhadap mortalitas, morfologi, dan jumlah*

spermatozoa pada tikus putih jantan (Rattus norvegicus) galur Sprague dawley yang terpapar asap rokok. Skripsi. Universitas Lampung. Lampung

Mescher, AL. 2016. Histologi Dasar Junqueira. Edisi 14. Jakarta: EGC.

Mohan, VR. Tresina, PS. Doss, A. 2021. The Phytochemical and Pharmacological Aspects of Ethnomedicinal Plants. 1st edition. CRC Press: Amazon.

Moore, KL. Dalley, AF. 2013. Anatomi Berorientasi Klinis. Jilid I. Jakarta: Penerbit Erlangga.

Mustofa, S. Alfa, N. Wulan, AJ. Rakhmanisa, S. 2019. Pengaruh ekstrak kulit batang bakau minyak (*Rhizophora apiculata*) etanol 95% terhadap arteri koronaria tikus putih (*Rattus norvegicus*) jantan galur *Sprague dawley* yang dipaparkan asap rokok. *Jurnal Kedokteran Universitas Lampung*. Vol. 3(1):28-33.

Mustofa, S. Bahagia, W. Kurniawaty, E. Rahmanisa, S. Audah, KA. 2018. *The effect of mangrove (Rhizophora apiculata) bark extract ethanol on histopathology pancreas of male white rats Sprague Dawley strain exposed to cigarette smoke*. *Acta Biochimica Indonesiana*. 1(1): 7-13.

Mustofa, S. Ciptaningrum, I. Zuya, CS. 2020. Subacute toxicity test of *Rhizophora apiculata* bark extract on liver and pancreas histopathology of rats. *Acta Biochimica Indonesiana*. Vol.3(2):89-97.

Mustofa, S. Hanif, F. 2019. *The protective effect of Rhizophora apiculata bark extract against testicular damage induced by cigarette smoke in male rats*. *Acta Biochimica Indonesiana*. Vol 2(1): 23-31.

Mutia V. 2018. *Pengaruh pemberian ekstrak etanol 95% kulit batang bakau minyak (Rhizophora apiculata) terhadap histopatologi paru pada tikus putih jantan*

(Rattus norvegicus) galur Sparague dawley yang terpapar asap rokok.
Skripsi. Universitas Lampung. Lampung

Pimenta, AS. Fasciotti, M. Monteiro, TVC. Lima, KMG. 2018. Chemical Composition of Pyroligneous Acid Obtained from Eucalyptus GG100 Clone. *Molecules*. 23 (426): 1-12.

Pizzorno, J. 2015. The Kidney Dysfunction Epidemic, Part 1: Causes. *Integrative Medicine (Encinitas, Calif.)*.PubMed. 14(6):8-13.

Purnasari, C. Manggau, MA. Kasim, H. 2018. Studi pengaruh dosis dan lama penggunaan terapi aminoglikosida terhadap fungsi ginjal. *Makalah Farmasi dan Farmakologi*. Vol.22(3):76-80.

Purnomo, BB. 2016. Dasar-dasar Urologi. Edisi 3. Malang. hlm. 6

Rahayu, S. 2019. *Daya hambat senyawa bioaktif pada mangrove Rhizophora apiculata sebagai antibakteri dari Perairan Tanjung Api-api, Sumatra Selatan*. Skripsi. Universitas Sriwijaya. Palembang.

Rahmania, N. Herpandi, Rozirwan. 2018. Phytochemical test of *Mangrove Avicennia alba, Rhizophora apiculata* and *Sonneratia alba* from Musi river estuary, South Sumatera. *Biological Research Journal*. 4 (2) : 1-6.

Ratnasari. Fahrizal. Dirhamsyah, M. 2017. Pemanfaatan vegetasi mangrove di Pulau Padang Tikar Kecamatan Batu Ampar Kabupaten Kubu Raya. *Jurnal Tengawang*. Vol. 7(2):110-115.

Rivandi, J. Yonata, A. 2015. Hubungan diabetes melitus dengan kejadian gagal ginjal kronik. *Jurnal Majority*. Vol. 4(9): 27-34.

- Rupidara, AND. Tisera, WL. Ledo, MES. 2020. Studi etnobotani tumbuhan mangrove di Kupang. *Jurnal Ilmu dan Teknologi Kelautan Tropis*. Vol.12(3): 875-884.
- Santoso, VP. Posangi, J. Awaloei, H. Bara, R. 2015. Uji efek antibakteri daun mangrove *Rhizophora apiculata* terhadap bakteri *Pseudomonas aeruginosa* dan *Staphylococcus aureus*. Manado: Universitas Sam Ratulangi.
- Sharp, P. Villano, J. 2013. *The Laboratory Rat*. 2nd Edition. Boca Raton: CRC Press
- Sherwood, L. 2018. *Fisiologi manusia : dari sel ke sistem*. Edisi 9. Jakarta: EGC. Hlm. 580-587
- Syahdrajat, T. 2019. *Panduan penelitian untuk skripsi kedokteran dan kesehatan*. Edisi 8. Jakarta: Rizky Offset. hlm. 87-91.
- Tan, R. 2007. Bakau (*Rhizophora sp*). Diakses pada tanggal 31mei 2023. <https://www.flickr.com/photos/wildsingapore/3043163309/in/album-72157622749843394/>.
- Verdiansah. 2016. Pemeriksaan fungsi ginjal. *Cermin Dunia Kedokteran*. Vol.43(2):148-154.