

BAB I PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

Populasi kucing di Indonesia saat ini diperkirakan mencapai sekitar 2,8 juta ekor, dengan lebih dari 754.400 ekor berada di Jakarta saja (Dinas KPKP Prov Jakarta, 2024). Hal ini menunjukkan adanya tantangan besar dalam pengelolaan populasi kucing, khususnya kucing liar yang sering menimbulkan masalah di perkotaan. Sebanyak 47% penduduk Indonesia menjadi pemelihara kucing. Namun kepedulian masyarakat terhadap pentingnya kesehatan kucing masih rendah. Hal ini menyebabkan tingkat penelantaran hewan semakin tinggi (Hidayat & Supriyono, 2024). Kucing liar dapat menyebabkan berbagai permasalahan, seperti penyebaran penyakit, gangguan terhadap keseimbangan ekosistem, dan masalah sosial di masyarakat.

Fenomena populasi pada kucing saat ini menjadi masalah besar di kalangan masyarakat karena menurut Rahmiati et al., (2020), Kucing liar memiliki kemampuan untuk menjelajahi wilayah tertentu dengan 5,1 Ha dengan perjalanan sepanjang 70 meter untuk kucing jantan dan 30 meter untuk kucing betina. Dimana hal tersebut memiliki korelasi dengan masalah kepadatan populasi. Hal tersebut memungkinkan terjadinya kebuntingan pada kucing betina dimana argumen ini sejalan dengan teori Rahmiati et al., (2020) bahwa kucing merupakan hewan tipe Multipara yakni hewan dengan kemampuan partus dengan beberapa fetus. Sehingga dalam satu periode kebuntingan dapat melahirkan 1-6 ekor anak kucing. Berdasarkan data OIE tahun 2018, jumlah populasi kucing di Jawa Barat mencapai angka 8341 ekor (OIE 2018). Kekhawatiran masyarakat terkait kepadatan populasi kucing liar merupakan isu global yang dikaitkan dengan kesehatan masyarakat (Flockhart & Coe, 2018). Sterilisasi merupakan langkah awal untuk mencegah overpopulasi. Namun, masyarakat cenderung memperburuk masalah dengan melakukan kegiatan street feeding tanpa tindakan yang tepat (Pradiptha Nugroho et al., 2022). Pengendalian populasi hewan umumnya dilakukan dengan melakukan tindakan operasi pengangkatan organ reproduksi. Namun hal ini kurang efektif dikarenakan biaya untuk melakukan operasi ini cenderung mahal. Penggunaan Kontrasepsi dapat menjadi upaya untuk mencegah terjadinya fertilisasi (Setiawan et al., 2022). Penggunaan Kontrasepsi Herbal menjadi alternatif untuk menekan terjadinya overpopulasi.

Acalypha indica L., yang biasa disebut "suku kucing" atau "daun kucing", merupakan tanaman herbal yang sudah lama dimanfaatkan dalam pengobatan tradisional di berbagai wilayah, seperti Asia dan Afrika. Tanaman ini dikenal memiliki berbagai manfaat, seperti antiinflamasi, pereda nyeri, dan antimikroba (Zahidin et al., 2017). Selain itu, potensinya sebagai agen antifertilitas juga semakin mendapat perhatian dalam penelitian terkini. Penelitian menunjukkan bahwa ekstrak *Acalypha indica* L. memiliki efek terhadap sistem reproduksi hewan. Studi pada tikus menunjukkan bahwa pemberian ekstrak *Acalypha indica* dapat memengaruhi parameter reproduksi dan menurunkan peluang terjadinya kehamilan melalui pengaruhnya terhadap hormon reproduksi (Zahidin et al., 2017).

Salah satu pendekatan yang diusulkan untuk mengendalikan populasi kucing liar adalah dengan memanfaatkan *Acalypha indica* L. sebagai agen antifertilitas. Tanaman ini mengandung senyawa bioaktif, seperti flavonoid dan alkaloid, yang diketahui dapat

memengaruhi sistem reproduksi hewan dengan cara menghambat ovulasi dan fertilisasi. Senyawa bioaktif dalam *Acalypha indica* seperti alkaloid, flavonoid, dan saponin memiliki potensi efek terhadap fungsi ginjal. Alkaloid dapat memengaruhi sistem renin-angiotensin yang berhubungan dengan pengaturan tekanan darah dan beban kerja ginjal (Pradoo et al., 2020). Flavonoid dalam dosis tinggi dapat menyebabkan ketidakseimbangan elektrolit, sementara saponin dapat memengaruhi permeabilitas membran sel yang berpotensi merusak sel-sel ginjal (Olukunle et al., 2015).

Walaupun *Acalypha indica* memiliki potensi sebagai agen antifertilitas, dampak jangka panjangnya terhadap kesehatan ginjal perlu menjadi perhatian. Penelitian Pradoo et al., (2020). mengungkapkan bahwa ekstrak *Acalypha indica* dapat menimbulkan efek toksik terhadap organ tertentu, termasuk ginjal, terutama pada penggunaan dosis tinggi atau jangka panjang. Oleh karena itu, diperlukan penelitian lebih mendalam untuk memastikan keamanan penggunaannya, baik dalam konteks reproduksi maupun fungsi ginjal. Dengan demikian, penelitian ini dilakukan sebagai langkah awal yang berfokus mengevaluasi pengaruh pemberian *Acalypha indica* L. sebagai agen anti fertilitas terhadap fungsi ginjal.

1.1.1 Rumusan Masalah

Berdasarkan latar belakang yang telah dipaparkan, maka dapat diambil rumusan masalah sebagai berikut:

1. Apakah terdapat pengaruh pemberian ekstrak *Acalypha Indica* terhadap gambaran anatomis ginjal tikus wistar betina (*rattus novergicus*)?
2. Apakah terdapat pengaruh pemberian ekstrak *Acalypha Indica* terhadap gambaran Histologis ginjal tikus wistar betina (*rattus novergicus*)?

1.1.2 Tujuan Penelitian

Berdasarkan rumusan masalah yang telah dipaparkan maka dapat tujuan penelitian pada penelitian ini sebagai berikut:

1. Untuk mengetahui pengaruh pemberian ekstrak *Acalypha Indica* terhadap gambaran anatomis ginjal tikus wistar betina (*rattus novergicus*)
2. Untuk pengaruh pemberian ekstrak *Acalypha Indica* terhadap gambaran Histologis ginjal tikus wistar betina (*rattus novergicus*)

1.1.3 Manfaat Penelitian

1. Manfaat bagi Khalayak Umum
Penelitian ini diharapkan dapat menjadi sumber informasi ilmiah serta menambah wawasan dan pengetahuan peneliti dan masyarakat luas dalam memahami efek ekstrak *Acalypha Indica* terhadap fungsi ginjal tikus
2. Manfaat Akademis
Penelitian ini dapat melatih kemampuan peneliti dalam melakukan penelitian eksperimental dan menjadi acuan bagi penelitian-penelitian selanjutnya

1.1.4 Hipotesis

Berdasarkan uraian di atas, dapat diambil hipotesis dari penelitian ini adalah pemberian ekstrak *Acalypha Indica* sebagai antifertilitas berpengaruh terhadap kinerja organ ginjal tikus putih, yang ditunjukkan oleh perubahan pada gambaran Makroskopis dan Mikroskopis ginjal.

1.1.5 Keaslian Penelitian

Sejauh penelusuran pustaka penulis, Publikasi mengenai “Pengaruh pemberian anti fertilitas ekstrak *Acalypha Indica* terhadap gambaran mikroskopis dan makroskopis ginjal tikus wistar (*rattus novergicus*)” Belum pernah dilakukan sebelumnya. Penelitian yang telah terpublikasi berkaitan dengan penelitian ini adalah penelitian oleh Ambrawati *et al.*, (2022), dengan judul “Pengaruh Pemberian Kombinasi Ekstrak *Acalypha indica* L.inn dan *Peperomia pellucida* [L.] H.B.K. terhadap Fungsi Ginjal Tikus Putih”

1.2 Kajian Pustaka

1.2.1 *Acalypha indica* L..

Acalypha indica L.. adalah tanaman herbal yang ditemukan di berbagai wilayah di India, Bangladesh, Sri Lanka, Filipina, dan Afrika Tropis yang memiliki berbagai kegunaan dalam pengobatan tradisional di berbagai negara (Zahidin *et al.*, 2017; Rahman *et al.*, 2010). Tanaman *Acalypha indica* termasuk dalam divisi Spermatophyta, kelas dikotil, dan famili Euphorbiaceae. Tanaman herba tahunan ini tegak dengan beberapa cabang tegak. Batangnya bertrikoma, dengan satu daun bertangkai panjang dan bentuknya seperti daun bundar telur yang belah ketupat. Tepi daunnya tipis dan halus, dan duduknya berbentuk spiral. Bunga majemuk bulir, unisek dengan braktea terletak pada ketiak daun dan ujung cabang. Bunga betina lebih pendek, tegak, dan jorong daripada bunga jantan. Buahnya kecil dan berbentuk kapsul dengan braktea di sekitarnya. Bijinya oval dan halus dan berwarna coklat muda (Ravi *et al.*, 2021).

Menurut Zahidin *et al.* (2017) *Acalypha indica* L. dapat diklasifikan sebagai berikut:

Kingdom: *Plantae*
 Order: *Malpighiales*
 Famili: *Euphorbiaceae*
 Subtribe: *Acalyphinae*
 Genus: *Acalypha*
 Species: *A. indica*
 Binomial name: *Acalypha indica* L..



Gambar 1. *Acalypha indica* L. (Shinde *et al.*,2024)

Acalypha indica telah digunakan secara luas sebagai tanaman obat tradisional untuk mengobati berbagai penyakit. Bagian tanaman ini dapat digunakan untuk mengobati rematik, luka bakar, sakit gigi, dan infeksi telinga. Selain itu, ekstrak tanaman *Acalypha* dapat berfungsi sebagai kontrasepsi alami, analgesik dan antiinflamasi, neuroprotektan, menurunkan glukosa darah, dan memiliki aktivitas antimikroba terhadap berbagai bakteri patogen (Ravi *et al.*, 2021; Zahidin *et al.*, 2017).

1.2.2. Kandungan *Acalypha indica* L.

Acalypha indica adalah salah satu tanaman herbal yang banyak digunakan dalam pengobatan tradisional di berbagai belahan dunia, terutama di Asia dan Afrika.

Tanaman yang termasuk dalam keluarga *Euphorbiaceae* ini dikenal karena mampu mengobati berbagai penyakit. Berdasarkan hasil analisis fitokimia, beberapa senyawa utama *Acalypha indica* termasuk alkaloid, flavonoid, saponin, tanin, steroid, dan senyawa fenolik, yang masing-masing memiliki efek kesehatan yang berbeda (Ravi et al., 2021; Govindarajan et al., 2013). Tanaman ini mengandung berbagai senyawa bioaktif dalam bentuk metabolit sekunder seperti flavonoid, tanin, alkaloid dan juga steroid yang bersifat antioksidan dan dapat menghambat pertumbuhan bakteri. Hal ini dibuktikan berdasarkan penelitian yang menunjukkan hasil bahwa tanaman *Acalypha indica* L yang diekstrak menggunakan etanol dengan konsentrasi 100% mampu menghambat pertumbuhan jamur *C. albicans* (M. Guli et al., 2023).

Alkaloid, seperti ephedrine dan nicotine, adalah komponen utama *Acalypha indica* dan dikenal memiliki berbagai efek farmakologis, termasuk sifat anti-inflamasi dan analgesik (Ravi et al., 2021). *Acalypha indica* memiliki alkaloid yang dapat meredakan peradangan dan rasa sakit. Hal ini dibuktikan dengan penelitian yang dilakukan oleh Ganeshkumar et al. (2012) bahwa *Acalypha indica* L terbukti dapat menyembuhkan luka pada tikus dengan periode epitelisasi selama 14 hari. *Acalypha indica* tidak hanya mengandung alkaloid tetapi juga mengandung senyawa flavonoid, yang berfungsi sebagai antioksidan kuat. Flavonoid membantu sel-sel tubuh melindungi diri dari kerusakan oksidatif yang disebabkan oleh radikal bebas. Radikal bebas dapat menyebabkan penuaan dini dan berbagai penyakit degeneratif, termasuk kanker dan penyakit jantung (Zahidin et al., 2017). Tanaman *Acalypha indica* L juga mengandung senyawa tanin yang memiliki efek astringen dan dapat mengubah metabolisme hormon, sehingga memiliki potensi untuk digunakan dalam pengendalian kelahiran (Ravi et al., 2021).

1.2.3 Hubungan Kandungan *Acalypha Indica* Terhadap organ ginjal

Acalypha Indica, juga dikenal sebagai "daun kucing", memiliki potensi sebagai obat anti-fertilitas yang menarik, terutama untuk masalah yang berkaitan dengan fungsi ginjal. Penelitian yang dilakukan (Eriani et al., 2017). Menunjukkan bahwa ekstrak tanaman ini dapat mempengaruhi fungsi reproduksi dan hormon. Hal ini dapat menyebabkan masalah pada sistem reproduksi. Senyawa bioaktif yang terkandung dalam *Acalypha Indica*, seperti flavonoid dan saponin, diketahui memiliki dampak pada metabolisme hormon yang bertanggung jawab atas proses reproduksi. (Eriani et al., 2017). Mengklaim bahwa Flavonoid memiliki kemampuan untuk mengatur fungsi hormon estrogen dan progesteron, yang merupakan hormon penting dalam siklus reproduksi wanita. Hal ini menyebabkan terjadinya penurunan persentasi kebuntingan. Pradoo et al. (2020) melaporkan kasus toksisitas *Acalypha indica* yang menunjukkan gangguan fungsi ginjal akut pada beberapa pasien, dengan peningkatan kadar kreatinin serum sebagai penanda kerusakan ginjal. Ginjal mengeluarkan limbah metabolik dan menjaga keseimbangan cairan dan elektrolit tubuh. Studi yang telah dilakukan oleh Ambrawati et al., (2020) menunjukkan bahwa ekstrak *Acalypha Indica* dapat mempengaruhi unsur kimiawi ginjal, seperti konsentrasi kreatinin dan urea dalam plasma. Peningkatan kadar kreatinin dapat menunjukkan bahwa fungsi ginjal telah terganggu, yang dapat disebabkan oleh penggunaan jangka panjang *Acalypha Indica* sebagai agen anti-fertilitas.

Salah satu senyawa dalam *Acalypha Indica*, saponin, berkontribusi pada efek anti-fertilitasnya. Memiliki sifat antimikroba, saponin dapat mempengaruhi metabolisme hormon. Penelitian yang dilakukan Ravi et al. (2021) melaporkan bahwa saponin yang terdapat dalam *Acalypha indica* memiliki kemampuan untuk mempengaruhi permeabilitas membran sel dan metabolisme hormon, yang berpotensi mengganggu proses reproduksi. Namun, karena ginjal berperan dalam metabolisme dan ekskresi senyawa-senyawa ini, efek saponin ini juga dapat mempengaruhi ginjal.

1.2.4 Tikus Wistar

Tikus albino (*Rattus norvegicus*), yang biasa disebut sebagai "tikus putih," merupakan salah satu hewan yang paling sering dipakai sebagai model dalam penelitian biomedis. Karena kemiripannya dengan sistem biologis mamalia, tikus ini menjadi pilihan yang tepat sebagai hewan percobaan dalam studi preklinik (Fitria et al., 2015). Tikus Wistar memiliki morfologi yang cenderung besar dibandingkan dengan jenis tikus lainnya, dapat mencapai panjang 25 cm dan berat antara 200 hingga 500 gram, dengan bulu halus berwarna putih atau krem dan mata merah atau hitam, tergantung pada strainnya. Tikus Wistar biasanya lebih besar dengan ekor yang panjang dan tidak berbulu dan telinga yang besar dan bulat, yang membantu mereka tetap stabil saat bergerak (Hoffman et al., 2016).

Klasifikasi Tikus putih menurut Myres dan Armitage (2004) Sebagai berikut :

Kingdom : *Animalia*
 Filum : *Chordata*
 Kelas : Mamalia
 Ordo : *Rodentia*
 Subordo : *Sciurognathia*
 Famili : *Muridae*
 Sub-famili : *Murinae*
 Genus : *Rattus*
 Spesies : *Rattus norvegicus*



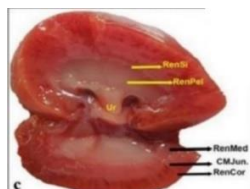
Gambar 2. Tikus wistar (*Rattus novergicus*) (Rosidah et al., 2020).

1.2.5 Ginjal Tikus Wistar

1.2.5.1 Anatomi Ginjal Tikus Wistar

Ginjal tikus adalah organ berukuran sedang yang terletak di bagian atas dinding *abdomen*, tepatnya di belakang *peritoneum*. Itu terletak di kiri dan kanan *vertebra lumbalis* 2-3. Karena lobus hati kanan lebih besar, ginjal kanan berada di atas ginjal kiri. Jaringan adiposa melapisi ginjal tikus, yang membantu melindunginya dari benturan. Jaringan lemak ini memiliki bagian luar berwarna putih dan bagian dalam berwarna coklat. Di daerah panggul, ada kantong adiposa berwarna coklat. Ginjal tikus jantan lebih besar daripada betina, dengan be ntuk menyerupai kacang dan berwarna coklat

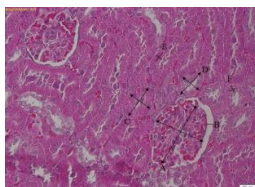
kemerahan. Ginjal tikus secara anatomis berbentuk unilobular, atau satu lobus, dengan satu *papila renalis* berbentuk kerucut menonjol ke dalam pelvis ginjal. Di sana, urine disimpan dan kemudian dialirkan ke kandung kemih melalui ureter. Korteks dan medula adalah dua bagian utama ginjal tikus. Korteks, unit fungsional terkecil ginjal, terletak di lapisan terluar dan terdiri dari korpus renal, tubulus kontortus proksimal dan distal, serta ansa Henle. Korpus renal memproduksi urine, sementara tubulus kontortus proksimal menyerap kembali zat penting. Ansa Henle mengatur cairan dan elektrolit tubuh (Treuting *et al.*, 2015).



Gambar 3 Anatomi Ginjal Tikus Normal, RenSi: renal sinus, RenPel: renal pelvis, RenMed: renal medulla, RenCor: renal cortex, CMJun.: corticomedullary junction (Elsayed dan Elgammal, 2024)

1.2.5.2 Histologi Ginjal Tikus Wistar

Ginjal tikus Wistar memiliki bentuk histologis unik dan terdiri dari banyak bagian penting yang memainkan peran penting dalam proses filtrasi dan pengaturan homeostasis. Korteks dan medula adalah dua bagian utama ginjal, menurut pendapat umum. Glomeruli, bagian fungsional ginjal, dan tubulus proksimal terletak di korteks ginjal. Terdiri dari kapiler, glomeruli terdiri dari kapsula Bowman, tempat terjadinya filtrasi awal darah. Sel-sel epitelial yang membentuk glomeruli dan kapsula Bowman memiliki bentuk khusus, termasuk sel podosit yang berfungsi dalam proses filtrasi. Di dalam korteks juga terdapat tubulus proksimal, yang bertanggung jawab untuk reabsorpsi ion, glukosa, dan asam amino. Sel-sel epitel kuboid dengan mikrovili melapisi bulus ini, meningkatkan luas permukaan untuk reabsorpsi. Sebaliknya, medula ginjal terdiri dari piramida ginjal yang mengandung tubulus distal dan saluran pengumpul. Tubulus distal mengontrol volume urine dan keseimbangan elektrolit, sedangkan Duktus kolektif mengumpulkan *urine* sebelum dikeluarkan dari ginjal. Selain itu, histologi ginjal tikus Wistar menunjukkan adanya jaringan interstisial yang terdiri dari sel fibroblas dan makrofag. Sel-sel ini bertanggung jawab untuk mendukung struktur ginjal dan respons kekebalan. Selain itu, pembuluh darah yang terlihat, yang mencakup arteri dan vena, sangat penting untuk mengatur tekanan darah dalam ginjal dan suplai darah (Brenner & Rector, 2012).



Gambar 4 Histopatologis Ginjal Tikus Normal. A : glomerulus; B: kapsul Bowman; C: tubulus proksimal, D: tubulus distal, E: sel tubulus proksimal, F: sel tubulus distal (Pembesaran: 400x). (Saraswati *et al.*, 2022)

BAB II METODOLOGI PENELITIAN

2.1 Waktu dan Tempat Pelaksanaan Penelitian

Penelitian ini dilaksanakan pada bulan Januari 2024-selesai. Pengambilan sampel dan pemeriksaan secara makroskopis dan mikroskopis organ Ginjal tikus wistar betina di laksanakan di laboratorium Terpadu Kedokteran Hewan pada awal bulan Februari 2024

2.2 Jenis Penelitian

Jenis penelitian yang dilakukan berupa penelitian dengan menggunakan pendekatan kuantitatif deskriptif dengan melakukan metode deskriptif untuk melihat adanya perubahan pada bentuk makroskopis dan mikroskopis pada organ Ginjal dari tikus wistar betina yang diberi ekstrak tanaman anting-anting atau akar kucing (*Acalypha indica* L.) .

2.3 Populasi dan Sampel

Penelitian ini menggunakan teknik *purposive sampling* untuk menentukan subjek penelitian. Jumlah sampel ditentukan berdasarkan rumus Federer, yaitu $(t-1)(n-1) \geq 15$ (Smith dan Mangkoewidjojo, 1998).

Dalam penelitian ini terdapat 4 kelompok, sehingga jumlah minimum dari penggunaan sampel dapat ditentukan berdasarkan rumus Federer:

$$(t-1)(n-1) > 15$$

Keterangan:

n = jumlah sampel per kelompok

t = jumlah kelompok perlakuan

Substitusi nilai $t = 4$ ke dalam rumus:

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

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

$$3(n-1) \geq 15$$

$$n-1 \geq 15/3$$

$$n-1 \geq 5$$

$$n \geq 5 + 1$$

$$n \geq 6$$

Berdasarkan hasil rumus Federer, maka sampel dalam penelitian berjumlah 24 ekor yang terbagi menjadi 4 kelompok perlakuan, untuk setiap kelompok perlakuan terdiri atas 6 ekor tikus wistar betina

- a) KLP (-) yang merupakan kelompok tikus yang diberikan pakan standar dan air minum ad libitum selama 14 hari
- b) KLP 1 (Kelompok perlakuan 1) merupakan kelompok tikus yang diberikan pakan standar dan air minum ad libitum selama 14 hari serta diberikan ekstrak tumbuhan anting anting dengan dosis 800 mg/kgBB/hari via Oral.
- c) KLP 2 (Kelompok perlakuan 2) merupakan kelompok tikus yang diberikan pakan standar dan air minum ad libitum selama 14 hari serta diberikan ekstrak tumbuhan anting-anting dengan dosis 900 mg/kgBB/hari via Oral.

- d) KLP 3 (Kelompok perlakuan 3) merupakan kelompok tikus yang diberikan pakan standar dan air minum *ad libitum* selama 14 hari serta pada tikus wistar betinanya diberikan ekstrak tumbuhan anting-anting dengan dosis 1000 mg/kgBB/hari via Oral.

Prinsip 3R dalam penggunaan hewan laboratorium adalah Replacement (penggantian), Reduction (pengurangan), dan Refinement (penyempurnaan). Replacement mendorong penggunaan alternatif seperti kultur sel, Reduction berfokus pada pengurangan jumlah hewan tanpa mengorbankan validitas data, dan Refinement berusaha untuk mengurangi stres dan rasa sakit hewan melalui prosedur yang lebih baik (Sajuthi, 2012). Dengan mempertimbangkan masalah *animal welfare* tersebut, maka digunakan rumus *Resource Equation Method* (RE) di mana rumus ini seringkali digunakan untuk perhitungan jumlah penggunaan hewan laboratorium. Jumlah sampel yang diharapkan dapat digunakan ialah berkisar 10-20 sampel.

RE = Jumlah sampel total – jumlah kelompok

$$\text{RE 1} = 24 - 4 = 20$$

$$\text{RE 2} = 20 - 4 = 16$$

$$\text{RE 3} = 20 - 4 = 12$$

Berdasarkan perhitungan RE tersebut, jumlah sampel yang dapat diambil dari nilai minimum 10-20 dan dapat dibagi 4 yaitu 12 sehingga jumlah sampel yang digunakan tiap kelompok yaitu 3 ekor pada masing-masing kelompok dengan jumlah keseluruhan tikus yang digunakan adalah 12 ekor.

2.4 Alat dan Bahan

Alat yang digunakan pada penelitian ini ialah timbangan digital, timbangan analitik, kandang tikus, tempat pakan, botol minum, mistar, tabung ukur 50 mL, gelas *beaker* 50 mL, gelas *beaker* 500 mL, gelas *beaker* 1000 mL, labu ukur, tabung *vacutainer* merah, pemanas air, mikropipet dan tip, spoit 1 cc, kanula, batang pengaduk, *hotplate* (pemanas), wadah pembiusan, alat bedah minor, *object glass*, *cover glass* dan mikroskop cahaya.

Bahan yang digunakan pada penelitian ini ialah tikus wistar betina, ekstrak daun akar kucing (*Acalypha indica* L.), pakan standar, sekam, aquades (*Onemed*), etanol 96% (*Onemed*), sarung tangan *latex* (*Onemed*), masker, kapas, tissue, *ether* (Indo Reagent), larutan untuk *prepare* (Hematoksilin-eosin), larutan bouin, larutan xylol, alcohol 70% 80% dan 90% (*Onemed*), paraffin dan PGF_{2α}.

2.5 Prosedur Penelitian

2.5.1 Pembuatan ekstrak Tumbuhan *Acalypha indica* L

sebanyak 1 kg. Tumbuhan anting-anting kemudian dicuci bersih lalu dikeringkan di tempat teduh. Setelah kering dimasukkan ke dalam mesin blender untuk dihancurkan menjadi serbuk kasar yang kemudian disaring untuk mendapatkan serbuk bersih dan halus. Serbuk yang diperoleh kemudian dimaserasi dengan etanol 95% yang kemudian larutannya disaring. Filtrat kemudian diuapkan pada suhu 50°C hingga akhirnya diperoleh ekstrak etanol tumbuhan anting-anting (Eriani et al., 2017)

2.5.2 Pemeliharaan hewan Uji coba

Penelitian diawali dengan aklimatisasi pada tikus selama 7 hari. Sebelum memulai pemberian ekstrak, tikus betina pada tiap kelompok sampel terlebih dahulu diberikan PGF_{2α} agar diperoleh siklus estrus yang sinkron dengan status proestrus yang sama di

setiap tikus betina dengan volume 0,05 ml secara intraperitoneal pada pukul 12.00 WITA. Perlakuan pemberian ekstrak kemudian dapat dilakukan sehari setelah pemberian PGF_{2α}. Pemberian ekstrak dilakukan melalui oral dengan menggunakan alat sonde dengan dosis 800 mg/kg bb, 900 mg/kg bb dan 1000 mg/kg bb selama 14 hari. Kesehatan tikus dipantau setiap hari. Tikus ditempatkan dalam kandang secara berkelompok sesuai dengan kelompok percobaan.

2.5.3 Koleksi Sampel

Setelah hari ke empat belas pemberian ekstrak, seluruh tikus coba dari tiap kelompok diambil kemudian di nekropsi. Setelah dinekropsi, organ Ginjal diambil untuk dilihat apakah ada perubahan secara makroskopis dan mikroskopis dari strukturnya.

2.5.4 Pengamatan makroskopis organ ginjal

Setelah dilakukan nekropsi, organ Ginjal diambil untuk diamati perubahan strukturnya secara makroskopis. Berat Ginjal dari tiap tikus kelompok akan ditimbang. Panjang dan lebar Ginjal juga diukur dengan menggunakan penggaris

2.5.5 Pembuatan preparat histologi dan pengamatan mikroskopis organ ginjal

Pembuatan preparat histologi diawali dengan mengfiksasi sampel menggunakan larutan formalin (10% formaldehid) untuk mempertahankan struktur sel dan jaringan, mencegah autolisis dan pembusukan (Baker *et al.*, 2001). Setelah fiksasi, jaringan didehidrasi dengan serangkaian larutan alkohol yang meningkat, menghilangkan air dari jaringan. Kemudian, jaringan yang didehidrasi direndam dalam larutan parafin atau resin untuk infiltrasi, memberikan dukungan struktural saat memotong. Jaringan yang terbenam dalam parafin atau resin dipotong menggunakan mikrotom menjadi irisan tipis (sekitar 5-10 mikrometer). Irisan tersebut kemudian dipindahkan ke slide dan diwarnai dengan pewarnaan histologis, seperti Hematoxylin dan Eosin (H&E), untuk meningkatkan kontras dan memudahkan identifikasi struktur seluler. Setelah pewarnaan, preparat ditutup dengan penutup kaca menggunakan media mounting untuk melindungi irisan dan memudahkan pengamatan di bawah mikroskop (Junqueira & Carneiro, 2005). Pengamatan histologis ginjal dapat di evaluasi pada tabel berikut :

Tabel 1 Sistem penilaian untuk histopatologi ginjal pada bagian tubulus

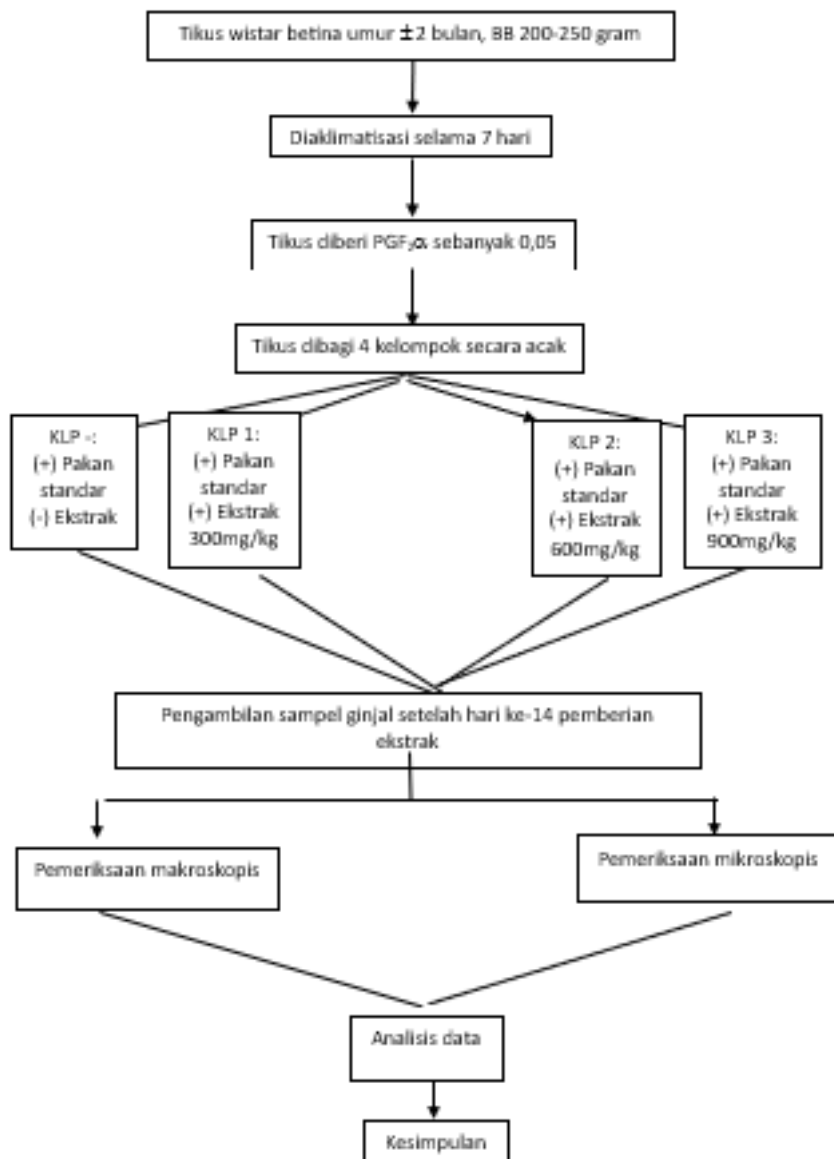
Skor/ Kerusakan	0	1	2	3	4	5
Nekrosis sel	Tidak ada perubahan	10%	11% 25%	26% 45%	46% 75%	76%
Hilangnya brush border	Tidak ada perubahan	10%	11% 25%	26% 45%	46% 75%	76%
Cast formation	Tidak ada perubahan	10%	11% 25%	26% 45%	46% 75%	76%
Dilatasi tubulus	Tidak ada perubahan	10%	11% 25%	26% 45%	46% 75%	76%

Source: Terada et al., 2013. Plos One. 8(12): 1-13. DOI: 10.1371/journal.pone.0080850

2.6 Teknik Pengumpulan Data dan Analisis Data

Data pengujian dikumpulkan dari masing masing pengujian kemudian ditabulasi dan dianalisis secara statistika. Analisis data menggunakan *Kruskal-wallis dan Post Hoc Mann-whitney dan Bonferroni* dengan program IBM SPSS® 25.

2.7 Alur Penelitian



Gambar 5 Alur penelitian