

**Uji Toksisitas Subkronik Oral Ekstrak Etanol Ubi Jalar Ungu
(*Ipomoea batatas* L.) Kultivar Gunung Kawi terhadap Perbandingan
Berat Organ dan Gambaran Histopatologi Ginjal *Rattus norvegicus*
Strain Wistar**

TUGAS AKHIR

**Untuk Memenuhi Persyaratan
Memperoleh Gelar Sarjana Kedokteran Umum**



Oleh :
Steven Anthony Susanto

165070101111070

**PROGRAM STUDI KEDOKTERAN
FAKULTAS KEDOKTERAN
UNIVERSITAS BRAWIJAYA**

MALANG

2019

**Uji Toksisitas Subkronik Oral Ekstrak Etanol Ubi Jalar Ungu
(*Ipomoea batatas* L.) Kultivar Gunung Kawi terhadap Perbandingan
Berat Organ dan Gambaran Histopatologi Ginjal *Rattus norvegicus*
Strain Wistar**

TUGAS AKHIR

**Untuk Memenuhi Persyaratan
Memperoleh Gelar Sarjana Kedokteran Umum**



Oleh :
Steven Anthony Susanto

165070101111070

**PROGRAM STUDI KEDOKTERAN
FAKULTAS KEDOKTERAN
UNIVERSITAS BRAWIJAYA**

MALANG

2019

HALAMAN PERSETUJUAN UJIAN

TUGAS AKHIR

**Uji Toksisitas Subkronik Oral Ekstrak Etanol Ubi Jalar Ungu
(*Ipomoea batatas* L.) Kultivar Gunung Kawi terhadap Perbandingan
Berat Organ dan Gambaran Histopatologi Ginjal *Rattus norvegicus*
Strain Wistar**

Untuk Memenuhi Persyaratan Memperoleh Gelar Sarjana Kedokteran

Oleh:

Steven Anthony Susanto

165070101111070

Pembimbing I,

Pembimbing II,

Dr. dr. Retty Ratnawati, MSc.

dr. Dewi Mustika, M.Biomed

NIP. 195502011985032001

NIP. 2016078711152001

HALAMAN PENGESAHAN

TUGAS AKHIR

Uji Toksisitas Subkronik Oral Ekstrak Etanol Ubi Jalar Ungu
(*Ipomoea batatas* L.) Kultivar Gunung Kawi terhadap Perbandingan
Berat Organ dan Gambaran Histopatologi Ginjal *Rattus norvegicus*

Strain Wistar

Oleh:

Steven Anthony Susanto

NIM 165070101111070

Telah diuji pada

Hari: Kamis

Tanggal: 14 November 2019

dan dinyatakan lulus oleh

Penguji I,

Prof. Dr. Cheng Hwee Ming

Faculty of Medicine, University of Malaya

Pembimbing I / Penguji II,

Pembimbing II / Penguji III,

Dr. dr. Retty Ratnawati, MSc.

dr. Dewi Mustika, M.Biomed

NIP. 195502011985032001

NIP. 2016078711152001

Mengetahui,

Ketua Program Studi Kedokteran

dr. Triwahju Astuti, M.Kes, Sp.P(K)

NIP. 196310221996012001

PERNYATAAN KEASLIAN TULISAN

Saya yang bertanda tangan dibawah ini:

Nama : Steven Anthony Susanto

NIM : 165070101111070

Program Studi : Program Studi Kedokteran

Fakultas Kedokteran Universitas Brawijaya

menyatakan dengan sebenarnya bahwa Tugas Akhir yang saya tulis ini benar-benar hasil karya saya sendiri, bukan merupakan pengambilalihan tulisan atau pikiran orang lain yang saya akui sebagai tulisan atau pikiran saya. Apabila di kemudian hari dapat dibuktikan bahwa Tugas Akhir ini adalah hasil jiplakan, maka saya bersedia menerima sanksi atas perbuatan tersebut.

Malang,

Yang membuat pernyataan,

Steven Anthony Susanto
NIM. 165070101111070

KATA PENGANTAR

Puji syukur penulis haturkan pada Tuhan Yang Maha Esa, karena atas berkat dan anugerah-Nya, penulis dapat menyelesaikan penulisan naskah tugas akhir yang berjudul “Uji Toksisitas Subkronik Oral Ekstrak Etanol Ubi Jalar Ungu (*Ipomoea batatas*) Kultivar Gunung Kawi terhadap Perbandingan Berat Organ dan Gambaran Histopatologi Ginjal *Rattus Norvegicus* Strain Wistar”.

Poin utama yang disajikan dalam naskah tugas akhir ini meliputi pengaruh pemberian ekstrak etanol ubi ungu dengan zat utama antosianin dari parameter berat relatif ginjal dan gambaran histopatologinya. Uji toksisitas ini merupakan salah satu tahapan untuk mengembangkan ekstrak etanol ubi ungu ini sebagai obat atau suplemen makanan herbal.

Dengan terselesainya penulisan tugas akhir ini, penulis ingin menyampaikan rasa terima kasih yang mendalam kepada:

1. Rektor Universitas Brawijaya, atas kesempatan yang diberikan untuk menjalani studi di Universitas Brawijaya.
2. dr. Wisnu Barilianto, M.Si.Med, SpA(K), sebagai Dekan Fakultas Kedokteran Universitas Brawijaya, atas kesempatan yang diberikan untuk bisa mengikuti dan menyelesaikan Program Pendidikan Sarjana Kedokteran di Fakultas Kedokteran Universitas Brawijaya.
3. dr. Agustin Iskandar, M.Kes, SpParK, sebagai Ketua Program Studi Sarjana Kedokteran Fakultas Kedokteran Universitas Brawijaya atas dukungan dan ilmu yang diberikan selama penulisan tugas akhir ini.

4. sebagai Ketua Program Studi Sarjana Kedokteran Fakultas Kedokteran

Universitas Brawijaya atas dukungan dan ilmu yang diberikan selama penulisan tugas akhir ini.

5. Dr. dr. Retty Ratnawati, M.Sc, sebagai dosen pembimbing pertama yang

mengizinkan penulis untuk terlibat dalam proyek penelitian, serta atas segala bantuan, dukungan, kritik, dan saran yang diberikan dalam proses penyelesaian tugas akhir ini.

6. dr. Dewi Mustika, M.Biomed, sebagai dosen pembimbing kedua yang telah

memberikan bantuan, dukungan, kritik, dan saran bagi penulis untuk menyelesaikan tugas akhir ini.

7. Prof Cheng Hwee Ming, penguji

8. Segenap petugas Laboratorium Biosains (Bu Fitri dan tim) yang telah

membantu proses pemeliharaan tikus, penyondean ekstrak, serta pembedahan tikus.

9. Pak Mizan dan Bu Henny atas bantuannya dalam membuat preparat

histopatologi ginjal tikus.

10. Segenap tim peneliti Antosianin, Shanine, Azzura, Theo, Ferrisaga, Adani,

Meiyin, Putri, Sahla, Novi, Syifa, Rosyida, Tiwi, Violira, dan Azmi, atas masukan dan kerjasamanya selama pelaksanaan penelitian.

11. Segenap dosen yang telah mendidik penulis di Program Studi Kedokteran

serta staf akademik yang banyak membantu dalam proses administrasi.

12. Keluarga tercinta, Ibunda Mega Sulistiowati dan Ayahanda Sudiharto

Susanto, atas segala dukungan dan bantuan dalam proses penelitian ini.

13. Kakak tercinta, dr. William Prayogo Susanto, M.Biomed, atas segala

nasihat, masukan, dan bantuannya dalam penulisan tugas akhir ini.

14. Segenap kolega Program Studi Kedokteran angkatan 2016, atas segala dukungannya selama ini.

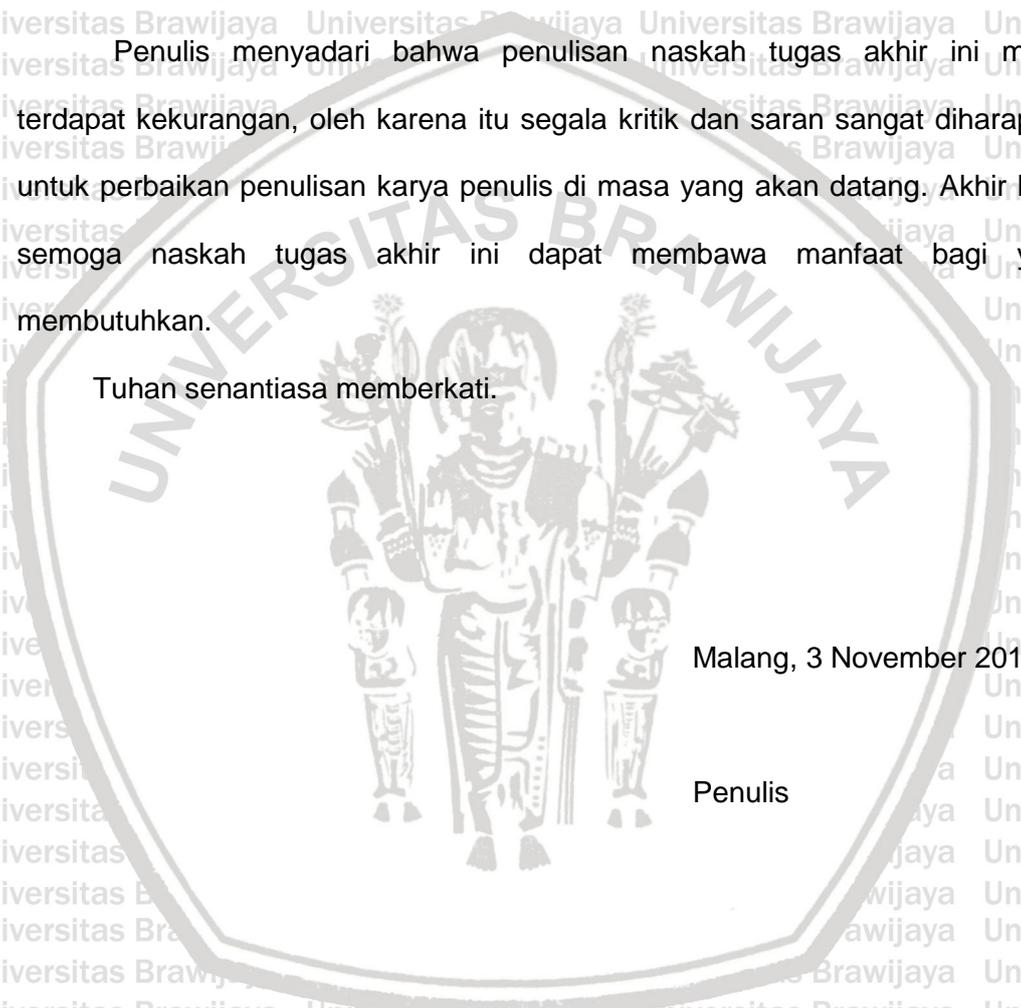
15. Semua pihak yang telah membantu penyelesaian proses penulisan naskah tesis ini yang tidak dapat saya sebutkan satu persatu.

Penulis menyadari bahwa penulisan naskah tugas akhir ini masih terdapat kekurangan, oleh karena itu segala kritik dan saran sangat diharapkan untuk perbaikan penulisan karya penulis di masa yang akan datang. Akhir kata, semoga naskah tugas akhir ini dapat membawa manfaat bagi yang membutuhkan.

Tuhan senantiasa memberkati.

Malang, 3 November 2019

Penulis



ABSTRAK

Susanto, Steven Anthony. 2019. **Uji Toksisitas Subkronis Oral Ekstrak Etanol Ubi Jalar Ungu (*Ipomoea batatas* L.) Kultivar Gunung Kawi terhadap Perbandingan Berat Organ dan Gambaran Histopatologi Ginjal *Rattus norvegicus* Strain Wistar**. Tugas Akhir, Program Studi Kedokteran, Fakultas Kedokteran Universitas Brawijaya. Pembimbing: (1) Dr. dr. Retty Ratnawati, MSc. (2) dr. Dewi Mustika, M.Biomed.

Antosianin memiliki manfaat utama sebagai antioksidan dan antiinflamasi. Ubi jalar ungu merupakan salah satu makanan dengan kadar antosianin yang tinggi. Beberapa penelitian sebelumnya menunjukkan banyaknya manfaat antosianin ini. Tujuan penelitian ini adalah untuk mengamati adanya efek toksik yang timbul akibat pemberian ekstrak etanol ubi ungu melalui parameter berat organ dan gambaran histopatologi ginjal. Studi *true experimental-post test only control group design* dilakukan pada 80 tikus Wistar yang diberi ekstrak etanol ubi ungu dengan zat aktif antosianin dan dibagi dalam 4 kelompok dosis, yaitu kelompok kontrol, kelompok dosis 10mg/kgBB, kelompok dosis 20mg/kgBB dan kelompok dosis 40mg/kgBB selama 90 hari. Pada hari ke-91, tikus dibedah dan diambil ginjalnya, lalu dilakukan pengukuran berat badan dan berat ginjal. Kemudian ginjal dibuat sediaan histopatologi dengan pengecatan Hematoxylin-Eosin (HE) dan diamati di bawah mikroskop dengan perbesaran 100x. Parameter yang diamati dalam penelitian ini adalah berat relatif ginjal dan gambaran histopatologi yang meliputi gambaran perdarahan dan infiltrasi leukosit. Hasil penelitian menunjukkan bahwa tidak ada perbedaan yang signifikan pada seluruh parameter penelitian setelah pemberian ekstrak etanol ubi ungu baik antardosis maupun antarjenis kelamin. Adanya data yang tidak teratur dalam data penelitian bisa menunjukkan kemungkinan perubahan sifat antosianin menjadi prooksidan yang dibuktikan oleh sejumlah penelitian. Namun dari hasil yang didapat, antosianin tidak menunjukkan efek prooksidan yang menonjol dan tidak menimbulkan efek toksik pada tikus. Kesimpulan dari penelitian ini adalah tidak ada efek toksik yang ditimbulkan oleh pemberian ekstrak etanol ubi ungu yang ditandai dengan tidak signifikannya perubahan berat relatif dan gambaran histopatologi tikus.

Kata Kunci: Antosianin, ubi jalar ungu, ginjal, toksisitas subkronis

ABSTRACT

Susanto, Steven Anthony. 2019. **Subchronic Toxicity Study of Purple Sweet Potato (*Ipomoea Batatas* L.) Oral Ethanolic Extract Kawi Mountain Cultivar to Comparison of Kidney Organ Weight and Histopathological Appearance of *Rattus norvegicus* Wistar Strain.** Final Assignment, Medical Program, Faculty of Medicine Universitas Brawijaya. Supervisors: (1) Dr. dr. Retty Ratnawati, MSc. (2) dr. Dewi Mustika, M.Biomed.

Anthocyanin has main benefits as antioxidant and antiinflammation. Purple sweet potato is one of anthocyanin-rich food and many researches before found a lot of benefits of anthocyanin. The aim of this research was to observe any toxic effect elicited by treatment of ethanolic extract of purple sweet potato by kidney organ weight and histopathological pattern parameter. True experimental-post test only control group design study has been done to 80 rats which were given ethanolic extract of purple sweet potato with anthocyanin as an active substance in 90 days. Those rats were divided into 4 dose groups, which were control group, 10mg/kgBW dose group, 20mg/kgBW dose group, and 40mg/kgBW dose group. At day 91th, those rats were dissected and the kidneys were taken. Then, body weight and kidneys weight were measured. After that, the kidneys were processed to be made into histopathological sample with Hematoxylin-Eosin staining and then observed under 100x magnification of microscope. The parameter that was studied in this research were kidney relative weight and its histopathological pattern which consist of hemorrhage and leucocyte infiltration appearance. The result showed that there was no significant differences in all parameters after administration of ethanolic extract of purple sweet potato between doses and sexes. The irregularly earned data showed any probability of alteration effect of anthocyanin into prooxidant, which has proven by some researches. But from all collected data, anthocyanin didn't show any prominent prooxidant effect and give no toxic effect on rats. The conclusion of this research is that there is no difference appear from treatment of ethanolic extract of purple sweet potato between doses and sexes showed by insignificant of kidney relative weight and its histopathological differences.

Keywords: Anthocyanin, Purple sweet potato, Kidney, Subchronic toxicity

DAFTAR ISI

Halaman Judul	i
Halaman Persetujuan Ujian	ii
Halaman Pengesahan	iii
Pernyataan Keaslian Tulisan	iv
Kata Pengantar	v
Abstrak	viii
Abstract	ix
Daftar Isi	x
Daftar Tabel	xii
Daftar Gambar	xiii
Daftar Lampiran	xiv
Daftar Singkatan	xv
Bab 1 Pendahuluan	1
1.1 Latar Belakang	1
1.2 Rumusan Masalah	3
1.3 Tujuan Penelitian	3
1.4 Manfaat Penelitian	4
Bab 2 Tinjauan Pustaka	5
2.1 Anatomi dan Fisiologi Ginjal	5
2.2 Profil Ubi Jalar Ungu (<i>Ipomoea batatas</i> L.)	7
2.3 Antosianin	10
2.4 Uji Toksisitas Subkronis	16
Bab 3 Kerangka Konsep & Hipotesis	18
3.1 Kerangka Konsep	18
3.2 Hipotesis	20



Bab 4 Metode Penelitian	21
4.1 Rancangan Penelitian	21
4.2 Populasi dan Sampel	21
4.3 Tempat dan Waktu Penelitian	22
4.4 Variabel Penelitian	23
4.5 Definisi Operasional	23
4.6 Bahan dan Alat Penelitian	25
4.7 Metode Pengumpulan Data	26
4.8 Pengolahan Data	30
Bab 5 Hasil Penelitian dan Analisis Data	31
5.1 Variabel Dosis	31
5.2 Variabel Jenis Kelamin	40
Bab 6 Pembahasan	47
6.1 Pengaruh Ekstrak Etanol Ubi Jalar Ungu (<i>Ipomoea batatas</i> L.) terhadap Berat Ginjal <i>Rattus Norvegicus</i> Strain Wistar	47
6.2 Pengaruh Ekstrak Etanol Ubi Jalar Ungu (<i>Ipomoea batatas</i> L.) terhadap Gambaran Histopatologi Ginjal <i>Rattus Norvegicus</i> Strain Wistar	49
6.3 Implikasi Medis dan Keterbatasan Penelitian	51
Bab 7 Penutup	53
7.1 Kesimpulan	53
7.2 Saran	53
Daftar Pustaka	55
Lampiran	58

DAFTAR TABEL

Tabel 2.1	Komponen gizi beberapa jenis ubi jalar	19
Tabel 2.2	Perbandingan Struktur Antosianidin	21
Tabel 5.1	Rata-Rata Berat Ginjal Tikus	32
Tabel 5.2	Persebaran Frekuensi Munculnya Gambaran Perdarahan dalam Pengecatan Hematoxylin-Eosin (HE) Ginjal Tikus	33
Tabel 5.3	Tabel 5.3 Persebaran Frekuensi Munculnya Gambaran Infiltrasi Leukosit dalam Pengecatan Hematoxylin-Eosin (HE) Ginjal Tikus	33
Tabel 5.4	Rata-Rata Frekuensi Gambaran Perdarahan dan Infiltrasi Leukosit Ginjal Tikus	34
Tabel 5.5	Uji Normalitas Variabel Jenis Kelamin pada Tikus Jantan	42
Tabel 5.6	Uji Normalitas Variabel Jenis Kelamin pada Tikus Betina	43
Tabel 5.7	Uji Homogenitas Variabel Jenis Kelamin	44
Tabel 5.8	Uji Analisis Statistik Perparameter Variabel Jenis Kelamin	45
Tabel 5.9	Hasil Uji Statistik Perparameter Variabel Jenis Kelamin	46



DAFTAR LAMPIRAN

Halaman

Lampiran 1 Kandungan Pellet Calf Starter.....	58
Lampiran 2 Ethical Clearance	59
Lampiran 3 Surat Keterangan Lahir Tikus.....	60
Lampiran 4 Data Mentah Berat Relatif Ginjal	61
Lampiran 5 Data Mentah Frekuensi Gambaran Perdarahan Ginjal	62
Lampiran 6 Data Mentah Frekuensi Gambaran Infiltrasi Leukosit Ginjal	63
Lampiran 7 Hasil Analisis SPSS	64
Lampiran 8 Dokumentasi Penelitian	79



DAFTAR SINGKATAN

CD40L	Cluster of Differentiation 40L
COX	Cyclooxygenase
GSH	Gluthatione
H ₂ O ₂	Hidrogen peroksida
HE	Hematoxylin-Eosin
HPLC	High Performance Liquid Chromatography
ICAM-1	Intercellular Adhesion Molecule-1
IL-8	Interleukin-8
iNOS	calcium-insensitive Nitric Oxide Synthase
LC ₅₀	Lethal Concentration of 50% population
LOX	Lipoksinase
MCP-1	Monocyte Chemoattractant Protein-1
MDA	Malondialdehyde
mg/kgBB	miligram per kilogram berat badan
NFκB	Nuclear Factor kappa-B
NO	Nitric Oxide
NOAEL	No Observed Adverse Effect Level
OHT	Obat Herbal Terstandar
O ₂ ⁻	Superoksida
¹ O ₂	Oksigen singlet
OH ⁻	Hidroksil radikal
ROS	Reactive Oxygen Species
USDA	United States Department of Agricultures
SOD	Superoxide Dismutase
VCAM-1	Vascular Cell Adhesion Molecule-1



BAB 1

PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

Penelitian terhadap obat herbal terus dikembangkan. Hal ini disebabkan adanya dorongan untuk menemukan komponen bioaktif alami yang rendah efek samping serta efektif untuk mencegah dan mengatasi penyakit. Masyarakat saat ini memiliki pemikiran bahwa obat yang berasal dari tumbuhan (obat herbal) lebih aman dan ampuh daripada obat sintetis yang dibuat di pabrik. Selain itu, harganya lebih terjangkau karena biaya produksi yang lebih rendah (Eleazu dan Ironua, 2013).

Banyak penelitian yang mengamati manfaat suatu tanaman. Ketertarikan peneliti-peneliti dunia juga meningkat terhadap hal ini. Namun sebagian besar penelitian menunjukkan efikasi dan potensi suatu bahan herbal, sedangkan data terkait efek samping atau efek toksik bahan herbal tersebut masih kurang adekuat (Eleazu dan Ironua, 2013).

Ubi jalar ungu (*Ipomoea batatas* L.) adalah salah satu bahan makanan yang tersebar di lebih dari 100 negara. Makanan ini bernutrisi tinggi, mudah dicerna, dan tumbuh subur terutama di daerah tropis. Kandungan gizi yang tinggi dalam ubi jalar ungu adalah karbohidrat, protein, dan serat. Ubi jalar ungu juga memiliki kandungan antioksidan, seperti beta-karoten dan flavonoid (Eleazu dan Ironua, 2013). Sebagai produk alami, ubi jalar ungu mengandung antioksidan alami, salah satunya adalah antosianin. Menurut beberapa penelitian, antosianin memiliki manfaat lain, seperti antiinflamasi, neuroproteksi, dan mampu mencegah penyakit kardiovaskular. Namun, pemakaian antioksidan sintetis

seperti hidroksitoluene terbutilasi, asam tannic, dan propil gallate, terbukti beresiko mengganggu kesehatan manusia. Namun efek merugikan dari antioksidan alami belum cukup tersedia (Eleazu dan Ironua, 2013) (Oancea dan Oprean, 2011).

Manusia tersusun dari berbagai organ yang bekerja sama satu dengan yang lainnya untuk menciptakan kondisi homeostasis. Salah satu organ penting tersebut adalah ginjal, yang memiliki fungsi utama pada sistem ekskresi manusia. Selain itu, ginjal juga berperan penting dalam menjaga kadar cairan dan elektrolit dalam darah (Velho, 2013).

Efek toksik pada ginjal pada umumnya tidak menunjukkan gejala yang akut dan mendadak, namun efek kronis yang ditimbulkan sangat mengganggu kualitas hidup manusia. Kerusakan ginjal yang berat mewajibkan penderita untuk melakukan hemodialisis (cuci darah) rutin, dengan frekuensi terberat 2-3x dalam satu minggu. Sehingga biaya yang dikeluarkan untuk mengobati kerusakan ginjal sangat tinggi. Menurut data Kemenkes tahun 2016, PGK (Penyakit Ginjal Kronik) memasuki salah satu peringkat teratas penyebab kematian akibat penyakit kronis serta menghabiskan biaya kesehatan sebesar 13,3 trilyun rupiah (Kemenkes, 2018).

Berdasarkan penelitian yang telah dilakukan oleh Prakosa *et al.* (2017), ekstrak antosianin mampu menurunkan kadar caspase-3 (sebuah protein pencetus apoptosis sel) pada tikus yang diinduksi diabetes melitus dalam dosis 10 dan 20 mg/kgBB. Namun pada pemberian dosis 80 mg/kgBB, ekstrak antosianin justru berubah sifat dari antioksidan menjadi prooksidan serta meningkatkan kadar caspase-3 pada tikus yang diinduksi diabetes melitus.

Adanya fakta tersebut memunculkan tiga dosis ekstrak etanol yang akan dipaparkan pada tikus, yaitu 10, 20, dan 40 mg/kgBB.

Melihat potensi ekstrak etanol ubi jalar ungu kultivar Gunung Kawi yang baik untuk dijadikan obat herbal terstandar (OHT), penulis hendak melakukan uji toksisitas subkronis oral untuk mengetahui keamanan dari ekstrak etanol ini. Penelitian yang akan dilakukan berupa penelitian eksperimental laboratorium dengan menggunakan *Rattus norvegicus* strain Wistar yang akan diberi ekstrak etanol ubi jalar ungu (*Ipomoea batatas* L.) kultivar Gunung Kawi. Pengamatan dilakukan dengan melihat pengaruh ekstrak etanol tersebut terhadap berat organ dan gambaran histopatologi ginjal tikus Wistar. Penelitian ini merupakan suatu penelitian payung yang diketuai oleh Dr.dr. Retty Ratnawati, M.Sc dengan judul “Pengembangan Obat Herbal Terstandar Ekstrak Ubi Ungu Standarisasi Ekstraksi, Pengembangan Metode Analisis HPLC dan Uji Toksisitas” dan peneliti merupakan salah satu anggota tim penelitian.

1.2 Rumusan Masalah

Apakah terdapat efek toksik subkronis oral pada pemberian ekstrak etanol ubi jalar ungu (*Ipomoea batatas* L.) kultivar Gunung Kawi dilihat dari berat organ dan gambaran histopatologi ginjal *Rattus norvegicus* strain Wistar?

1.3 Tujuan Penelitian

1.3.1 Tujuan Umum

Mengetahui efek toksisitas subkronis oral yang timbul akibat pemberian ekstrak etanol ubi jalar ungu (*Ipomoea batatas* L.) kultivar Gunung Kawi dilihat dari berat organ dan gambaran histopatologi ginjal *Rattus norvegicus* strain Wistar.

1.3.2 Tujuan Khusus

1. Mengetahui efek toksisitas subkronis oral yang timbul akibat pemberian ekstrak etanol ubi jalar ungu (*Ipomoea batatas* L.) kultivar Gunung Kawi dilihat dari perubahan berat relatif ginjal *Rattus norvegicus* strain Wistar.
2. Mengetahui efek toksisitas subkronis oral yang timbul akibat pemberian ekstrak etanol ubi jalar ungu (*Ipomoea batatas* L.) kultivar Gunung Kawi dilihat dari perubahan frekuensi gambaran perdarahan dalam pengamatan histopatologi ginjal *Rattus norvegicus* strain Wistar.
3. Mengetahui efek toksisitas subkronis oral yang timbul akibat pemberian ekstrak etanol ubi jalar ungu (*Ipomoea batatas* L.) kultivar Gunung Kawi dilihat dari perubahan frekuensi gambaran infiltrasi leukosit dalam pengamatan histopatologi *Rattus norvegicus* strain Wistar.

1.4 Manfaat Penelitian

1.4.1 Manfaat Akademik

Memberi kontribusi terhadap perkembangan ilmu pengetahuan mengenai efek toksisitas subkronis ekstrak etanol ubi jalar ungu (*Ipomoea batatas* L.) pada *Rattus norvegicus* strain Wistar dilihat dari berat organ dan gambaran histopatologi ginjal.

1.4.2 Manfaat Praktisi

Menjadi salah satu tahapan bagi ekstrak etanol ubi jalar ungu kultivar Gunung Kawi untuk dikembangkan menjadi sebuah obat herbal terstandar.

BAB 2

KAJIAN PUSTAKA

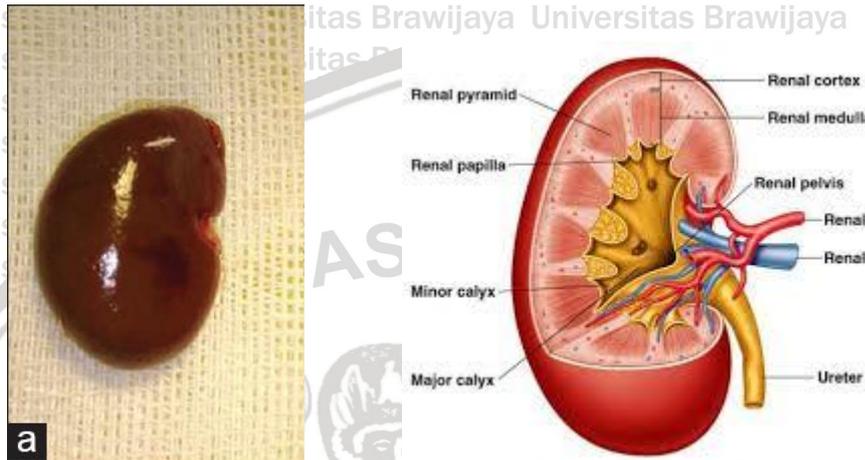
2.1 Anatomi dan Fisiologi Ginjal

Eksperimen dengan menggunakan model hewan sangat penting untuk memahami patofisiologi berbagai penyakit, yang mengarahkan penelitian untuk menemukan atau mengembangkan cara pengobatan. Selain pengobatan, penelitian jenis ini dapat membantu menemukan cara diagnosis dan metode prevensi suatu penyakit demi kepentingan kesehatan manusia. Penggunaan hewan coba (dengan menghormati kode etik perlakuan pada hewan coba) dapat mengatasi limitasi atau masalah yang timbul pada penelitian dengan objek manusia, sehingga penelitian bisa dilaksanakan lebih cepat, efisien, dan lebih murah (Castro *et al.* 2014).

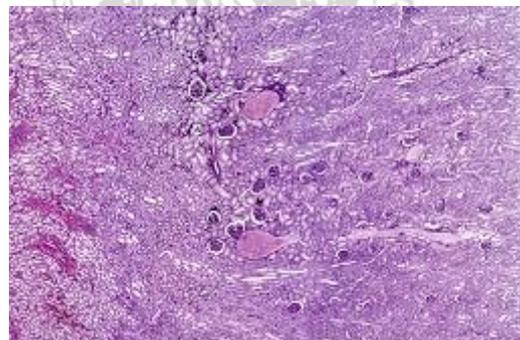
2.1.1 Anatomi Ginjal

Ginjal adalah sebuah organ ekskresi yang terletak di area retroperitoneal, di dua sisi samping columna vertebralis. Ginjal berada di bawah kelenjar adrenal serta di depan diafragma dan otot abdomen bagian belakang. Potongan horizontal ginjal menunjukkan tiga lapisan kapsul ginjal, yaitu superfisial, intermedia, dan lapisan dalam. Lapisan superfisial tersusun atas jaringan ikat padat yang tipis dan berfungsi untuk mempertahankan posisi ginjal terhadap dinding abdomen. Lapisan intermedia tersusun atas jaringan adipose untuk melindungi ginjal dari trauma dan gesekan organ intraabdominal. Lapisan dalam tersusun atas jaringan fibrosa dan transparan (Velho, 2013).

Secara histologi, struktur ginjal dibagi menjadi korteks dan medula (bagian luar dan dalam). Pada korteks terdapat struktur yang disebut glomerulus dan *renal column* yang menjulur ke medula. Renal medula berbentuk piramid yang terdiri atas nefron. Nefron adalah unit fungsional ginjal (Velho, 2013).



Gambar 2.1 Ginjal *Rattus norvegicus* dan struktur anatominya (Velho, 2013)



Gambar 2.2 Gambaran histologi ginjal *Rattus norvegicus* (Velho, 2013)

2.1.2 Fisiologi Ginjal

Ginjal adalah salah satu organ ekskresi yang membantu menjaga homeostasis tubuh dengan tiga proses utama, yaitu:

1. Proses filtrasi, dimana darah dan zat-zat lainnya difiltrasi oleh glomerulus dan kapsula Bowman. Proses ini menghasilkan urin primer yang masih mengandung glukosa, garam, natrium, kalium, asam amino, dan protein.

2. Proses reabsorpsi, dimana sebagian kandungan urin primer yang dibutuhkan oleh tubuh diserap kembali. Residu yang dihasilkan berupa urin sekunder yang dalam batas normal hanya mengandung urea, garam dan sedikit asam amino.

3. Proses sekresi, dimana urin sekunder masuk ke dalam tubulus kontortus distal untuk ditambahkan zat-zat yang tidak diperlukan oleh tubuh. Proses ini menghasilkan urin yang dikeluarkan dari tubuh (urin normal). Urin mengandung 95% air, urea, amonia, asam urat, garam mineral, zat warna empedu, dan zat-zat berlebih lainnya (seperti vitamin dan obat-obatan) (Guyton and Hall, 2006).

2.2 Profil Ubi Jalar Ungu (*Ipomoea batatas* L.)

2.2.1 Taksonomi Ubi Jalar Ungu

Kingdom	: Plantae
Subkingdom	: Tracheobionta
Superdivisi	: Spermatophyta
Divisi	: Magnoliophyta
Kelas	: Magnoliopsida
Ordo	: Solanales
Famili	: Convolvulaceae
Genus	: <i>Ipomoea</i>
Spesies	: <i>Ipomoea batatas</i> L. (USDA, 2018)

2.2.2 Profil Umum dan Komposisi Kimia Ubi Jalar Ungu

Ubi jalar diduga berasal dari Benua Amerika dan tersebar ke seluruh dunia pada abad 16, terutama daerah-daerah beriklim tropis. Menurut Rukmana (1997), tanaman ubi jalar memiliki daun bulat hingga lonjong, berukuran lebar, serta berwarna hijau tua atau kekuningan. Batang tanaman ubi jalar berbuku-buku (Akbar, 2015).

Berdasarkan warna umbi, ubi jalar dibedakan menjadi beberapa golongan, yaitu ubi jalar putih, ubi jalar kuning, ubi jalar orange/jingga, dan ubi jalar ungu. Perbedaan warna ubi jalar ini disebabkan karena adanya perbedaan komposisi kimia di dalamnya. Salah satunya adalah kandungan antioksidan, dimana ubi jalar yang berwarna memiliki kandungan antioksidan yang lebih tinggi (Apriliyanti, 2010).

Tabel 2.1 Komponen gizi beberapa jenis ubi jalar (Apriliyanti, 2010)

No.	Kandungan Gizi	Banyaknya dalam			
		Ubi Putih	Ubi Ungu/Merah	Ubi Kuning	Daun
1	Kalori (kal)	123	123	136	47
2	Protein (gr)	1,8	1,8	1,1	2,8
3	Lemak (gr)	0,7	0,7	0,4	0,4
4	Karbohidrat (gr)	27,9	27,9	32,3	10,4
5	Air (gr)	68,5	68,9	-	84,7
6	Serat kasar (gr)	0,9	1,2	1,4	-
7	Kadar gula (gr)	0,4	0,4	0,3	-
8	Betakaroten (mg)	31,2	174,2	-	-

Akibat peningkatan kesadaran masyarakat akan pentingnya hidup sehat, tuntutan konsumen terhadap bahan pangan juga berubah ke arah yang lebih baik. Kriterianya adalah bergizi baik, berpenampilan dan bercitarasa baik, serta memilikifungsi fisiologis bagi tubuh. Ubi jalar ungu adalah salah satu bahan makanan yang jika diolah dengan baik akan memenuhi kriteria di atas. Salah satu senyawa mikronutrien penting di dalam ubi jalar ungu adalah antosianin. (Samber, 2015).

2.2.3 Antosianin dalam Ubi Jalar Ungu

Antosianin adalah salah satu pigmen yang terkandung dalam ubi jalar ungu. Antosianin tergolong flavonoid yang larut dalam air. Flavonoid mengandung dua cincin benzene yang dihubungkan dengan tiga atom karbon dan masing-masing dirapatkan dengan sebuah atom oksigen (Apriliyanti, 2010).

Antosianin memiliki stabilitas yang rendah, terutama terhadap suhu dan pH lingkungan. Suhu tinggi akan merubah zat warna dalam antosianin dan memecahnya, sedangkan perubahan pH akan merubah warna antosianin menjadi merah bila asam dan biru bila basa. Antosianin lebih stabil dalam kondisi asam dibandingkan kondisi netral atau alkali (Samber, 2015).

Ubi jalar ungu memiliki kandungan antosianin yang jauh lebih tinggi daripada ubi jalar jenis lainnya, sehingga dalam beberapa tahun terakhir ini, ubi jalar ungu ditumbuhkembangkan untuk dimanfaatkan bagi kesehatan manusia.

Selain jumlah yang lebih banyak, antosianin dalam ubi jalar ungu umumnya berupa antosianin terasilasi. Asilasi pada antosianin ini membuatnya menjadi lebih stabil, tahan pada suhu dan pH yang lebih ekstrim, serta lebih peka terhadap cahaya. Bagi manusia, efek antioksidan dan antimutagenisitas antosianin terasilasi juga meningkat (Xu *et al.* 2014).

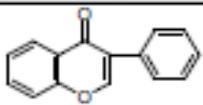
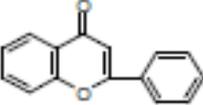
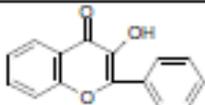
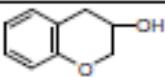
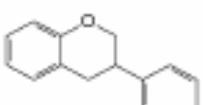
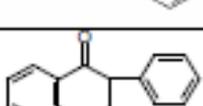
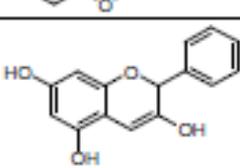
2.3 Antosianin

2.3.1 Sifat Umum Antosianin

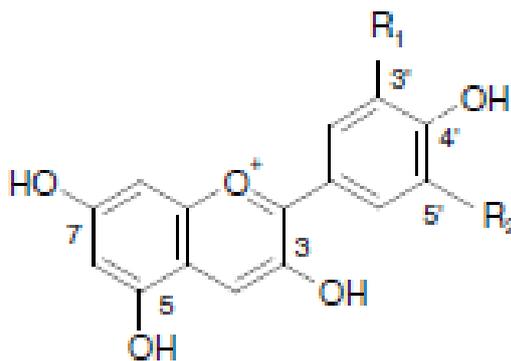
Antosianin adalah salah satu subkelas dari flavonoid yang dikenalkan pertama kali oleh Ludwig C. Marquart pada tahun 1835. Antosianin berasal dari dua kata bahasa Yunani, yaitu *anthos* dan *kyanos* yang berarti bunga dan biru. Saat ini, lebih dari 500 jenis antosianin diisolasi dari tanaman dengan berbagai bentuk dan warna. Antosianin paling banyak dikandung dalam buah beri, dengan kisaran 500-1500 mg/ 100 g berat buah. *Chokeberry* memiliki kandungan antosianin 1480 mg/100 g buahnya (Dreiseitel, 2011).

Antosianin adalah struktur kimia yang larut air dan merupakan derivat garam flavilium yang terglukosilasi. Berbagai jenis gugus glikosil dan asil menghasilkan banyak ragam antosianin, sedangkan antosianin yang tidak terglukosilasi dinamakan antosianidin. Antosianidin hanya memiliki enam varian, yaitu delphinidin, cyanidin, petunidin, pelargonidin, peonidin, dan malvidin.

Keenam varian ini berbeda pada struktur R1, R2, dan R3 pada gambar 2.3 di atas (Dreiseitel, 2011).

Class of substances	Basic chemical structure
FLAVONES	
ISOFLAVONES (daidzein, genistein, glicitein, biochanin A, formononetin)	
FLAVONOLS	
FLAVANOLS	
ISOFLAVANS	
FLAVANONS	
ANTHOCYANINS (aglycon anthocyanidin)	

Gambar 2.3 Struktur Senyawa Derivat Flavonoid (Oancea dan Oprean, 2011)



Gambar 2.4 Struktur Antosianidin (Oancea dan Oprean, 2011)

Tabel 2.2 Perbandingan Struktur Antosianidin (Dreiseitel, 2011)

Anthocyanidin	R1	R2	R3
Cyanidin	OH	OH	H
Delphinidin	OH	OH	OH
Malvidin	O-CH ₃	OH	O-CH ₃
Pelargonidin	H	OH	H
Peonidin	O-CH ₃	OH	H
Petunidin	O-CH ₃	OH	OH

Antosianin merupakan pigmen polar, sehingga dapat larut dalam pelarut polar seperti air, etanol, maupun aseton. Selain itu, antosianin bersifat amfoter sehingga mampu bereaksi dengan asam maupun basa. Dalam larutan, antosianin mudah bertransformasi tergantung pH larutan tersebut. Namun transformasi ini bersifat cepat dan reversibel. Ada empat struktur isoform dari antosianin, yaitu *flavylium cation* (dominan pada pH 1-3 dan menimbulkan warna merah), *hemiketal* (dominan pH 3-5, tidak berwarna), basa quinodal (dominan pada pH 6-8, menimbulkan warna ungu), dan *chalcone* (dominan pada pH lebih dari 8, tidak berwarna) (Dreiseitel, 2011).

2.3.2 Manfaat Antosianin

Menurut Dreiseitel (2011), sejumlah penelitian menunjukkan manfaat antosianin sebagai agen neuroprotektif dan pencegah penyakit kardiovaskular.

Pasien aterosklerosis dengan penyakit arteri koronaria atau stenosis arteri karotis menunjukkan penurunan level disfungsi endotel, tekanan darah sistolik, dan iskemia yang dipicu stress setelah mengonsumsi diet tinggi antosianin.

Penelitian lain membuktikan konsumsi beri yang tinggi antosianin dapat meningkatkan sirkulasi serebrovaskular dan kesehatan kardiovaskular.

Manfaat utama antosianin adalah sebagai agen antioksidan dan pencegah kerusakan DNA. Antosianin dapat mengikat radikal bebas yang membahayakan tubuh, seperti superoksida (O_2^-), hidroksil radikal (HO^\cdot), hidrogen peroksida (H_2O_2), dan oksigen singlet (1O_2). Senyawa-senyawa berbahaya itu tergolong dalam *Reactive Oxygen Species* (ROS) dan bisa memicu timbulnya peroksidasi lipid pada membran sel tubuh. ROS yang tidak terkendali bisa merusak sel, menimbulkan mutasi sel, dan yang paling berbahaya, bisa memicu terbentuknya sel kanker (Oancea, 2011).

Dengan kemampuan antosianin sebagai agen antioksidan, ditunjukkan bahwa konsumsi dengan kandungan antosianin tinggi dapat mencegah hiperlipidemia. Menurut Garcia-Alonso *et al.* (2004), penelitian lain juga menunjukkan dicegahnya penyakit kardiovaskular dengan konsumsi tinggi antosianin. Riset-riset tersebut didasarkan sebagian besar oleh desain *in vitro* dan sisanya dalam desain *in vivo* (Oancea, 2011).

Selain antioksidan, antosianin juga dapat berperan sebagai agen antiinflamasi. Secara garis besar, antosianin bekerja sebagai agen antiinflamasi dengan melakukan netralisasi enzim penghancur jaringan ikat pembuluh darah yang didukung dengan efek antioksidan yang mengikat ROS dan memperbaiki protein dinding pembuluh darah yang rusak tersebut (Oancea, 2011).

Dalam peran antiinflamasi, antosianin dapat menghambat enzim 5-*lipoxygenase* (5-LOX), *calcium-insensitive nitric oxide synthase* (iNOS), dan *cyclooxygenase-2* (COX-2) oleh neutrofil. Selain itu, antosianin juga mampu mencegah pelepasan mediator proinflamasi seperti *interleukin-8* (IL-8), *intercellular adhesion molecule-1* (ICAM-1), *vascular cell adhesion molecule-1* (VCAM-1), dan *monocyte chemoattractant protein-1* (MCP-1). Tak hanya itu,

antosianin dapat menghambat kerja CD40L, NFκB, dan pembentukan foam cell pada otot polos pembuluh darah (Maharani *et al.* 2014).

2.3.3 Toksisitas Antosianin

Uji toksisitas adalah suatu uji untuk mendeteksi efek toksik suatu zat pada sistem biologi dan untuk memperoleh data dosis-respon yang khas dari sediaan uji. Data hasil penelitian tersebut dapat dipakai untuk memberi informasi tentang derajat bahaya sediaan yang diteliti bila terjadi pemaparan pada manusia. Pada tahap berikutnya, dapat ditentukan dosis pemaparan sediaan uji tersebut yang aman bagi manusia. Uji toksisitas menggunakan hewan uji sebagai model untuk mengamati adanya reaksi toksik pada manusia (PerKBPOM, 2014).

Ketika hendak mempromosikan efek positif antosianin bagi masyarakat, tentu harus dipastikan bahwa antosianin memiliki manfaat yang besar dan efek samping atau toksik yang minimal, terutama dalam sediaan oral. Beberapa waktu lalu, antosianin dianggap hanya berasal dari tumbuhan seperti golongan beri, anggur, dan kokoa. Namun akhir-akhir ini, banyak suplemen makanan atau makanan pabrik (yang mengandung ekstrak beri atau biji anggur) diberi tambahan zat antosianin di dalamnya (Dreiseitel, 2011).

Penelitian terhadap toksisitas antosianin masih terbatas. Sebuah penelitian menunjukkan *Acceptable Dosage Intake* (ADI) atau asupan dosis yang dianjurkan oleh antosianin dari kulit anggur adalah 2,5 mg/kg berat badan berdasarkan pengamatan toksisitas jangka pendek pada ekstrak kulit anggur.

Secara umum, ADI untuk antosianin tidak dapat ditetapkan karena kurangnya data toksikologi antosianin. Dan sebagian besar penelitian tersebut fokus pada efek toksik antosianin jangka pendek (Dreiseitel, 2011).

Sangat sedikit penelitian yang mengamati efek toksik antosianin subkronik maupun efek kroniknya. Dalam penelitian yang dilakukan Pourrat *et al.* (1967), tikus yang diberi ekstrak antosianin dosis 6 gram/hari tidak menunjukkan tanda toksisitas pada pemberian antosianin subkronis. Selain itu, ekstrak antosianin dari kismis, beri biru, dan elderberry tidak menunjukkan efek teratogenik pada tikus, mencit, dan kelinci ketika diberikan dosis 1,5 gram, 3 gram, dan 9 gram/kg berat badan secara oral dalam tiga generasi. Nabae *et al.* (2008) memakai antosianin dari jagung ungu dan melaporkan *No Observed-Adverse Effect Level* (NOAEL) antosianin adalah 0,94 gram/kg berat badan pada tikus jantan, serta 1,02 gram/kg berat badan pada tikus betina. Apriliyanti (Dreiseitel, 2011). Penelitian yang dilakukan Kuspradini *et al.* (2016) menunjukkan LC_{50} antosianin dalam empat jenis bunga tropis sangatlah tinggi, dengan kadar terendah yang mencapai LC_{50} adalah bunga *J.integriflora* dengan konsentrasi 243,351 ppm.

Namun sebuah penelitian dari Prakosa *et al.* (2017) menunjukkan adanya efek prooksidan antosianin dalam dosis tinggi. Dalam penelitian tersebut, tikus model diabetes melitus tipe 2 yang diberikan ekstrak antosianin dosis 10 dan 20 mg/kgBB menunjukkan penurunan caspase-3 sehingga dapat menurunkan apoptosis organ. Namun dalam dosis 80 mg/kgBB, antosianin justru menjadi agen prooksidan dan proapoptosis. Ini ditunjukkan dengan peningkatan kadar caspase-3 dan marker prooksidan yaitu MDA (Malondialdehyde). Adanya aktivitas prooksidan dan proapoptosis dapat memicu kerusakan organ, salah satunya adalah ginjal dengan menurunnya laju filtrasi ginjal dan aliran plasma renal. Dari segi histopatologi, adanya aktivitas proapoptosis tentu akan

mengubah gambaran sediaan ginjal menjadi patologis (Kunworarath *et al.*, 2014).

2.4 Uji Toksisitas Subkronis

Uji toksisitas merupakan sebuah uji yang dilakukan untuk mengetahui efek toksik suatu zat terhadap organisme serta memperoleh data dosis-respon yang spesifik dari zat tersebut. Uji toksisitas berguna untuk melihat adanya reaksi biokimia, fisiologi, dan patologi pada manusia terhadap zat yang diuji. Uji toksisitas menggunakan hewan uji sebagai model untuk memberi petunjuk adanya suatu efek toksisitas dan membantu identifikasi efek toksik bila terjadi pemaparan zat uji pada manusia (PerKB POM, 2014).

Uji toksisitas subkronis adalah suatu pengujian untuk mengamati efek toksik yang timbul setelah pemberian zat uji dengan dosis berulang pada hewan percobaan selama kurang dari 10% umur hewan. Uji toksisitas yang dilakukan dalam percobaan ini adalah uji toksisitas subkronis oral, dimana pemberian zat uji dilakukan secara peroral. Prinsip dari uji toksisitas subkronis oral adalah zat uji dalam beberapa tingkat dosis setiap hari pada beberapa kelompok hewan coba selama 28 atau 90 hari. Bila diperlukan, kelompok satelit dapat ditambahkan untuk melihat adanya efek tertunda atau efek yang bersifat reversibel. Tujuan dilakukan uji toksisitas subkronis oral adalah untuk memperoleh informasi adanya efek toksik zat uji yang tidak terdeteksi melalui uji toksisitas akut. Selain itu, uji ini juga dilakukan untuk mendapati kemungkinan adanya efek toksik setelah pemaparan secara berulang dalam jangka waktu tertentu, mengetahui dosis NOAEL, dan mengetahui efek kumulatif serta reversibilitas zat uji tersebut (PerKB POM, 2014).

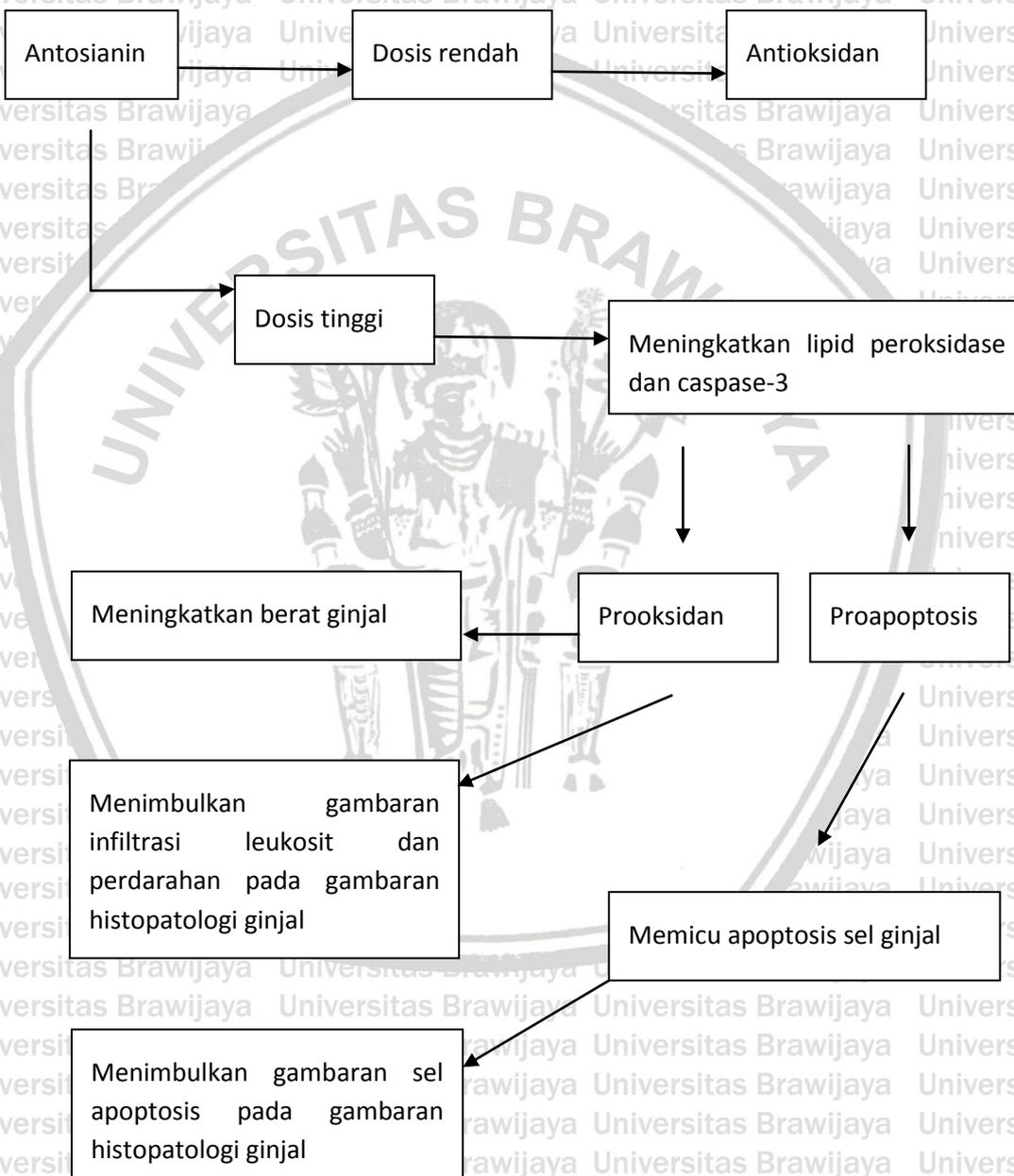
Dalam uji toksisitas subkronis, salah satu hewan yang direkomendasikan adalah tikus putih strain Wistar atau Sprague-Dawley dengan kriteria sehat, dan berusia 6-8 minggu. Masing-masing kelompok dosis memakai minimal 20 ekor (10 jantan dan 10 betina per dosisnya) dengan persebaran berat badan kurang dari 20%. Sebelum perlakuan diberikan, tikus harus daklimatisasi dahulu selama minimal 7 hari. Dosis diuji minimal dalam 3 kelompok, yaitu dosis yang menimbulkan efek toksik berat, efek toksik ringan, dan yang tidak menimbulkan efek toksik. Pemberian zat uji dilakukan peroral dengan volume 1mL sediaan per 100 gram berat tikus (boleh mencapai 2mL bila pelarut zat uji adalah air) (PerKBPOM, 2014).

Pengamatan histopatologi dilakukan pada minimal 5 organ utama, yaitu hati, jantung, ginjal, paru-paru, dan limpa. Organ lain seperti otak, tiroid, pankreas, tulang, testis, ovarium, dan sebagainya boleh diamati pula bila memungkinkan. Setiap organ dan jaringan yang sudah dipisahkan dimasukkan ke dalam larutan formaldehida 10% dan diproses menjadi preparat histopatologi, dilanjutkan dengan pemeriksaan preparat di bawah mikroskop (PerKBPOM, 2014).

BAB III

KERANGKA KONSEP DAN HIPOTESIS PENELITIAN

3.1 Kerangka Konsep



Penjelasan:

Ubi jalar ungu adalah salah satu tanaman yang sering dijadikan konsumsi masyarakat. Salah satu zat aktif yang terkandung dalam ubi jalar ungu adalah antosianin yang memiliki banyak manfaat seperti agen neuroprotektif, pencegah penyakit kardiovaskular, agen antioksidan, serta antiinflamasi. Banyak penelitian pendahulu yang menunjukkan manfaat dari antosianin, Sebagai contoh, Dreiseitel (2011) menunjukkan efek neuroproteksi antosianin dengan cara meningkatkan sirkulasi serebrovascular. Efek kardiovaskular ditunjukkan dengan menurunnya level disfungsi endotel, penurunan tekanan darah sistolik, dan penurunan level iskemia yang dipicu stress pada pasien aterosklerosis.

Antosianin juga mampu berperan sebagai antioksidan dengan mengikat radikal bebas yang berbahaya bagi tubuh seperti O_2^- , HO^- , H_2O_2 , dan 1O_2 serta mencegah hyperlipidemia (Oancea, 2011). Sedangkan sebagai antiinflamasi, antosianin dapat menghambat kerja enzim-enzim proinflamasi seperti 5-*lipoxygenase* (5-LOX), *calcium-insensitive nitric oxide synthase* (iNOS), *cyclooxygenase-2* (COX-2), *interleukin-8* (IL-8), *intercellular adhesion molecule-1* (ICAM-1), *vascular cell adhesion molecule-1* (VCAM-1), *monocyte chemoattractant protein-1* (MCP-1), CD40L, dan NF κ B (Maharani *et al*, 2014).

Namun antosianin juga diketahui memiliki efek prooksidan dan proapoptosis pada dosis tinggi, dimana antosianin dapat memicu produksi lipid peroksidase dan caspase-3 yang menyebabkan kerusakan dan apoptosis sel. Pada ginjal, efek apoptosis ini akan menimbulkan penurunan laju filtrasi ginjal dan aliran plasma ginjal. Selain itu dengan berkurangnya sel ginjal yang hidup, maka berat organ ginjal dapat menurun dan akan menimbulkan kelainan gambaran histopatologi pada ginjal. (Prakosa *et al*, 2017).

3.2 Hipotesis Penelitian

Peningkatan ekstrak etanol ubi jalar ungu (*Ipomoea batatas L.*) menimbulkan peningkatan berat ginjal serta menimbulkan gambaran infiltrasi leukosit dan perdarahan pada sediaan histopatologi ginjal *Rattus norvegicus* strain Wistar.



BAB 4

METODE PENELITIAN

4.1 Rancangan Penelitian

Penelitian ini merupakan penelitian eksperimental laboratorium dengan rancangan *true experimental - post test only control group design* yang bertujuan untuk mengetahui dan membandingkan beberapa kelompok perlakuan.

Penelitian ini menggunakan tikus Wistar (*Rattus norvegicus*) yang dipaparkan dengan menggunakan ekstrak etanol dari ubi jalar ungu (*Ipomoea batatas* L.) kultivar Gunung Kawi.

4.2 Populasi dan Sampel

4.2.1 Populasi penelitian

Populasi penelitian adalah tikus Wistar yang diperoleh dari Pusat Breeding Tikus D' Wistar Bandung, Jawa Barat.

4.2.2 Sampel penelitian

Sebagai sampel penelitian, digunakan tikus wistar sebanyak 80 ekor dengan rincian 40 ekor tikus jantan dan 40 ekor tikus betina, kemudian dilakukan *screening* dengan kriteria sebagai berikut:

Kriteria inklusi:

1. Tikus jenis *Rattus norvegicus strain Wistar*
2. Sehat dan aktif
3. Jenis kelamin jantan dan betina
4. Umur 6 - 8 minggu

5. Nullipara

6. Warna bulu putih

Kriteria eksklusi:

1. Tikus yang tidak mau makan

2. Tikus yang mengalami penurunan keadaan fisik atau mati (dapat diyakini tidak disebabkan oleh pemberian ekstrak etanol ubi ungu).

3. Bunting

Pada penelitian ini tikus dibagi dalam 4 perlakuan, yaitu :

- a. kelompok yang diberikan ekstrak antosianin dengan dosis 10 $\mu\text{g/mL}$
- b. kelompok yang diberikan ekstrak antosianin dengan dosis 20 $\mu\text{g/mL}$
- c. kelompok yang diberikan ekstrak antosianin dengan dosis 40 $\mu\text{g/mL}$
- d. kelompok kontrol yang tidak diberi ekstrak antosianin.

Jumlah pengulangan yang diberikan pada setiap kelompok perlakuan adalah menggunakan 20 ekor tikus (10 ekor tikus jantan dan 10 ekor tikus betina) dengan usia dan berat badan yang sama.

4.2.3 Teknik Sampling

Pengambilan sampel dilakukan dengan menggunakan teknik *stratified random sampling*.

4.3 Tempat dan Waktu Penelitian

Penelitian dilaksanakan di Laboratorium Biosains Universitas Brawijaya pada bulan Oktober 2018 – Januari 2018

4.4 Variabel Penelitian

4.4.1 Variabel Bebas

Variabel bebas dalam penelitian ini adalah pemberian ekstrak antosianin ubi ungu (*Ipomoea batatas* L.) kultivar Gunung Kawi.

4.4.2 Variabel Terikat

Variabel tergantung dalam penelitian ini adalah perubahan berat ginjal dan gambaran histopatologi ginjal tikus Wistar (*Rattus norvegicus*).

4.4.3 Variabel Kontrol

Variabel kontrol dalam penelitian ini adalah suhu ruangan, makanan, minuman, kondisi kandang, dan waktu lamanya terpapar antosianin.

4.5 Definisi Operasional

1. Ekstrak etanol ubi ungu adalah hasil ekstraksi dengan metode maserasi etanol dari ubi ungu *Ipomoea batatas* (L) Lam yang diperoleh dari lereng Gunung Kawi, Dusun Segelan, Desa Baleasri, Kec. Ngajum, Kab. Malang, Jawa Timur, Indonesia.
2. Hewan Coba yang digunakan adalah tikus *Rattus norvegicus* Strain Wistar berjenis kelamin jantan dan betina yang diperoleh dari Pusat Breeding Tikus De' Wistar Bandung, Jawa Barat.
3. Berat organ absolut adalah berat organ yang dikeringkan terlebih dahulu dengan kertas penyerap, kemudian segera ditimbang untuk mendapatkan berat absolut.
4. Berat relatif organ yaitu berat organ absolut dibagi berat badan.

5. Uji toksisitas subkronis oral adalah suatu pengujian untuk mendeteksi efek toksik yang muncul setelah pemberian sediaan ekstrak etanol ubi ungu Kultivar Gunung Kawi dengan dosis berulang yakni 10 mg/kgBB pada 20 ekor (10 ekor jantan dan 10 ekor betina) 20 mg/kgBB (10 ekor jantan dan 10 ekor betina) dan 40 mg/kgBB (10 ekor jantan dan 10 ekor betina) yang diberikan secara oral pada hewan uji selama sebagian umur hewan, tetapi tidak lebih dari 10% seluruh umur hewan selama 90 hari.

6. Pembuatan sediaan histopatologi dilakukan dengan pengecatan Hematoxylin-Eosin (HE) untuk melihat adanya gambaran infiltrasi leukosit dan perdarahan pada sediaan tersebut.

7. Kuantifikasi gambaran perdarahan dalam pengecatan HE ginjal adalah sebagai berikut (Kubiak *et al*, 2010):

- a. Skor (-): Tidak ada gambaran perdarahan.
- b. Skor (1+): Perdarahan timbul secara sporadis, luas area gambaran kurang dari 25%.
- c. Skor (2+): Perdarahan timbul dengan luas area gambaran lebih dari 25%, tapi kurang dari 50%.
- d. Skor (3+): Perdarahan timbul dengan luas area gambaran lebih dari 50%, tapi kurang dari 75%.
- e. Skor (4+): Perdarahan timbul dengan luas area gambaran lebih dari 75%.

8. Kuantifikasi gambaran infiltrasi leukosit dalam pengecatan HE ginjal adalah sebagai berikut (Kubiak *et al*, 2010):

- a. Skor (-): Tidak ada gambaran infiltrasi leukosit.

- b. Skor (1+): Infiltrasi leukosit timbul secara sporadis dan tidak membentuk fokus infiltrasi.
- c. Skor (2+): Infiltrasi leukosit membentuk fokus infiltrasi.
- d. Skor (3+): Gabungan 1+ dan 2+ (infiltrasi leukosit sebagian tersebar dan sebagian membentuk fokus infiltrasi).
- e. Skor (4+): Infiltrasi leukosit timbul di seluruh lapang pandang.
9. Kuantifikasi gambaran histopatologi ginjal dilakukan dengan mengamati 5 lapang pandang untuk setiap tikus.

4.6 Bahan dan Alat Penelitian

4.6.1 Bahan penelitian

Bahan-bahan yang digunakan dalam penelitian ini adalah :

1. Pakan standar, yakni Pellet Calf Starter
2. Ketamine untuk euthanasia 1,5 mL/kg BB
3. Ekstrak etanol ubi ungu didapat dari isolasi dan purifikasi Ubi Ungu (*Ipomoea batatas* L) Varian Ungu Kultivar Gunung Kawi yang dilakukan di Laboratorium Prog.Studi Farmasi FKUB
4. Formalin 10 % untuk mengawetkan organ
5. Plastik sebagai wadah organ

4.6.2 Alat penelitian

Alat-alat yang digunakan dalam penelitian ini adalah :

1. Pemeliharaan binatang coba : kandang plastik, tempat pakan, dan botol air
2. Sonde untuk memaparkan ekstrak etanol ubi ungu secara oral

3. Pengambilan dan penyimpanan sampel darah : Jarum suntik dan spuit 10 ml disposable, tabung *falcon* 15 ml, vacutainer merah dan ungu, mikro pipet, dan sentrifuge.
4. Satu set alat untuk pembedahan
5. Botol penyimpanan sampel organ

4.7 Metode Pengumpulan Data

4.7.1 Metode Pengenceran Ekstrak Antosianin

1. Menyiapkan kalkulator, mikro pipet, vortex, tabung, timbangan (Chyo), sendok timbang, kertas alumunium, sterile water dan ekstrak antosianin.
2. Menghitung dosis yg diberikan kepada tikus berdasarkan berat badannya dengan kalkulator.
3. Mengambil ekstrak antosianin dengan sendok timbang dan meletakkan di atas kertas alumunium hingga sesuai dengan berat yg dibutuhkan.
4. Memindahkan ekstrak antosianin yg telah dihitung ke dalam tabung.
5. Menuangkan 50 mL sterile water ke dalam tabung besar.
6. Mengisi masing-masing tabung yg berisi ekstrak antosianin dengan 2 mL sterile water yg dipindahkan dengan mikro pipet.
7. Mencampurkan larutan ekstrak antosianin dan sterile water dengan menggunakan vortex sampai tercampur merata dan tidak ada gumpalan ekstrak antosianin.

4.7.2 Metode Aklimatisasi dan Pemeliharaan Tikus

1. Tikus dipesan tiga bulan sebelum didatangkan ke Laboratorium Biosains Universitas Brawijaya.

2. Tikus di-*packing* dan diantar menuju Kota Malang menggunakan kereta barang khusus ruang hewan dalam suhu standar (21-22°C). *Packing* dan pengantaran tikus diatur oleh perusahaan De Wistar.
3. Setibanya di stasiun, tikus dimasukkan dalam boks minim guncangan, dalam suhu standar (21-22°C) untuk diantar menuju ke Laboratorium Biosains Universitas Brawijaya.
4. Setelah tiba di laboratorium, tikus dimasukkan ke dalam kandang individual yang telah disiapkan sebelumnya (pemberian sekam, makanan, dan minuman).
5. Observasi dan pengambilan data dilakukan sejak aklimatisasi tikus.
6. Aklimatisasi dilakukan selama dua minggu
7. Pemberian perlakuan diberikan selama 90 hari dan hasil diamati setelah pembedahan pada hari ke-91.

4.7.3 Metode Penggantian Sekam

1. Mengeluarkan semua kandang tikus yang akan dibersihkan dan diganti sekamnya.
2. Mempersiapkan beberapa kandang sementara untuk penempatan tikus yang kandangnya dicuci dan sekamnya diganti.
3. Membuang sekam yang kotor, kemudian mencuci kandang dan tempat makan tikus dengan menggunakan spons dan sabun.
4. Mengeringkan kandang dengan menggunakan kain microfiber.
5. Mengisi kandang dengan sekam baru.
6. Memindahkan tikus dari kandang sementara ke kandang semula.

4.7.4 Metode Penggantian dan Penimbangan Pakan Tikus

1. Mengambil sisa pakan dari kandang tikus.

2. Meletakkan sisa pakan di atas timbangan.
3. Membaca berat sisa pakan yang tertera di timbangan.
4. Mencatat berat sisa pakan tikus.
5. Memberi bungkus makanan baru pada wadah tempat makan tikus.

4.7.5 Metode Pembedahan Tikus

1. Tikus telah dipuaskan 24 jam sebelum pembedahan.
2. Menimbang berat badan tikus yang akan dibeidh.
3. Mencatat berat badan tikus di label yang tersedia.
4. Memindahkan tikus dari kandang ke ruang bedah Laboratorium Biosains UB.
5. Menyiapkan peralatan, yaitu ketamine (dosis 1,5 mg/kgBB), papan bedah, peralatan bedah, spuit 10cc, tabung falcon 15 ml, vacutainer merah dan ungu, tabung tempat organ (tabung organ segar dan tabung organ berisi formalin 10%), tempat mencuci organ dan neraca analitik.
6. Memberi label nama hewan coba pada setiap spuit, tabung falcon, tabung untuk tempat serum (vacutainer), dan tabung tempat organ.
7. Pembedahan dilakukan oleh teknisi yang memiliki pengalaman dalam membedah tikus.

4.7.6 Metode Penimbangan Organ

1. Organ diambil dari tikus dengan hati-hati. Organ yang diambil adalah enam organ utama yaitu jantung, hati, limpa, paru, kedua ginjal, dan pankreas.
2. Organ dikeringkan terlebih dahulu dengan kertas penyerap.

3. Bobot absolut organ ditimbang dengan timbangan segera setelah dikeringkan dan dicatat.
4. Bobot relatif organ dianalisis dengan membagi bobot organ absolut dengan bobot badan.
5. Setelah penimbangan, organ segera dimasukkan dalam larutan dapar formaldehida 10% dan dikirimkan ke laboratorium untuk pembuatan preparat histopatologi.

4.7.7 Metode Pembuatan Sediaan Histopatologi dengan Pengecatan HE

- a. Jaringan yang diterima diperiksa dan disesuaikan dengan identitas tikus.
- b. Jaringan dimasukkan segera ke dalam wadah berisi formalin 10% dengan volume minimal 5x volume jaringan tersebut.
- c. Jaringan direndam selama 18 jam untuk difiksasi. Setelah itu dipotong dengan ketebalan 2-3 mm (3 *slices*/kaca objek/tikus) dengan arah aksial/horizontal.
- d. Jaringan dimasukkan dalam kaset, ditutup, dan diberi nomor. Lalu direndam dalam formalin 10% buffer Fosfat.
- e. Melakukan tahap *processing* yang meliputi penyempurnaan fiksasi, dehidrasi (dengan alcohol 70-100%), pembersihan (dengan cairan xylol), dan impregnasi.
- f. Melakukan *embedding* jaringan dengan parafin dan memberi nomor blok parafin.
- g. Blok paraffin didinginkan pada lempeng pendingin, lalu dipotong memakai mikrotom.

- h. Pita paraffin hasil pemotongan dipaparkan pada pemanas air dan pita jaringan diletakkan pada kaca *slide*.
- i. Melakukan deparafinisasi dan rehidrasi dengan air kran.
- j. Melakukan pulasan HE, lalu dilakukan mounting.
- k. Slide kaca diberi nomor sesuai nomor blok, lalu diperiksa untuk ditentukan deskripsi gambaran histopatologinya. Waktu yang diperlukan untuk pengecatan ini adalah 5 hari.
- l. Sediaan diamati untuk dilihat adanya sel apoptosis beserta jumlahnya (bila ada).

4.8 Pengolahan Data

Data berat ginjal dan gambaran histopatologinya dikumpulkan dan diolah dengan menggunakan *software SPSS for Windows 21.0* dan dinyatakan dalam rerata \pm simpangan baku (*mean \pm SD*). Data variabel bebas bertipe ordinal, sedangkan variabel terikat bertipe rasio untuk berat relatif ginjal, dan bertipe ordinal untuk gambaran histopatologi. Dilakukan uji normalitas data dengan *Shapiro-Wilk Test* dan uji homogenitas data dengan *Levene Test*. Pada parameter berat relatif ginjal, jika data terdistribusi normal dan homogen, dilakukan uji parametrik *One Way ANOVA* dengan batas signifikansi $p < 0,05$ dan interval kepercayaan pada tingkat 95%. Bila data tidak terdistribusi normal atau tidak homogen, dilakukan uji nonparametrik *Kruskall Wallis Test*. Sedangkan untuk parameter histopatologi ginjal, uji analisis statistik yang dilakukan adalah menggunakan uji nonparametrik *Kruskall-Wallis*.

BAB 5

HASIL PENELITIAN DAN ANALISIS DATA

5.1 Variabel Dosis

5.1.1 Hasil Penelitian

Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui adanya efek toksik pemberian ekstrak etanol ubi jalar ungu kultivar Gunung Kawi dilihat dari berat organ dan gambaran histopatologi ginjal *Rattus norvegicus*. Pemeliharaan tikus dilakukan selama 90 hari (dengan aklimatisasi sebelumnya selama 14 hari). Dalam waktu 90 hari tersebut, tikus diberikan ekstrak etanol setiap hari dengan cara disonde oleh teknisi yang berpengalaman sesuai dengan dosis yang ditentukan. Dosis yang digunakan dalam penelitian ini adalah dosis kontrol, dosis 10mg/kgBB, dosis 20mg/kgBB, dan dosis 40mg/kgBB. Setelah 90 hari, tikus dibedah dan ginjal tikus diambil untuk dihitung beratnya. Berat ginjal ini lalu direkap, kemudian ginjal tikus yang telah ditimbang tersebut dibuat sediaan preparat histopatologi dengan pengecatan Hematoxylin-Eosin (HE). Setelah proses pengecatan selesai, preparat diamati di bawah mikroskop cahaya. Adanya efek toksik prooksidan pada sediaan histopatologi ginjal tikus dilihat dari munculnya gambaran perdarahan dan infiltrasi leukosit. Setiap kelompok dosis terdiri dari 20 tikus (10 tikus jantan dan 10 tikus betina) sesuai dengan persyaratan uji toksisitas subkronis dari PerKB POM tahun 2014. Perincian data hasil penelitian pada setiap kelompok perlakuan dicantumkan pada lampiran. Data rata-rata berat organ dan gambaran histopatologi ginjal dapat dilihat pada tabel-tabel di bawah ini.

Tabel 5.1 Rata-Rata Berat Ginjal Tikus

Parameter	K	D10	D20	D40
BRJ	6,38 ± 0,63	6,73 ± 0,61	6,81 ± 0,30	7,28 ± 1,43
BRB	6,94 ± 2,01	6,82 ± 0,81	7,27 ± 0,45	7,49 ± 0,52

Keterangan:

BRJ: Berat Relatif ginjal tikus jantan

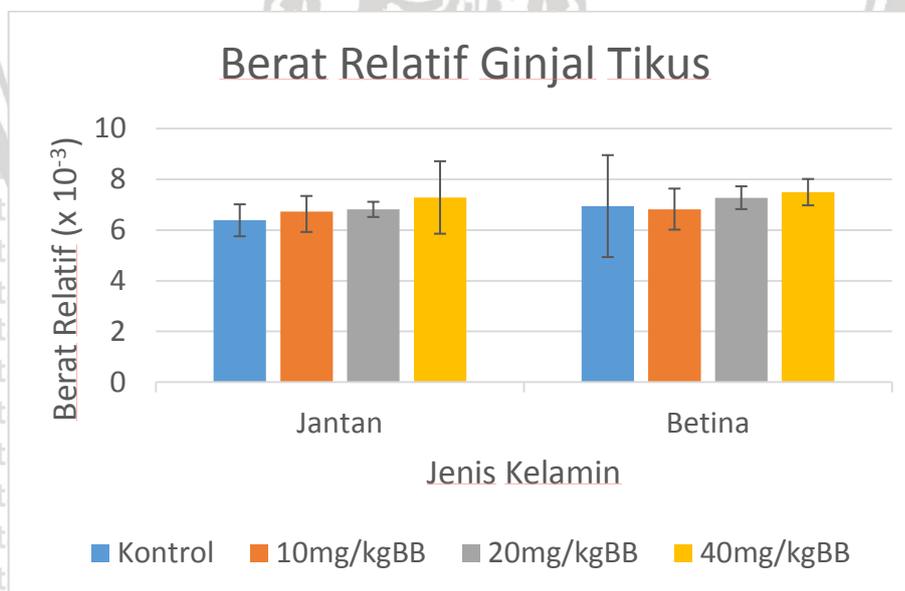
D10: Kelompok dosis 10mg/kgBB

BRB: Berat Relatif ginjal tikus betina

D20: Kelompok dosis 20mg/kgBB

K: Kelompok kontrol

D40: Kelompok dosis 40mg/kgBB



Gambar 5.1 Rerata berat relatif ginjal tikus variabel dosis. Tidak ditemukan adanya perbedaan berat relatif ginjal tikus antarkelompok dosis, baik pada tikus jantan ($p = 0,469$) maupun pada tikus betina ($p = 0,136$).

Tabel 5.2 Persebaran Frekuensi Munculnya Gambaran Perdarahan dalam Pengecatan Hematoxylin-Eosin (HE) Ginjal Tikus

Para meter	K				D10				D20				D40							
	1	2	3	4	1	2	3	4	1	2	3	4	1	2	3	4				
Hem.J	1	7	2	0	0	3	6	1	0	0	2	5	3	0	0	3	6	0	1	0
Hem. B	5	4	1	0	0	3	6	1	0	0	1	8	1	0	0	0	9	1	0	0
Total	6	1	3	0	0	6	1	2	0	0	3	1	4	0	0	3	1	1	1	0

Keterangan:

Hem.J: Frekuensi timbulnya perdarahan tikus jantan

Hem.B: Frekuensi timbulnya perdarahan tikus betina

K: Kelompok kontrol

D20: Kelompok dosis 20mg/kgBB

D10: Kelompok dosis 10mg/kgBB

D40: Kelompok dosis 40mg/kgBB

Tabel 5.3 Persebaran Frekuensi Munculnya Gambaran Infiltrasi Leukosit dalam Pengecatan Hematoxylin-Eosin (HE) Ginjal Tikus

Para meter	K				D10				D20				D40							
	1	2	3	4	1	2	3	4	1	2	3	4	1	2	3	4				
Leuko.J	3	6	1	0	0	4	5	0	1	0	5	5	0	0	0	3	6	1	0	0
Leuko.B	0	8	1	1	0	3	7	0	0	0	2	7	1	0	0	3	6	1	0	0

Total	3	14	2	1	0	7	12	0	1	0	7	12	1	0	0	6	12	2	0	0
-------	---	----	---	---	---	---	----	---	---	---	---	----	---	---	---	---	----	---	---	---

Keterangan:

Leuko.J: Frekuensi timbulnya infiltrasi leukosit tikus jantan

Leuko.B: Frekuensi timbulnya infiltrasi leukosit tikus betina

K: Kelompok kontrol

D20: Kelompok dosis 20mg/kgBB

D10: Kelompok dosis 10mg/kgBB

D40: Kelompok dosis 40mg/kgBB

Tabel 5.4 Rata-Rata Frekuensi Gambaran Perdarahan dan Infiltrasi Leukosit

Ginjal Tikus

Parameter	K	D10	D20	D40
Hem.J	1,00 ± 0,4714	0,80 ± 0,6325	1,10 ± 0,7379	0,90 ± 0,8756
Hem.B	0,60 ± 0,6992	0,80 ± 0,6325	1,00 ± 0,4714	1,10 ± 0,3162
Leuko.J	0,80 ± 0,6325	0,80 ± 0,9189	0,50 ± 0,5271	0,80 ± 0,6325
Leuko.B	1,30 ± 0,6750	0,70 ± 0,4831	0,90 ± 0,5277	0,80 ± 0,6325

Keterangan:

Hem.J: Frekuensi timbulnya perdarahan tikus jantan

Hem.B: Frekuensi timbulnya perdarahan tikus betina

Leuko.J: Frekuensi timbulnya infiltrasi leukosit tikus jantan

Leuko.B: Frekuensi timbulnya infiltrasi leukosit tikus betina

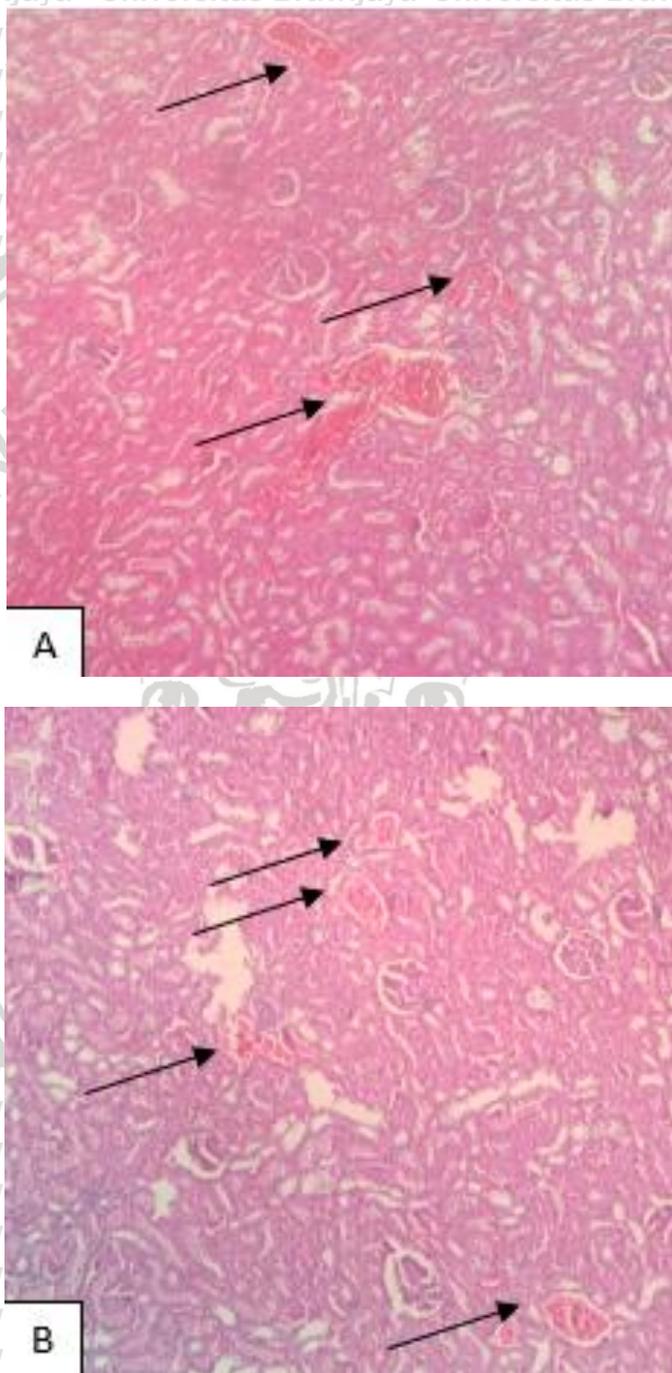
K: Kelompok kontrol

D20: Kelompok dosis 20mg/kgBB

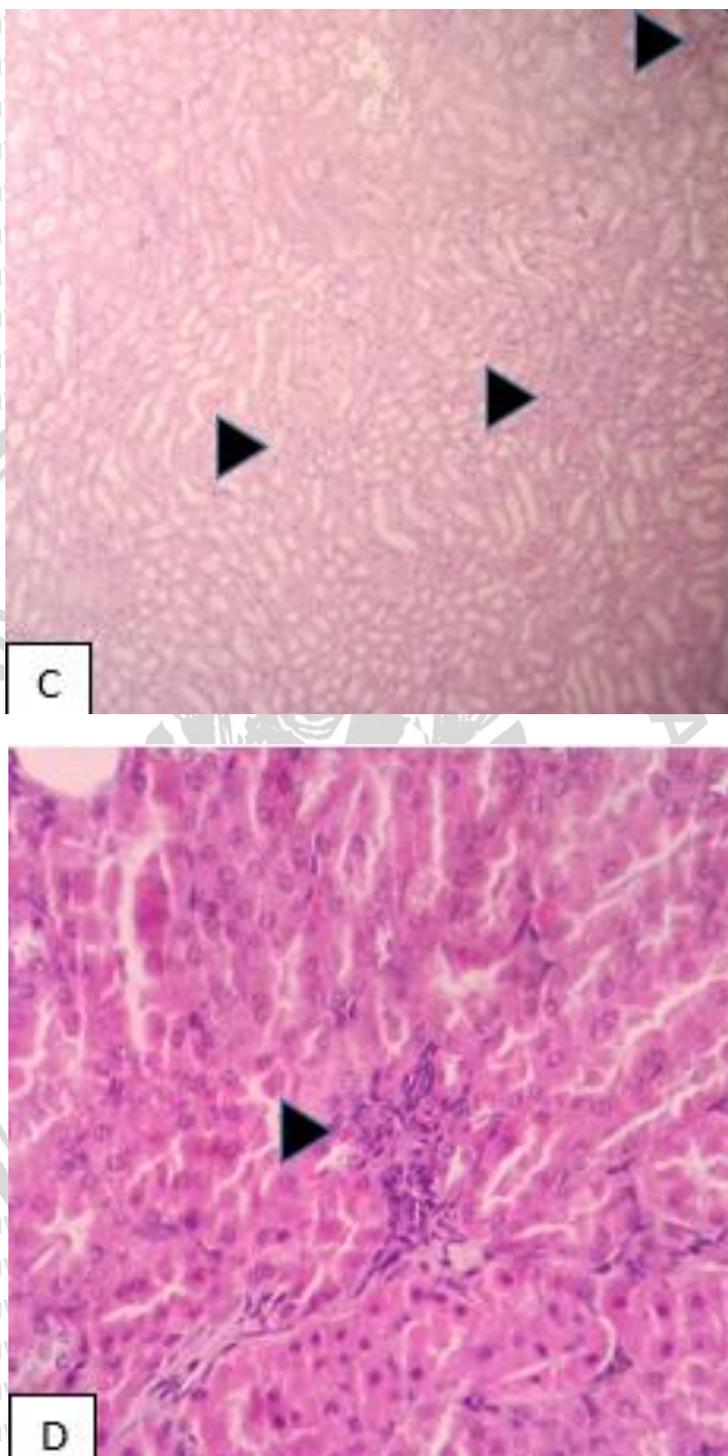
D10: Kelompok dosis 10mg/kgBB

D40: Kelompok dosis 40mg/kgBB

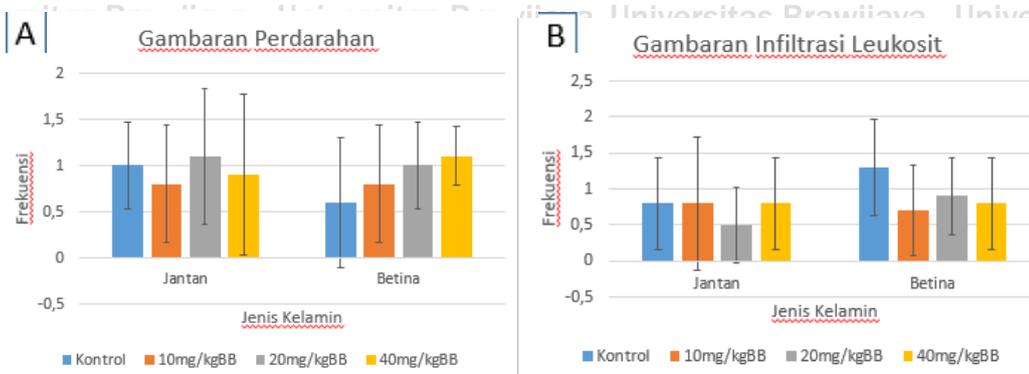




Gambar 5.2 Gambaran perdarahan ginjal tikus. Contoh gambaran perdarahan dengan perbesaran 100x. Tanda panah menunjukkan gambaran perdarahan,



Gambar 5.3 Gambaran infiltrasi leukosit ginjal tikus. Contoh gambaran perdarahan dengan perbesaran 100x (C) dan 400x (D).Tanda kepala panah menunjukkan gambaran infiltrasi leukosit,



Gambar 5.4 Frekuensi timbulnya gambaran histopatologi ginjal tikus variabel dosis. Tidak ditemukan perbedaan yang signifikan antarkelompok dosis pada parameter perdarahan ($p = 0,663$ untuk kelompok tikus betina dan $p = 0,162$ untuk kelompok tikus jantan) dan infiltrasi leukosit ($p = 0,682$ untuk kelompok tikus jantan dan $p = 0,183$) untuk kelompok tikus betina). Keterangan: A. Parameter perdarahan B. Parameter infiltrasi leukosit

5.1.2 Analisis Data

Proses analisis data dalam penelitian ini dilakukan dengan bantuan program *IBM SPSS Statistics 21.0 for Windows*. Variabel bebas dalam penelitian ini adalah dosis pemberian ekstrak etanol ubi ungu yang berskala ordinal. Variabel terikat dalam penelitian ini adalah berat organ yang berskala numerik dan gambaran histopatologi ginjal tikus yang berskala ordinal. Seluruh variabel tidak berpasangan dan terdiri atas lebih dari 2 kelompok.

5.1.2.1 Analisis Berat Organ

Analisis data berat organ diawali dengan uji normalitas *Shapiro-Wilk Test* dan uji homogenitas *Levene Test*. Apabila data terbukti terdistribusi normal dan homogen, maka data dianalisis dengan uji *One-Way ANOVA*, sedangkan apabila

data tidak terdistribusi normal atau tidak homogen, analisis data dilakukan dengan uji *Kruskall-Wallis*.

- Uji Normalitas

Untuk mengetahui kondisi distribusi data, dilakukan uji normalitas

Shapiro Wilk untuk berat ginjal tikus jantan atau betina. Hasil analisis statistik

Shapiro Wilk secara lengkap dicantumkan pada bagian lampiran. Dari data

berat ginjal tikus, semua kelompok dosis ekstrak etanol dalam kelompok tikus

jantan menunjukkan nilai $p > 0,05$ sehingga dapat disimpulkan bahwa

distribusi data berat ginjal tikus jantan normal. Tetapi untuk kelompok tikus

betina, pada kelompok dosis 40mg/kgBB, nilai $p < 0,05$. Sehingga untuk

kelompok tikus betina, distribusi datanya tidak normal.

- Uji Homogenitas

Selain uji normalitas di atas, diperlukan uji homogenitas untuk

mengetahui variansi data yang didapatkan dan menentukan uji analisis

statistik manakah yang digunakan. Dari parameter berat ginjal tikus,

didapatkan $p < 0,05$ dari seluruh kelompok perlakuan. Hal ini menunjukkan

data berat ginjal yang didapat tidak homogen. Maka analisis statistik

parameter berat ginjal tikus yang akan digunakan adalah uji nonparametrik

Kruskall-Wallis.

- Uji Nonparametrik *Kruskall-Wallis*

Uji nonparametrik *Kruskall-Wallis* digunakan untuk mengetahui ada atau

tidaknya perbedaan rata-rata berat ginjal secara signifikan antarkelompok

dosis ekstrak etanol (kontrol, dosis 10mg/kgBB, dosis 20mg/kgBB, dan dosis

40mg/kgBB). Hipotesis nol (H_0) diterima apabila nilai $p > 0,05$ dan ditolak apabila $p < 0,05$. H_0 yang diajukan pada uji analisis ini adalah “Tidak didapatkan adanya perbedaan rata-rata berat ginjal secara signifikan antarkelompok dosis”. Dari uji *Kruskall-Wallis* untuk parameter berat ginjal, didapatkan $p = 0,469$ untuk kelompok tikus jantan dan $p = 0,136$ untuk kelompok tikus betina. Oleh karena kedua nilai p tersebut $> 0,05$, H_0 diterima.

Maka kesimpulan yang dapat diambil adalah: Tidak didapatkan adanya perbedaan rata-rata berat ginjal secara signifikan antarkelompok dosis.

5.1.2.2 Analisis Gambaran Histopatologi

Sama seperti analisis data berat ginjal, analisis gambaran histopatologi (perdarahan dan infiltrasi leukosit) juga diawali dengan uji normalitas *Shapiro-Wilk* dan uji homogenitas *Levene Test*. Sedangkan analisis statistik yang digunakan untuk gambaran histopatologi ginjal adalah *Kruskall-Wallis Test*.

- Uji normalitas dan homogenitas

Uji *Shapiro-Wilk* dilakukan pada kedua data parameter histopatologi.

Kedua data menunjukkan distribusi yang tidak normal pada seluruh parameter dan jenis kelamin. Sedangkan uji *Levene Test* menunjukkan data yang bersifat homogen. Untuk mengetahui signifikansi perbedaan antara dosis dan frekuensi timbulnya gambaran perdarahan dan infiltrasi leukosit, dilakukanlah uji nonparametrik *Kruskall-Wallis*.

- Uji nonparametrik *Kruskall-Wallis*

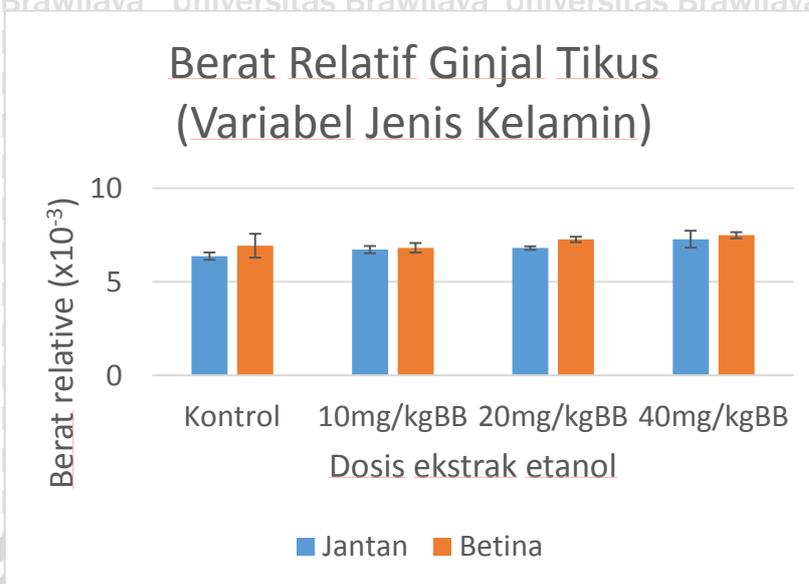
Uji nonparametrik *Kruskall-Wallis* digunakan untuk mengetahui ada atau tidaknya perbedaan gambaran histopatologi ginjal secara signifikan antarkelompok dosis ekstrak etanol (kontrol, dosis 10mg/kgBB, dosis

20mg/kgBB, dan dosis 40mg/kgBB). Hipotesis nol (H_0) diterima apabila nilai $p > 0,05$ dan ditolak apabila $p < 0,05$. H_0 yang diajukan pada uji analisis ini adalah “Tidak didapatkan adanya perbedaan gambaran histopatologi ginjal secara signifikan antarkelompok dosis”. Dari uji *Kruskall-Wallis* untuk parameter gambaran perdarahan ginjal, didapatkan $p = 0,663$ untuk kelompok tikus jantan, $p = 0,182$ untuk kelompok tikus betina. Sedangkan untuk parameter infiltrasi leukosit, didapatkan $p = 0,682$ untuk kelompok tikus jantan dan $p = 0,183$ untuk kelompok tikus betina. Oleh karena seluruh nilai p tersebut $> 0,05$, H_0 diterima. Berdasarkan hasil analisis statistik di atas, dapat diambil kesimpulan bahwa tidak didapatkan adanya perbedaan gambaran histopatologi ginjal secara signifikan antarkelompok dosis.

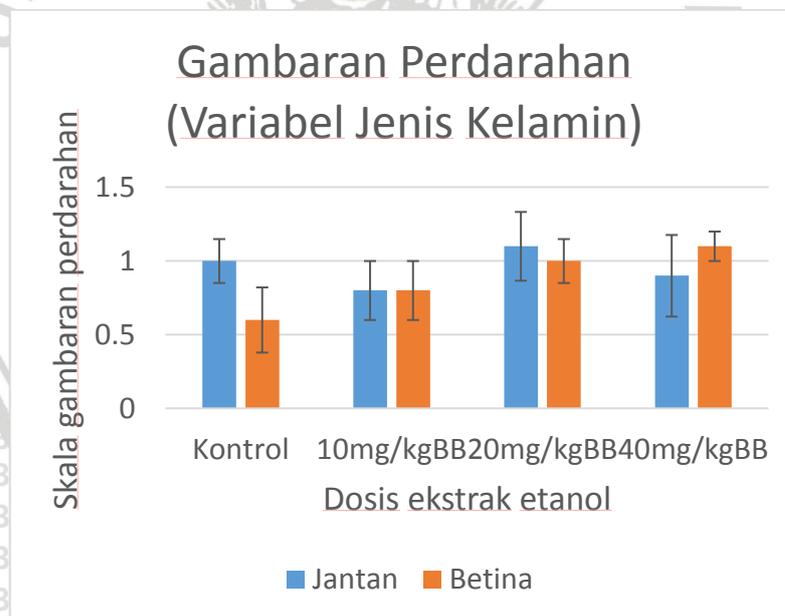
5.2 Variabel Jenis Kelamin

Pada penelitian ini selain dilakukan analisis statistik berdasarkan variabel dosis, pengamatan juga dilakukan berdasarkan perbedaan jenis kelamin. Data lengkap hasil analisis statistik dapat dilihat pada bagian Lampiran.

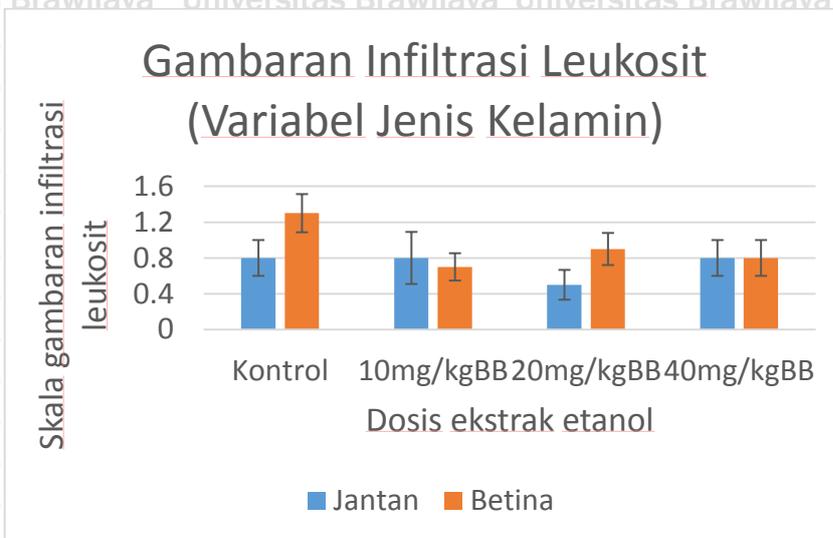
5.2.1 Hasil Penelitian



Gambar 5.5 **Rerata berat relatif ginjal tikus variabel jenis kelamin.** Tidak ditemukan adanya perbedaan berat relatif ginjal tikus antarjenis kelamin, baik pada tikus kontrol ($p = 0,597$), dosis 10mg/kgBB ($p = 0,768$), dosis 20mg/kgBB ($p = 0,115$), maupun dosis 40mg/kgBB ($p = 0,131$).



Gambar 5.6 **Rerata frekuensi gambaran perdarahan ginjal tikus variabel jenis kelamin.** Tidak ditemukan adanya perbedaan frekuensi perdarahan ginjal tikus antarjenis kelamin, baik pada tikus kontrol ($p = 0,118$), dosis 10mg/kgBB ($p = 1,000$), dosis 20mg/kgBB ($p = 0,668$), maupun dosis 40mg/kgBB ($p = 0,195$).



Gambar 5.7 Rerata frekuensi gambaran infiltrasi leukosit ginjal tikus variabel jenis kelamin. Tidak ditemukan adanya perbedaan frekuensi infiltrasi leukosit ginjal tikus antarjenis kelamin, baik pada tikus kontrol ($p = 0,102$), dosis 10mg/kgBB ($p = 0,895$), dosis 20mg/kgBB ($p = 0,125$), maupun dosis 40mg/kgBB ($p = 1,000$).

5.2.2 Analisis Data

Berikut ini adalah hasil analisis uji normalitas dengan variabel jenis kelamin pada kelompok tikus jantan.

Tabel 5.5 Uji Normalitas Variabel Jenis Kelamin pada Tikus Jantan

Parameter	Dosis	Metode Analisis	Nilai p	Hasil
Berat Ginjal	Kontrol	<i>Shapiro-Wilk</i>	0,718	N
	10mg/kgBB	<i>Shapiro-Wilk</i>	0,835	N
	20mg/kgBB	<i>Shapiro-Wilk</i>	0,599	N
	40mg/kgBB	<i>Shapiro-Wilk</i>	0,015	TN
Perdarahan	Kontrol	<i>Shapiro-Wilk</i>	0,000	TN

	10mg/kgBB	<i>Shapiro-Wilk</i>	0,012	TN
	20mg/kgBB	<i>Shapiro-Wilk</i>	0,036	TN
	40mg/kgBB	<i>Shapiro-Wilk</i>	0,003	TN
Infiltrasi	Kontrol	<i>Shapiro-Wilk</i>	0,012	TN
Leukosit	10mg/kgBB	<i>Shapiro-Wilk</i>	0,004	TN
	20mg/kgBB	<i>Shapiro-Wilk</i>	0,000	TN
	40mg/kgBB	<i>Shapiro-Wilk</i>	0,012	TN

Keterangan: N: Normal TN: Tidak Normal

Berikut ini adalah hasil analisis uji normalitas dengan variabel jenis kelamin pada kelompok tikus betina.

Tabel 5.6 Uji Normalitas Variabel Jenis Kelamin pada Tikus Betina

Parameter	Dosis	Metode Analisis	Nilai p	Hasil
Berat Ginjal	Kontrol	<i>Shapiro-Wilk</i>	0,963	N
	10mg/kgBB	<i>Shapiro-Wilk</i>	0,475	N
	20mg/kgBB	<i>Shapiro-Wilk</i>	0,455	N
	40mg/kgBB	<i>Shapiro-Wilk</i>	0,124	N
Perdarahan	Kontrol	<i>Shapiro-Wilk</i>	0,008	TN
	10mg/kgBB	<i>Shapiro-Wilk</i>	0,012	TN
	20mg/kgBB	<i>Shapiro-Wilk</i>	0,000	TN
	40mg/kgBB	<i>Shapiro-Wilk</i>	0,000	TN
Infiltrasi Leukosit	Kontrol	<i>Shapiro-Wilk</i>	0,000	TN
	10mg/kgBB	<i>Shapiro-Wilk</i>	0,000	TN
	20mg/kgBB	<i>Shapiro-Wilk</i>	0,004	TN
	40mg/kgBB	<i>Shapiro-Wilk</i>	0,012	TN

Keterangan: N: Normal TN: Tidak Normal

Berikut ini adalah hasil analisis uji homogenitas dengan variabel jenis kelamin.

Tabel 5.7 Uji Homogenitas Variabel Jenis Kelamin

Parameter	Dosis	Metode Analisis	Nilai p	Hasil
Berat Ginjal	Kontrol	<i>Levene Test</i>	0,007	TH
	10mg/kgBB	<i>Levene Test</i>	0,562	H
	20mg/kgBB	<i>Levene Test</i>	0,255	H
	40mg/kgBB	<i>Levene Test</i>	0,055	H
Perdarahan	Kontrol	<i>Levene Test</i>	0,025	TH
	10mg/kgBB	<i>Levene Test</i>	1,000	H
	20mg/kgBB	<i>Levene Test</i>	0,106	H
	40mg/kgBB	<i>Levene Test</i>	0,127	H
Infiltrasi Leukosit	Kontrol	<i>Levene Test</i>	1,000	H
	10mg/kgBB	<i>Levene Test</i>	0,301	H
	20mg/kgBB	<i>Levene Test</i>	0,308	H
	40mg/kgBB	<i>Levene Test</i>	1,000	H

Keterangan: H: Homogen TH: Tidak Homogen

Berdasarkan ketiga tabel di atas, maka dapat disimpulkan uji analisis perparameter sebagai berikut:

Tabel 5.8 Uji Analisis Statistik Perparameter Variabel Jenis Kelamin

Parameter	Dosis	Normalitas (Jantan/Betina)	Homogenitas	Uji analisis
Berat ginjal	Kontrol	N/N	TH	MW Test
	10mg/kgBB	N/N	H	IT Test
	20mg/kgBB	N/N	H	IT Test
	40mg/kgBB	N/TN	H	MW Test
Perdarahan	Kontrol	TN/TN	TH	MW Test
	10mg/kgBB	TN/TN	H	MW Test
	20mg/kgBB	TN/TN	H	MW Test
	40mg/kgBB	TN/TN	H	MW Test
Infiltrasi leukosit	Kontrol	TN/TN	H	MW Test
	10mg/kgBB	TN/TN	H	MW Test
	20mg/kgBB	TN/TN	H	MW Test
	40mg/kgBB	TN/TN	H	MW Test

Keterangan: N: Normal TN: Tidak Normal H: Homogen

TH: Tidak Homogen MW: Mann-Whitney IT: Independent T

Dan berikut adalah hasil uji analisis statistik untuk parameter-parameter di atas menurut variabel jenis kelamin:



Tabel 5.9 Hasil Uji Statistik Perparameter Variabel Jenis Kelamin

Parameter	Dosis	Uji analisis	Nilai p	Makna
Berat ginjal	Kontrol	MW Test	0,413	TS
	10mg/kgBB	IT Test	0,768	TS
	20mg/kgBB	IT Test	0,115	TS
	40mg/kgBB	MW Test	0,131	TS
Perdarahan	Kontrol	MW Test	0,118	TS
	10mg/kgBB	MW Test	1,000	TS
	20mg/kgBB	MW Test	0,688	TS
	40mg/kgBB	MW Test	0,195	TS
Infiltrasi leukosit	Kontrol	MW Test	0,102	TS
	10mg/kgBB	MW Test	0,895	TS
	20mg/kgBB	MW Test	0,125	TS
	40mg/kgBB	MW Test	1,000	TS

Keterangan:

MW: Mann-Whitney IT: Independent T TS: Tidak Signifikan.

Berdasarkan tabel di atas, dapat disimpulkan bahwa pemberian ekstrak etanol ubi jalar ungu (*Ipomoea batatas* L.) kultivar Gunung Kawi tidak menunjukkan perbedaan yang signifikan antarjenis kelamin *Rattus norvegicus* strain Wistar dilihat dari berat ginjal dan gambaran histopatologinya.

BAB 6

PEMBAHASAN

Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui adanya efek toksik dari ekstrak etanol ubi jalar ungu (*Ipomoea batatas* L.) kultivar Gunung Kawi pada *Rattus norvegicus* strain Wistar dilihat dari berat organ dan gambaran histopatologi ginjalnya. Penelitian ini merupakan penelitian eksperimental laboratoris dengan menggunakan desain *post-test only control group design* dengan pembagian sebanyak 4 kelompok perlakuan, yaitu kelompok kontrol, kelompok dosis ekstrak etanol 10mg/kgBB, dosis ekstrak etanol 20mg/kgBB, dan dosis ekstrak etanol 40mg/kgBB. Masing-masing kelompok terdiri dari 10 tikus jantan dan 10 tikus betina (20 tikus tiap kelompok dosis), sehingga total tikus yang digunakan adalah 80 ekor. Berat organ dilihat dengan cara menimbang dan membandingkan berat organ antarkelompok dosis. Gambaran histopatologi ginjal dilihat dengan membandingkan kelainan histopatologi yang ditemukan dalam masing-masing kelompok (berupa perdarahan dan infiltrasi leukosit) dan menentukan kekuatan korelasi antarkelompok dosis.

6.1 Pengaruh Ekstrak Etanol Ubi Jalar Ungu (*Ipomoea batatas* L.) terhadap Berat Ginjal *Rattus Norvegicus* Strain Wistar

Beberapa penelitian terdahulu telah dilakukan untuk mengamati pengaruh antioksidan terhadap perubahan berat badan atau berat organ tikus Wistar. Sebagai contoh, penelitian yang dilakukan oleh Frank *et al.* (2002) menunjukkan tidak adanya perbedaan yang signifikan antara tikus kontrol dan tikus yang diberikan antosianin, baik antosianin murni maupun antosianin yang terkandung dalam makanan (*blackcurrant* dan *elderberry*). Parameter yang dilihat dalam

penelitian tersebut meliputi berat badan, berat hepar, serta berat paru-paru.

Ketika diamati berat relatif organ tiap 100g berat badan, hasilnya tetap tidak menunjukkan perbedaan yang signifikan. Penelitian lain dilakukan oleh Shih *et al.* (2010) juga menunjukkan hasil yang serupa. Mencit yang diberikan ekstrak antosianin dari ekstrak *blackcurrant* dan *mulberry* tidak menghasilkan perubahan berat badan yang signifikan dengan mencit kontrol. Berat organ yang diselidiki (hepar, ginjal, dan limpa) juga tidak menunjukkan perbedaan yang signifikan dengan mencit kontrol.

Investigator lain telah mengamati pengaruh antosianin terhadap perubahan berat badan dan berat organ (yaitu timus dan limpa) pada mencit yang diberi radiasi sebelumnya. Mencit yang diberi ekstrak antosianin ubi ungu menunjukkan peningkatan berat badan dan berat organ dibandingkan mencit kontrol positif (mencit yang diberi radiasi namun tidak diberi ekstrak antosianin), namun peningkatannya tidak signifikan. Peningkatan ini diduga timbul sebagai efek antioksidan dari antosianin yang berperan dalam melawan radiasi yang dipaparkan kepada mencit, sehingga kerja organ imun (timus dan limpa) meningkat dan menyebabkan peningkatan berat kedua organ tersebut. Selain itu, efek antioksidan ini memulihkan kerusakan-kerusakan jaringan tubuh pasca radiasi, sehingga berat badan mencit juga meningkat (Fan *et al.*, 2012).

Dalam penelitian ini, tampak adanya peningkatan berat ginjal tikus Wistar seiring dengan peningkatan dosis ekstrak etanol ubi ungu. Pengamatan dalam satu jenis kelamin menunjukkan peningkatan yang bertahap, kecuali pada kelompok tikus betina dimana rerata berat ginjal tikus betina dosis 10mg/kgBB ($6,82 \pm 0,81$) lebih rendah dibandingkan rerata berat ginjal tikus betina kontrol ($6,94 \pm 2,01$). Namun peningkatan ini juga tidak signifikan dengan nilai $p = 0,469$

untuk kelompok tikus jantan, $p = 0,136$ untuk kelompok tikus betina. Adanya peningkatan berat organ ini diduga berasal dari tingginya kadar protein dalam ekstrak etanol yang memicu pertumbuhan organ melebihi rata-rata normal.

6.2 Pengaruh Ekstrak Etanol Ubi Jalar Ungu (*Ipomoea batatas* L.) terhadap

Gambaran Histopatologi Ginjal *Rattus Norvegicus* Strain Wistar

Dalam penelitian ini, ditentukan dua parameter yang diamati untuk menilai gambaran histopatologi ginjal tikus. Kedua parameter tersebut adalah gambaran perdarahan dan gambaran infiltrasi leukosit. Gambaran perdarahan pada pengecatan Hematoxylin-Eosin (HE) muncul akibat adanya kerusakan dinding pembuluh darah di dalam ginjal, sehingga komponen sel darah (terutama eritrosit dan leukosit) dapat mengalami kebocoran ke area non-vaskular (interstitial dan glomerulus). Meskipun pembuluh darah banyak terdapat pada glomerulus, adanya perdarahan membuat warna dan sel normal dalam glomerulus menjadi kurang jelas. Selain dikarenakan kebocoran vaskular, infiltrasi leukosit bisa timbul sebagai respon inflamasi pada jaringan yang mengalami gangguan, misalkan akibat stres oksidatif. Leukosit yang berperan penting dalam respon inflamasi ini adalah neutrofil dan monosit (Cakici, 2015).

Menurut penelitian sebelumnya yang dilakukan oleh Prakosa *et al.* (2017), ekstrak antosianin ubi ungu kultivar Gunung Kawi terbukti mampu menurunkan kadar caspase-3 dalam sel otak tikus yang diinduksi diabetes melitus dengan streptozotocin. Dengan pemaparan selama 5 minggu, tikus yang diberi ekstrak antosianin dosis 10mg/kgBB dan 20mg/kgBB menunjukkan penurunan jumlah caspase-3. Namun pada dosis 80mg/kgBB, antosianin dalam tikus berubah fungsi menjadi prooksidan. Hal ini menyebabkan kenaikan jumlah caspase-3 tikus mendekati kelompok kontrol positif.

Penelitian lain yang dilakukan oleh Suhardi *et al.* (2016) tidak menunjukkan adanya kenaikan kadar *superoxide dismutase* (SOD) pada tikus dengan diet aterogenik pasca pemaparan ekstrak antosianin dosis 5mg/kgBB, 10mg/kgBB, dan 20mg/kgBB secara signifikan. Kenaikan kadar SOD antarkelompok perlakuan diiringi dengan penurunan jumlah sel busa. Diduga hal ini disebabkan dengan adanya SOD, *nitric oxide* (NO) yang berfungsi untuk melindungi endotel akan lebih sulit diubah menjadi ONOO⁻ sehingga NO endotel akan meningkat dan jumlah sel busa yang terbentuk akan menurun. Dalam penelitian yang sama, diketahui pula bahwa kadar ecSOD (SOD ekstraselular) tikus kontrol positif bisa mengimbangi kadar ecSOD tikus yang dipaparkan antosianin. Menurut peneliti, hal ini diduga disebabkan adanya inflamasi vascular yang terjadi secara intens pasca diet aterogenik sehingga ecSOD diproduksi dan dimobilisasi secara cukup masif ke pembuluh darah.

Berdasarkan data yang diperoleh dalam penelitian ini, tidak ada korelasi yang jelas dan kuat antara dosis ekstrak etanol ubi ungu kultivar Gunung Kawi terhadap gambaran histopatologi tikus Wistar, baik itu gambaran perdarahan maupun infiltrasi leukosit. Dosis ekstrak etanol menunjukkan korelasi negatif yang tidak bermakna pada gambaran infiltrasi leukosit (dengan nilai korelasi Spearman -0,053 ($p = 0,830$) untuk kelompok tikus jantan dan -0,218 ($p=0,177$) untuk kelompok tikus betina). Sedangkan untuk parameter perdarahan, dosis ekstrak etanol berpengaruh negatif tidak bermakna pada kelompok tikus jantan (dengan nilai korelasi Spearman -0,052 ($p = 0,751$)) dan berpengaruh positif lemah pada tikus betina (dengan nilai korelasi Spearman 0,468 ($p = 0,002$)).

Dengan data korelasi tersebut, hasil yang didapat juga serupa dengan penelitian lain tersebut, yakni tidak adanya perbedaan yang signifikan antara pemberian

ekstrak etanol ubi ungu kultivar Gunung Kawi terhadap gambaran histopatologi ginjal tikus Wistar. Fakta ini sejalan dengan pernyataan dari Boadi *et al* (2016) yang menunjukkan penurunan kadar GSH dalam tubuh setelah pemberian quercetin, genistein, dan kaempferol, dimana ketiganya adalah golongan flavonoid. Mekanisme ini diduga timbul akibat kadar GSH dalam tubuh sudah maksimal, sehingga penambahan dosis tidak akan memberi manfaat dan bahkan bisa merubah sifat flavonoid tersebut menjadi prooksidan. Hatia *et al* (2014) juga menyatakan hal yang sama, dimana beberapa golongan quercetin bisa berubah sifat menjadi prooksidan.

6.3 Implikasi Medis dan Keterbatasan Penelitian

Berdasarkan kajian pustaka dan pembahasan yang sudah dipaparkan sebelumnya, antosianin yang terkandung dalam ekstrak etanol ubi jalar ungu kultivar Gunung Kawi memiliki fungsi potensial sebagai antioksidan, antiinflamasi, neuroprotektif dan kardioprotektif. Dengan manfaat tinggi antosianin tersebut, ubi ungu dapat dikembangkan sebagai obat atau suplemen makanan yang dapat membawa manfaat-manfaatnya bagi manusia. Sebagai salah satu tahap pengembangan obat, ubi jalar ungu kultivar Gunung Kawi harus melalui sejumlah tahap penelitian untuk kemudian dikembangkan lebih lanjut. Salah satunya adalah uji toksisitas pada tikus yang sehat. Dalam penelitian ini, terbukti tidak ada efek toksik yang timbul secara signifikan pada tikus dalam pemaparan subkronis (90 hari). Hasil penelitian ini diharapkan memperkuat data tanaman ini untuk dijadikan sebagai obat atau suplemen makanan.

Dalam penelitian ini, ada beberapa kendala dan keterbatasan yang ditemukan peneliti dan diduga memengaruhi hasil penelitian, yaitu:

a. Adanya 7 tikus yang mati dalam penelitian ini, yang kemungkinan terjadi akibat stress yang berlebih, seperti suasana menyendiri (akibat penempatan satu tikus tiap kandang), adanya kutu pada tikus yang ada sejak tikus datang ke laboratorium, atau sirkulasi udara yang kurang maksimal di area laboratorium.

b. Adanya kecacatan (bibir sumbing, mata menutup) dan luka yang ditemukan pada tikus sehingga mengurangi kualitas hidup tikus dan menjadi jalan masuknya infeksi.

UNIVERSITAS BRAWIJAYA



BAB 7

PENUTUP

7.1 Kesimpulan

1. Pemberian ekstrak etanol ubi ungu (*Ipomoea batatas* L.) kultivar Gunung Kawi pada dosis 10mg/kgBB, 20mg/kgBB, dan 40mg/kgBB tidak berpengaruh secara signifikan terhadap perubahan berat ginjal *Rattus norvegicus* strain Wistar setelah pemaparan ekstrak etanol selama 90 hari.
2. Pemberian ekstrak etanol ubi ungu (*Ipomoea batatas* L.) kultivar Gunung Kawi pada dosis 10mg/kgBB, 20mg/kgBB, dan 40mg/kgBB tidak berpengaruh secara signifikan terhadap perubahan histopatologi ginjal *Rattus norvegicus* strain Wistar dilihat dari parameter frekuensi gambaran perdarahan dan infiltrasi leukosit setelah pemaparan ekstrak etanol selama 90 hari.
3. Oleh karena itu, dalam penelitian ini tidak ada perbedaan signifikan yang ditimbulkan oleh pemberian ekstrak etanol ubi ungu (*Ipomoea batatas* L.) subkronis oral hingga dosis 40mg/kgBB pada *Rattus norvegicus* strain Wistar yang normal.

7.2 Saran

Beberapa hal yang perlu dilakukan dan diperhatikan sebagai tindak lanjut dari penelitian ini:

1. Perlu dilakukan uji toksisitas lebih lanjut terhadap *Rattus norvegicus* strain Wistar yang dibedah 28 hari setelah pemaparan ekstrak etanol ubi ungu (*Ipomoea batatas* L.) kultivar Gunung Kawi diakhiri, untuk mengetahui ada

atau tidaknya efek penarikan (*withdrawal effect*) ekstrak etanol ubi ungu tersebut.

2. Perlu dilakukan penelitian lebih lanjut uji toksisitas ekstrak etanol ubi ungu (*Ipomoea batatas* L.) kultivar Gunung Kawi terhadap *Rattus norvegicus* dengan strain berbeda untuk mengetahui variasi respon terhadap pemaparan ekstrak tersebut.
3. Perlu dilakukan penelitian lebih lanjut uji toksisitas ekstrak etanol ubi ungu (*Ipomoea batatas* L.) kultivar Gunung Kawi terhadap *Rattus norvegicus* dengan pengamatan histopatologi imunohistokimia organ sehingga tanda-tanda toksik yang mungkin muncul dapat terdeteksi lebih jelas.
4. Perlu dilakukan penelitian lebih lanjut uji toksisitas ekstrak etanol ubi ungu (*Ipomoea batatas* L.) kultivar Gunung Kawi terhadap *Rattus norvegicus* dengan dosis yang lebih tinggi hingga 1000mg/kgBB agar dapat lebih diketahui ada atau tidaknya efek toksik ekstrak etanol ubi ungu serta dapat mengetahui berapa dosis LD₅₀ ekstrak etanol ubi ungu.
5. Perlu dilakukan penelitian lebih lanjut uji toksisitas ekstrak etanol ubi ungu (*Ipomoea batatas* L.) kultivar Gunung Kawi terhadap *Rattus norvegicus* dengan pengamatan parameter ginjal yang lain (seperti parameter faal ginjal) untuk mengetahui adanya masalah pada fungsi ginjal yang secara struktur masih normal.
6. Perlu dilakukan penelitian lebih lanjut uji toksisitas ekstrak etanol ubi ungu (*Ipomoea batatas* L.) kultivar Gunung Kawi terhadap *Rattus norvegicus* strain Wistar yang berusia muda atau tua untuk mewakili populasi anak dan lansia untuk mengetahui keamanan ekstrak etanol ubi ungu pada populasi anak dan lansia.

DAFTAR PUSTAKA

- Akbar M. D. A. 2015. *Pengaruh Waktu dan Suhu Pengering dengan Oven Sn 281272 Terhadap Kualitas Produk Tepung Ubi Jalar Kuning (Ipomoea Batatas L.)*. Other thesis, Politeknik Negeri Sriwijaya.
- Apriliyanti T. 2010. *Kajian Sifat Fisikokimia dan Sensori Tepung Ubi Jalar Ungu (Ipomoea batatas blackie) dengan Variasi Proses Pengeringan*. Skripsi. Tidak diterbitkan, Fakultas Pertanian Universitas Sebelas Maret, Surakarta.
- Cakici O. Histopathologic Changes in Liver and Kidney Tissues Induced by Carbaryl in *Bufotes variabilis* (Anura: Bufonidae). *Experimental and Toxicologic Pathology*. 2015; 67: 237-243.
- Castro B. B. A., Colugnati F. A. B., Cenedeze M. A., Suassuna P. G. A., Pinheiro H. S. Standardization of Renal Function Evaluation in Wistar Rats (*Rattus norvegicus*) from the Federal University of Juiz de Fora's Colony. *J Bras Nefrol*, 2014; 36(2): 139-149.
- Dreiseitel A. 2011. *In Vitro Bioactivities of Dietary Anthocyanins and Proanthocyanidins; Implication for Bioavailability, Neuroprotection, and Safety*. Disertasi. Tidak diterbitkan, Julius-Maximilians-Universitat, Wurzburg.
- Eleazu C. O., Ironua C. Physicochemical Composition and Antioxidant Properties of a Sweetpotato Variety (*Ipomoea batatas L.*) Commercially Sold in South Eastern Nigeria. *African Journal of Biotechnology*, 2013; 12(7): 720-727.
- Fan Z.L., Wang Z.Y., Tian S.Q. Protective Effect of Anthocyanins from Lingonberry on Radiation-induced Damages. *Int. J. Environ. Res. Public Health*. 2012; 9: 4732-4743.
- Frank J., Eldin A.K., Lundh T., Maatta K., Torronen R., Vessby B. Effect of Dietary Anthocyanins on Tocopherols and Lipids in Rats. *J. Agric. Food Chem.* 2002; 50: 7226-7230.
- Guyton A.C., Hall J.E., *Textbook of Medical Physiology*, 11th Ed., Elsevier Inc. Pennsylvania. 2006.
- Hatia S., Malaterre A.S., Sage F.L., Beneteau A.B., Baret P., Payet B., D'hellencourt C.L., Gonthier M.P. Evaluation of Antioxidant Properties of Major Dietary Polyphenols and Their Protective Effect on 3T3-L1

Preadipocytes and Red Blood Cells Exposed to Oxidative Stress. *Free Radical Research*, 2014; 48(4): 387-401.

Kementerian Kesehatan Republik Indonesia, 2018. Cegah dan Kendalikan Penyakit Ginja dengan Cerdik dan Patuh, www.depkes.go.id, diakses pada 30 Oktober 2018.

Kubiak B.D., Albert S.P., Gatto L.A., Snyder K.P., Maier K.G., Vieau C.J., Roy S., Nieman G.F. Peritoneal Negative Pressure Therapy Prevents Multiple Organ Injury in a Chronic Porcine Sepsis and Ischemia/Reperfusion Model. *Histological Parameters*. 2010.

Kunworarath N., Muangnil P., Itharat A., Hiranyachattada S. Acute and Subchronic Treatment of *Hibiscus sabdariffa* Linn. Extract on Renal Function and Lipid Peroxidation in Cisplatin-Induced Acute Renal Failure Rats. *Journal Physiology Biomedicine Science*, 2014; 27(1): 5-12.

Kuspradini H., Rosiarto A. M., Putri A. S., Kusuma I. W. Antioxidant and toxicity properties of anthocyanin extracted from red flower of four tropical shrubs. *Nusantara Bioscience*, 2016; 8(2): 135-140.

Oancea S., Oprean L. Anthocyanins, From Biosynthesis in Plants to Human Health Benefits. *Acta Universitatis Cibiniensis Series E: FOOD TECHNOLOGY*, 2011; 15(1): 4-16.

Maharani T., Sargowo D., Tjokopranowo A., Ratnawati R. 2014.g Effect of Extract Purple Ipomoea Batatas Cultivar Kawi Mountain Chronic Inflammation in Wistar Rats with Atherogenic Diet. *IEESE International Journal of Science and Technology*, 2014; 3(1): 1-7

Peraturan Kepala Badan Pengawas Obat dan Makanan Republik Indonesia Nomor 7 tahun 2014 tentang Pedoman Uji Toksisitas Nomklirik Secara In Vivo. 2014.

Prakosa A.G., Ratnawati R., Prabawati R.K. Pengaruh Antosianin Ubi Ungu (*Ipomoea batatas* L.) Kultivar Gunung Kawi Terhadap Ekspresi Caspase-3 pada Jaringan Otak Tikus Model DM Tipe 2. *Majalah Kesehatan FKUB*, 2017; 4(2): 52-58

Samber L. N., Semangun H., Prasetyo B. 2013. *Ubi Jalar Ungu Papua Sebagai Sumber Antosianin*. Makalah disajikan dalam Seminar Nasional X Pendidikan Biologi FKIP UNS, Solo, 6 Juli 2013.

Shih P.H., Chan Y.C., Liao J.W., Wang M.F., Yen G.C. Antioxidant and Cognitive Promotion Effects of Anthocyanin-rich Mulberry (*Morus atropurpurea* L.) on Senescence-accelerated Mice and Prevention of Alzheimer's Disease.

Journal of Nutritional Biochemistry. 2010; 21: 598-605.

Suhardi C. J., Ratnawati R., Khotimah H. Pengaruh Pemberian Antosianin dari *Ipomoea batatas* L. Varietas Ungu Kultivar Gunung Kawi dalam Meningkatkan Kadar *Superoxide Dismutase* pada Tikus (*Rattus norvegicus*) dengan Diet Aterogenik. *Majalah Kesehatan FKUB*, 2016; 3(4): 166-173.

United States Department of Agriculture. 2018. Natural Resource Conservation Service (Online), (<https://plants.usda.gov/core/profile?symbol=IPBA2>, diakses 11 November 2018)

Velho M. A., Velho M. R. Anatomy and Physiology series: The Kidney and Lower Urinary Tract. *Journal of Renal Nursing*, 2013; 5(2): 76-80.

Xu J., Su X., Lim S., Griffin J., Carey E., Katz B., et al. Characterization and Stability of Anthocyanins in Purple-fleshed Sweet Potato P40.

