

**UJI EFEK EKSTRAK ETANOL KETELA RAMBAT (*Ipomoea batatas*) UNTUK
MENINGKATKAN SEL T REGULATOR (CD4⁺CD25⁺) PADA MENCIT MODEL
LUPUS ERITEMATOSUS SISTEMIK (LES)**

TUGAS AKHIR

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



Oleh:

Fitria Ummu Habibah

NIM: 115070100111019

**PROGRAM STUDI PENDIDIKAN DOKTER
FAKULTAS KEDOKTERAN
UNIVERSITAS BRAWIJAYA
MALANG
2014**

**UJI EFEK EKSTRAK ETANOL KETELA RAMBAT (*Ipomoea batatas*) UNTUK
MENINGKATKAN SEL T REGULATOR (CD4⁺CD25⁺) PADA MENCIT MODEL
LUPUS ERITEMATOSUS SISTEMIK (LES)**

TUGAS AKHIR

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



Oleh:

Fitria Ummu Habibah

NIM: 115070100111019

PROGRAM STUDI PENDIDIKAN DOKTER

FAKULTAS KEDOKTERAN

UNIVERSITAS BRAWIJAYA

MALANG

2014

HALAMAN PERSETUJUAN

TUGAS AKHIR

UJI EFEK EKSTRAK ETANOL KETELA RAMBAT (*Ipomoea batatas*) UNTUK
MENINGKATKAN SEL T REGULATOR (CD4⁺CD25⁺) PADA MENCIT YANG
MODEL LUPUS ERITEMATOSUS SISTEMIK (LES)

Untuk Memenuhi Persyaratan
Memperoleh Gelar Sarjana Kedokteran Umum

Oleh:

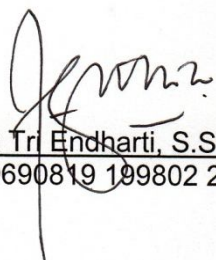
Fitria Ummu Habibah

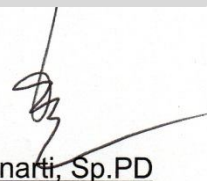
NIM: 115070100111019

Menyetujui untuk diuji:

Pembimbing I

Pembimbing II


Agustina Tri Endharti, S.Si, PhD.
NIP. 19690819 199802 2 001


dr. Sri Sunarti, Sp.PD
NIP. 197411262009122001

HALAMAN PENGESAHAN

TUGAS AKHIR

UJI EFEK EKSTRAK ETANOL KETELA RAMBAT (*Ipomoea batatas*) UNTUK MENINGKATKAN SEL T REGULATOR (CD4⁺CD25⁺) PADA MENCIT YANG MODEL LUPUS ERITEMATOSUS SISTEMIK (LES)

Oleh:
Fitria Ummu Habibah
NIM: 115070100111019

Telah diuji pada:
Hari : Kamis
Tanggal : 27 November 2014
Dan dinyatakan LULUS oleh:

Penguji I

Dr. rer. nat. Tri Yudani M.R., M.App.Sc.
NIP. 196511051993032001

Penguji II / Pembimbing I

Agustina Tri Endharti, S.Si, PhD.
NIP. 19690819 199802 2 001

Penguji III/ Pembimbing II

dr. Sri Sunarti, Sp.PD
NIP. 197411262009122001

Mengetahui,
Ketua Jurusan/ Ketua Prodi

Prof. Dr. dr. Teguh Wahyu Sardjono, DTM&H, M.Sc, Sp.Par.K.
NIP. 19520410 198002 1 001



KATA PENGANTAR

Segala puji hanya bagi Allah Yang Maha Bijaksana yang telah memberikan waktu dan ilmu sehingga penulis dapat menyelesaikan tugas akhir yang berjudul: “Uji Efek Ekstrak Etanol Ketela Rambat (*Ipomoea batatas*) untuk Meningkatkan Sel TRegulator (CD4⁺CD25⁺) Pada Mencit Yang Model Lupus Eritematosus Sistemik (LES)”.

Ketertarikan penulis akan topik ini didasari oleh fakta bahwa penyakit LES merupakan penyakit autoimun yang terjadi karena ketidak seimbangan imunitas adaptif. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui efek pemberian ekstrak etanol ketela rambat (*Ipomoea batatas*) pada ketidak seimbangan imunitas adaptif tersebut. Proses penulisan Tugas Akhir ini merupakan sebuah pengalaman yang sangat berharga. Dukungan, masukan, kritik, dan saran dari berbagai pihak telah menjadikan sesuatu yang tidak bernilai menjadi bernilai karena adanya proses pembelajaran yang terus berlangsung.

Dengan selesainya Tugas Akhir ini, penulis mengucapkan terima kasih kepada:

1. Dr. dr. Karyono Mintaroem, Sp.PA Dekan Fakultas Kedokteran Universitas Brawijaya yang telah memberi saya kesempatan menuntut ilmu di Fakultas Kedokteran Universitas Brawijaya.
2. Prof. Dr. dr. Teguh Wahyu Sardjono, DTM&H, M.Sc, Sp.Par.K. Kepala Jurusan Pendidikan Dokter, Fakultas Kedokteran Universitas Brawijaya, yang telah memberikan dukungan selama menjalani masa perkuliahan.

3. Agustina Tri Endharti, S.Si. Ph.D, sebagai pembimbing pertama yang telah memberikan bimbingan, saran, dan masukan mulai dari proses awal pembuatan proposal, penelitian, hingga Tugas Akhir ini selesai.
4. dr. Sri Sunarti, Sp.PD, sebagai pembimbing kedua yang telah memberikan bimbingan, saran, dan masukan, sehingga saya dapat menyelesaikan Tugas Akhir ini.
5. Dr.rer.nat. Tri Yudani M.R., M.App.Sc. sebagai dosen penguji yang telah memberikan kritik dan saran sehingga saya dapat menyelesaikan Tugas Akhir ini dengan baik.
6. Segenap anggota Tim Pengelola Tugas Akhir FKUB.
7. Orang tua, keluarga, dan semua pihak yang ikut andil penting dalam hidup penulis yang selalu memberikan dukungan, semangat, perhatian, nasihat serta selalu mendoakan yang terbaik.
8. Teman-teman PD-A 2011, mbak fani, benita, mbak nian, "rumpik", "kos ceria", dan teman-teman yang tak bisa disebut satu persatu yang selalu menemani dan memberi dukungan.
9. Semua pihak yang telah membantu dalam menyelesaikan Tugas Akhir ini yang tidak dapat saya sebutkan satu persatu.

Penulis menyadari bahwa penulisan ini masih jauh dari sempurna. Oleh karena itu, penulis menerima segala saran dan kritik yang membangun.

Akhirnya, semoga tugas akhir ini dapat bermanfaat bagi yang membutuhkan.

Malang, November 2014

Penulis

ABSTRAK

Habibah, Fitria Ummu. 2014. **Uji Efek Ekstrak Etanol Ketela Rambut (*Ipomoea batatas*) untuk Meningkatkan Sel TRegulator (CD4⁺CD25⁺) Pada Mencit Yang Model Lupus Eritematosus Sistemik (LES)**. Tugas Akhir, Program Studi Pendidikan Dokter Fakultas Kedokteran Universitas Brawijaya. Pembimbing: (1) Agustina Tri Endharti, S.Si, Ph.D. (2) dr. Sri Sunarti, Sp.PD.

Lupus eritematosus sistemik (LES) adalah penyakit autoimun multiorgan yang disebabkan oleh ketidak seimbangan imunitas adaptif, yaitu terjadi penurunan produksi sel Treg (CD4⁺CD25⁺) yang bersifat antiinflamasi. Diketahui pasien LES mempunyai kadar vitamin A lebih rendah daripada orang normal. Vitamin A mempunyai beberapa fungsi seperti proliferasi, dan induksi diferensiasi CD4⁺ menjadi sel Treg (CD4⁺CD25⁺). Ketela rambat (*Ipomoea batatas*) mengandung vitamin A tinggi yang diharapkan dapat berperan dalam keseimbangan imunitas adaptif, yaitu menginduksi diferensiasi CD4⁺ menjadi sel Treg (CD4⁺CD25⁺). Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui pengaruh pemberian ekstrak etanol ketela rambat (*Ipomoea batatas*) terhadap peningkatan persentase sel Treg (CD4⁺CD25⁺) pada mencit model LES. Penelitian eksperimental laboratoris ini menggunakan 20 ekor mencit yang dikelompokkan menjadi 2 kelompok perlakuan Kontrol dan 3 kelompok perlakuan dengan dosis 0,175 gram/KgBB/hari; 0,35 gram/KgBB/hari; dan 0,7 gram/KgBB/hari. Bulan ke empat dilakukan pembedahan, pengambilan darah *intracardiac*, analisa persentase sel Treg (CD4⁺CD25⁺) menggunakan *flowcytometry*, dan dilakukan analisis data. Hasil ANOVA menunjukkan hasil yang signifikan, sig. = 0.000 (p < 0.05). Kesimpulan penelitian ini, pemberian ekstrak etanol ketela rambat mampu meningkatkan persentase sel Treg (CD4⁺CD25⁺) pada mencit model LES.

Kata kunci: ekstrak etanol ketela rambat, sel Tregulator (CD4⁺CD25⁺), LES, Vitamin A

ABSTRACT

Habibah, Fitria Ummu. 2014. **Ethanol Extract of Sweet Potato (*Ipomoea batatas*) Increase Treg (CD4⁺CD25⁺) cell in Mice Systemic Lupus Erythematosus (SLE) Model.** Final Assignment, Medical Program, Faculty of Medicine, Brawijaya University. Supervisor: (1) Agustina Tri Endharti, S.Si, Ph.D. (2) dr. Sri Sunarti, Sp.PD.

Systemic Lupus Erythematosus (SLE) is an autoimmune disease causing multi organ damage. This disease mainly caused by adaptive immune response imbalance, marked by decrease production of anti-inflammation Treg (CD4⁺CD25⁺) cell. Patient with SLE is known to have lower level of Vitamin A compared to normal. Vitamin A has several functions, such as induce proliferation and CD4⁺ differentiation to Treg (CD4⁺CD25⁺). Sweet potato (*Ipomoea batatas*) contains high level of Vitamin A, that may help to reduce immune imbalance by inducing CD4⁺ differentiation into Treg (CD4⁺CD25⁺) cell. In this study, we assessed how ethanol extract of sweet potato (*Ipomoea batatas*) can modulate expression of CD4⁺CD25⁺ Treg cells found in mice model, using 20 mice divided into 5 groups: 2 control groups, and 3 groups receive 0,175 gr/kgweight/day, 0,35 gr/kgweight/day, and 0,7 gr/kgweight/day. In the fourth month, mice intra-cardiac blood is taken and analyzed using flowcytometry. It was concluded that the percentation of Treg (CD4⁺CD25⁺) cells were significantly increasing (sig=0.000, p<0.05) after administration of sweet potato (*Ipomoea batatas*) ethanol extract in mice model.

Key words: Ethanol Extract of Sweet potatoes, Treg (CD4⁺CD25⁺) cells, Systemic Lupus Erythematosus (SLE), Vitamin A

DAFTAR ISI

HALAMAN JUDUL	i
HALAMAN PERSETUJUAN	ii
HALAMAN PENGESAHAN	iii
KATA PENGANTAR	iv
ABSTRAK	vi
ABSTRACT	vii
DAFTAR ISI	viii
DAFTAR TABEL	xi
DAFTAR GAMBAR	xii
DAFTAR TABEL	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
1.3.1 Tujuan Umum.....	3
1.3.2 Tujuan Khusus	4
1.4 Manfaat Penelitian.....	4
1.4.1 Manfaat Akademik.....	4
1.4.2 Manfaat Praktis.....	4



BAB 2. TINJAUAN PUSTAKA	5
2.1 Lupus Eritematosus Sistemik (LES).....	5
2.2 Sel <i>Tregulator</i> (CD4 ⁺ CD25 ⁺).....	8
2.3 Vitamin A.....	9
2.4 Pristan.....	11
2.5 Ketela Rambat (<i>Ipomoea batatas</i>).....	12
BAB 3. KERANGKA KONSEP DAN HIPOTESIS PENELITIAN	15
3.1 Kerangka Konsep	15
3.2 Deskripsi Kerangka Konsep Penelitian	16
3.3 Hipotesis Penelitian	17
BAB 4. METODE PENELITIAN	18
4.1 Desain Penelitian.....	18
4.2 Populasi dan Sample Penelitian	18
4.3 Variabel Penelitian.....	20
4.4 Tempat dan Waktu Penelitian.....	21
4.5 Bahan dan Alat Penelitian.....	21
4.5.1 Bahan	21
4.5.2 Alat.....	21
4.6 Definisi Operasional.....	22
4.7 Prosedur Penelitian	23
4.7.1 Pembuatan Ekstrak Etanol Ketela Rambat (<i>Ipomoea batatas</i>)	23
4.7.1.1 Proses Maserasi.....	23

4.7.1.2 Proses Evaporasi.....	23
4.7.2 Persiapan Hewan Coba	24
4.7.3 Pembagian Kelompok Hewan Coba.....	24
4.7.4 Induksi Pristan.....	25
4.7.5 Pemberian Ekstrak Etanol Ketela Rambat (<i>Ipomoea batatas</i>).....	25
4.7.6 Pengukuran Persentase Treg (CD4 ⁺ CD25 ⁺).....	26
4.8 Analisis Data.....	28
4.9 Alur Penelitian	29
BAB 5. HASIL PENELITIAN DAN ANALISIS DATA	30
5.1 Hasil Penelitian.....	30
5.2 Analisis Data.....	33
BAB 6. PEMBAHASAN	35
6.1 Efek Pemberian Ekstrak Ketela Rambat (<i>Ipomoea batatas</i>) Terhadap Persentase Sel Treg (CD4 ⁺ CD25 ⁺).....	36
6.2 Keterbatasan Penelitian.....	39
BAB 7. PENUTUP	40
7.1 Kesimpulan.....	40
7.2 Saran.....	40
DAFTAR PUSTAKA	41
LAMPIRAN	46

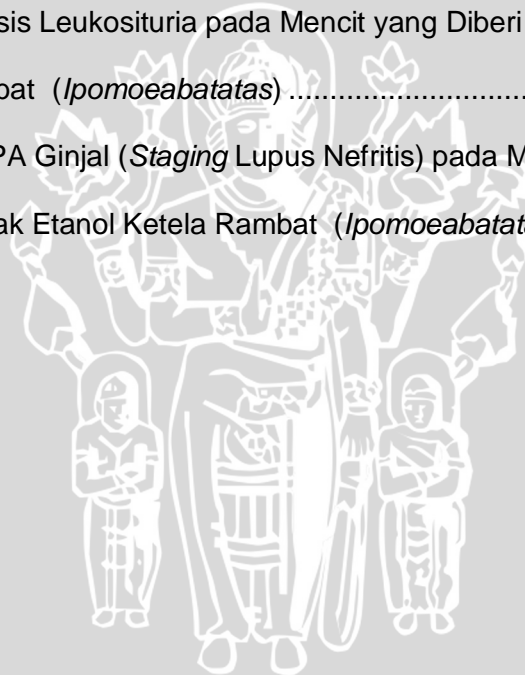


PERNYATAAN KEASLIAN TULISAN	51
KETERANGAN LAIK ETIK	52



DAFTAR TABEL

Tabel 2.1 Manifestasi Klinis Pasien LES.....	7
Tabel 2.2 Kandungan Ketela Rambat (<i>Ipomoea batatas</i>).....	13
Tabel 2.3 Kandungan Ketela Rambat (<i>Ipomoea batatas</i>) (OECD, 2010)	13
Tabel 2.4 Kandungan Vitamin Ketela Rambat (<i>Ipomoea batatas</i>).....	14
Tabel 5.1 Hasil Urinalisis Hematuria pada Mencit yang Diberi Ekstrak Etanol Ketela Rambat (<i>Ipomoeabatatas</i>)	30
Tabel 5.2 Hasil Urinalisis Leukosituria pada Mencit yang Diberi Ekstrak Etanol Ketela Rambat (<i>Ipomoeabatatas</i>)	31
Tabel 5.3 Hasil Histo PA Ginjal (<i>Staging</i> Lupus Nefritis) pada Mencit yang Diberi Ekstrak Etanol Ketela Rambat (<i>Ipomoeabatatas</i>)	32



DAFTAR GAMBAR

Gambar 2.1 Pembentukan Sel Treg (CD4 ⁺ CD25 ⁺).....	9
Gambar 2.2 Diferensiasi Sel CD4 ⁺ Naif dan Peran Vitamin A	10
Gambar 2.3 Struktur Kimia Pristan.....	11
Gambar 3.1 Kerangka Konsep Penelitian	17
Gambar 4.1 Alur Penelitian.....	31
Gambar 5.1 Grafik Hasil Pengukuran Persentase Sel Treg (CD4 ⁺ CD25 ⁺) pada Mencit yang Diberi Ekstrak Etanol Ketela Rambat (<i>Ipomoea batatas</i>).....	33



DAFTAR LAMPIRAN

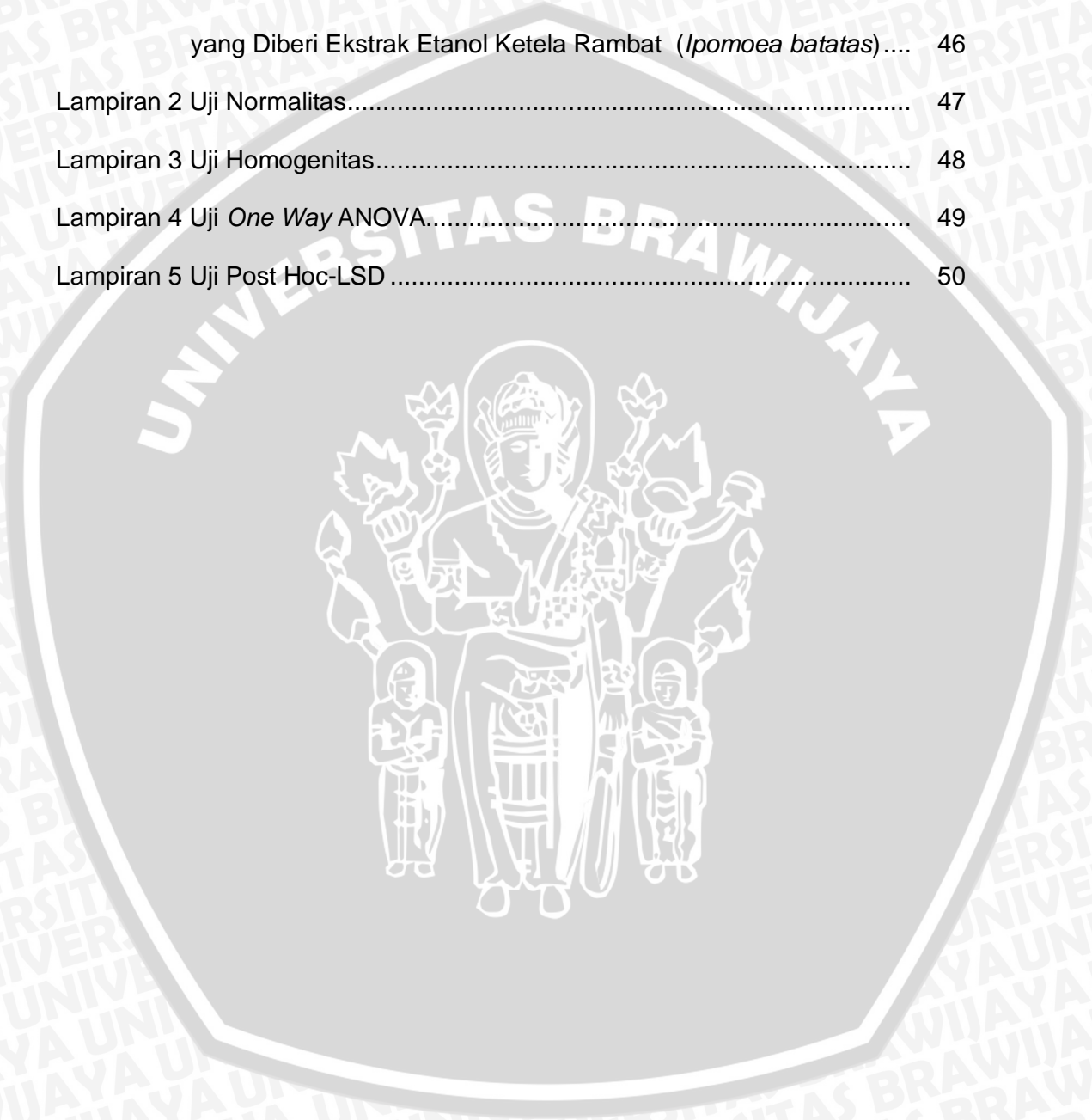
Lampiran 1 Hasil Penelitian Persentase Sel Treg (CD4⁺CD25⁺) pada Mencit
yang Diberi Ekstrak Etanol Ketela Rambat (*Ipomoea batatas*).... 46

Lampiran 2 Uji Normalitas..... 47

Lampiran 3 Uji Homogenitas..... 48

Lampiran 4 Uji *One Way* ANOVA..... 49

Lampiran 5 Uji Post Hoc-LSD 50



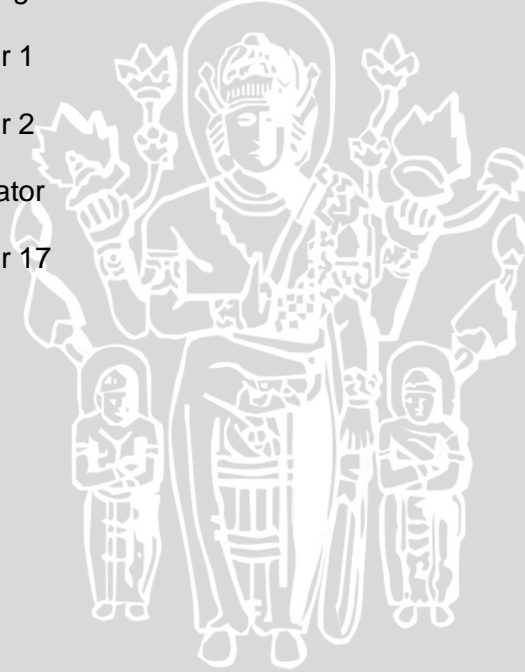
DAFTAR SINGKATAN

ACR	: <i>American College of Rheumatology</i>
ANA	: Antibodi Antinuklear
APC	: <i>Antigen Presenting Cell</i>
BB	: Berat badan
BILAG	: <i>British Isles Lupus Assessment Group</i>
BPS	: Badan Pusat Statistik
C2	: <i>Complement 2</i>
C4	: <i>Complement 4</i>
C1q	: <i>Complement 1</i>
CD4 ⁺	: <i>Cluster of differentiation 4 positive</i>
CD25 ⁺	: <i>Cluster of differentiation 25 positive</i>
CD28	: <i>Cluster of differentiation 28</i>
CR1	: <i>Complement Receptor tipe 1</i>
CTLA-4	: <i>Cytotoxic T-Lymphocyte-Associated Protein 4</i>
DFE	: <i>Dietary Folate Equivalent</i>
ECLAM	: <i>the European Consensus Lupus Activity Measurement</i>
EDTA	: <i>Ethylenediaminetetraacetic Acid</i>
FBS	: <i>Fetal Bovine Serum</i>
FCγRIIB	: <i>Fc Gamma Receptor IIB</i>
Foxp3	: Forkhead box P3
GITR	: <i>Glucocorticoid-Induced Tumor Necrosis Factor Receptor</i>
IgG	: <i>Imunoglobulin G</i>
IgG 2	: <i>Imunoglobulin G tipe 2</i>



IgG3	: Immunoglobulin G tipe 3
IL-1	: Interleukin-1
IL-2	: Interleukin-2
IL-4	: Interleukin-4
IL-6	: Interleukin-6
IL-9	: Interleukin-9
IL-10	: Interleukin-10
IL-17	: Interleukin-17
IL-21	: Interleukin-21
IL-23	: Interleukin-23
IL-23R	: Interleukin 23 <i>Receptor</i>
IL-27	: Interleukin-27
iTreg	: <i>Induced T regulator</i>
IU	: <i>International Unit</i>
kJ	: Kilo Joule (satuan energi)
LES	: Lupus Eritematosus Sistemik
LSD	: <i>Least Significant Difference</i>
NSAID	: <i>Non Steroidal Antiinflammatory Drug</i>
nTreg	: natural T regulator
OECD	: <i>Organisation for Economic Co-operation and Development</i>
PBMC	: <i>Peripheral Blood Mononucleated Cell</i>
PBS	: Phosphate Buffered Saline
RA	: <i>Retinoic Acid</i>
RAE	: <i>Retinoic acid early</i>
RAR	: <i>Retinoic Acid Receptor</i>

- RBC : *Red Blood Cell*
- ROR γ : *RAR-related Orphan Receptor gamma*
- RXR : *Retinoic X Receptor*
- SLAM : *the Systemic Lupus Activity Measure*
- SLE : *Systemic Lupus Erythematosus*
- SLEDAI : *the SLE Disease Activity Index*
- TCR : *Tool Like Receptor*
- TGF β : *Transforming Growth Factor Betha*
- TGF β : *Transforming Growth Factor Betha 1*
- Th1 : *sel T helper 1*
- Th2 : *sel T helper 2*
- Treg : *sel T regulator*
- Th17 : *sel T helper 17*



BAB 1

PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

Lupus eritematosus sistemik (LES) adalah penyakit radang multisistem akibat pengendapan imun kompleks yang tidak spesifik pada berbagai organ tanpa penyebab yang diketahui secara pasti (Branch dan Porter, 2000). Beberapa penelitian menunjukkan bahwa patogenesis LES melibatkan faktor lingkungan, genetik, dan hormonal (Mok dan Lau, 2003). Di seluruh dunia, prevalensi dan insidensi LES berkisar antara 1,4-21,9% dan 7,4-159,4 kasus per 100.000 orang (Ortega, *et al*, 2010) terutama menyerang wanita usia produktif dengan rasio wanita dibanding pria 8:1 hingga 9:1 (Mok dan Lau, 2003). Sementara itu, prevalensi di Indonesia dilaporkan meningkat tiap tahunnya dengan angka harapan hidup yang rendah, namun belum ada data pasti yang mencakup semua wilayah Indonesia (Kasjmir, *et al*, 2011).

Pasien LES umumnya mengeluhkan rasa lemah, demam, malaise, anoreksia, dan berat badan turun. LES mempunyai manifestasi klinis yang berbeda-beda pada tiap orang, dari derajat ringan sampai dapat mengancam jiwa. Salah satu manifestasi yang paling banyak dijumpai pada 82,7% pasien adalah gangguan pada sistem hematologi. Gangguan ini meliputi anemia, hemolisis, leukopenia, dan trombositopenia (Bashal, 2013) yang disebabkan oleh ketidakseimbangan imunitas adaptif. Dari penelitian diketahui bahwa terjadi peningkatan aktivitas sel Th17 dan penurunan produksi sel Treg (CD4⁺CD25⁺) pada pasien LES (Elias, *et al*, 2008).

Keberadaan sel *Treg* ($CD4^+CD25^+$) membantu mensupresi reaktivitas limfosit. Selain itu, sel *Treg* ($CD4^+CD25^+$) menghasilkan sitokin antiinflamasi seperti IL-10. Pada penelitian yang dilakukan oleh Sakaguchi (2005), diketahui bahwa populasi sel *Treg* ($CD4^+CD25^+$) mengalami penurunan pada penyakit autoimun dan hal tersebut dikaitkan dengan terjadinya penyakit autoimun itu sendiri (Alunno, *et al.*, 2012). Sel *Treg* ($CD4^+CD25^+$) berkembang dari sel $CD4^+$ naif. Sel $CD4^+$ naif memerlukan stimulasi TGF- β dan IL-6 untuk berdeferensiasi menjadi sel *Treg* ($CD4^+CD25^+$). Namun stimulasi yang dibutuhkan dari IL-6 untuk berdeferensiasi menjadi sel n*Treg* ($CD4^+CD25^+$) lebih kecil jika dibandingkan untuk menjadi Th17 (Vernali dan Garcia-Sanz, 2008). Pada pasien LES, menurunnya sel *Treg* ($CD4^+CD25^+$) dan meningkatnya Th17 dapat berdampak buruk, karena Th17 menghasilkan sitokin proinflamasi seperti IL-17 yang bersifat patogenik dan menimbulkan kondisi autoimun semakin parah pada pasien LES (Wong, *et al.*, 2000). Dari beberapa penelitian telah terbukti bahwa sel Th17 berperan dalam memediasi terjadinya penyakit autoimun pada hewan coba (Langrish, *et al.*, 2005).

Penelitian Bae, *et al.*, (2002) menunjukkan bahwa pasien LES mempunyai kadar vitamin A yang lebih rendah daripada orang normal. Vitamin A mempunyai beberapa fungsi diantaranya bersinergi dengan TGF- β untuk menginduksi diferensiasi $CD4^+$ menjadi sel *Treg* ($CD4^+CD25^+$) (Mucida, *et al.*, 2007) yang bersifat antiinflamasi dengan meningkatkan asetilisasi histon pada regio Foxp3 (Xiao, *et al.*, 2008; Kang, *et al.*, 2007).

Salah satu bahan alam yang kaya vitamin A adalah ketela rambat (*Ipomoea batatas*). Ketela rambat (*Ipomoea batatas*) mempunyai kandungan vitamin A mencapai 79353,61 IU. Selain vitamin A, ketela rambat mengandung

berbagai macam nutrisi yang dapat memenuhi hampir semua kebutuhan nutrisi meliputi vitamin, mineral, protein, lemak, dan karbohidrat (OECD, 2010). Dengan kandungannya, diharapkan ketela rambat dapat dijadikan pilihan untuk meningkatkan persentase sel *Treg* ($CD4^+CD25^+$) sehingga dapat menurunkan keparahan autoimun yang terjadi dan manifestasi klinis pada pasien LES.

Peneliti menggunakan mencit model LES untuk menguji efek ekstrak etanol ketela rambat (*Ipomoea batatas*) dalam meningkatkan persentase sel *Treg* ($CD4^+CD25^+$). Mencit model LES kami peroleh dengan cara menginjeksikan pristan secara intraperitoneal. Didukung oleh beberapa penelitian yang menyatakan bahwa pristan dapat digunakan untuk membuat hewan model LES karena dapat memicu timbulnya proses autoimunitas pada mencit BALB/c (Sato *et al.*, 2003; Chowdary, 2007; Alluno *et al.*, 2012). Dalam penelitian ini, mencit BALB/c akan diinduksi menjadi model LES menggunakan pristan dan diberi ekstrak etanol ketela rambat (*Ipomoea batatas*).

1.2 Rumusan Masalah

1. Apakah ekstrak etanol ketela rambat (*Ipomoea batatas*) dapat meningkatkan persentase sel *Treg* ($CD4^+CD25^+$) pada mencit yang diinduksi pristan?

1.3 Tujuan Penelitian

1.3.1 Tujuan Umum

Mengetahui pengaruh ekstrak etanol ketela rambat terhadap peningkatan persentase sel *Treg* ($CD4^+CD25^+$) pada mencit model LES yang diinduksi pristan.

1.3.2 Tujuan Khusus

1. Mengukur persentase sel Treg (CD4⁺CD25⁺) pada mencit model LES setelah diterapi dengan ekstrak etanol ketela rambat (*Ipomoea batatas*) berbagai dosis.
2. Mengetahui dosis optimal ekstrak etanol ketela rambat (*Ipomoea batatas*) yang dapat meningkatkan persentase sel Treg (CD4⁺CD25⁺) pada mencit model LES.

1.4 Manfaat Penelitian

1.4.1 Manfaat Akademik

Dapat dijadikan sebagai dasar teori untuk menambah ilmu pengetahuan dalam bidang kesehatan tentang pencegahan berbagai penyakit autoimun seperti Lupus Eritematosus Sistemik dengan cara memanfaatkan ekstrak etanol ketela rambat (*Ipomoea batatas*) sebagai terapi pendukung.

1.4.2 Manfaat Praktis

Dapat dijadikan sebagai dasar teori untuk memberikan informasi kepada kalangan perindustrian obat tentang kegunaan ekstrak etanol ketela rambat (*Ipomoea batatas*) sebagai obat herbal.

BAB 2

TINJAUAN PUSTAKA

2.1 Lupus Eritematosus Sistemik (LES)

LES merupakan penyakit multisistemik dengan etiologi dan patogenesis yang belum jelas. Patogenesis LES bersifat multifaktor yang melibatkan lingkungan, genetik, dan hormonal. Gangguan mekanisme pengaturan imun berperan penting terhadap LES. Peningkatan T *helper*, gangguan sel B, dan perubahan dari sel Th1 ke Th2 (Munoz, *et al*, 2005). Akibatnya terjadi hiperaktivitas sel B poliklonal, peningkatan antibodi, hipergammaglobulinemia, dan kompleks imun (Mok dan Lau, 2003). Pembersihan kompleks imun oleh fagosit mengalami gangguan pada pasien LES sehingga menghambat eliminasi kompleks imun dari sirkulasi dan jaringan. Hal ini diduga akibat penurunan jumlah CR1 yang merupakan reseptor untuk komplemen dan terjadi gangguan fungsi dari reseptor pada permukaan sel. Gangguan *clearance* ini juga diduga akibat fagositosis IgG2 dan IgG3 yang tidak adekuat (Munoz, *et al*, 2005).

Pada pasien LES ditemukan defek pada produksi sitokin. Penurunan produksi IL-1 dan IL-2 dapat berpengaruh terhadap fungsi sel T dan sel B. Disamping itu ditemukan pula penurunan respon sel Treg (CD4⁺CD25⁺) terhadap IL-2 yang mengakibatkan fungsinya menurun sehingga fungsi sel Th seakan lebih meningkat. Sebaliknya hiperaktivitas sel B disebabkan oleh hipersensitivitas sel Th terhadap IL-2 (Mok C dan Lau S, 2003).

Selain itu, pada pasien LES terjadi peningkatan apoptosis sehingga menyebabkan peningkatan kebocoran antigen intraseluler yang memicu

terjadinya autoimun dan membentuk kompleks imun. Dalam keadaan normal, sel-sel yang apoptosis akan dicerna oleh makrofag pada fase awal dari apoptosis tanpa merangsang terjadinya inflamasi dan respon imun. Kegagalan *clearance* dari sel-sel yang apoptosis diduga disebabkan oleh defek jumlah dan kualitas protein komplemen seperti C2, C4, atau C1q. Beberapa studi menunjukkan bahwa terjadinya autoantibodi pada LES akibat dua perubahan mayor, yaitu meningkatnya apoptosis limfosit dan monosit dalam sirkulasi dan kesalahan pengenalan autoantigen yang dilepaskan selama apoptosis (Mok dan Lau, 2003).

Mekanisme yang mendasari gejala klinik memburuk pada pasien LES adalah ketidakseimbangan antara respon proinflamasi dengan antiinflamasi. Terjadi penurunan jumlah sel *Treg* ($CD4^+CD25^+$) yang berperan sebagai supresor imun dan peningkatan jumlah serta aktivitas sel *Th17* sebagai efektor yang berperan dalam regulasi respon inflamasi. Berbagai penelitian membuktikan bahwa terjadi penurunan aktivitas sel *Treg* ($CD4^+CD25^+$) peningkatan aktivitas dari sel *Th17* dan (Yang, *et al*, 2011). Sel *Th17* mensekresi IL-17 (Fossiez, *et al*, 1996). Pada pasien LES, menurunnya sel *Treg* ($CD4^+CD25^+$) dan meningkatnya *Th17* dapat berdampak buruk, karena *Th17* menghasilkan sitokin proinflamasi seperti IL-17 yang bersifat patogenik dan menimbulkan kondisi autoimun semakin parah pada pasien LES (Wong, *et al*, 2000). Dari beberapa penelitian telah terbukti bahwa sel *Th17* berperan dalam memediasi terjadinya penyakit autoimun pada hewan coba (Langrish, *et al*, 2005).

LES mempunyai manifestasi yang bermacam-macam dan menyerang berbagai sistem organ sehingga sulit untuk didiagnosis. Berikut ini adalah tabel manifestasi klinis yang muncul pada pasien LES (Kusuma, 2007).

Tabel 2.1 Manifestasi Klinis Pasien LES (Kusuma, 2007)

Sistem Organ	Manifestasi Klinis	%
Sistemik	Mudah lelah, lemah, demam, penurunan berat badan	95
Muskuloskeletal	Artalgia, mialgia, dan miopati	95
Darah	Anemia, hemolisis, leucopenia	85
Kulit	Ruam malar, ruam diskoid, ruam kulit, fotosensitif	80
Neurologi	Sindrom otak organik, psikosis, kejang	60
Kardiopulmoner	Pleuritis, perikarditis	60
Renal	Proteinuria, sedimentasi	50
Gastrointestinal	Anoreksia, mual, asites, vaskulitis	45
Trombosis	Arterial dan venosa	15
Okuler	Konjungtivitis	15
Kehamilan	Abortus berulang, preeklamsia, kematian janin dalam rahim	30
Antibodi Antinuklear (ANA)	Titer ANA yang abnormal berdasarkan tes imunofloresensi yang tidak disebabkan oleh obat yang mengakibatkan sindrom lupus.	

Gambaran klinis yang nampak pada pasien LES senantiasa berubah-ubah sepanjang waktu. Hal ini disebabkan fluktuasi antara keadaan remisi dan eksaserbasi, manifestasi klinis yang muncul, dan kerusakan ireversibel sehingga sulit menentukan keadaan seorang pasien LES (Strand, 2004; Boers, *et al*, 2005).

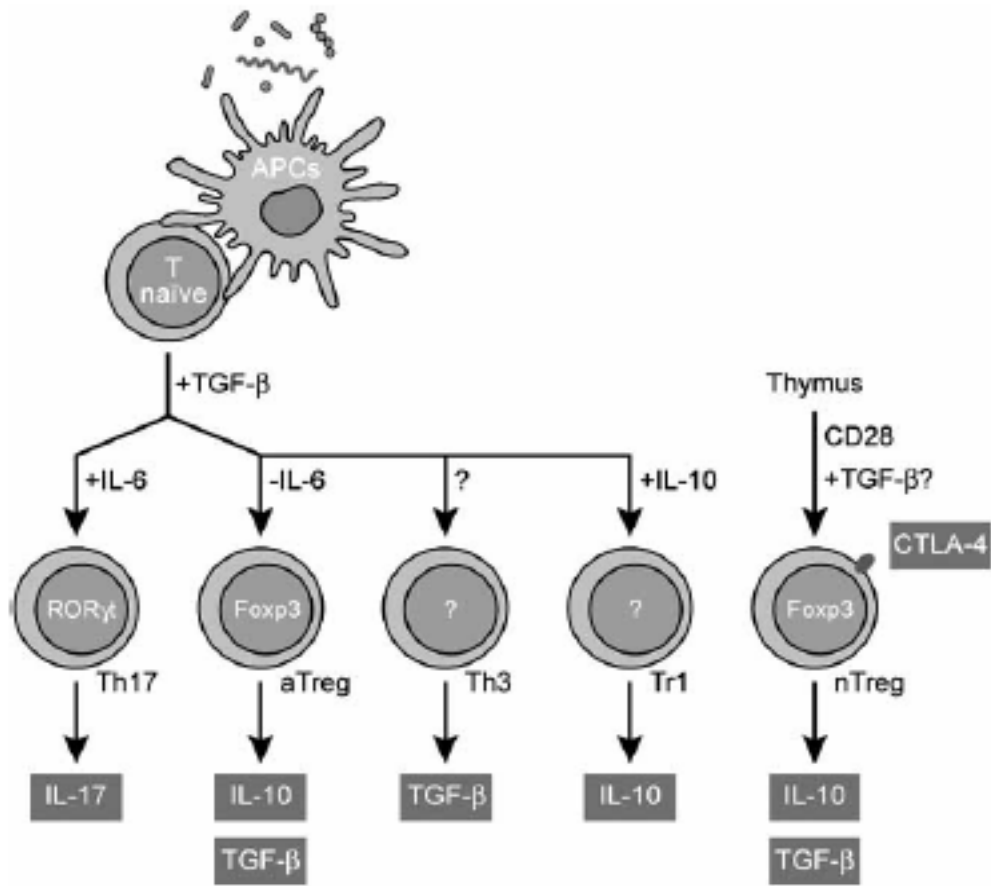
Beberapa tahun terakhir telah dikembangkan suatu standar untuk mengukur derajat inflamasi pada pasien LES dan berhasil divalidasi (Lam dan Petri, 2005), diantaranya adalah *British Isles Lupus Assessment Group* (BILAG), *the European Consensus Lupus Activity Measurement* (ECLAM), *the Systemic Lupus Activity Measure* (SLAM), dan *the SLE Disease Activity Index* (SLEDAI). Setiap indeks tersebut lebih mengutamakan fungsi klinis daripada fungsi

penelitian (Houssiau, *et al*, 2002; Alarcon, *et al*, 2003; Petri, *et al*, 2004) namun dapat diterapkan baik untuk pengawasan klinis atau penelitian kesehatan.

2.2 Sel Tregulator(CD4⁺CD25⁺)

Sel Treg (CD4⁺CD25⁺) memainkan peran sentral dalam menjaga keseimbangan sel imun dengan menurunkan atau memelihara toleransi antar sel imun (Lai dan Bromberg, 2009) dan supresi sistem imun yang berlebihan. Secara umum, sel Treg (CD4⁺CD25⁺) ada 2 macam, yaitu *natural Treg* (nTreg) yang berkembang di timus dan *induced Treg* (iTreg) yang berkembang di perifer setelah diinduksi oleh inflamasi dan proses penyakit. Sel Treg (CD4⁺CD25⁺) memainkan peranan immunosupresif melalui beberapa mekanisme dengan mensekresikan faktor immunosupresif seperti IL-9, IL-10, TGFβ, regulasi kontak sel yang dimediasi TCR dan kostimulator lain misalnya CTLA-4, GITR, dan aktivitas sitolitik (Curotto dan Lafaille, 2009).

Terjadi penurunan jumlah dan fungsi sel Treg (CD4⁺CD25⁺) dalam mensupresi respon imun yang berlebihan pada pasien LES. Dalam mensupresi sistem imun khususnya sel Th17, sel Treg (CD4⁺CD25⁺) bekerja dengan cara menghasilkan sitokin anti-inflamasi seperti TGF-β (Afzali *et al.*, 2007). Foxp3 merupakan faktor transkripsi yang berperan dalam perkembangan dan fungsi supresi dari sel Treg (CD4⁺CD25⁺) sekaligus sebagai marker spesifik sel Treg (CD4⁺CD25⁺) (Fontenot, *et al*, 2003; Sakaguchi, 2005; Campbell dan Ziegler, 2007). Defisiensi Foxp3 menyebabkan autoimunitas (Ziegler, 2006) seperti pada pasien LES yang mengalami disfungsi Foxp3 (Sanchez *et al*, 2006).



Gambar 2.1 Pembentukan Sel Treg (CD4⁺CD25⁺)

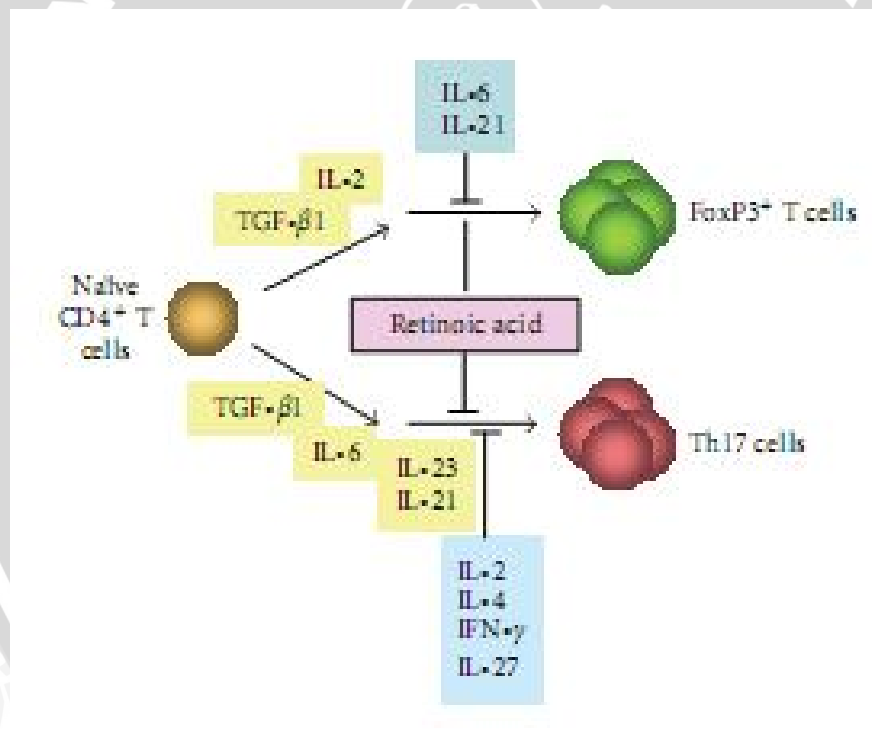
Deskripsi gambar: sel T (CD4⁺) Naif dapat berdeferensiasi menjadi sel Treg (CD4⁺CD25⁺) dalam hal ini adalah *initial Treg* memerlukan adanya induksi dari TGF-β dan keberadaan IL-6 lebih sedikit jika dibandingkan diferensiasi menjadi sel Th17. Selain itu sel Treg (CD4⁺CD25⁺) dalam hal ini adalah *natural Treg* dihasilkan di thymus dengan adanya induksi dari CTLA-4, CD-8 dan TGF- β. Kedua jenis sel Treg (CD4⁺CD25⁺) akan menghasilkan sitokin antiinflamasi IL-10 dan TGF-β. (Vernal dan Garcia-Sanz, 2008)

2.3 Vitamin A

Pro vitamin A yang terkandung dalam makanan diserap dalam bentuk retinol yang kemudian diubah menjadi *retinoic acid* (RA) (Napoli, 1996). Diantara bentuk metabolit vitamin A, 11-cis- retinal, all—trans retinoic acid (At-RA) dan 9-cis-RA memediasi fungsi biologis utama vitamin A (M. Mark, *et al*, 2006). RA mengatur berbagai macam fungsi seluler seperti proliferasi dan diferensiasi. Fungsi ini diperankan oleh *Retinoic Acid Receptor* (RAR), termasuk

subunit α , β , dan γ) dan *Retinoic X Receptor* (RXR), termasuk subunit α , β , dan γ , yang berfungsi sebagai ligan faktor transkripsi *inducible* (Winoto dan Littman, 2002).

Beberapa penelitian menunjukkan bahwa RA bersinergi dengan TGF- β menginduksi sel Treg (CD4⁺CD25⁺) (Mucida, *et al*, 2007) dengan meningkatkan asetilisasi histon pada regio Foxp3 (Xiao, *et al*, 2008; Kang, *et al*, 2007) dan menghambat perkembangan Th17 yang diinduksi TGF- β dan IL-6 dengan cara menurunkan ekspresi IL-23R yang diinduksi IL-6/IL-21 (Mucida, *et al*, 2007; Xiao, *et al*, 2008).



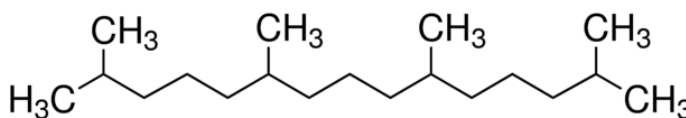
Gambar 2.2 Diferensiasi Sel CD4⁺ Naif dan Peran Vitamin A

Deskripsi gambar: sel CD4⁺ Naif dapat berdeferensiasi menjadi sel Treg (CD4⁺CD25⁺) dengan adanya induksi dari TGF- β 1 dan IL-2 dan Sel Th17 dengan induksi dari TGF- β 1 dan IL-6. Selain itu terdapat faktor yang menghambat diferensiasi sel Treg (CD4⁺CD25⁺) yaitu adanya IL-6, sehingga apabila sel CD4⁺ naif terdiferensiasi menjadi Th17 maka sel Treg (CD4⁺CD25⁺) tidak akan terbentuk. Terdapat pula peran dari Vitamin A (*Retinoic Acid*) dalam proses diferensiasi sel CD4⁺ naif ini yaitu sebagai suppresor terbentuknya Th17 dan dapat menginduksi terbentuknya sel Treg (CD4⁺CD25⁺). (Kim, 2008)

2.4 Pristan

Pristan merupakan minyakhidrokarbon dengan rumus 2, 6, 10, 14-tetramethylpentadecane, yang dapat menginduksi inflamasi kronis. Respon inflamasi yang dihasilkan oleh pristan ini menyebabkan suatu manifestasi klinis yang mirip dengan LES pada manusia (Reeves *et al*, 2009). Pemberian pristan pada mencit Balb/c menyebabkan terjadinya imun efek melibatkan antibodi IgG, neutrofil, makrofag, dan endotel teraktivasi..Teraktivasinya IgG memberikan persinyalan pada neutrofil dan makrofag melalui FC γ R. Hal ini menyebabkan terjadinya peningkatan persentase IL-6karena adanya sekresi dari neutrofil. Selain kenaikan IL-6, terjadi pula penurunan IL-2. Endotel yang teraktivasi akibat adanya mekanisme inflamasi juga mensekresi IL-6. Sehingga semakin banyak produksi IL-6 (Clynes *et al*, 2005), selain itu pristan juga menyebabkan produksi IFN meningkat. IL-6 dan IFN yang meningkat ini kemudian berperan besar dalam pembentukan autoantibodi dalam mencit Balb/c (Reeves *et al*, 2009).

Pristan sering digunakan untuk membuat autoimun pada hewan model. Beberapa penyakit autoimun yang dapat diinduksi oleh pristan diantaranya adalah *arthritis*, *glomerulonephritis*, dan *pulmonary vasculitis* (Reeves *et al*, 2009). Pada mencit Balb/c model FC γ RII $^{-}$, injeksi pristan dapat mengakibatkan peningkatan keparahan *glomerulonephritis* (Clynes *et al*, 2005). Penelitian Chowdary, (2007)menunjukkan mencit Balb/c yang telah diinjeksi pristan pada minggu ke dua telah terjadi inflamasi pada ginjal.



Gambar 2.3 Struktur Kimia Pristan (Osuji, 2009)

2.5 Ketela Rambat (*Ipomoea batatas*)

Sistematika tanaman ketela rambat sebagai berikut (Rukmana, 1997)

Kingdom	: Plantae
Divisi	: Spermatophyta
Subdivisi	: Angiospermae
Kelas	: Dicotyledonae
Ordo	: Convolvulales
Familyl	: Convolvulaceae
Genus	: Ipomoea
Spesies	: <i>Ipomoea batatas</i> .

Ketela rambat (*Ipomoea batatas*) adalah tanaman dikotil tahunan dengan batang panjang menjalar dan daun berbentuk jantung hingga bundar yang bertopang daun tegak. Bagian tengah batang tempatnya tumbuh cabang lateral biasanya bengkok dan bergantung pada panjang ruas batang, dapat dilihat berupa semak (Rubatzky dan Yamaguchi, 1998).

Ketela rambat mempunyai keragaman jenis yang cukup banyak. Ketela rambat ungu (*Ipomoea batatas*) merupakan bahan pangan yang mengandung vitamin dan mineral yang dibutuhkan tubuh, seperti vitamin A, vitamin C, vitamin E, kalsium, dan zat besi (Antarlina, 1991). Kadar vitamin A mencapai 9.900mg/100g umbi atau senilai dengan 20.063 SI (Kotecha dan Kadam, 1998). Bahkan hampir semua kebutuhan nutrisi dapat diperoleh dari ketela rambat dengan kadar yang bervariasi (OECD, 2010). Berikut adalah daftar kandungan kimia ketela rambat menurut Kotecha dan Kadam (1998).

Tabel 2.2. Kandungan Ketela Rambat (Kotecha dan Kadam, 1998)

Komponen	Jumlah
Kadar Air (%)	72,84
Pati (%)	24,28
Protein (%)	1,65
GulaReduksi (%)	0,85
Mineral (%)	0,95
AsamAskorbat (mg/100g)	22,7
Kalium (mg/100g)	204,0
Sulfur (mg/100g)	28,0
Kalsium (mg/100g)	22,0
Magnesium (mg/100g)	10,0
Natrium (mg/100g)	13,0
ZatBesi (mg/100g)	0,59
Mangan (mg/100g)	0,355
Vitamin A (IU/100g)	20063,0
Energi (kJ/100g)	441,0

Tabel 2.3 Kandungan Ketela Rambat (*Ipomoea batatas*) (OECD, 2010)

Nutrient	Storage roots				Range of mean values – raw without skin
	With skin		Without skin		
	Raw unprepared	Raw, frozen unprepared	Raw	Raw	
	g/100gFW				
Water	77.3	74.9	66.1	68.8-73.3	66.1-74.9
	g/100gDW				
Protein	6.9	6.8	3.5	3.7-6.1	3.5-6.8
Total Fat	0.2	0.7	0.6		0.6-0.7
Ash	4.4	4.0	2.9	2.6-3.2	2.6-4.0
Carbohydrate	88.6	88.5	92.9	91.0-95.0	88.5-95.0
Crude Fibre				3.0-3.2	3.0-3.2
Dietary Fibre	13.2	6.8	6.8		6.8
Sugars, total	18.4				
Sucrose	11.1				
Glucose	4.2				
Fructose	3.1				
Starch	55.7				

Tabel 2.4 Kandungan Vitamin Ketela Rambat (*Ipomoea batatas*) (OECD, 2010)

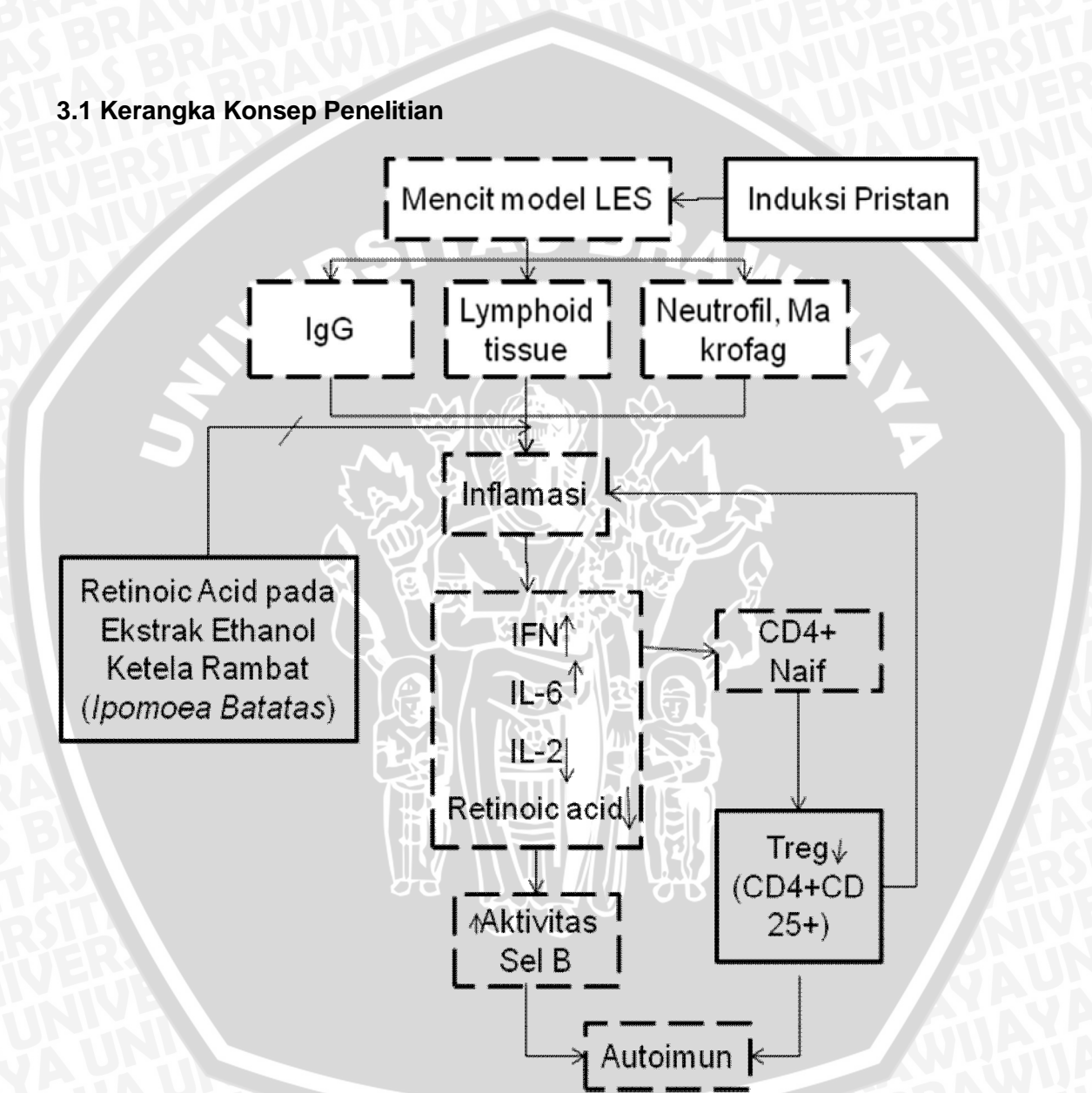
Nutrient	Unit	Storage roots				
		Baked frozen without skin	Boiled without skin	Cooked	Steamed	Baked
Vitamin C, total	mg	34.60	64.42	92.25	59.52	23
Thiamin	mg	0.25	0.28	0.26	0.30	0.12
Riboflavin	mg	0.21	0.24	0.48	0.09	0.06
Niacin	mg	2.11	2.71	2.21	2.08	1.0
Pantothenic acid	mg	2.13	2.92		2.89	1.30
Vitamin B6	mg	0.71	0.83	0.89	0.68	0.33
Folate, total	mcg	83.65	30.20		136.90	47
Folate, DFE	mcg	83.65	30.20			-
Folic acid	mcg	0.00	0.00	84.87		-
Choline	mcg	-	54.35			
Caroten, beta	mcg	47520.91	47528.94			
Caroten, alpha	mcg	178.71	0.00			
Vitamin A, IU	IU	79353.61	79214.94	8051.66		-
Vitamin A, RAE	mcg	3965.78	396.74			-
Vitamin E	mcg	2.93	4.73		4.46	1.3
Vitamin K	mcg	9.51	10.57		0.00	0.00

Ketela rambat merupakan tanaman yang sudah lama dikenal dan dibudidayakan oleh masyarakat Indonesia. Hal itu tercermin dari daerah penyebaran komoditas ini di hampir seluruh propinsi di Indonesia.

BAB 3

KERANGKA KONSEP DAN HIPOTESIS

3.1 Kerangka Konsep Penelitian



Gambar 3.1 Kerangka Konsep Penelitian

Keterangan:

———— : Menyebabkan

——/——> : Menghambat

----- : Variabel tidak diteliti

———— : Variabel yang diteliti

3.2 Deskripsi Kerangka Konsep Penelitian:

Injeksi *Pristane* yang dilakukan untuk membuat mencit BALB/c menjadi model LES. Injeksi pristan dapat menyebabkan terjadinya inflamasi. Inflamasi yang terjadi melibatkan antibodi IgG, kelenjar limfe regional, dan teraktivasinya neutrofil serta makrofag. Hal ini menyebabkan terjadinya peningkatan produksi IFN dan IL-6, serta terjadi penurunan produksi IL-2. Kadar *Retinoic Acid* (vitamin A) juga mengalami penurunan karena dibutuhkan untuk regenerasi, proliferasi, dan diferensiasi sel yang terkena defek akibat inflamasi.

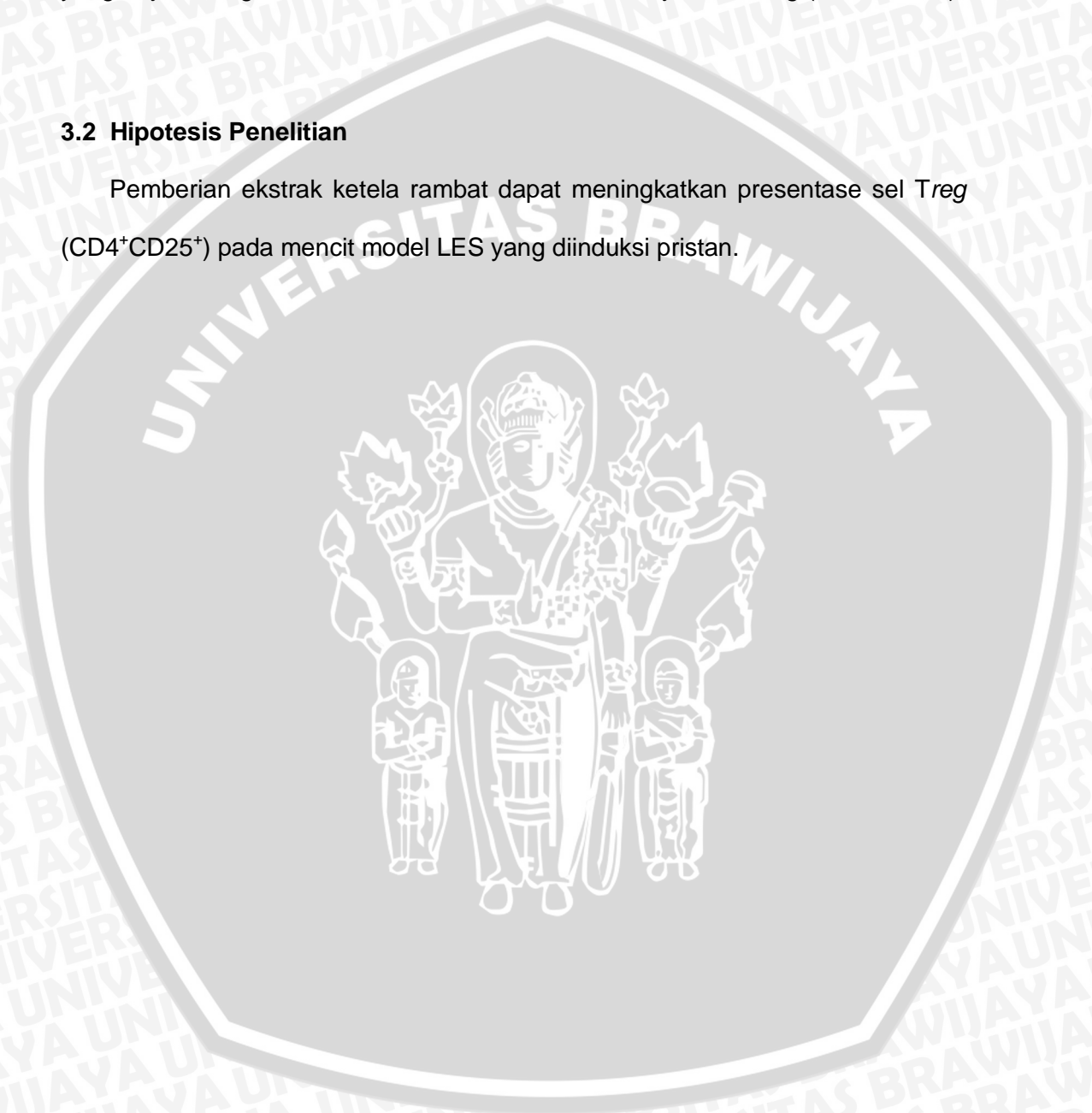
IL-6 dan IL-2 berperan dalam diferensiasi CD4⁺ naif. Kadar IL-6 yang meningkat dan IL-2 yang mengalami penurunan akan menyebabkan penurunan diferensiasi CD4⁺ naif menjadi sel *Treg* (CD4⁺CD25⁺). *Retinoic Acid* (vitamin A) juga berperan dalam menginduksi terdiferensiasinya sel *Treg* (CD4⁺CD25⁺) dari CD4⁺ naif. Menurunnya diferensiasi CD4⁺ naif menjadi sel *Treg* (CD4⁺CD25⁺) akan menyebabkan regulasi sistem imun tidak seimbang, karena *Treg* (CD4⁺CD25⁺) berfungsi sebagai regulator sistem imun dan berperan sebagai agen antiinflamasi.

Meningkatnya IL-6 juga menyebabkan terjadinya aktivasi sel B yang berlebihan. Aktivasi sel B yang berlebihan akan menyebabkan terus diproduksinya antibodi yang berlebihan. Penurunan diferensiasi CD4⁺ menjadi sel *Treg* (CD4⁺CD25⁺) akan menyebabkan proses inflamasi yang terjadi semakin memburuk. Peningkatan IL-6, IFN, dan aktivitas berlebih dari sel B, serta penurunan diferensiasi CD4⁺ menjadi sel *Treg* (CD4⁺CD25⁺) menyebabkan inflamasi yang terjadi berkembang ke suatu kompleks imun yang akan menyebabkan terjadinya autoimun.

Pemberian ekstrak ethanol ketela rambat (*Ipomoea batatas*) yang mengandung *Retinoic Acid* (vitamin A) diharapkan dapat menghambat inflamasi yang terjadi dengan membantu diferensiasi $CD4^+$ menjadi sel *Treg* ($CD4^+CD25^+$).

3.2 Hipotesis Penelitian

Pemberian ekstrak ketela rambat dapat meningkatkan presentase sel *Treg* ($CD4^+CD25^+$) pada mencit model LES yang diinduksi pristan.



BAB 4

METODE PENELITIAN

4.1 Desain Penelitian

Penelitian ini menggunakan desain *true experimental laboratory* dengan metode *Randomized Posttest Only Controlled Group Design* untuk mengetahui peran ketela rambat dalam menurunkan progresifitas kerusakan ginjal pada hewan model lupus nefritis yang diinduksi pristan.

Hewan model yang digunakan dalam penelitian ini adalah mencit. Setelah melewati masa aklimatisasi selama satu pekan, mencit dibagi secara acak menjadi 4 kelompok yaitu A, B, C, D, E. Mencit B, C, D, dan E menerima injeksi pristan sebanyak 0,5 ml sekali injeksi melalui intraperitoneal sedangkan mencit A tidak mendapatkan perlakuan apapun pada waktu yang sama. 6 minggu setelah injeksi pristan, mencit C mendapat asupan ekstrak etanol ketela rambat dengan dosis 0,175 gram/KgBB/hari, mencit D 0,35 gram/KgBB/hari, dan mencit E 0,7 gram/KgBB/hari secara oral yang diberikan selama 6 minggu sedangkan mencit A diberi H₂O dalam periode yang sama.

4.2 Populasi dan Sampel Penelitian

Populasi penelitian ini adalah mencit putih betina dari jenis yang BALB/c berusia 8 minggu dalam kondisi sehat yang dibuktikan dengan sertifikat bebas penyakit. Berikut kriteria inklusi dan eksklusi yang ditentukan untuk penelitian ini.

Kriteria Inklusi:

1. Mencit jenis BALB/c

2. Jenis kelamin betina
3. Umur 8 minggu
4. Berat badan 20-25 gram
5. Sehat

Kriteria Eksklusi:

1. Cacat
2. Umur kurang dari 8 minggu

Selanjutnya jumlah mencit yang dibutuhkan dihitung dengan rumus (Supranto J, 2000)

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

Dimana: t = banyak kelompok perlakuan

r = jumlah replikasi

Dalam penelitian ini diketahui perlakuan (t) = 5, yaitu 1 kelompok kontrol negatif, 1 kontrol positif, dan 3 kelompok perlakuan sehingga didapat nilai n sebagai berikut:

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

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

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

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

$$r \geq 4,75$$

Jadi dalam penelitian ini jumlah sampel tiap perlakuan adalah 5 ekor mencit sehingga jumlah total mencit yang dibutuhkan sejumlah 25 mencit.

4.3 Variabel Penelitian

Variabel bebas dalam penelitian ini adalah pemberian dosis ekstrak etanol ketela rambat (*Ipomoea batatas*) yang dibagi dalam kelompok:

1. Kelompok kontrol negatif (A) adalah kelompok mencit yang tidak diberi perlakuan apapun
2. Kelompok kontrol positif (B) adalah kelompok mencit yang diberi pristan
3. Kelompok perlakuan satu (C) adalah kelompok mencit yang diberi pristan dan ekstrak etanol ketela rambat (*Ipomoea batatas*) 0,175gram/KgBB/hari
4. Kelompok perlakuan dua (D) adalah kelompok mencit yang diberi pristan dan ekstrak etanol ketela rambat (*Ipomoea batatas*) 0,35gram/KgBB/hari
5. Kelompok perlakuan tiga (E) adalah kelompok mencit yang diberi pristan dan ekstrak etanol ketela rambat (*Ipomoea batatas*) 0,7gram/KgBB/hari (Wang, *et al.*, 2010).

Dosis minimal ekstrak etanol ketela rambat (*Ipomoea batatas*) yang digunakan adalah 0,75 gram/KgBB/hari pada mencit BABL/c yang mengacu pada penelitian sebelumnya yang pernah dilakukan oleh Wang *et al.* pada tahun 2010 yang meneliti tentang efek ekstrak etanol ketela rambat (*Ipomoea batatas*) terhadap tikus yang mengalami inflamasi pada otak. Kemudian dibuat variasi kelipatan dosis untuk mencari tahu dosis optimal dari ekstrak tersebut.

Variabel terikat adalah hasil yang akan didapatkan dari variabel bebas, pada penelitian ini variabel terikatnya adalah persentase sel Treg (CD4⁺CD25⁺).

Variabel kendali adalah variabel yang dapat dikendalikan oleh peneliti agar obyek penelitian selalu terkendali dan dalam keadaan homogen. Variabel kendali dalam penelitian ini adalah:

1. Jenis tikus
2. Umur tikus
3. Jenis kelamin tikus
4. Berat badan tikus
5. Kondisi lingkungan kandang
6. Cara pemberian ekstrak etanol ketela rambat (*Ipomoea batatas*)

4.4 Tempat dan Waktu Penelitian

Penelitian ini dilakukan di Laboratorium Farmakologi, Laboratorium Parasitologi, dan Laboratorium Biomedik Fakultas Kedokteran Universitas Brawijaya Malang dalam waktu empat bulan.

4.5 Bahan dan Alat Penelitian

4.5.1 Bahan

Ketela rambat, pakan mencit, etanol 95%, alkohol 70%, sabun antiseptik, fixation and permeabilization buffer set, purified anti mouse CD-4, anti CD-25, ficoll, PBS, dan RBC.

4.5.2 Alat

Kandang mencit, botol minum, alat semprot, tempat makan, pisau, blender, neraca analitik, *rotatory evaporator vacum*, timbangan OHAUS, mortar, gelas ukur, pengaduk, sonde lambung mencit, timbangan digital,

pisau bedah, papan bedah, pinset, *potter homogenizer*, *object glass*, kamera digital, tempat cuci tangan, sarung tangan, jas laboratorium, spuit 1m, *centrifuge*, *vacutainer* EDTA, tip (putih, kuning, biru), tabung *flowcytometer*, *flowcytometry*.

4.6 Definisi Operasional Penelitian

- Pristan merupakan minyak hidrokarbon dengan rumus 2, 6, 10, 14-*tetramethylpentadecane*, yang dapat menginduksi inflamasi kronis. Respon inflamasi yang dihasilkan oleh pristan ini menyebabkan suatu manifestasi klinis yang mirip dengan Lupus Eritematosus Sistemik pada manusia. Pristan diperoleh dari Sigma Chemical Co., St Louis, MO, USA.
- Pembuatan mencit model LES dilakukan dengan cara menyuntikkan pristan 0,5ml secara intraperitoneal dan ditunggu efeknya selama 6 minggu (inflamasi kronik) (Cowdary, *et al.*, 2007).
- Mencit model LES dalam penelitian ini memenuhi kriteria peningkatan kadar leukoesterase dalam urin disertai adanya hematuria dan adanya tanda histologi yang menyatakan *staging Lupus Nephritis*.
- Ketela rambat diperoleh dari daerah Batu.
- Ekstrak etanol ketela rambat diperoleh dengan metode maserasi dengan pelarut etanol 95% yang dilanjutkan dengan evaporasi. Proses ekstraksi dilakukan di Poli Teknik Negeri Malang.
- Pemberian ekstrak etanol ketela rambat (*Ipomoea batatas*) pada mencit menggunakan sonde dan diberikan secara peroral.

- Treg merupakan sel limfosit T yang mengekspresikan CD4⁺ dan CD25⁺ yang diukur dengan menggunakan *flowcitometer*.

4.7 Prosedur Penelitian

4.7.1 Pembuatan Ekstrak Etanol Ketela Rambat (*Ipomoea batatas*)

4.7.1.1 Proses Maserasi

1. Umbi ketela rambat (*Ipomoea batatas*) dikupas dan dicuci dengan air bersih,
2. Dipotong kecil-kecil agar mudah untuk dihaluskan,
3. Dihaluskan menggunakan blender dan ditimbang 100 gr menggunakan timbangan analitik,
4. Dimasukkan ke dalam *beaker glass*,
5. Ditambahkan pelarut etanol 95 % sampai volume 1000 mL,
6. Didiamkan 1 malam sampai mengendap,
7. Diambil lapisan bagian atas campuran etanol (pelarut) dengan zat aktif yang sudah tercampur (bisa dengan cara penyaringan menggunakan kertas saring),
8. Proses perendaman ini dilakukan sampai 3 kali.

4.7.1.2 Proses Evaporasi,

1. Evaporator dipasang pada tiang permanen agar dapat digantung dengan kemiringan 30°-40° terhadap meja,
2. Hasil maserasi dimasukkan dalam labu ekstraksi. Satu set alas evaporasi diletakkan sedemikian rupa sehingga

sebagian labu ekstraksi terendam aquades pada *water bath*,

3. *Water bath* dihubungkan dengan sumber listrik dan dinaikkan suhunya sampai 70° C (sesuai dengan titik didih etanol),
4. Proses berjalan (pengembunan dan pemisahan di pendingin) sampai hasil evaporasi tersisa dalam labu ekstraksi,
5. Hasil ekstraksi dimasukkan ke dalam botol plastik atau kaca kemudian simpan di dalam *freezer*. (Anita, *et al.*, 2014).

4.7.2 Persiapan Hewan Coba

Dilakukan persiapan pemeliharaan hewan coba mulai dari kandang pemeliharaan hewan coba, anyaman kawat, sekam, botol minum, alat semprot, tempat makan, pakan *comfeed*, alkohol 70%, hewan uji mencit galur Balb/c, dan seleksi mencit (usia, berat badan, jenis kelamin, kesehatan). Mencit diadaptasikan di dalam laboratorium parasitologi selama tujuh hari.

4.7.3 Pembagian Kelompok Hewan Coba

Mencit BALB/c dibagi menjadi 1 kelompok kontrol negatif, 1 kelompok kontrol positif, dan 3 kelompok perlakuan, yang masing-masing terdiri dari 6 ekor mencit dengan pembagian secara acak. Adapun pembagian kelompok mencit tersebut sebagai berikut :

1. K
kelompok kontrol negatif (A) adalah kelompok mencit yang tidak diberi perlakuan apapun
2. K
kelompok kontrol positif (B) adalah kelompok mencit yang diberi pristan
3. K
kelompok perlakuan satu (C) adalah kelompok mencit yang diberi pristan dan ekstrak etanol ketela rambat 0,175 gram/KgBB/hari
4. K
kelompok perlakuan dua (D) adalah kelompok mencit yang diberi PBS dan ekstrak etanol ketela rambat mencit D 0,35 gram/KgBB/hari
5. K
kelompok perlakuan tiga (E) adalah kelompok mencit yang diberi PBS dan ekstrak etanol ketela rambat 0,7 gram/KgBB/hari (Wang, *et al.*, 2010).

4.7.4 Induksi Pristan

Induksi pristan diberikan dengan cara injeksi intraperitoneal dalam dosis 0,5ml pada kelompok mencit B, C, D, dan E sebanyak satu kali selama penelitian (Clynes, *et al.*, 2005).

4.7.5 Pemberian Ekstrak Etanol Ketela Rambat (*Ipomoea batatas*)

Ekstrak etanol ketela rambat diberikan dalam dosis pada mencit C sebesar 0,175 gram/KgBB/hari, mencit D 0,35 gram/KgBB/hari, dan

mencit E 0,7 gram/KgBB/hari setelah melewati masa 6 minggu pasca injeksi pristan secara intraperitoneal dan diberikan selama 6 minggu secara oral menggunakan sonde.

Dosis minimal ekstrak etanol ketela rambat (*Ipomoea batatas*) yang digunakan (0,175 gram/KgBB/hari) mengacu pada penelitian sebelumnya yang pernah dilakukan oleh Wang *et al.*, (2010) yang meneliti tentang efek ekstrak etanol ketela rambat (*Ipomoea batatas*) terhadap tikus yang mengalami inflamasi pada otak. Kemudian dibuat variasi kelipatan dosis untuk mencari dosis optimal dari ekstrak tersebut.

4.7.6 Pengukuran Persentase Treg (CD4⁺CD25⁺)

1. Pengambilan sampel darah *intracardiac*
 - a. Mencit dibius dengan cara dimasukkan ke dalam toples yang telah diisi ether.
 - b. Mencit dipindahkan ke papan bedah dan sebelumnya telah dipastikan mencit telah terbius.
 - c. Ke-empat kaki mencit ditusuk dengan jarum pentul agar terfiksasi.
 - d. Alkohol 70% disemprotkan di badan mencit..
 - e. Mencit dibedah dengan cara memotong kulit perutnya. Dipotong hingga terlihat diafragma.
 - f. Diafragma dipotong hingga terlihat torax dan jantungnya.
 - g. Darah diambil dengan cara menusuk bagian apex jantung dengan spuit 1cc.

h. Darah yang ada di dalam spuit dipindahkan ke dalam *vacutainer* EDTA dan dikocok perlahan agar tidak menggumpal.

2. Isolasi PBMC

a. Darah dari *vacutainer* EDTA dipindahkan ke tabung falcon 15ml.

b. PBS ditambahkan dengan perbandingan 1:1 dengan darah.

c. Homogenisasi PBS dengan darah.

d. Ficoll ditambahkan dengan perbandingan 1:1. ditambahkan dengan perlahan-lahan agar sel tidak lisis. Hasil akhirnya akan ada batas antara ficoll dan darah.

e. *Centrifuge* pada kecepatan 1000rpm selama 30 menit.

f. *Buffy coat* (yang berbentuk cincin) diambil dengan menggunakan pipet dan dipindahkan ke *eppendorf tube*.

3. Pengambilan *Pellet*

a. PBS ditambahkan dengan perbandingan 1:1 dengan PBMC ke dalam *eppendorf tube*.

b. RBC ditambahkan ke dalam *eppendorf tube* yang berisi PBMC dan PBS dengan perbandingan 0,5:1.

c. Vortex selama 10 detik.

d. *Centrifuge* pada kecepatan 2000rpm selama 5 menit.

e. Supernatan dibuang hingga menyisakan pellet.

f. PBS ditambahkan dengan perbandingan 1:1.

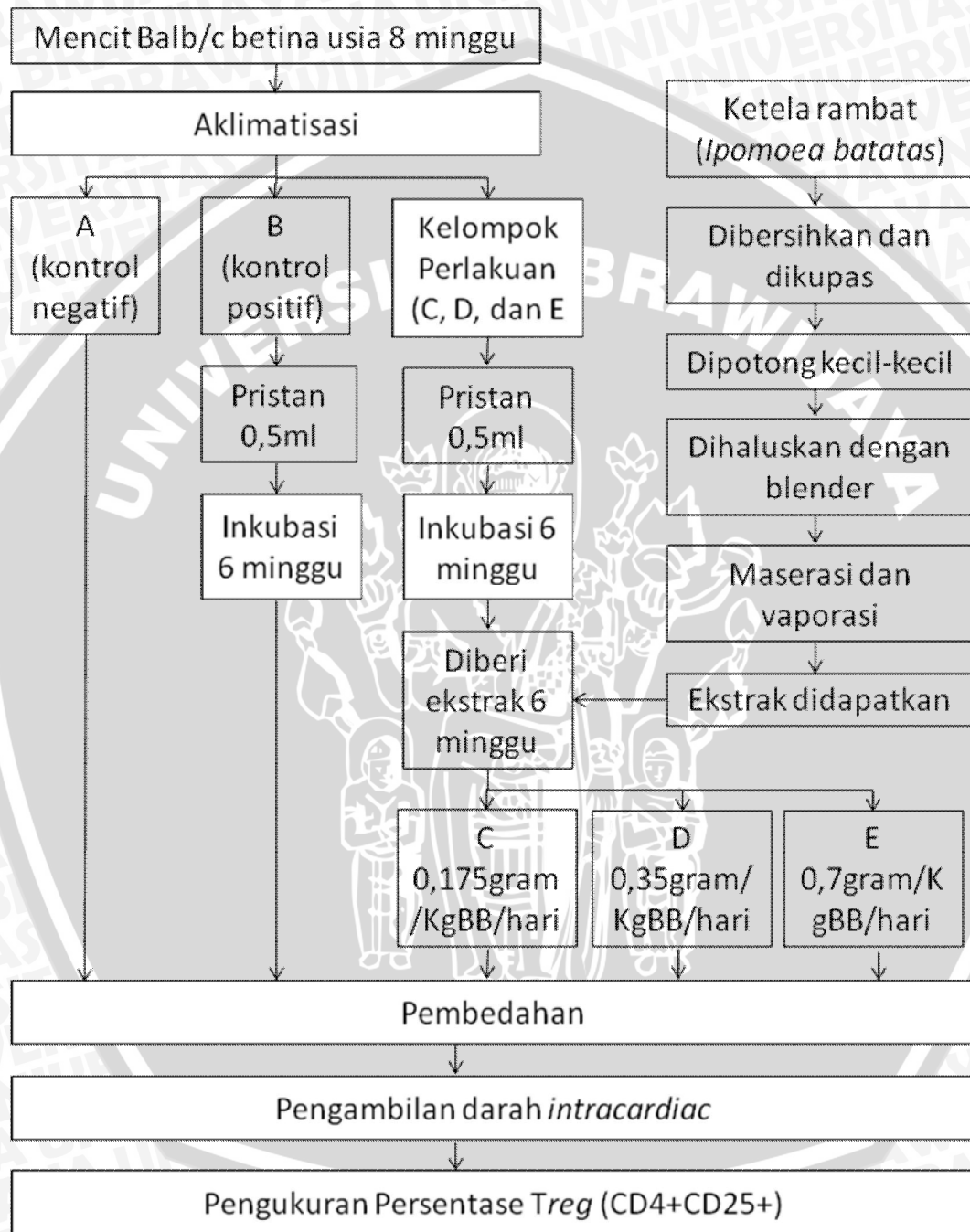
g. *Centrifuge* pada kecepatan 2000rpm selama 5 menit.

- h. Supernatan dibuang hingga menyisakan pellet. (Römer, *et al.*, 2011).
4. Pewarnaan dengan anti CD4 dan antiCD25
 - a. 1,5 μ L anti CD4 dan 1,5 μ L antiCD25 ditambahkan pada masing-masing endorff yang berisi pellet dengan pipet.
 - b. Pipetting dan inkubasi selama 30 menit dpada suhu 4°C.
 - c. Sel dicuci dengan menambahkan buffer 50 μ L pada setiap sampel.
5. Persentase Treg (CD4⁺CD25⁺) diukur menggunakan *flowcytometer*. (Basu, 2010).

4.8 Analisis Data

Persentase sel Treg (CD4⁺CD25⁺) diukur dengan *flowcytometer*. Kemudian persentase sel Treg (CD4⁺CD25⁺) yang didapat dianalisa menggunakan program SPSS 17.0 for Windows dengan tingkat signifikasi 0,05 ($p=0,05$) dengan taraf kepercayaan 95% ($\alpha=0,05$) dengan langkah uji hipotesis komparatif dan korelatif sebagai berikut: Uji normalitas data, Uji homogenitas varian, Uji *One-way ANOVA*, *Post hoc test* (uji *Least Significant Difference*).

4.9 Alur Penelitian



Gambar 4.1 Alur Penelitian

BAB 5

HASIL PENELITIAN DAN ANALISIS DATA

5.1 Hasil Penelitian

Penelitian ini menggunakan sampel darah *intracardiac* mencit model LES induksi pristan, yang dianalisis hasilnya setelah dilakukan penelitian selama 5 bulan. Terdapat 5 kelompok sampel dalam penelitian ini, yaitu kontrol negatif, kontrol positif, dan 3 kelompok perlakuan. Pada kelompok perlakuan, mencit diinjeksi dengan pristan 0,5ml dan diberi ekstrak etanol ketela rambat (*Ipomoea batatas*) dalam 3 dosis berbeda, yaitu 0,175 gram/KgBB/hari; 0,35 gram/KgBB/hari; dan 0,7 gram/KgBB/hari. Pada bulan keempat, dilakukan pembedahan dan pengambilan darah *intracardiac* kemudian dilakukan pengukuran persentase sel Treg (CD4⁺CD25⁺) dengan menggunakan *flowcytometry*.

Sebelum dilakukan pembedahan, dilakukan urinalisis (pengecekan kadar darah dan leukoesterase pada urin) untuk mengecek proses perkembangan penyakit yang terjadi pada ginjal. Hal ini dijadikan indikator untuk mengetahui telah terjadi inflamasi pada hewan coba. Dari data urinalisis didapatkan hasil sebagai berikut:

Tabel 5.1 Hasil Urinalisis Hematuria pada Mencit yang Diberi Ekstrak Etanol Ketela Rambat (*Ipomoea batatas*)

Kelompok	-	Trace	+1	+2	+3
Kontrol Negatif	100%	0	0	0	0
Kontrol Positif	75%	0	0	0	25%
Ekstrak 0,175gram/KgBB/hari	75%	0	0	0	25%
Ekstrak 0,35gram/KgBB/hari	75%	0	25%	0	0
Ekstrak 0,7gram/KgBB/hari	100%	0	0	0	0



Tabel 5.2 Hasil Urinalisis Leukosituria pada Mencit yang Diberi Ekstrak Etanol Ketela Rambat (*Ipomoea batatas*)

Kelompok	-	Trace	+1	+2	+3
Kontrol Negatif	100%	0	0	0	0
Kontrol Positif	0	0	75%	0	25%
Ekstrak 0,175gram/KgBB/hari	25%	50%	0	0	25%
Ekstrak 0,35gram/KgBB/hari	25%	75%	0	0	0
Ekstrak 0,7gram/KgBB/hari	50%	50%	0	0	0

Keterangan Tabel:

- : Negatif
- Trace : ada dalam jumlah sangat sedikit
- +1 : ada dalam jumlah sedikit (ringan)
- +2 : ada dalam jumlah *moderate* (sedang)
- +3 : ada dalam jumlah banyak (berat)

Tabel di atas (tabel 5.1 dan tabel 5.2) menunjukkan didapatkan darah +3 (menandakan ada hematuria berat) pada kelompok B dan C, +1 (ada hematuria ringan) pada kelompok D, sedangkan kelompok A dan E negatif. Sedangkan pada pengecekan leukoesterase didapatkan +3 (ada leukosituria berat) pada kelompok B, trace pada kelompok C, D, dan E, sedangkan kelompok A didapatkan hasil negatif. Data urinalisis yang didapat, menunjukkan telah terjadi proses inflamasi pada ginjal mencit Balb/c model LES.

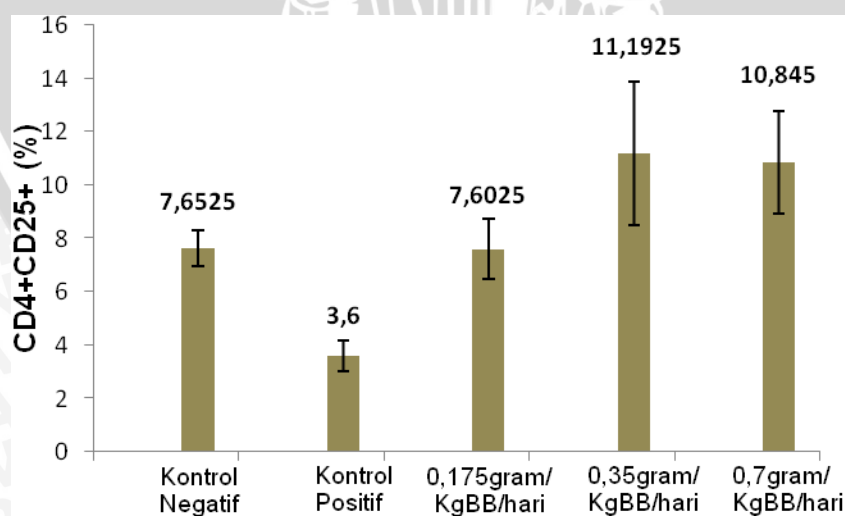
Setelah mengetahui hasil urinalisis, dilakukan pembedahan, pengecekan histo PA ginjal, dan analisis persentase sel Treg (CD4⁺CD25⁺) menggunakan *flowcytometry*. Hasil yang didapat dari pengecekan histo PA ginjal adalah sebagai berikut:

Tabel 5.3 Hasil Histo PA Ginjal (*Staging* Lupus Nefritis) pada Mencit yang Diberi Ekstrak Etanol Ketela Rambat (*Ipomoea batatas*)

Pengulangan	Kontrol Negatif	Kontrol Positif	0,175gram/ KgBB/hari	0,35gram/ KgBB/hari	0,7gram/ KgBB/hari
1	1.25	3.7	2.58	2.6	2.75
2	1.45	4.35	2.55	2.9	2.94
3	1.45	4.05	2.58	2.85	2.9
4	1.25	4.37	2.7	2.89	2.9
rata-rata	1.35	4.1175	2.6025	2.81	2.8725
std.dev	±0.11547	±0.31447	±0.066521	±0.141657	±0.083815

Tabel 5.3 menunjukkan pada kontrol positif memiliki rerata kerusakan ginjal yang lebih tinggi jika dibandingkan kelompok kontrol negatif. Hal ini menunjukkan bahwa pada pada kelompok positif telah terjadi peningkatan *staging* lupus nefritis jika dibandingkan kelompok mencit sehat (kontrol negatif). Data histo PA yang didapat, menunjukkan telah terjadi lupus nefritis pada ginjal mencit Balb/c model LES.

Hasil yang didapat dari *flowcytometry* kemudian dibuat tabel (Lampiran 1) dan dari tabel tersebut dibuat bentuk grafik untuk lebih jelas mengamati perubahan rata-rata persentase sel Treg ($CD4^+CD25^+$).



Gambar 5.1 Grafik Hasil Pengukuran Persentase Sel Treg ($CD4^+CD25^+$) pada Mencit yang Diberi Ekstrak Etanol Ketela Rambat (*Ipomoea batatas*)

Gambar 5.1 menunjukkan rerata persentase sel Treg (CD4⁺CD25⁺) pada seluruh kelompok. Grafik tersebut menunjukkan bahwa kelompok B (kontrol positif) memiliki rerata persentase sel Treg (CD4⁺CD25⁺) paling kecil dan rerata persentase sel Treg (CD4⁺CD25⁺) pada kelompok C 0,175 gram/KgBB/hari; kelompok D 0,35 gram/KgBB/hari; kelompok E 0,7 gram/KgBB/hari menunjukkan persentase sel Treg (CD4⁺CD25⁺) yang lebih tinggi dari kelompok B. Hal ini mengisyaratkan bahwa pemberian ekstrak etanol Ketela Rambat mampu meningkatkan persentase sel Treg (CD4⁺CD25⁺).

5.2 Analisis Data

Pada penelitian ini, pemberian ekstrak etanol ketela rambat (*Ipomoea batatas*) sebagai variabel bebas sedangkan persentase sel Treg (CD4⁺CD25⁺) sebagai variabel tergantung. Data hasil *flowcytometry* dilakukan uji normalitas dan homogenitas terlebih dahulu yang merupakan syarat uji One Way ANOVA. Selain uji statistik One Way ANOVA, juga dilakukan uji Post-Hoc LSD. Seluruh uji statistik yang dilakukan menggunakan taraf kepercayaan 95% ($\alpha = 0,05$).

Data hasil persentase sel Treg (CD4⁺CD25⁺) dilakukan uji normalitas untuk melihat normalitas distribusi data dan homogenitas untuk melihat variasi data antar kelompok. 2 uji ini merupakan syarat untuk melakukan uji One Way ANOVA.

Dari uji Normalitas *Shapiro Wilk* (Lampiran 3) didapatkan hasil signifikansi sebesar 0,392 ($p > 0,05$), sehingga data tabel persentase sel Treg (CD4⁺CD25⁺) memiliki distribusi data yang normal.

Dari uji Homogenitas *Levene Statistic* (Lampiran 4a) didapatkan hasil signifikansi 0,002 ($p < 0,05$) yang menunjukkan varian data persentase sel Treg

(CD4⁺CD25⁺) tidak homogen. Karena hasil uji Homogenitas menunjukkan data tidak homogen maka data ditransformasikan dan dilakukan uji Homogenitas ulang.

Dari uji Homogenitas *Levene Statistic* setelah data ditransformasikan (Lampiran 4b), didapatkan hasil signifikansi 0,135 ($p > 0.05$) yang menunjukkan varian data persentase sel Treg (CD4⁺CD25⁺) homogen.

Berdasarkan hasil uji Normalitas dan Homogenitas menunjukkan bahwa data memenuhi kedua syarat uji di atas sehingga dapat dilanjutkan dengan menggunakan uji One Way ANOVA. Dari uji One Way ANOVA (Lampiran 5) didapatkan hasil signifikansi 0,000 ($p < 0.05$) yang menunjukkan ada beda yang bermakna pada persentase sel Treg (CD4⁺CD25⁺) pada semua kelompok penelitian.

Kemudian untuk melihat hubungan antar kelompok dilanjutkan dengan uji Post-Hoc LSD. Dari hasil Post-Hoc LSD (Lampiran 6) didapatkan kelompok A (kontrol negatif) memiliki perbedaan yang nyata dengan kelompok B, D, dan E dengan $p < 0,05$, namun tidak memiliki beda dengan kelompok C dengan $p = 0.920$. Sedangkan pada kelompok B (kontrol positif) memiliki perbedaan nyata dengan semua kelompok penelitian, yaitu didapatkan hasil signifikansi 0.000.

BAB 6

PEMBAHASAN

Penelitian ini menggunakan mencit model LES dengan induksi pristan 0,5ml intraperitoneal pada awal penelitian. Merujuk pada penelitian Ling-ling Zhou, (2010) yang menggunakan induksi pristan 0,5ml, mencit Balb/c menjadi model LES pada minggu ke empat setelah induksi. Pemberian ekstrak etanol ketela rambat (*Ipomoea batatas*) diberikan pada minggu ke lima. Dilakukan pula pengecekan berat badan setiap minggunya, didapatkan penurunan berat badan pada dua minggu awal setelah induksi dan penurunan berat badan tersebut menyebabkan beberapa mencit mati. Penurunan berat badan yang fluktuatif terus terjadi pada mencit kelompok B, C, D dan E sedangkan pada kelompok A cenderung stabil.

Pada penelitian Chowdary, (2007) pada minggu ke dua telah terjadi inflamasi pada ginjal. Inflamasi pada ginjal ini akan berkembang menjadi lupus nefritis, dimana lupus nefritis merupakan salah satu manifestasi klinis pada pasien LES. Inflamasi pada ginjal memiliki beberapa manifestasi klinis seperti proteinuria, hematuria, dan leukosituria. Tingkat keparahan manifestasi klinis tersebut tergantung oleh keparahan inflamasi yang terjadi. Pembedahan dilakukan pada bulan ke empat setelah induksi. Sebelum dibedah, dilakukan urinalisis (kadar darah dan leukoesterase) untuk mengecek proses perkembangan penyakit yang terjadi pada ginjal (tabel 5.1 dan 5.2). Didapatkan darah +3 (menandakan ada hematuria berat) pada kelompok B dan C, +1 (ada hematuria ringan) pada kelompok D, sedangkan kelompok A dan E negatif.

Sedangkan pada pengecekan leukoesterase didapatkan +3 (ada leukosituria berat) pada kelompok B, trace pada kelompok C, D, dan E, sedangkan kelompok A didapatkan hasil negatif. Selain dilakukan urinalisis, dilakukan pula pengecekan histo PA dari ginjal mencit untuk melihat *staging* lupus nefritis. Data *staging* lupus nefritis (tabel 5.3) yang didapat, menunjukkan telah terjadi peningkatan *stage* pada mencit Balb/c model LES (kontrol positif) jika dibandingkan dengan kelompok mencit sehat (kontrol negatif).

Setelah mengetahui hasil urinalisis, dilakukan pembedahan dan pengambilan darah intracardiac dari mencit. Darah kemudian diambil *pellet*, dilakukan *staining* dengan anti CD4 dan anti CD25, selanjutnya dilakukan analisa menggunakan *flowcytometry*. Hasil dari analisis menggunakan *flowcytometry* kemudian dilakukan uji statistika untuk mengetahui signifikansi perbedaan perlakuan yang dilakukan pada sampel dan hubungan antar variabel yang diteliti.

6.1 Efek Pemberian Ekstrak Ketela Rambat (*Ipomoea batatas*) Terhadap Persentase Sel Treg (CD4⁺CD25⁺)

Hasil penelitian (Gambar 5.1) menunjukkan bahwa ekspresi persentase sel Treg (CD4⁺CD25⁺) pada kelompok A yang merupakan kontrol negatif, lebih tinggi dibandingkan dengan kelompok B yang merupakan kontrol positif. Hal ini sejalan dengan teori ketidak seimbangan sel Treg (CD4⁺CD25⁺) dan Th17 pada penelitian Alluno *et al.*, (2012), dimana kelompok A memiliki persentase sel Treg (CD4⁺CD25⁺) yang lebih tinggi dibandingkan dengan kelompok B. Hasil persentase sel Treg (CD4⁺CD25⁺) yang didapat sesuai dengan hasil urinalisis (tabel 5.1 dan 5.2) yang dilakukan sebelum pembedahan dan hasil histo PA (tabel 5.3), yaitu kelompok A memiliki hasil yang menunjukkan inflamasi ginjal

negatif jika dibandingkan kelompok B yang memiliki inflamasi ginjal positif dan telah terjadi peningkatan *staging* lupus nefritis.

Hasil penelitian ini sesuai dengan penelitian Alunno *et al.*, (2012) dan Afzali *et al.*, (2007) menyatakan bahwa sel Treg (CD4⁺CD25⁺) yang memiliki banyak efek dalam regulasi proses inflamasi seperti menghasilkan TGF- β yang merupakan sitokin antiinflamasi. Regulasi sitokin antiinflamasi ini akan mencegah terjadinya diferensiasi sel CD4⁺ menjadi sel Th17 yang menyebabkan proses inflamasi berlanjut. Adanya sitokin antiinflamasi ini nantinya akan mengurangi manifestasi klinis yang timbul pada pasien LES.

Hasil perbandingan persentase anatara kelompok C yang diberi ekstrak etanol ketela rambat (*Ipomoea batatas*) dengan kelompok B yang merupakan kontrol positif menunjukkan perbedaan yang bermakna. Hal ini menunjukkan pada pemberian ekstrak etanol ketela rambat (*Ipomoea batatas*) dapat meningkatkan persentase sel Treg (CD4⁺CD25⁺) pada perlakuan. Hal ini juga membuktikan bahwa ekstrak etanol ketela rambat (*Ipomoea batatas*) memiliki efek sebagai antiinflamasi.

Pada studi yang dilakukan Kotecha dan Kadam, (1998) menjelaskan bahwa kadar vitamin A pada ketela rambat (*Ipomoea batatas*) 9.900mg/100g atau senilai dengan 20.063 SI, sedangkan Van Jaarsveld *et al.*, (2006) menjelaskan bahwa ketela rambat (*Ipomoea batatas*) mengandung 100 μ g hingga lebih dari 26.600 μ g dari tiap 100g. Didukung dengan data dari *U.S. Department of Agriculture and National Cotton Council* menyatakan bahwa kadar vitamin A pada ketela rambat (*Ipomoea batatas*) lebih besar dibandingkan dengan kadar vitamin A yang ada pada hati sapi, wortel, bayam, brokoli, dan apricot. Kandungan vitamin A inilah yang memiliki peran penting dalam menginduksi

proses diferensiasi sel CD4⁺ menjadi sel Treg (CD4⁺CD25⁺). Penelitian Xiao *et al.*, (2008) menunjukkan bahwa Vitamin A bersama dengan TGF- β menginduksi sel Treg (CD4⁺ CD25⁺) dengan meningkatkan Foxp3 dan menghambat perkembangan IL-17.

Pada eksperimen yang dilakukan Handoko, (2009) ketela rambat (*Ipomoea batatas*) merupakan bahan pangan yang mengandung vitamin dan mineral yang dibutuhkan tubuh, seperti vitamin A, vitamin C, vitamin E, kalsium, dan zat besi. Ketela rambat (*Ipomoea batatas*) juga memiliki kandungan flavonoid dan antosianin, zat-zat yang terdapat dalam ketela rambat (*Ipomoea batatas*) ini berfungsi sebagai antioksidan. Pada studi ini belum dilakukan uji kadar vitamin A, sehingga perlu dilakukan uji kadar vitamin A untuk mengetahui kadar vitamin A pada ketela rambat (*Ipomoea batatas*).

Pada penelitian yang penulis lakukan, didapatkan persentase sel Treg (CD4⁺ CD25⁺) meningkat ketika diberi ekstrak etanol ketela rambat (*Ipomoea batatas*). Dosis respon pada penelitian ini dapat diketahui dengan adanya peningkatan dosis yang sejalan dengan peningkatan persentase sel Treg (CD4⁺CD25⁺). Sejalan dengan eksperimen yang dilakukan Xiao, (2008) yang menggunakan vitamin A murni, hasil yang didapat dari penelitian ini dapat meningkatkan persentase sel Treg (CD4⁺CD25⁺). Namun dalam eksperimen yang dilakukan Xiao, (2008) tidak dilakukan pemberian dosis yang berbeda. Pada studi yang dilakukan Sobel, (2011), pada pasien LES vitamin A dapat meningkatkan persentase sel Treg (CD4⁺CD25⁺).

Pada kelompok E yang diberi dosis ekstrak etanol ketela rambat (*Ipomoea batatas*) 0,7 gram/KgBB/hari mengalami penurunan persentase sel Treg (CD4⁺CD25⁺) jika dibandingkan dengan kelompok D yang diberi dosis

ekstrak etanol ketela rambat (*Ipomoea batatas*) 0,35 gram/KgBB/hari. Penurunan yang terjadi tidak melebihi rerata persentase sel Treg (CD4⁺CD25⁺) pada kelompok A yang merupakan kelompok sehat (kontrol negatif). Menurut penelitian Eduardo dan Fawzi, (2005) hal ini disebabkan oleh fungsi Vitamin A yang dapat meningkatkan sekresi IL-6 dari makrofag dan monosit. IL-6 yang meningkat ini dapat menyebabkan diferensiasi CD4⁺ menjadi Th17, sehingga persentase sel Treg (CD4⁺CD25⁺) mengalami penurunan. Selain itu, turunnya persentase sel Treg (CD4⁺CD25⁺) ini sebaiknya dilakukan penelitian lebih lanjut.

Pada kelompok C menunjukkan rerata persentase sel Treg (CD4⁺CD25⁺) sama dengan kelompok A yang merupakan kontrol negatif. Hal ini menunjukkan dosis yang optimal untuk dapat menekan inflamasi. Dari penelitian ini juga dapat dibuktikan bahwa selain sebagai antiinflamasi ekstrak etanol ketela rambat (*Ipomoea batatas*) dapat meningkatkan persentase sel Treg (CD4⁺CD25⁺).

6.2 Keterbatasan Penelitian

Pada studi ini belum dilakukan uji kadar vitamin A, sehingga perlu dilakukan uji kadar vitamin A untuk mengetahui kadar vitamin A pada ekstrak etanol ketela rambat (*Ipomoea batatas*). Selain itu, perlu dilakukan pengukuran persentase Th17 dan rasio antara Th17 dengan Treg (CD4⁺CD25⁺) untuk melihat keseimbangan respon imun yang terjadi setelah diberi ekstrak etanol ketela rambat (*Ipomoea batatas*). Pada penelitian ini juga belum dilakukan uji toksisitas, uji toksisitas perlu dilakukan penelitian lebih lanjut untuk mengetahui dosis toksik pada pemberian ekstrak etanol ketela rambat (*Ipomoea batatas*).

BAB 7

PENUTUP

7.1 Kesimpulan

1. Ekstrak etanol ketela rambat (*Ipomoea batatas*) dapat meningkatkan persentase sel *Treg* (CD4⁺CD25⁺) pada mencit yang diinduksi pristan.
2. Dosis optimum dalam meningkatkan persentase sel *Treg* (CD4⁺CD25⁺) pada mencit yang diinduksi pristan adalah pada dosis 0,175 gram/KgBB/hari.

7.2 Saran

1. Perlu dilakukan pengukuran Th17.
2. Perlu dilakukan pengukuran rasio Th17 dan *Treg* (CD4⁺CD25⁺).
3. Perlu dilakukan uji toksisitas ekstrak ketela rambat (*Ipomoea batatas*).
4. Perlu dilakukan pengukuran kadar vitamin A pada ekstrak etanol ketela rambat (*Ipomoea batatas*).
5. Perlu dilakukan penelitian menggunakan dosis dengan interval kecil untuk menentukan dosis yang paling baik dalam meningkatkan persentase sel *Treg* (CD4⁺CD25⁺) pada mencit yang diinduksi pristan.

DAFTAR PUSTAKA

- Abbas, A.K., Lichtman, A.H., dan Pober, J.S. 2000. *Cellular and Molecular Immunology*. 4th ed.
- ACR. 2012. Systemic Lupus Erythematosus. Dari www.rheumatology.org yang diakses tanggal 3 Oktober 2012 Pukul 16.03.
- Afzali, B., Lombardi, G., Lechler, R. I., dan Lord, G. M. 2007. The Role of T Helper 17 (Th17) and regulatory T Cells (Treg) in Human Organ Transplantation and Autoimmune Disease. *Clinical and Experimental Immunology* 148: 32-46
- Alunno, et al. 2012. *Balance between Regulatory T and Th17 Cells in Systemic Lupus Erythematosus: The Old and the New*. Clinical and Developmental Immunology Volume 2012, Article ID 823085, 5 pages. doi:10.1155/2012/823085.
- Anita, et al. 2014. Aktivitas Antibakteri Ekstrak Daun Benalu Jambu Air (*Deudrophitoe pentandra* (L) Miq) Terhadap Pertumbuhan Salmonella Typhi. *Protobiont* Vol 3 (2) : 268-272.
- Antarlina, S.S. 1991. *Pengaruh Umur Panen dan Klon terhadap Sifat Sensoris, Fisik, dan Tepung Ubi Jalar*. Tesis. UGM-UB.
- Bae, S.C., Kim, S.J., dan Sung, M.K. 2002. Impaired Antioxidant Status and Decreased Dietary Intake of Antioxidants in Patient with Systemic Lupus Erythematosus. *Rheumatology International*. Vol 22 (6), Hal. 238-243.
- Bashal, F. 2013. Hematological Disorders in Patients with Systemic Lupus Erythematosus. *The Open Rheumatology Journal*, Vol. 7, halaman 87-95. doi: 10.2174/1874312901307010087.
- Basu, S., Campbell, H., Dittel, B., dan Ray, A. 2010. Purification Of Specific Cell Population By Fluorescence Activated Cell Sorting (FACS). *Journal of Visualized Experiments* Juli (41): 1546. doi: 10.3791/1546.
- Branch, D.W., dan Porter, T.F. Autoimmune disease In: James dK, steer PJ, Weiner CP. *High risk pregnancy*. Philadelphia: WB Saunders 2000;853-64.
- Bratwidjaja, K.G. 2006. *Imunologi Dasar Edisi ke -7*. Jakarta: Balai Penerbit FKUI.
- Campbell, D.J., dan Ziegler, S.F. 2007. FOXP3 modifies the phenotypic and functional properties of regulatory T cells. *Nat. Rev. Immunol.* 7: 305–310.

- Chen, X., Baumel, M., Mannel, D.N., Howard, O.M.Z., dan Oppenheim, J.J. 2007. Interaction of TNF with TNF receptor type 2 promotes expansion and function of mouse CD4 CD25 T regulatory cells. *J Immunol* 179:154-161.
- Cowdary, V.R., Grande, J.P., Luthra, H.S., dan David, C.S.. 2007. *Characterization of Haemorrhagic Pulmonary Capillaritis: Another Manifestation of Pristane-induced Lupus*. *Rheumatology* 2007;46:1405-1410. doi: 10.1093/rheumatology/kem117.
- Curotto de Lafaille Ma., Lafaille JJ. 2009. Natural and adaptive foxp3+ regulatory T cells: more of the same or a division of labor?. *Immunity* 30(5):626-635. Review.
- Clynes, R., Calvani, N., Croker, Byron P., dan Richards, Hanno B. 2005. Modulation of the immune response in pristane-induced lupus by expression of activation and inhibitory Fc receptors. *British Society for Immunology, Clinical and Experimental Immunology*, 141:230–237. doi:10.1111/j.1365-2249.2005.02847.x.
- David, F.R. Diterjemahkan oleh Kresno Waroso. 2004. *Manajemen Strategis Konsep-konsep. Edisi kesembilan*. Jakarta: Indeks.
- Lewis, E.J., and Schwartz, M.M. 2005. Pathology of lupus nephritis. *Lupus* 14(1):31–38.
- Elias, K.M., et al. 2008. Retinoic Acid Inhibits Th17 Polarization and Enhance FoxP3 Expression through A STAT3/STAT5 Independent Signaling Pathway. *Blood Journal* 111(3): 1012-1019.
- Enny, R., Purwanto, A.P., dan Pradana. 2002. Faktor Estimasi Jumlah Trombosit pada Sediaan Apus Darah Tepi (Penelitian Pendahuluan). Diajukan di PIT I Patologi Klinik. Solo, 20-22 September 2002.
- Fontenot, J.D., Gavin, M.A., dan Rudensky, A.Y. 2003. Foxp3 programs the Development and Function of CD4⁺CD25⁺ regulatory T Cells. *Nat Immunol.* 4:330-336.
- Fossiez, F., et al. 1996. T cell interleukin-17 induces stromal cells to produce proinflammatory and hematopoietic cytokines. *J Exp Med.* 183:2593–2603.
- Frandsen, R.D. 1992. *Anatomi dan Fisiologi Ternak Edisi ke-4*. Gajah Mada University Press: Yogyakarta.
- Guyton, A.C., dan Hall, J.E. 2007. Guyton & Hall: Buku Ajar Fisiologi Kedokteran Edisi ke-11. Jakarta:EGC.

- Iwakura, Y., dan Ishigame, H. 2006. The IL-23/IL-17 Axis in Inflammation. *J Clin. Invest.* 116:1218-1222.
- Napoli, J.L. 1996. Retinoic Acid Biosynthesis and Metabolism. *The FASEB Journal*. 10(9): 993–1001.
- Janeway, C.A., dan Travers, P. Antigenrecognition by T lymphocytes. 3rd ed. New York & London: Garland Publishing, 1997; p.41-6.
- Jenuwein, T., dan Allis, C.D.. 2001. Translating the Histone Code. *Science*. 293:1074 –1080.
- Kalim, H. 1996. Gambaran Klinik dan Harapan Hidup Penderita Lupus Eryhematosus Sistemik (SLE). *Majalah Kedokteran Indonesia*. Vol 46. Hal. 383-384.
- Kasjmir, Y.I., et al. 2011. *Rekomendasi Perhimpunan Reumatologi Indonesia Untuk Diagnosis Dan Pengelolaan Lupus Eritematosus Sistemik*. Perhimpunan Reumatologi Indonesia. Jakarta Pusat. ISBN 978-979-3730-16-5.
- Kim, C. 2008. Regulation of Foxp3⁺ Regulatory T Cells and Th17 Cells by Retinoids. *Clinical and Development Immunology*. Hindawi Publishing Corporation Volume 2008 Article ID 416910.
- Kotecha, P.M., dan Kadam, S.S. 1998. Sweet Potato, in Handbook of Vegetable Science and Technology (Salunkhe, D.K and S.S.Kadam eds). Marcel Dekker, Inc. New York.
- Kresno, S.B. 2001. *Imunologi: Diagnosis dan Prosedur Laboratorium Edisi ke-4*. Jakarta: Balai Penerbit FKUI.
- Kusuma, A.G.N.J. 2007. Lupus Eritematosus Sistemik pada Kehamilan. *J Peny Dalam*;8(2).
- Langrish, C.L., et al. 2005. IL-23 Drives A Pathogenic T Cell Population That Induces Autoimmune Inflammation. *J Exp Med*. 201 :233–40.
- Litchmann, M.A., Beutler E., Selingson U., Kaushanski K., dan Kipps TO. 2007. *Williams Haematologi 7 edition*. New York:McGraw Company.
- Mark, M., Ghyselinck, M.N., dan Chambon, P. 2006. Function of Retinoid Nuclear Receptors: Lessons From Genetic And Pharmacological Dissections of The Retinoic Acid Signaling Pathway During Mouse Embryogenesis. *Annual Review of Pharmacology and Toxicology*. 46:451–480.

- Mayer, G. 2003. Virology Chapter Twelve "Virus Host Interactions" University of South Carolina.
- McGeachy, M. J., *et al.* 2007. TGF- β and IL-6 Drive The Production of IL-17 and IL-10 by T Cells And Restrain T H-17 Cell-Mediated Pathology. *Nat. Immunol.* 8: 1390 –1397.
- Mok, C.C., dan Lau, C.S. 2003. Pathogenesis of Systemic Lupus Erythematosus. *J Clin Pathol*56(7):481-490.
- Mucida, D., *et al.* 2007. Reciprocal Th17 and Regulatory T Cell Differentiation Mediated By Retinoic Acid. *Science.* 317 (5835):256-260.
- Munoz, L.E., *et al.* 2005. LES a Disease of Clearance Deficiency. *Rheumatology.* 44:1101-07..
- Murphy, C.A., *et al.* 2003. Divergent Pro and Anti Inflammatory Roles For IL-23 And IL-12 in Joint Autoimmune Inflammation. *J. Exp. Med.* 198:1951–1957.
- OECD. 2010. Consensus Document on Compositional Consideration for New Varieties of Sweet Potato (*Ipomoea batatas*): Key Food and Feed Nutrients, Antinutrients, Toxicants, and Allergens. EVN/JM/MONO/27 Pennsylvania. WB Saunders Co.
- Ortega, *et al.* 2010. Lupus Nephritis: Pathologic Features, Epidemiology and A Guide to Therapeutic Decisions. *Lupus*,vol.19,no.5,pp. 557–574.
- Osuji, L.C., Ogali, R.E., dan Kalu, A.U. 2009. The Use of Pristane and Phytane Biomarkers: A Rethink of the Cognoscenti. *Scientia Africana*, Vol. 8 (No.2). pp 42-52. ISSN 1118-1931.
- Pierige F., Serafini S., Rossi L., dan Magnani M. 2008. Cell Based Drug Delivery. *Advanced Drug Delivery Review* 60(2):286-95.
- Reeves, W.H., Weinstein, J.S., Satoh, M., dan Lu, L. 2009. Induction of Autoimmunity by Pristane and Other Naturally Occurring Hydrocarbons. *Trends Immunol.* September 30(9): 455–464. doi:10. 1016/j.it.2009.06.003.
- Römer, *et al.* 2011. Preculture of PBMC at high cell density increases sensitivity of T-cell responses, revealing cytokine release by CD28 superagonist TGN1412. *Blood journal.* Doi:10.1182/blood-2010-12-319780.
- Rubatzky, V.E., dan M. Yamaguchi. 1998. *Sayuran Dunia 2 Prinsip, produksi dan gizi.* Bandung:ITB.
- Sakaguchi, S., *et al.* 1995. Immunologic Self-Tolerance Maintained By Activated T Cells Expressing IL-2 Receptor Chains (CD25): Breakdown of a Single

- Mechanism of Self-Tolerance Causes Various Autoimmune Diseases. *J. Immunol.* 155: 1151–1164.
- Sánchez, B., *et al.* 2006. Regulatory T cells in patients with systemic lupus erythematosus. *J Autoimmun* 27 (2): 110–118.
- Satoh, M., *et al.* 2003. Induction of lupus autoantibodies by adjuvants. doi:10.1016/S0896-8411(03)00083-0.
- Supranto, J. 2000. *Teknik Sampling untuk Survei dan Eksperimen*. Penerbit PT Rineka Cipta, Jakarta.
- Uma, D. 2000. Radioprotective, anticarcinogenic and antioxidant properties of the Indian holy basil, *Ocimum sanctum* (Tulasi). *Indian J Exp Biol*; 39:185-90.
- Van Jaarsveld, P. J., *et al.* 2005. Beta-carotene-rich orange-fleshed sweet potato improves the vitamin A status of primary school children assessed with the modified-relative-dose-response test. *American Journal of Clinical Nutrition* 81(5): 1080-1087.
- Vernal, R., dan Garcia-Sanz, J.A. 2008. *Th17 and Treg Cells, Two New Lymphocyte Subpopulations with a Key Role in the Immune Response Against Infection*. *Infectious Disorders - Drug Targets* 2008, Vol. 8, No. 4, hal 207-220.
- Wang, Y.J., *et al.* 2010. Purple Sweet Potato Color Suppress Lipopolysaccharide-Induced Acute Inflammatory Response in Mouse Brain. *Neurochemistry Internasional* 56:424-430.
- Winoto, A., dan Littman, D.R.. 2002. Nuclear Hormone Receptors in T Lymphocytes. *Cell*. 109: S57–S66.
- Wong, C.K., Ho, C.Y., Li, E.K., dan Lam, C.W. 2000. Elevation of Proinflammatory Cytokine (IL-18, IL-17, IL-12) and Th2 Cytokine (IL-4) Concentrations in Patients with Systemic Lupus Erythematosus. *Lupus*. 9 :589–93
- Xiao, S., *et al.* 2008. Retionic Acid Increases Foxp3⁺ Regulatory T Cells and Inhibits Development of Th17 Cells by Enhancing TGF- β -Driven Smad3 Signaling and Inhibitinag IL-6 and IL-23 Receptor Expression. *J Immunol* 181:2277-2284.
- Ziegler, S.F. 2006. FOXP3 of Mice and Man. *Annu Rev Immunol.* 24:2009-226.

Lampiran 1
Hasil Penelitian Persentase Sel Treg (CD4⁺CD25⁺) pada Mencit yang Diberi Ekstrak Etanol Ketela Rambat (*Ipomoea batatas*)

Pengulangan	Kontrol Negatif	Kontrol Positif	0,175 gram/ KgBB/hari	0,35 gram/ KgBB/hari	0,7 gram/ KgBB/hari
1	8.52	4.25	8.36	9.12	7.96
2	6.96	3.39	8,45	8.67	11.67
3	7.33	3.81	7.6	13.00	12.0
4	7.80	2.95	6.0	13.98	11.75
Rata-rata	7.6525	3.6	7.6025	11.1925	10.845
Std.dev	±0.672774	±0.557734	±1.134324	±2.689205	±1.928462



Lampiran 2
Uji Normalitas Persentase Sel Treg (CD4⁺CD25⁺)

	Tests of Normality					
	Kolmogorov-Smirnov ^a			Shapiro-Wilk		
	Statistic	df	Sig.	Statistic	df	Sig.
persentase_CD4CD25	.138	20	.200*	.952	20	.392



Lampiran 3a
Uji Homogenitas Persentase Sel Treg (CD4⁺CD25⁺)

Test of Homogeneity of Variances

persentase_CD4CD25

Levene Statistic	df1	df2	Sig.
7.010	4	15	.002

Lampiran 3b
Uji Homogenitas Setelah Data Persentase Sel Treg (CD4⁺CD25⁺) Ditransformasikan

Test of Homogeneity of Variances

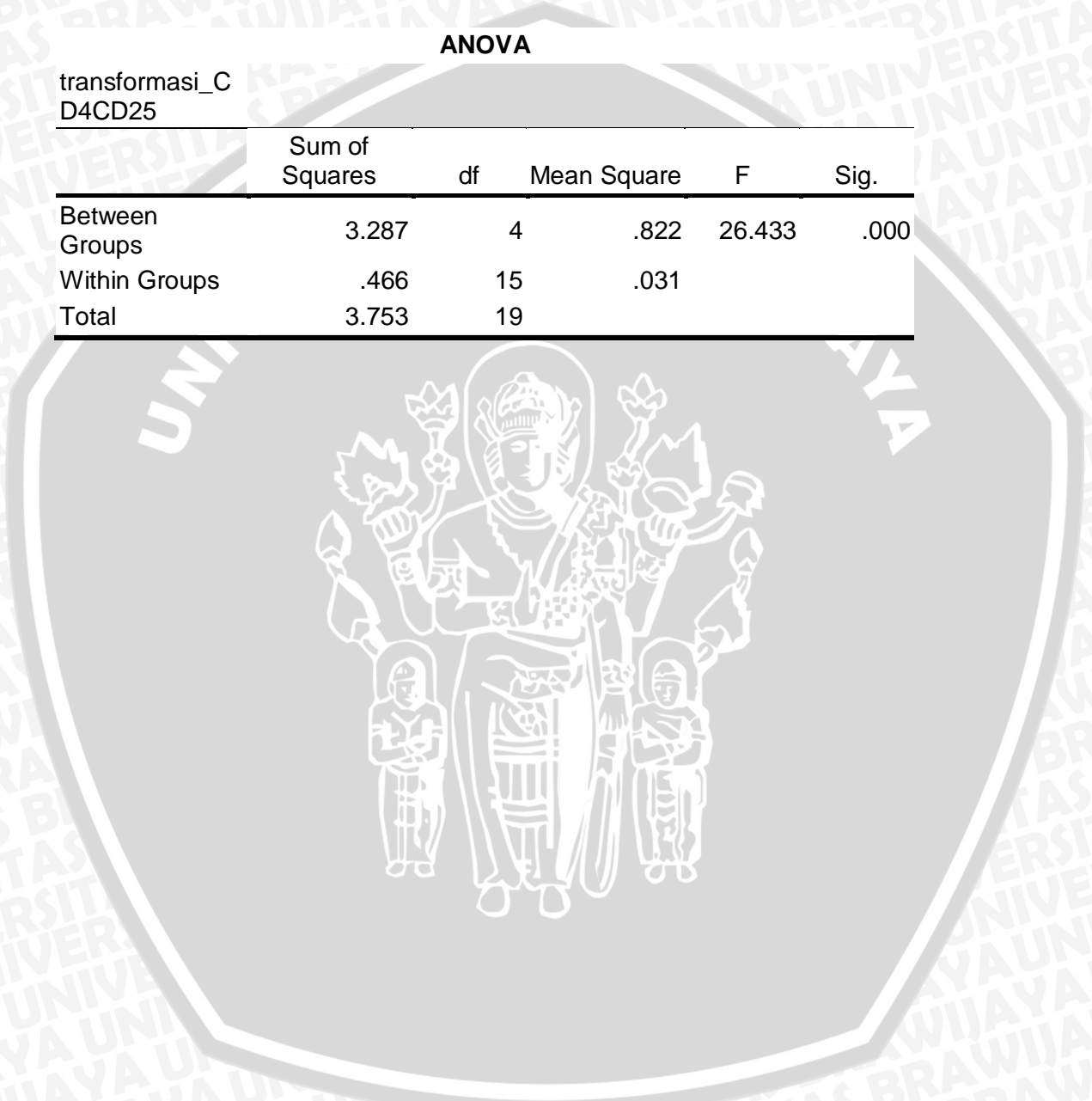
transformasi_CD4CD25

Levene Statistic	df1	df2	Sig.
2.073	4	15	.135



Lampiran 4
Uji One Way ANOVA Persentase Sel Treg (CD4⁺CD25⁺)

ANOVA					
transformasi_C D4CD25	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	3.287	4	.822	26.433	.000
Within Groups	.466	15	.031		
Total	3.753	19			



Lampiran 5
Uji Post-Hoc LSD Persentase Sel Treg (CD4⁺CD25⁺)

Multiple Comparisons

Transform
LSD

(I) kelom pok	(J) kelom pok	Mean Difference (I- J)	Std. Error	Sig.	95% Confidence Interval	
					Lower Bound	Upper Bound
A	B	.76038*	.12468	.000	.4946	1.0261
	C	.01279	.12468	.920	-.2530	.2785
	D	-.36106*	.12468	.011	-.6268	-.0953
	E	-.33788*	.12468	.016	-.6036	-.0721
B	A	-.76038*	.12468	.000	-1.0261	-.4946
	C	-.74759*	.12468	.000	-1.0133	-.4818
	D	-1.12143*	.12468	.000	-1.3872	-.8557
	E	-1.09826*	.12468	.000	-1.3640	-.8325
C	A	-.01279	.12468	.920	-.2785	.2530
	B	.74759*	.12468	.000	.4818	1.0133
	D	-.37385*	.12468	.009	-.6396	-.1081
	E	-.35067*	.12468	.013	-.6164	-.0849
D	A	.36106*	.12468	.011	.0953	.6268
	B	1.12143*	.12468	.000	.8557	1.3872
	C	.37385*	.12468	.009	.1081	.6396
	E	.02318	.12468	.855	-.2426	.2889
E	A	.33788*	.12468	.016	.0721	.6036
	B	1.09826*	.12468	.000	.8325	1.3640
	C	.35067*	.12468	.013	.0849	.6164
	D	-.02318	.12468	.855	-.2889	.2426

*. The mean difference is significant at the 0.05 level.

PERNYATAAN KEASLIAN TULISAN

Saya yang bertanda tangan di bawah ini:

Nama : Fitria Ummu Habibah

NIM : 115070100111019

Program Studi : Program Studi Pendidikan Dokter 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 aku sebagai tulisan atau pikiran saya sendiri. Apabila dikemudian hari dapat dibuktikan bahwa Tugas Akhir ini adalah hasil jiplakan, maka saya bersedia menerima sanksi atas perbuatan tersebut.

Malang, 17 November 2014

Yang membuat pernyataan,

Fitria Ummu Habibah
NIM. 115070100111019



KOMISI ETIK PENELITIAN KESEHATAN
FAKULTAS KEDOKTERAN UNIVERSITAS BRAWIJAYA

KETERANGAN KELAIKAN ETIK
("ETHICAL CLEARANCE")
No. 232/EC/KEPK - S1 / 05/ 2013

Setelah Tim Etik Penelitian Mahasiswa Fakultas Kedokteran Universitas Brawijaya mempelajari dengan seksama rancangan penelitian yang diusulkan :

Judul : Efektivitas Ekstrak Etanol Ketela Rambat (*Ipomoea batatas*) untuk menurunkan progresifitas kerusakan ginjal pada mencit model lupus eritematosus sistemik (LES) yang

Peneliti : Mokhammad Afifuddin NIM : 105070100111117
Aga Aulia Sintaria NIM : 115070207111026
Fitria Ummu Habibah NIM : 115070100111019
Risyda Ma'rifatul Khoirot NIM : 115070207111030
Alfindo Rio Arisandy NIM : 125070207111011

Unit / Lembaga : Fakultas Kedokteran Universitas Brawijaya Malang

Tempat Penelitian : Laboratorium Farmakologi, Laboratorium Parasitologi, Laboratorium Histo-PA dan Laboratorium Biomedik Fakultas Kedokteran Universitas Brawijaya Malang

Maka dengan ini menyatakan bahwa penelitian tersebut telah memenuhi syarat atau laik etik.

Malang, 31 MAY 2013.

An. Ketua
Koordinator Divisi I



Prof. Dr. dr. Teguh W. Sardjono, DTM&H, MSc, SpParK
520410 198002 1 001



NB : Diwajibkan Mengumpulkan Laporan Akhir Penelitian dalam Bentuk Jurnal