

UJI TOKSISITAS AKUT ORAL EKSTRAK ETANOL UBI JALAR (*Ipomoea batatas L.*) VARIETAS UNGU KULTIVAR GUNUNG KAWI TERHADAP BERAT BADAN, INTAKE PAKAN DAN MINUM, DAN BERAT ORGAN *Rattus norvegicus* STRAIN WISTAR BETINA

TUGAS AKHIR

**Untuk Memenuhi Persyaratan
Memperoleh Gelar Sarjana Kedokteran**



Oleh :

**Azmi Aziz Nur Arraga
165070101111061**

**PROGRAM STUDI SARJANA KEDOKTERAN
FAKULTAS KEDOKTERAN
UNIVERSITAS BRAWIJAYA
MALANG
2019**

HALAMAN PENGESAHAN

TUGAS AKHIR

UJI TOKSISITAS AKUT ORAL EKSTRAK ETANOL UBI JALAR (*Ipomoea Batatas L.*) VARIETAS UNGU KULTIVAR GUNUNG KAWI TERHADAP BERAT BADAN, INTAKE PAKAN DAN MINUM, DAN BERAT ORGAN *Rattus norvegicus* STRAIN WISTAR BETINA

Oleh :

Azmi Aziz Nur Arraga
165070101111061

Telah diuji pada

Hari : Jumat

Tanggal : 22 November 2019

dan dinyatakan lulus oleh:

Penguji-I

Prof. Dr. dr. Nurdiana, M.Kes
NIP. 195510151986032001

Pembimbing-I/Penguji-II,

Dr. dr. Endang Sri Wahyuni, MS
NIP. 195210081980032002

Pembimbing III/Penguji-III,

Dr. dr. Retty Ratnawati, M.Sc.
NIP. 195502011985032001

Mengetahui,

Ketua Program Studi Pendidikan Dokter,



Dr. Tri Wahyu Astuti, M.Kes., Sp.P(K)
NIP. 196310221996012001



PERNYATAAN KEASLIAN TULISAN

Saya yang bertanda tangan di bawah ini:

Nama : Azmi Aziz Nur Arraga

NIM : 165070101111061

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 pengambil-alihan 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, 13 November 2019

Yang membuat pernyataan,



(Azmi Aziz Nur Arraga)
NIM. 165070101111061



KATA PENGANTAR

Segala puji hanya bagi Allah SWT yang telah memberi petunjuk dan hidayah-Nya sehingga penulis dapat menyelesaikan Tugas Akhir dengan judul "Uji Toksisitas Akut Oral Ekstrak Etanol Ubi Jalar (*Ipomoea Batatas L.*) Varietas Ungu Kultivar Gunung Kawi terhadap Berat Badan, Intake Pakan dan Minum, dan Berat Organ Rattus Norvegicus Strain Wistar Betina".

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

1. Dr.dr. Endang Sri Wahyuni, MS. sebagai pembimbing pertama yang dengan sabar membimbing dan senantiasa memberi semangat, sehingga penulis dapat menyelesaikan Tugas Akhir ini.

2. Dr.dr. Retty Ratnawati, M.Sc. sebagai pembimbing kedua yang dengan sabar telah membimbing penulisan dan analisis data sehingga penulis dapat menyelesaikan Tugas Akhir ini.

3. Prof. Dr.dr. Nurdiana, M.Kes sebagai Ketua Tim Penguji Ujian Tugas Akhir yang memberikan masukan untuk menyempurnakan naskah Tugas Akhir.

4. dr. Tri Wahyu Astuti, M.Kes., Sp.P(K) sebagai Ketua Program Studi Pendidikan Dokter yang telah membimbing penulis menuntut ilmu di PS Pendidikan Dokter di Fakultas Kedokteran Universitas Brawijaya.

5. dr. Nia Kurnianingsih, M. Biomed dan Aswaty Nur, S.Si., M.Kes., dan Bu Fitri yang telah membimbing eksekusi penelitian agar sesuai prosedur.

6. Tim Penelitian Antosianin 2018 yang telah bekerja sama dan saling mendukung selama penelitian.

7. Yang tercinta ibu Sri Riyanti dan ayah Purnomo atas doa dan dukungannya.

8. Semua pihak yang telah membantu dalam menyelesaikan Tugas Akhir ini yang tidak dapat penulis sebutkan satu persatu.

Penulis menyadari bahwa karya ilmiah ini masih jauh dari sempurna, oleh karena itu penulis membuka diri untuk segala saran dan kritik yang membangun.

Akhirnya, semoga Tugas Akhir ini dapat bermanfaat bagi yang membutuhkan.

Malang, 13 November 2019

Penulis

UJI TOKSISITAS AKUT ORAL EKSTRAK ETANOL UBI JALAR (*Ipomoea batatas L.*) VARIETAS UNGU KULTIVAR GUNUNG KAWI TERHADAP BERAT BADAN, INTAKE PAKAN DAN MINUM, BERAT ORGAN *Rattus Norvegicus* STRAIN WISTAR BETINA

Azmi Aziz Nur Arraga¹, Endang Sri Wahyuni², Retty Ratnawati²

¹Mahasiswa Pendidikan Dokter Fakultas Kedokteran Universitas Brawijaya

²Laboratorium Fisiologi Molekuler Fakultas Kedokteran Universitas Brawijaya
Malang

Abstrak

Obat herbal telah dipercaya masyarakat, namun tidak sedikit yang belum teruji khasiat dan keamanan penggunaannya. Salah satunya yaitu ubi jalar (*Ipomoea batatas L.*) varietas ungu kultivar Gunung Kawi yang memiliki kandungan antosianin tinggi. Antosianin mampu mensupresi Neuropeptide Y hipotalamus, menekan mRNA dari faktor lipogenik dan meningkatkan lipolitik. Penelitian ini bertujuan menentukan efek toksisitas akut ekstrak etanol ubi jalar (*Ipomoea batatas L.*) varietas ungu kultivar Gunung Kawi terhadap berat badan, intake pakan dan minum, dan berat organ tikus *Rattus norvegicus* strain wistar betina dengan berpedoman Peraturan Kepala Badan Pengawas Obat dan Makanan Nomor 7 Tahun 2014. Studi eksperimental laboratorium menggunakan rancangan *Post-Test Only Control Group Design* ini menggunakan 15 tikus *Rattus norvegicus* strain wistar betina. Ekstrak diberikan pada hari pertama secara per-oral dan diamati sampai hari ke-14, kemudian pada hari ke-15 dilakukan pembedahan untuk mendapatkan berat organ tikus. Sampel dipilih dengan metode *Stratified Random Sampling* dengan membagi tiga kelompok (kontrol, dosis 2000 mg/kgBB, dan dosis 5000 mg/kgBB). Analisis data menggunakan uji parametrik *One-Way ANOVA* atau uji nonparametrik *Kruskall-Wallis Test*. Data yang signifikan berbeda dilakukan uji Tukey HSD atau uji *Mann-Whitney U*. Hasil dari penelitian ini menunjukkan perbedaan perubahan berat badan yang signifikan pada pemberian dosis 2000 mg/kgBB dan 5000 mg/kgBB di Hari 0-8, terdapat perbedaan perubahan intake pakan yang signifikan pada kontrol dan dosis 2000 mg/kgBB di Minggu 0-1, tidak didapatkan perbedaan signifikan pada perubahan intake minum, serta tidak didapatkan perbedaan signifikan berat organ, kecuali berat organ otak yaitu antara dosis 2000 mg/kgBB dan kontrol, serta dosis 2000 mg/kgBB dan dosis 5000 mg/kgBB.

Kata kunci : Antosianin, Berat Badan, Berat Organ, Intake Pakan dan intake minum, *Ipomoea batatas L.*, Toksisitas akut

**ACUTE TOXICITY TEST OF ETHANOL EXTRACT OF SWEET POTATO
(*Ipomoea batatas* L.) PURPLE VARIETIES OF GUNUNG KAWI CULTIVARS
ON BODY WEIGHT, FOOD INTAKE AND WATER INTAKE, AND ORGAN
WEIGHTS ON *Rattus norvegicus* STRAIN WISTAR**

Azmi Aziz Nur Arraga¹, Endang Sri Wahyuni², Retty Ratnawati²

¹ Medical Education Student of the Faculty of Medicine, Universitas Brawijaya

² Molecular Physiology Laboratory, Faculty of Medicine, Universitas Brawijaya
Malang

Abstract

Traditional Medicine (TM) has been trusted by the community, but required testing the efficacy and safety of use. Sweet potato (*Ipomoea batatas* L.) purple varieties has a high anthocyanin. Anthocyanin can suppress the hypothalamic neuropeptide Y, suppress mRNA from lipogenic factors and increase lipolytic activity. This study aims to determine the acute toxicity effect of ethanol extract of sweet potato (*Ipomoea batatas* L.) purple varieties of Gunung Kawi cultivars on body weight, food intake and water intake, and organ weights on *Rattus norvegicus* strain wistar. The experimental research design use the *Post-Test Only Control Group Design* used 15 rats. Extract was given on the first day and observed until the 14th-day, then on the 15th-day surgery was performed to get the weight of organs. The sample was selected by the *Stratified Random Sampling* method by dividing three groups (control, 2000 mg/kgBB, and 5000mg/kgBB). Data analysis used the One-Way ANOVA parametric test or the Kruskal-Wallis nonparametric test. Significantly different data were performed by the Tukey HSD test or the Mann-Whitney U test. The results of this study indicate significant differences in weight changes in dosing of 2000 mg/kgBB and 5000 mg/kgBB on Days 0-8, there are differences in changes in food intake Significant in the control and dose of 2000 mg/kgBB in Week 0-1, there was no significant difference in changes in water intake, and there was no significant difference in organs weight, except brain organ weight between doses of 2000 mg/kgBB and control, also dose of 2000 mg/kgBB and dose of 5000 mg/kgBB.

Keywords : Acute toxicity, Anthocyanin, body weight, food intake and water intake, *Ipomoea batatas* L., organ weight

* Pendidikan Dokter, Fakultas Kedokteran Universitas Brawijaya

✉ E-mail: azmiarraga@gmail.com

DAFTAR ISI

Halaman

| | |
|---|------|
| Halaman Judul | i |
| Halaman Pengesahan | ii |
| Pernyataan Keaslian Tulisan | iii |
| Kata Pengantar | iv |
| Abstrak | vi |
| Abstract | vii |
| Daftar Isi | viii |
| Daftar Tabel | xi |
| Daftar Gambar | xii |
| Daftar Singkatan | xiii |
| Daftar Lampiran | xiv |
| BAB 1 PENDAHULUAN | |
| 1.1 Latar Belakang | 1 |
| 1.2 Rumusan Masalah | 3 |
| 1.3 Tujuan Penelitian | 3 |
| 1.4 Manfaat Penelitian | 3 |
| 1.4.1 Manfaat akademis | 3 |
| 1.4.2 Manfaat praktis | 3 |
| BAB 2 TINJAUAN PUSTAKA | |
| 2.1 Uji Toksisitas | 4 |
| 2.1.1 Uji Toksisitas Akut Oral | 4 |
| 2.2 Ubi Jalar (Ipomoea Batatas L) Varietas Ungu | 5 |
| 2.2.1 Taksonomi | 5 |
| 2.2.2 Karakteristik Ubi Jalar Varietas Ungu | 5 |
| 2.2.3 Kandungan Gizi Ubi Jalar Varietas Ungu | 6 |
| 2.3 Antosianin | 7 |
| 2.3.1 Karakteristik Umum Antosianin | 7 |
| 2.3.2 Manfaat Antosianin | 9 |
| 2.3.3 Toksisitas Antosianin | 10 |
| 2.4 Berat Badan dan Intake Pakan | 11 |
| 2.5 Intake Minum | 13 |
| 2.6 Berat Organ | 14 |





| | |
|--|----|
| 2.7 Berat Badan, Intake Pakan dan Minum Tikus Wistar..... | 14 |
| BAB 3 KERANGKA KONSEP DAN HIPOTESIS | |
| 3.1 Kerangka Konsep..... | 16 |
| 3.2 Hipotesis Penelitian..... | 17 |
| BAB 4 METODE PENELITIAN | |
| 4.1 Rancangan Penelitian..... | 18 |
| 4.2 Populasi dan Sampel Penelitian..... | 18 |
| 4.2.1 Populasi Penelitian..... | 18 |
| 4.2.2 Sampel Penelitian..... | 19 |
| 4.3 Variabel Penelitian..... | 19 |
| 4.3.1 Variabel Bebas..... | 19 |
| 4.3.2 Variabel Tergantung..... | 20 |
| 4.3.3 Variabel Kontrol..... | 20 |
| 4.4 Lokasi dan Waktu Penelitian..... | 20 |
| 4.5 Alat dan Bahan..... | 20 |
| 4.5.1 Alat Penelitian..... | 20 |
| 4.5.2 Bahan Penelitiann..... | 21 |
| 4.6 Definisi Operasional..... | 21 |
| 4.7 Metode Pembuatan Ekstrak Etanol Ubi Jalar Varietas Ungu..... | 22 |
| 4.8 Metode Pemeliharaan Tikus..... | 23 |
| 4.8.1 Metode Aklimatisasi dan Pemeliharaan Tikus..... | 23 |
| 4.8.2 Metode Penggantian Sekam..... | 23 |
| 4.8.3 Metode Penimbangan Berat Badan Tikus..... | 23 |
| 4.8.4 Metode Penggantian dan Penimbangan Pakan Tikus..... | 24 |
| 4.8.5 Metode Penggantian dan Pengukuran Minum Tikus..... | 24 |
| 4.9 Metode Pembedahan dan Penimbangan Berat Organ Tikus..... | 24 |
| 4.10 Pengolahan Data..... | 25 |
| 4.11 Jadwal Kegiatan..... | 26 |
| BAB 5 HASIL PENELITIAN DAN ANALISIS DATA | |
| 5.1 Hasil Penelitian..... | 27 |
| 5.1.1 Berat Badan..... | 27 |
| 5.1.2 Intake Pakan..... | 28 |
| 5.1.3 Intake Minum..... | 29 |
| 5.1.4 Berat Organ..... | 31 |
| 5.2 Analisis Data..... | 32 |

| | |
|--|----|
| 5.2.1 Berat Badan | 32 |
| 5.2.2 Intake Pakan | 32 |
| 5.2.3 Intake Minum | 33 |
| 5.2.4 Berat Organ | 33 |
| BAB 6 PEMBAHASAN | |
| 6.1 Toksisitas Akut Oral Ekstrak Etanol Ubi Jalar (Ipomea Batatas L.) Varietas Ungu Kultivar Gunung Kawi terhadap Berat Badan Rattus Norvegicus Strain Wistar | 35 |
| 6.1 Toksisitas Akut Oral Ekstrak Etanol Ubi Jalar (Ipomea Batatas L.) Varietas Ungu Kultivar Gunung Kawi terhadap Intake Pakan Rattus Norvegicus Strain Wistar | 36 |
| 6.1 Toksisitas Akut Oral Ekstrak Etanol Ubi Jalar (Ipomea Batatas L.) Varietas Ungu Kultivar Gunung Kawi terhadap Intake Minum Rattus Norvegicus Strain Wistar | 37 |
| 6.1 Toksisitas Akut Oral Ekstrak Etanol Ubi Jalar (Ipomea Batatas L.) Varietas Ungu Kultivar Gunung Kawi terhadap Berat Organ Rattus Norvegicus Strain Wistar | 38 |
| BAB 7 PENUTUP | |
| 7.1 Kesimpulan | 40 |
| 7.2 Saran | 41 |
| DAFTAR PUSTAKA | 42 |
| LAMPIRAN | 45 |



DAFTAR TABEL

Halaman

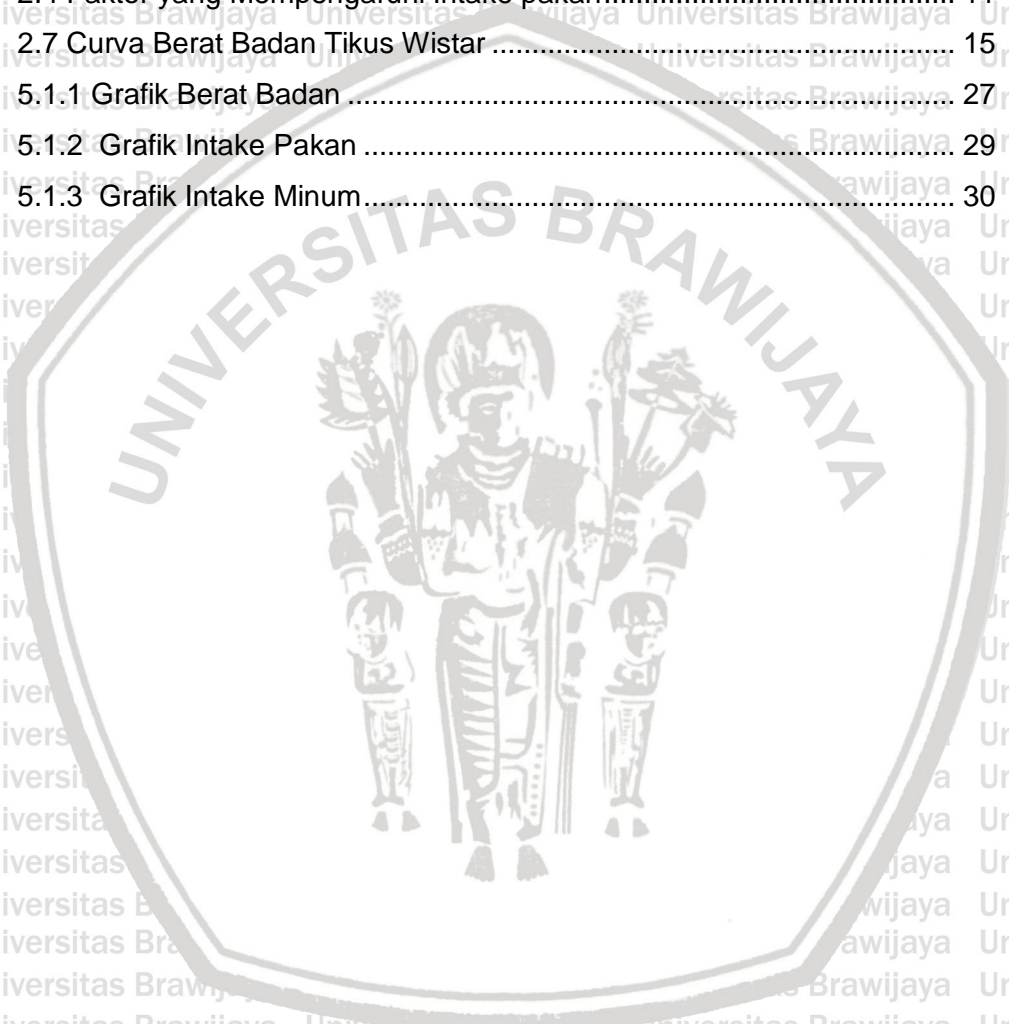
| | |
|--|----|
| 2.1.1 Kriteria Penggolongan Sediaan Uji Toksisitas Akut..... | 6 |
| 5.1.1 Perubahan Berat Badan..... | 28 |
| 5.1.2 Perubahan Intake Pakan..... | 28 |
| 5.1.3 Perubahan Intake Minum..... | 30 |
| 5.1.4 Rata-rata Berat Organ..... | 31 |



DAFTAR GAMBAR

Halaman

| | |
|--|----|
| 2.2.2 Ubi Jalar Varietas Ungu Kultivar Gunung Kawi..... | 6 |
| 2.3.1.1 Kandungan Antosianin, Total Fenol, dan Aktivitas Antioksidan ... | 7 |
| 2.3.1.2 Struktur Kimia Antosianin | 8 |
| 2.3.1.3 Pengaruh Kenaikan pH pada Perubahan Warna Antosianin..... | 8 |
| 2.4 Faktor yang Mempengaruhi Intake pakan..... | 11 |
| 2.7 Curva Berat Badan Tikus Wistar | 15 |
| 5.1.1 Grafik Berat Badan | 27 |
| 5.1.2 Grafik Intake Pakan | 29 |
| 5.1.3 Grafik Intake Minum..... | 30 |



DAFTAR SINGKATAN

| | |
|----------------------|--|
| NPY | <i>Neuropeptide Y</i> |
| TM | <i>Traditional Medicine</i> |
| LD ₅₀ | <i>Lethal Dose 50</i> |
| CD40L | <i>Cluster Differentiation 40 Ligand</i> |
| NFκB | <i>Nuclear Factor-κB</i> |
| TNF-α | <i>Tumor Necrosis Factor-α</i> |
| MAPK | <i>Mitogen-Activated Protein Kinase</i> |
| MDA | <i>Malondialdehyde</i> |
| SOD | <i>Superoxide Dismutase</i> |
| GPx | <i>Glutathione Peroxidase</i> |
| GABA _{B1} R | <i>γ-Amino Butyric Acid Receptor</i> |
| IL-6 | <i>Interleukin 6</i> |
| iNOS | <i>Inducible Nitric Oxide Synthase</i> |
| OHT | <i>Obat Herbal Terstandar</i> |
| ASME | <i>Alstonia scholaris Stem Bark</i> |
| ARC | <i>Area Arcuate Nucleus</i> |
| LHA | <i>Lateral Hypothalamus Area</i> |
| PVN | <i>Paraventricular Nucleus</i> |
| CRH | <i>Corticotropin-Releasing Hormone</i> |
| NTS | <i>Traktus Nucleus Solitarius</i> |
| CCK | <i>Cholecystokinin</i> |
| ADH | <i>Antidiuretic Hormone</i> |
| KLT | <i>Kromatografi Lapis Tipis</i> |



DAFTAR LAMPIRAN

Halaman

| | | |
|------------|--|----|
| Lampiran 1 | Keterangan Layak Etik | 45 |
| Lampiran 2 | Surat Keterangan Umur dan Berat Badan Awal Tikus | 46 |
| Lampiran 3 | Laporan Hasil Uji Pakan | 47 |
| Lampiran 4 | Hasil Pencatatan Data | 48 |
| Lampiran 5 | Hasil Uji SPSS Perubahan Berat Badan | 50 |
| Lampiran 6 | Hasil Uji SPSS Perubahan Intake Pakan | 52 |
| Lampiran 7 | Hasil Uji SPSS Perubahan Intake Minum | 54 |
| Lampiran 8 | Hasil Uji SPSS Berat Organ | 55 |
| Lampiran 9 | Dokumentasi Penelitian | 58 |



BAB 1

PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

Pemanfaatan tanaman sebagai obat tradisional telah dipercaya dan digunakan masyarakat secara turun-temurun dan menjadi warisan budaya dengan berbagai metode pengolahan. Namun, potensi khasiat, kemanan, dan efek samping penggunaannya tidak sedikit yang belum teruji. Oleh sebab itu, diperlukan uji kandungan zat aktif dari beberapa dosis agar penggunaannya optimal dan aman bagi kesehatan manusia (BPOM, 2014).

Salah satu tanaman herbal yang dipercaya khasiatnya yaitu ubi jalar (*Ipomoea batatas L.*) varietas ungu kultivar Gunung Kawi. Ubi jalar varietas ungu ini mulai banyak dibudidayakan oleh petani di sekitar Gunung Kawi, Malang dengan potensi hasil 15-20 t/ha (Ginting et al., 2011). Ubi jalar varietas ungu mudah dibudidayakan dan menjadi komoditas pangan nasional. Artinya, selain bermanfaat mencukupi kebutuhan gizi dasar, juga dapat meningkatkan kesehatan manusia (Sisilalahi, 2006).

Ubi jalar varietas ungu mengandung antosianin yang cukup tinggi (Shih et al., 2009). Antosianin bermanfaat sebagai antioksidan sehingga dapat mencegah penyakit degeneratif dan penuaan, antikarsinogenik dan antimutagenik, mencegah penyakit hati, dan antihipertensi (Suda et al., 2003; Khoo et al., 2017), memperbaiki fungsi memori, menurunkan ekspresi TNF- α dan apoptosis sel hipokampus tikus wistar/*Rattus novvergicus* model diabetes mellitus ((Darwatik et al., 2018), sitoprotektif dan anti-inflamasi dalam patologi obesitas. (J. DeFuria et al., 2009), menurunkan berat badan, glukosa serum dan level leptin, memperbaiki profil lemak, mengurangi Malondialdehyde (MDA) yaitu biomarker

stress oksidatif, meningkatkan Superoxide dismutase (SOD) dan glutathione peroxidase (GPx) yang mampu menangkal radikal bebas, dan menurunkan ekspresi biomarker inflamasi seperti TNF α , IL-6, iNOS, dan gen NF- κ B (Wu et al., 2016), menurunkan marker metabolik yaitu leptin dan faktor adipogenik, serta menurunkan marker inflamasi seperti COX-2, MCP-1, dan IL-6 (Ju et al., 2011).

Diperlukan Uji Toksisitas untuk menentukan keamanan dan efek samping penggunaannya. Uji toksisitas akut oral adalah pemaparan dosis tunggal sediaan uji secara oral selama 24 jam. Tujuannya yaitu untuk memperoleh nilai LD₅₀ suatu sediaan, menetapkan organ sasaran, menentukan dosis, dan merancang uji toksisitas selanjutnya. LD₅₀ merupakan dosis sediaan tunggal yang dapat menyebabkan kematian 50% hewan uji (BPOM,2014).

Pada penelitian ini dilakukan uji toksisitas akut ekstrak etanol (*Ipomoea batatas L.*) varietas ungu kultivar Gunung Kawi dengan parameter yang diamati adalah berat badan, pengaruh *intake* pakan dan minum,dan berat organ.

Penurunan drastis berat badan merupakan tanda toksisitas. *Intake* pakan dan minum merupakan indikasi pengaruh metabolisme tubuh (Teff and Kim, 2011).

Berat organ diamati untuk menentukan target organ suatu sediaan (BPOM, 2014).

Penelitian ini merupakan penelitian payung mengenai pengembangan obat herbal terstandar dari ekstrak etanol ubi jalar varietas ungu, mulai dari standarisasi ekstraksi, pengembangan metode analisis menggunakan high performance liquid chromatography (HPLC), serta uji toksisitas akut dan subkronis oral (Ratnawati et al., 2017). Penelitian ini dilakukan secara *in vivo* pada *Rattus norvegicus* strain wistar betina dengan pemaparan dosis tunggal ekstrak etanol ubi jalar varietas ungu kultivar Gunung Kawi secara per-oral pada

3 kelompok perlakuan yakni kontrol, dosis 2000mg/KgBB, dan dosis 5000 mg/KgBB.

1.2 Rumusan Masalah Penelitian

1. Apakah ekstrak etanol ubi jalar (*Ipomoea batatas L.*) varietas ungu kultivar Gunung Kawi memiliki efek toksik akut terhadap berat badan, *intake* pakan dan minum, dan berat organ pada tikus *Rattus norvegicus* strain wistar betina?

1.3 Tujuan Penelitian

Mengetahui efek toksik akut ekstrak etanol ubi jalar (*Ipomoea batatas L.*) varietas ungu kultivar Gunung Kawi terhadap berat badan, *intake* pakan dan minum, dan berat organ pada tikus *Rattus norvegicus* strain wistar betina

1.4 Manfaat Penelitian

1.4.1 Manfaat Akademis

1. Sebagai pengembangan dari ilmu pengetahuan dan landasan untuk penelitian selanjutnya mengenai ubi jalar (*Ipomoea batatas L.*) varietas ungu kultivar Gunung Kawi.
2. Sebagai informasi penggunaan ekstrak etanol ubi jalar (*Ipomoea batatas L.*) varietas ungu kultivar Gunung Kawi terkait efek toksik akut oral terhadap berat badan, *intake* pakan dan minum, dan berat organ pada tikus *Rattus norvegicus* strain wistar betina

1.4.2 Manfaat Praktis

Merupakan dasar teori keamanan penggunaan pada dosis tertentu serta pengembangan obat herbal terstandar dari bahan ubi jalar (*Ipomoea batatas L.*) varietas ungu kultivar Gunung Kawi

BAB 2**TINJAUAN PUSTAKA****2.1 Uji Toksisitas**

Berdasarkan PerKBPOM Nomor 7 Tahun 2014, uji toksisitas merupakan uji pemaparan suatu zat untuk memperoleh data dosis-respon yang dapat dijadikan petunjuk keamanan dan identifikasi efek toksik terhadap manusia. Uji toksisitas menggunakan hewan uji dengan tujuan mengetahui reaksi biokimia, fisiologik dan patologik. Hasil uji toksisitas ini dapat menjadi petunjuk toksisitas relatif dan membantu identifikasi efek toksik bila terjadi pemaparan pada manusia.

2.1.1 Toksisitas Akut Oral

Uji toksisitas akut oral adalah pemaparan dosis tunggal sediaan uji secara oral selama 24 jam untuk memperoleh nilai LD_{50} suatu sediaan, menetapkan organ sasaran, menentukan dosis toksik suatu zat, kepekaan spesies, dan sebagai informasi awal untuk merancang uji toksisitas selanjutnya. LD_{50} merupakan dosis sediaan tunggal yang dapat menyebabkan kematian 50% hewan uji. Prinsip dari uji toksisitas akut oral adalah mengamati gejala-gejala efek toksik dan kematian hewan uji yang dibagi menjadi beberapa kelompok untuk diberikan dosis tertentu sediaan uji. Hewan coba diamati minimal 14 hari.

Hewan uji yang mati dan bertahan hidup hingga akhir penelitian dilakukan otopsi untuk dievaluasi gejala toksisitasnya. (BPOM,2014).

Tabel 2.1.1 Kriteria Penggolongan Sediaan Uji Toksisitas Akut (Hodge dan Sterner, 1995)

| Tingkat Toksisitas | LD ₅₀ oral (pada tikus) | Klasifikasi |
|--------------------|------------------------------------|----------------------------|
| 1 | ≤ 1 mg/kg | Sangat toksik |
| 2 | 1-50 mg | Toksik |
| 3 | 50-500 mg | Toksik sedang |
| 4 | 500-5000 mg | Toksik ringan |
| 5 | 5-15 g | Praktis tidak toksik |
| 6 | ≥ 15 g | Relatif tidak membahayakan |

2.2 Ubi Jalar (*Ipomoea Batatas L.*) Varietas Ungu

2.2.1 Taksonomi

Taksonomi *Ipomoea Batatas L.* menurut itis.gov:

- Kingdom : Plantae
- Sub kingdom : Viridiplantae
- Infrakingdom : Streptophyta
- Superdivisi : Embryophyta
- Subdivisi : Spermatophytina
- Kelas : Magnoliopsida
- Sub kelas : Asteranae
- Ordo : Solanales
- Famili : Convolvulaceae
- Genus : *Ipomoea L.*
- Species : *Ipomoea batatas (L.) Lam.*

2.2.2 Karakteristik Ubi Jalar (*Ipomoea batatas L.*) Varietas Ungu

Ipomoea batatas L. merupakan tumbuhan biji berkeping dua yang akarnya dapat menyimpan energi hasil fotosintesis. Akarnya yang dikenal umbi



inilah yang menjadi topik penelitian ini. Ubi jalar berdaun tunggal, bertangkai pada ruas-ruas batang, dan batangnya tidak berkayu. Ubi jalar awalnya berwarna putih, kuning, dan oranye. Kemudian, varietas Ayamurasaki dan Yamagawa Murasaki yang berasal dari Jepang mulai diperkenalkan ke Indonesia. Zat tepung varietas Ayamurasaki berwarna merah yang lebih gelap/ungu dibandingkan dengan varietas yamagawa murasaki (Ekawati and Hapsari, 2013). Varietas ayamurasaki mengandung antosianin yang cukup tinggi (282 mg/100 g bb). Di Malang, ubi jalar varietas ungu kultivar Gunung Kawi mulai banyak dibudidayakan oleh petani dengan potensi hasil 15-20 t/ha (Ginting et al., 2011).



Gambar 2.2.2 Ubi Jalar Varietas Ungu Kultivar Gunung Kawi

(jatimtimes.com)

2.2.3 Kandungan Gizi Ubi Jalar Varietas Ungu

Ubi jalar termasuk komoditas pangan nasional. Artinya, selain bermanfaat mencukupi gizi dasar, juga dapat meningkatkan kesehatan manusia (Sisilalahi, 2006). Selain sebagai sumber karbohidrat, ubi jalar juga memiliki senyawa fenol, antosianin, betakaroten (provitamin A), vitamin C, zat besi, magnesium, asam pantotenik, vitamin B1, B2, B6, sumber Potasium, niacin, fosfor, dan serat pangan. (Ginting et al., 2011).

Vitamin A (beta-karoten) banyak dimiliki oleh ubi jalar varietas oranye. Sedangkan varietas ungu kaya akan senyawa fenol. Jenis senyawa fenol diantaranya adalah flavonoid, asam fenolat, dan polifenol. Salah satu jenis

senyawa flavonoid adalah antosianin. Adanya senyawa fenol bersinergi dengan antosianin. Ubi jalar juga kaya akan protein sporamin yang membantu mencegah kerusakan oksidatif sel tubuh, sehingga dapat dapat menginisiasi proses penyembuhan (Ginting et al., 2011).

2.3 Antosianin

2.3.1 Karakteristik Umum Antosianin

Antosianin merupakan pigmen tanaman larut air yang memberikan warna merah, ungu, atau biru. Struktur antosianin memiliki variasi posisi rangka karbon dengan gugus hidrogen, hidroksil, dan metoksil. Pada ubi jalar, struktur antosianin didominasi oleh monoasil dari asam kafeat (Suda et al., 2003). Komponen utamanya adalah peonidin (12%) yang berwarna kemerahan dan sianidin (50%) yang berwarna ungu kebiruan (Montilla et al., 2010). Dominasi struktur dan komponen utamanya inilah yang menentukan kemampuan antosianin untuk menangkal radikal bebas (Ginting et al., 2011).

| Varietas/klon | Antosianin ^a (mg/100 g bb) | Total fenol setara asam galat (mg/100 g bb) | Aktivitas antioksidan (%) ^b |
|------------------|--|---|--|
| Ayamurasaki | 282 f | 2.594 a | 95 ab |
| JP 23 | 503 g | 2.779 a | 97 b |
| JP 46 | 197 e | 2.178 b | 97 b |
| MSU 03007-82 | 148 d | 1.786 c | 95 ab |
| MSU 01022-12 | 34 b | 2.654 a | 94 a |
| MSU 01015-02 | 64 c | 2.032 b | 94 a |
| MSU 01008-16 | 9 a | 1.120 d | 94 a |
| MSU 01151-05 | 24 b | 1.689 c | 95 ab |
| BHA ^c | - | - | 97 |

Angka selajur yang diikuti oleh huruf sama, tidak berbeda nyata pada uji 0,05 BNT

bb= basis basah

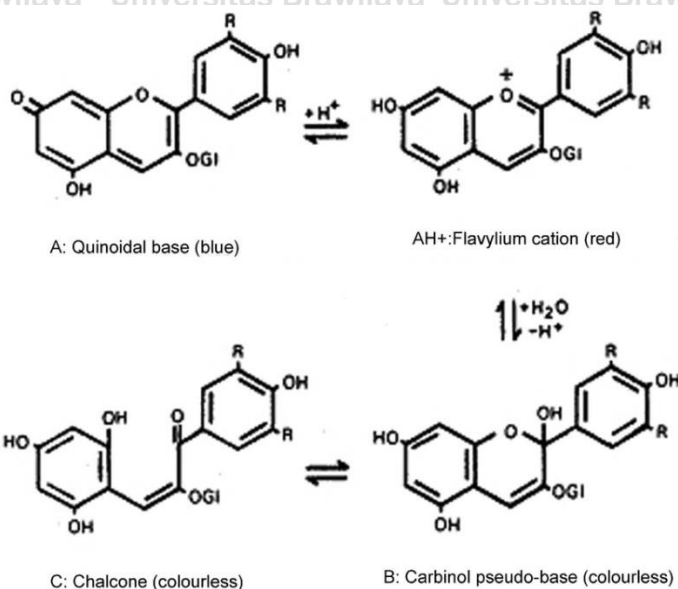
^a Setara dengan sianidin-3-glukosida, menggunakan metanol-HCl 1% sebagai pelarut ekstraksi

^b Menggunakan metode DPPH

^c BHA = antioksidan buatan (kontrol)

Gambar 2.3.1.1 Kandungan Antosianin, Total Fenol, dan Aktivitas Antioksidan (Ginting et al., 2011).

Antosianin harus disimpan dan didistribusikan pada suhu rendah dan dijaga dari paparan sinar UV agar tetap stabil. (Khoo et al., 2017). Warna ubi jalar, aktivitas antioksidan, dan spektra ekstrak antosianin ditentukan oleh pH (Mahmudatussa et al., 2014).



Gambar 2.3.1.2 Struktur Kimia Antosianin (Arocas A. et al., 2012)

Antosianin sangat stabil pada pH rendah (1-2) dengan dominasi bentuk kation flavilium yang berwarna merah. Pada pH < 6 berbentuk karbinol dengan sebagian berbentuk kuinonoidal sehingga berwarna ungu, pada pH 6.5 - 9 berbentuk kuinodal dan berwarna biru, dan pada pH > 9 berbentuk kalkon yang berwarna kuning (Mahmudatussa et al., 2014).



Gambar 2.3.1.3 Pengaruh Kenaikan pH pada Perubahan Warna

Antosianin (Mahmudatussa et al., 2014)

2.3.2 Manfaat Antosianin

Warna ubi jalar varietas ungu disebabkan kandungan antosianin yang cukup tinggi (Shih *et al.*, 2009). Antosianin ubi ungu berfungsi sebagai antioksidan sehingga dapat mencegah penyakit degeneratif dan penuaan, menekan proliferasi sel dan apoptosis sehingga bermanfaat sebagai antikarsinogenik dan antimutagenik, mencegah penyakit hati, dan antihipertensi (Suda *et al.*, 2003; Khoo *et al.*, 2017), mampu menurunkan biomarker inflamasi seperti CD40L, NF κ B, dan CRP, antiaterogenik dengan mengurangi foam cell pada tikus Wistar (Maharani and Sargowo, 2012), memperbaiki fungsi memori spasial pada dosis 10-20 mg/KgBB, menurunkan ekspresi TNF- α dan apoptosis sel hipokampus tikus wistar/*Rattus novergicus* model diabetes mellitus (Darwatik *et al.*, 2018).

Antosianin juga dapat mengubah mitogen-activated protein kinase (MAPK) dan nuclear factor- κ B (NF- κ B) stress signaling pathways, yang berperan sebagai sitoprotektif dan anti-inflamasi dalam patologi obesitas. (J. DeFuria *et al.*, 2009). Konsumsi antosianin dari buah murbei dan ceri 200 mg/kg setiap hari selama 8 minggu dapat menurunkan berat badan masing-masing 29,6% dan 32,7%, menurunkan glukosa serum dan level leptin, memperbaiki profil lemak, mengurangi Malondialdehyde (MDA) yaitu biomarker stress oksidatif, meningkatkan Superoxide dismutase (SOD) dan glutathione peroxidase (GPx) yang mampu menangkal radikal bebas, dan menurunkan ekspresi biomarker inflamasi seperti TNF α , IL-6, iNOS, dan gen NF- κ B (Wu *et al.*, 2016). Efek pemberian ekstrak etanol ubi jalar varietas ungu dengan dosis 1000, 2000 dan 3000 mg/ml selama 24 jam pada 3T3-LT1 adiposit dapat mengurangi sekresi leptin, menekan mRNA dari faktor lipogenik, dan meningkatkan lipolitik. (Ju *et al.*, 2011). Pada kaitannya dengan berat badan dan *intake* pakan, pemberian

antosianin 24mg/hari selama 40 hari mampu mengurangi ekspresi Neuropeptide Y (NPY) dan meningkatkan γ -amino butyric acid receptor (GABA_{B1R}) di hipotalamus (Badshah et al., 2013).

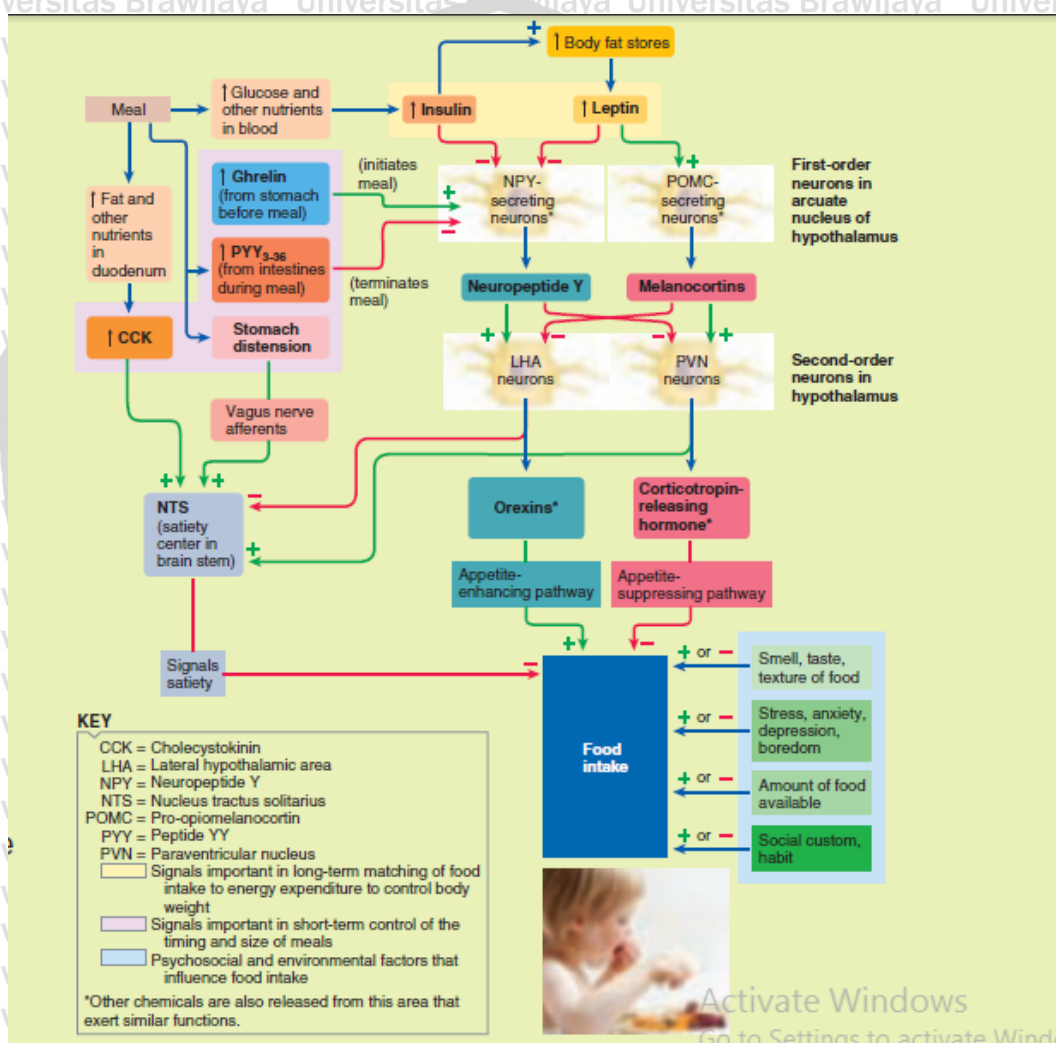
2.3.3 Toksisitas Antosianin

Guna memaksimalkan potensi dan manfaat suatu zat, maka selain mengetahui khasiatnya diperlukan juga uji toksisitas untuk menetapkan sediaan sebagai Obat Herbal Terstandar (OHT). Uji toksisitas pernah dilakukan pada tikus Sprague Dawley (SD) dengan uji ekstrak metanol *Alstonia scholaris* Stem Bark (ASME) atau sering disebut pohon pulai dengan dosis 2000 mg/Kg peroral yang menunjukkan tidak ada tanda toksisitas akut, perubahan berat badan, dan kematian, namun pada subakut (dosis 500 mg/kg dan 1000mg/kg) terdapat signifikansi parameter berat badan, hematologi, dan biokimia (Bello et al., 2016), uji ekstrak metanol patikan kebo (*Euphorbia hirta L*) pada dosis 5000 mg/kg menunjukkan tidak ada tanda toksisitas atau kematian (Yuet Ping et al., 2013), uji ekstrak metanol daun kesum (*Polygonum minus*) di tikus betina Sprague Dawley dosis 2000 mg/Kg menunjukkan tidak ada perubahan fisiologis, perilaku, dan abnormalitas gross patologis (Christapher et al., 2017).

Pada penelitian sebelumnya antosianin pada dosis 80 mg/kgBB dapat meningkatkan ekspresi caspase-3 otak tikus menunjukkan efek pro-oksidan dan proapoptosis yang bersifat subkronis (Prakosa et al., 2018). Uji toksisitas buah murbei dengan dosis 2000 mg/kgBB tidak didapatkan perbedaan tanda toksisitas akut (berat badan, berat organ, dan perilaku) (Wattanathorn et al., 2012).

2.4 Berat Badan dan Intake Pakan

Berat badan merupakan indikasi status kesehatan general yang sensitif (Hilaly et al., 2004). Penurunan signifikan berat badan dapat mengindikasikan efek toksik dari suatu zat (Chapman et al., 2013). Berat badan juga dipengaruhi oleh berkurang/bertambahnya *intake* pakan (Klaasen et al., 2001). *Intake* pakan dan minum merupakan indikasi pengaruh metabolisme tubuh.



Gambar 2.4 Faktor yang Mempengaruhi Intake pakan (Sherwood L., 2016)

Berat badan akan tetap konstan dalam periode yang lama. Hal ini karena adanya homeostasis antara pengeluaran energi dengan *intake* pakan yang diregulasi oleh hipotalamus, terutama Area Arcuate Nucleus (ARC). Area ini

mensekresi *Neuropeptide Y* (NPY) yang mampu meningkatkan intake pakan dan melanocortin yang mensupresi *intake* pakan. NPY dan melanocortin bukanlah efektor terakhir. NPY dan melanocortin akan mengirim sinyal ke *Lateral Hypothalamus Area* (LHA) untuk melepaskan oreksin dan *Paraventricular Nucleus* (PVN) mensekresikan *Corticotropin-Releasing Hormone* (CRH). Oreksin berperan untuk meningkatkan *intake* pakan, sedangkan CRH mampu mengurangi *intake* pakan (Sherwood L., 2016). Oleh sebab itu, Otak dapat berfungsi sebagai indikator sensitif terhadap metabolisme dan jumlah lemak yang tersimpan dalam tubuh (Belgardt and Brüning, 2010).

Mekanisme untuk menjaga keseimbangan energi dan mengontrol berat badan dibagi menjadi kontrol jangka panjang dan kontrol jangka pendek. Pada kontrol jangka panjang, terdapat 2 hormon utama yaitu leptin dan insulin yang mensupresi *intake* pakan dengan menghambat *Neuropeptide Y* dan menstimulasi melanocortin. Jaringan adiposa merupakan kelenjar endokrin terbesar yang mampu mensekresi beberapa hormon yang disebut adipokines. Beberapa adipokines yang disekresi oleh jaringan adiposa yaitu leptin, *Tumor Necrosis Factor* (TNF), dan *Interleukin 6* (IL-6) dari adiposit, dan makrofag dari sel imun.

Jumlah lemak tubuh bersinergi dengan kadar leptin dalam darah. Jika terjadi kelebihan simpanan lemak, leptin akan meningkat dan mengirim sinyalnya pada area ARC hipotalamus untuk mensupresi napsu makan, sehingga mengurangi konsumsi pakan, dan menurunkan berat badan. Peran insulin yang disekresi oleh pankreas saat peningkatan glukosa atau nutrisi lain saat makan, menstimulasi uptake seluler, kemudian menyimpannya akan menghambat sekresi NPY di ARC sehingga mensupresi *intake* pakan. Adapun, adiponektin yaitu jenis adipokines baik yang dapat meningkatkan sensitifitas insulin, menurunkan berat badan, antiinflamasi, dan antiapoptosis (Sherwood L., 2016).

Pada kontrol jangka pendek diperankan oleh hormone ghrelin yang diproduksi lambung dan PYY₃₋₃₆ yang diproduksi oleh usus besar. Ghrelin bekerja saat keadaan lapar dengan menstimulasi Neuropeptide Y, sedangkan PYY₃₋₃₆ aktif selama makan, kemudian menghambat Neuropeptide Y. Pada keadaan kenyang, Traktus *Nucleus Solitarius* (NTS) mendapat sinyal dari hipotalamus dan organ pencernaan untuk meningkatkan cholecystokinin (CCK) oleh mucosal duodenum, akibatnya *intake* pakan turun (Sherwood L., 2016).

2.5 Intake Minum

Intake cairan manusia bervariasi tergantung dari iklim, kebiasaan, dan level aktivitas. Setiap hari cairan manusia didapatkan dari *intake* sekitar 2.100 ml dan dari sintesa tubuh oleh oksidasi karbohidrat sekitar 200 ml. Regulasi cairan diperankan oleh osmoreseptor ADH dan mekanisme haus. Haus distimulasi oleh peningkatan tonisitas plasma (terutama plasma natrium) dan berkurangnya volume cairan ekstraseluler. Stimulasi haus diperankan oleh pertukaran natrium, kalium, dan total cairan tubuh yang mengakibatkan peningkatan tonisitas plasma. Osmolalitas plasma normal sekitar 275-290 mOsm/kg, terutama diregulasi oleh natrium yang normalnya 135-145 mEq/L. Peningkatan osmolalitas 288-295 mOsm/kg atau peningkatan plasma 2-3% mengakibatkan pelepasan arginine vasopresin oleh anteroventral hipotalamus dan posterior pituitary sehingga mekanisme haus teraktivasi (*threshold for drinking*) dan terjadi retensi cairan (Rambert, 2014).

Secara fisiologis, kehilangan cairan disebabkan karena evaporasi dari paru-paru, feses, ekskresi ginjal, serta berkeringat. Perubahan drastis *intake* minum akan diregulasi tubuh dengan perubahan volume darah, volume ekstraseluler, cardiac output, dan tekanan arteri untuk menjaga homeostasis tubuh. Jika terlalu banyak *intake* minum, akan mengaktifkan reflek reseptor

tekanan rendah yang berasal dari reseptor tegangan atrium kanan dan pembuluh darah pulmoner yang akan dikirim ke batang otak untuk menghambat aktivitas saraf simpatis pada ginjal untuk mengurangi reabsorpsi natrium (Hall J.E., 2016).

2.6 Berat Organ

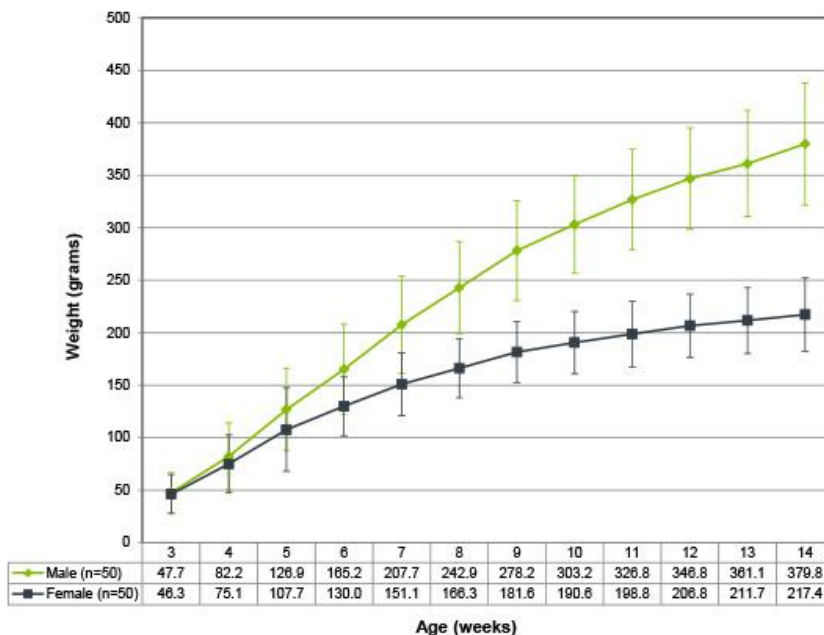
Berdasarkan PerKB POM Nomor 7 Tahun 2014, uji toksisitas akut oral dapat menunjukkan target organ suatu sediaan. Berat organ merupakan indikator paling sensitif untuk menentukan efek suatu zat, baik disertai ada atau tidaknya perubahan morfologi (Michael et al., 2007). Data berat organ juga dapat digunakan sebagai referensi penting untuk pemeriksaan patologi anatomi dan mikroskopis (Okamura et al., 2011).

2.7 Berat badan, *Intake* Pakan dan Minum Tikus Wistar

Berat badan merupakan salah satu indikator pertumbuhan dan status kesehatan general yang sensitif (Hilaly et al., 2004). Kenaikan berat badan normal tikus wistar betina usia 9-14 minggu sebesar 2.6 - 4.8% perminggunya. *Intake* pakan normal perharinya 10 gram/100 gram berat badan dan *intake* minum perharinya 10-12 ml/100 gram berat badan (Sengupta, 2013).

RccHan®:WIST
Production Facility 231 Dublin, VA (2010)

ENVIGO



Maintained on Teklad Global Rodent Diet 2018S
(18% Protein)
Cage floor space: 120.75 in²

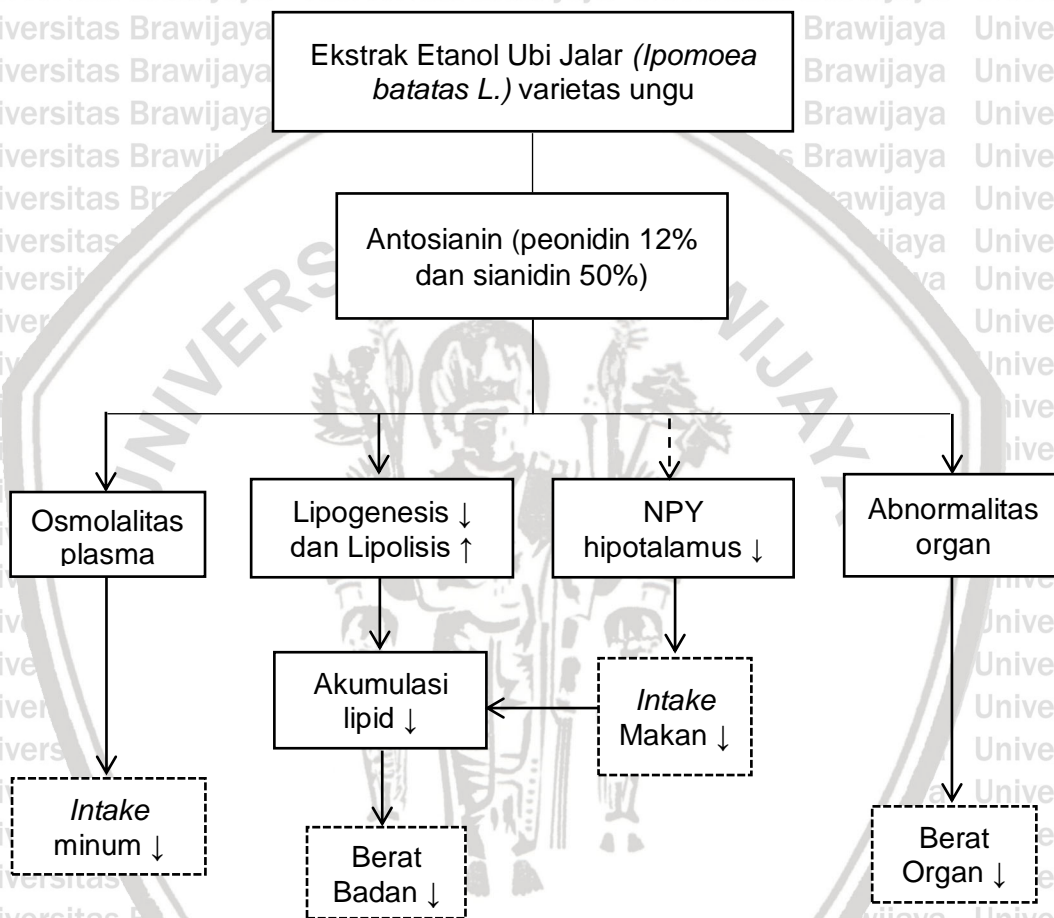
Growth data to be used as guideline only.
Data can be subject to differences in maintenance of rats.
Growth chart includes mean \pm 2 SD's representative of population distribution.

Gambar 2.7 Curva Berat Badan Tikus Wistar (Envigo, 2010)

BAB 3

KERANGKA KONSEP DAN HIPOTESIS

3.1 Kerangka Konsep



Keterangan :
 — = Mengandung
 —> = Mempengaruhi
 - - -> = Menghambat
 [] = Parameter



Penjelasan :

Ekstrak etanol ubi jalar (*Ipomoea batatas L.*) varietas ungu kultivar Gunung Kawi memiliki kandungan antosianin tinggi (sianidin 50% dan peonidin 12%). Antosianin dapat mengurangi ekspresi Neuropeptide Y (NPY) dan memperbaiki profil lemak (menekan mRNA faktor lipogenik dan meningkatkan lipolitik) (Ju et al., 2011; Badshah et al., 2013; Wu et al., 2016). NPY berada di area ARC hipotalamus yang merupakan regulator sistem saraf pusat untuk meningkatkan napsu makan, sehingga ketika NPY dihambat, mengakibatkan *intake* pakan turun. Berkurangnya *intake* pakan menyebabkan akumulasi lipid turun sehingga berat badan juga turun. Antosianin mempengaruhi osmolalitas plasma yang berakibat turunnya *intake* minum. Pemberian antosianin juga mengakibatkan abnormalitas pada organ sasaran berupa penurunan berat organ.

3.2 Hipotesis Penelitian

Ekstrak etanol ubi jalar (*Ipomoea batatas L.*) varietas ungu kultivar Gunung Kawi memiliki efek toksik menurunkan berat badan dan *intake* pakan, *intake* minum dan berat organ tikus *Rattus norvegicus* strain wistar betina.

BAB 4

METODE PENELITIAN

4.1 Rancangan penelitian

Rancangan penelitian ini adalah eksperimental laboratorium secara *in vivo*. Penelitian ini menggunakan *Control Group Post Test Design*, membandingkan beberapa kelompok perlakuan tikus yang diberikan dosis tunggal secara terbagi dalam 24 jam. Tikus dikelompokkan masing-masing 5 ekor untuk setiap perlakuan yaitu kelompok kontrol, dosis 2000 mg/kg dan dosis 5000 mg/kg pada tikus Wistar betina (*Rattus norvegicus*) yang akan diamati selama 14 hari.

4.2 Populasi dan Sampel Penelitian**4.2.1 Populasi Penelitian****4.2.1.1 Populasi Target**

Populasi target dari penelitian ini adalah tikus Wistar (*Rattus norvegicus*) dari Pusat Breeding Tikus De' Wistar Bandung, Jawa Barat.

4.2.1.2 Populasi Studi

Sebagai sampel penelitian, digunakan tikus wistar sebanyak 15 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 betina
4. Umur 8-12 minggu

5. Berat 120 - 200 gram

6. Warna bulu putih

Kriteria eksklusi:

1. Tikus yang mengalami penurunan keadaan fisik atau mati

2. Bunting

4.2.2 Sampel Penelitian

Penentuan besar sampel berdasarkan ketentuan WHO, yakni dengan jumlah sampel minimal 5 untuk setiap kelompok perlakuan. Pengambilan sampel untuk pengelompokannya dilakukan dengan menggunakan teknik *simple random sampling*. Pada penelitian ini, 15 ekor tikus betina dibagi menjadi 3 kelompok berdasarkan dosis pemberian ekstrak etanol ubi jalar varietas ungu (kontrol, dosis 2000 mg/kg, dan dosis 5000 mg/kg) dengan masing-masing kelompoknya berjumlah 5.

4.3 Variabel Penelitian

4.3.1 Variabel Bebas

Variabel bebas dalam penelitian ini adalah pemberian ekstrak etanol ubi jalar (*Ipomoea batatas L.*) varietas ungu kultivar Gunung Kawi berdasarkan PerKB POM Nomor 7 Tahun 2014 tentang in vivo dan berdasarkan penelitian sebelumnya pada dosis 300 mg/kgBB tidak menimbulkan toksisitas pada hewan uji (tikus *Rattus norvegicus*), maka untuk penelitian ini dikelompokkan menjadi :

a. Kelompok kontrol yang diberikan Aquades

b. Kelompok yang diberikan ekstrak etanol ubi jalar varietas ungu dengan dosis 2000 mg/kgBB

c. Kelompok yang diberikan ekstrak etanol ubi jalar varietas ungu dengan dosis 5000 mg/kgBB

4.3.2 Variabel Tergantung

Variabel tergantung dalam penelitian ini adalah perubahan berat badan, perubahan *intake* pakan dan minum, dan berat organ tikus wistar (*Rattus norvegicus*) betina.

4.3.3 Variabel Kontrol

Variabel kontrol dalam penelitian ini adalah suhu dan kelembapan ruangan, pakan (*calf starter*), minum (air mineral), kondisi kandang, dan waktu lamanya terpapar ekstrak etanol ubi jalar varietas ungu.

4.4 Lokasi dan Waktu Penelitian

Penelitian dilaksanakan di Laboratorium Biosains Universitas Brawijaya pada bulan Oktober 2018 – November 2018. Pembuatan ekstrak etanol ubi jalar varietas ungu dilakukan di laboratorium Farmasi Fakultas Kedokteran Universitas Brawijaya.

4.5 Alat dan Bahan Penelitian

4.5.1 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 jalar varietas ungu secara oral
3. Satu set alat untuk pembedahan
4. Plastik bening yang telah dilabeli nama-nama organ
5. Spuit 10 ml untuk injeksi ekstrak etanol ubi jalar varietas ungu secara oral.
6. Timbangan

4.5.2 Bahan penelitian

Bahan-bahan yang digunakan dalam penelitian ini adalah :

1. Pakan standar, pellet calf starter 30 mg
2. Ketamine untuk bius 1,5 mL/kg BB
3. Ekstrak etanol ubi jalar varietas ungu
4. Aquades untuk kelompok kontrol
5. Air Aqua 100 ml
6. Sekam serut kayu

4.6 Definisi Operasional

1. Ekstrak etanol ubi jalar varietas ungu adalah hasil ekstraksi dengan metode maserasi etanol dari ubi jalar varietas ungu Ipomoea batatas (L) 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 betina yang diperoleh dari Pusat Breeding Tikus De' Wistar Bandung, Jawa Barat.
3. Uji toksisitas akut oral adalah suatu pengujian untuk mendeteksi efek toksik pemberian ekstrak etanol ubi jalar varietas ungu Kultivar Gunung Kawi dengan total 2000 mg/kg dan 5000 mg/kg yang diberikan dengan dosis tunggal secara terbagi dalam waktu 24 jam (BPOM, 2014). Pada penelitian ini, terdapat 5 tikus untuk setiap kelompoknya, pemberian ekstrak dibagi menjadi 4 kali pemberian (pagi, siang, sore, dan malam hari). Ekstrak etanol ubi jalar varietas ungu diberikan secara oral pada hewan uji yang sebelumnya telah diaklimatisasi selama 7 hari. Sebelum

perlakuan, tikus dipuasakan selama 14-18 jam dan ditimbang berat-badannya.

4. Organ adalah beberapa jenis jaringan yang bekerjasama sebagai satu kesatuan untuk melakukan fungsi atau fungsi tertentu (Sherwood L., 2016).

4.7 Metode Pembuatan Ekstrak Etanol Ubi Jalar Varietas Ungu

Ubi jalar varietas ungu segar dikeringkan dan dihaluskan menjadi bubuk, lalu dimaserasi menggunakan etanol 80% sebanyak tiga kali dan dikumpulkan serta dikeringkan. Ekstrak kemudian difraksinasi dengan metode ekstraksi cair-cair menggunakan pelarut diklorometana, etil asetat, dan n-butanol. Hasil fraksi diklorometana, etil asetat n-butanol dan air dikeringkan dan dilakukan profil kromatografi lapis tipis (KLT) dengan optimasi terhadap fase gerak dari KLT dengan menggunakan fase diam silika GF240. Hasil eluasi diamati pada UV 254 nm dan 366 nm. Dilakukan derivatisasi dengan H₂SO₄ 10%, kemudian diamati pada sinar tampak dan UV 366 nm. Fraksi yang mengandung antosianin akan digunakan untuk tahapan penelitian selanjutnya.

Pengenceran dilakukan oleh petugas Laboratorium Faal Fakultas Kedokteran Universitas Brawijaya. dipindahkan ke dalam tabung falcon sesuai dosisnya, dan dilarutkan dengan akuades steril sebanyak 20 mL. Kemudian isi tabung falcon dicampur menggunakan vortex sampai tidak ada gumpalan dalam tabung. Ekstrak etanol ubi jalar varietas ungu yang telah diencerkan disimpan di dalam lemari es sampai waktu pemberian.

1. Menyiapkan kalkulator, mikro pipet, vortex, tabung, timbangan (Chyo), sendok timbang, kertas alumunium, sterile water dan ekstrak etanol ubi jalar varietas ungu kultivar Gunung Kawi.
2. Menghitung dosis yg diberikan kepada tikus berdasarkan berat badannya.

3. Memindahkan ke dalam tabung falcon sesuai dosisnya
4. Dilarutkan dengan akuades steril sebanyak 20 mL
5. Mencampur isi tabung falcon menggunakan vortex sampai tidak ada gumpalan dalam tabung
6. Ekstrak etanol ubi jalar varietas ungu yang telah diencerkan disimpan di dalam lemari es sampai waktu pemberian

4.8 Metode Pemeliharaan Tikus

4.8.1 Metode Aklimatisasi dan Pemeliharaan Tikus

1. Aklimatisasi dilakukan selama satu minggu
2. Setelah tikus tiba di laboratorium, tikus dihitung dan dicatat berat badannya lalu secara *random* tikus dimasukkan ke kandang individual yang telah disiapkan sebelumnya (sekam, makanan, dan minuman).
3. Tikus setiap hari diganti pakan dan minumannya.
4. Tikus seminggu 2 kali diganti sekamnya
5. Tikus setiap minggu sekali ditimbang berat badannya
6. Pemberian perlakuan diberikan selama 24 jam, kemudian diamati selama 14 hari dan berat organ ditimbang pada pembedahan pada hari ke-15

4.8.2 Metode Penggantian Sekam

1. Memindahkan tikus ke kandang sementara.
2. Membuang sekam kotor, kandang dibersihkan dari sisa kotoran yang masih menempel.
3. Desinfeksi dengan alkohol 70% kemudian diusap menggunakan *tissue*.
4. Setelah kering, mengisi kandang dengan sekam baru.
5. Memasukkan tikus kembali ke kandang

4.8.3 Metode Penimbangan Berat Badan Tikus

1. Berat badan ditimbang 1x dalam seminggu

2. Menyiapkan timbangan, tempat tikus untuk ditimbang, berat tempat dinetralkan
3. Meletakkan tikus ke tempat tikus
4. Mencatat berat badan tikus

4.8.4 Metode Penggantian dan Penimbangan Pakan Tikus

1. Sisa pakan ditimbang dalam satuan gram.
2. *Intake* pakan dihitung dengan mengurangi total pakan (30 gram) dengan sisa pakan
3. Melakukan pencatatan dan perhitungan rata-rata setiap kelompok perlakuan.
4. Pakan diisi kembali sebanyak 30 gram

4.8.5 Metode Penggantian dan Pengukuran Minum Tikus

1. Sisa minum dituangkan pada gelas ukur dan dicatat dengan satuan milliliter
2. *Intake* minum dihitung dan dicatat dengan mengurangi total air minum dengan sisa minum
3. Minum diisi kembali sebanyak 75 ml.

4.9 Metode Pembedahan dan Penimbangan Berat Organ Tikus

Pembedahan dilakukan oleh petugas dari Laboratorium Biosains Universitas Brawijaya, penimbangan berat badan dilakukan oleh tim peneliti.

1. Tikus dipuasakan 14-18 jam sebelum pembedahan.
2. Menimbang dan mencatat berat badan tikus yang akan dibeдах.
3. Tikus dianestesi menggunakan Ketamine 1,5 mL/Kg/BB secara IP lalu dengan menggunakan metode cervical dislocation dengan cara ibu jari dan jari telunjuk ditempatkan di kedua sisi leher di dasar tengkorak. Tangan lainnya ditempatkan pada pangkal ekor atau kaki belakang dan dengan cepat ditarik

sehingga menyebabkan pemisahan antar tulang leher dan tengkorak (Leary dkk, 2013).

4. Tikus dibentangkan di papan bedah dengan memfiksasi kaki-kakinya hingga tikus pada posisi supine untuk mempermudah proses pembedahan.
5. Dilakukan pembedahan thorax sampai abdomen tikus.
6. Organ otak, paru-paru, jantung, limpa, pankreas, lambung, hati, ovarium, ginjal usus besar dan *intestine*, lemak visceral, uterus, dan aorta diambil, kemudian dibersihkan dari darah dengan aquades, lalu dikeringkan dengan meletakkannya pada kertas penyerap.
7. Menimbang dan mencatat berat organ.
 - Bobot absolut organ : segera setelah dikeringkan dan dicatat.
8. Meletakkan organ pada plastik yang berlabel.
9. Mengamati , mencatat, dan mendokumentasikan setiap organ

4.10 Pengolahan Data

Berat badan tikus ditimbang setiap minggu dan sesaat sebelum pembedahan, data *intake* pakan dan minum dicatat setiap harinya, dan berat organ diperoleh sesaat setelah pembedahan. Data diolah menggunakan *software* SPSS for Windows 25.0. Data dinyatakan dalam rerata \pm simpangan baku (*mean* \pm *SD*). Data variabel bebas bertipe ordinal dan variabel terikat bertipe rasio kemudian dilakukan uji normalitas dengan *Kolmogorov-Smirnov Test* dan homogenitasnya dengan *Lavene Test*. Kemudian jika data terdistribusi normal dan homogen, dilakukan uji parametrik *One Way ANOVA*. Data yang signifikan dilanjutkan uji *Tukey HSD*. Bila data tidak terdistribusi normal atau tidak

homogen, dilakukan uji nonparametrik *Kruskall Wallis Test*, kemudian dilanjutkan uji *Mann-Whitney* untuk data yang signifikan berbeda.

4.11 Jadwal Kegiatan

Uji Toksisitas Akut Oral Total Antosianin 14 Hari

| Kegiatan | 2018-2019 | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
|------------------------------------|-----------|--|--|---------|--|--|----------|--|--|----------|--|--|---------|--|--|--|--|--|--|--|--|--|
| | September | | | Oktober | | | November | | | Desember | | | Januari | | | | | | | | | |
| Pembuatan Total Antosianin | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
| Persiapan Kandang | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
| Pembelian Tikus | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
| Aklimatisasi | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
| Pemeliharaan Tikus | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
| Pemaparan (sonde) Total antosianin | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
| Pengamatan Perilaku | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
| Pembedahan | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
| Analisis Data | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
| Laporan | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | |



BAB 5

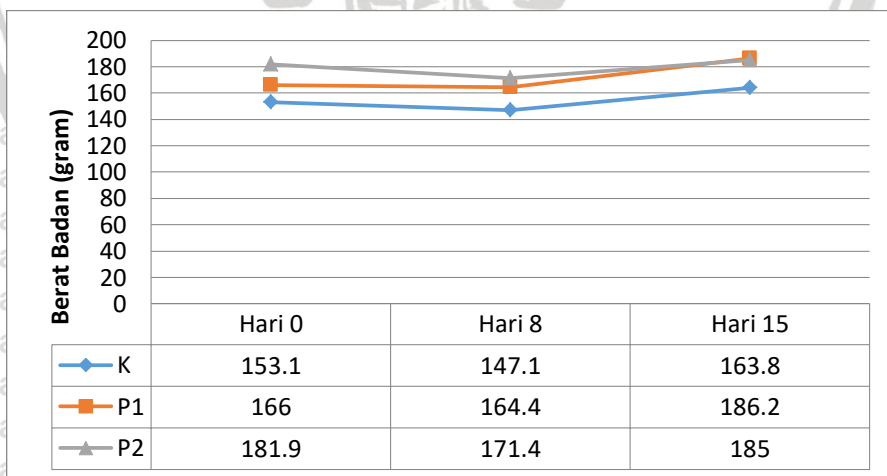
HASIL PENELITIAN DAN ANALISIS DATA

5.1 Hasil Penelitian

Setelah tikus diaklimatisasi selama 7 hari, tikus diberikan ekstrak etanol ubi jalar varietas ungu kultivar Gunung Kawi dengan dosis terbagi dalam 24 jam. Berat badan tikus ditimbang seminggu sekali, pengukuran *intake* pakan dan minum dilakukan setiap hari, dan berat organ tikus ditimbang saat pembedahan.

5.1.1 Berat Badan

Pengukuran berat badan dilakukan dengan menimbang tikus setiap minggunya dan sesaat sebelum dibedah. Perubahan berat badan didapatkan dengan menghitung selisih berat badan awal dan berat badan minggu berikutnya. Persentase didapatkan dari selisih kenaikan atau penurunan dibagi dengan berat badan awal, kemudian dikalikan 100%.



Gambar 5.1.1 Grafik Berat Badan

Keterangan : K: Kontrol; P1: 2000 mg/kgBB; P2: 5000 mg/kgBB



Tabel 5.1.1 Perubahan Berat Badan

| Kelompok | Berat Badan (g) | |
|------------|----------------------|----------------------|
| | Hari 0-8 | Hari 8-15 |
| Kontrol | -6 ± 4.43 (3.92%) | 16.7 ± 5.51 (11.35%) |
| 2000 mg/kg | -1.6 ± 1.14 (0.96%) | 21.8 ± 3.19 (13.26%) |
| 5000 mg/kg | -10.5 ± 3.55 (5.77%) | 13.6 ± 5.65 (7.93%) |

Tabel 5.1.1 dan Gambar 5.1.1 menunjukkan pada H0-H8 terjadi penurunan berat badan semua kelompok dengan urutan penurunan terbanyak yaitu pemberian dosis 5000 mg/kgBB yang turun 10,5 gram dari 181,9 menjadi 171,4 (5,77%), kelompok kontrol yang turun 6 gram dari 153,1 gram menjadi 147,1 gram (3,92%), dan pemberian dosis 2000 mg/KgBB turun 1,6 gram dari 166 gram menjadi 164,4 gram (0,96%). Pada H8-H15 semua kelompok tikus terjadi peningkatan berat badan dengan urutan kenaikan tertinggi pada pemberian dosis 2000 mg/kgBB 21,8 gram yakni dari 164,4 gram menjadi 186,2 gram (13,26%), kelompok kontrol 16,7 gram yakni dari 147,1 gram menjadi 163,8 gram (11,35%), dan dosis 5000 mg/kgBB 13,6 gram yakni dari 171,4 gram menjadi 185 gram (7,93%).

5.1.2 Intake pakan

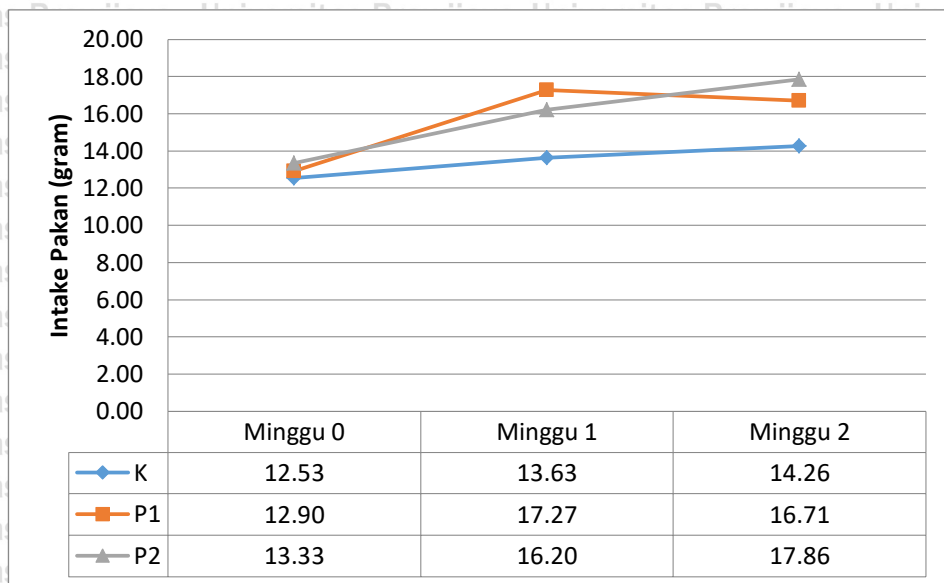
Setiap tikus diberikan pakan yang sama yaitu *pellet calf starter* 30 gram.

Penimbangan *intake* pakan dilakukan setiap hari.

Tabel 5.1.2 Perubahan Intake Pakan

| | Intake Pakan (gram) | |
|--------------|----------------------|----------------------|
| | Minggu 0-1 | Minggu 1-2 |
| Kontrol | 0.80 ± 1.84 (6.21%) | 0.59 ± 0.71 (4.31%) |
| 2000 mg/KgBB | 4.43 ± 2.05 (34.42%) | -0.59 ± 3.58 (3.4%) |
| 5000 mg/KgBB | 2.87 ± 1.24 (21.53%) | 1.66 ± 4.11 (10.25%) |





Gambar 5.1.2 Grafik Intake Pakan

Keterangan : K: Kontrol; P1: 2000 mg/kgBB; P2: 5000 mg/kgBB

Tabel 5.1.2 dan Gambar 5.1.2 menunjukkan dari minggu 0 ke minggu 1 *intake* pakan meningkat dengan urutan terbanyak yaitu pemberian dosis 2000 mg/kgBB meningkat 4,43 gram dari 12.90 gram menjadi 17.27 gram (34,42%), dosis 5000 mg/kgBB meningkat 2,87 gram dari 13.33 gram menjadi 16.20 gram (21,53%), dan kelompok kontrol meningkat 0,80 gram dari 12,53 gram menjadi 13,63 gram (6,21%). Pada minggu 1 ke minggu 2 *intake* pakan pemberian dosis 5000 mg/kgBB meningkat 1.66 gram dari 16,20 gram menjadi 17,86 gram (10,25%), kelompok kontrol meningkat 0,59 gram dari 13,63 gram menjadi 14,26 gram (4,31%), sedangkan pemberian dosis 2000 mg/kgBB *intake* pakan turun 0,59 gram dari 17,27 gram menjadi 16,71 gram (3.4%).

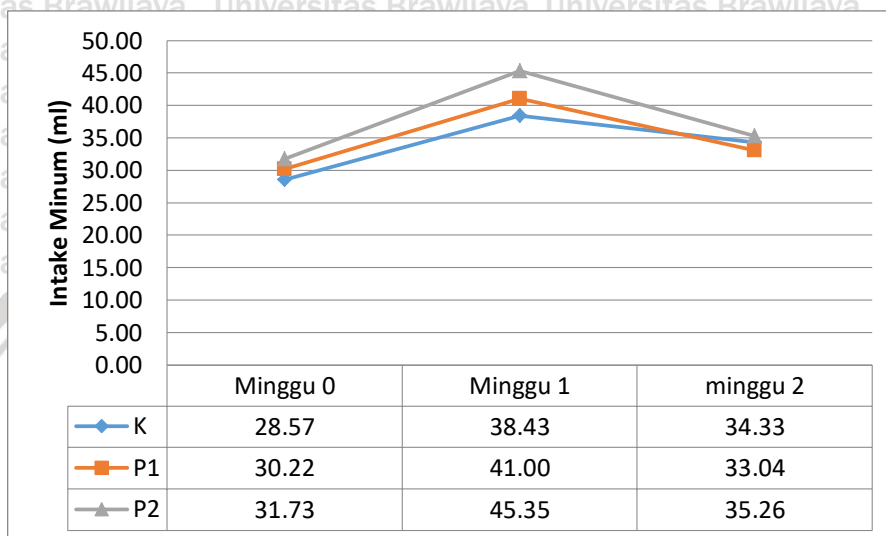
5.1.3 Intake Minum

Pengukuran *intake* minum dilakukan setiap hari menggunakan gelas ukur. Setiap tikus diberikan minum yang sama yaitu air mineral.



Tabel 5.1.3 Perubahan *Intake* Minum

| | <i>Intake</i> Minum (ml) | |
|---------------------|--------------------------|------------------------|
| | Minggu 0-1 | Minggu 1-2 |
| Kontrol | 9.87 ± 3.60 (34.55%) | -4.10 ± 4.81 (10.67%) |
| 2000 mg/KgBB | 10.78 ± 2.62(35.67%) | -6.96 ± 3.18 (16.96%) |
| 5000 mg/KgBB | 13.88 ± 7.58 (44.1%) | -10.15 ± 2.88 (22.38%) |



Gambar 5.1.3 Grafik *Intake* Minum

Keterangan : K: Kontrol; P1: 2000 mg/kgBB; P2: 5000 mg/kgBB

Tabel 5.1.3 dan Gambar 5.1.3 menunjukkan dari minggu 0 ke minggu 1 *intake* minum meningkat dengan urutan terbanyak yaitu pemberian dosis 5000 mg/kgBB yang meningkat 13, 88 ml yakni dari 31,73 ml menjadi 45,35 ml (44,1%), dosis 2000 mg/kgBB yang meningkat 10,78 ml dari 30,22 ml menjadi 41 ml (35,67%), dan kontrol yang meningkat 9,78 ml dari 28,57 ml menjadi 38,43 ml (34,55%. Pada minggu 1 ke minggu 2 terjadi penurunan *intake* minum dengan urutan penurununan yang terbanyak 5000 mg/kgBB yang turun 10,15 ml dari 45,35 menjadi 35,26 ml (22,38%), dosis 2000 mg/kgBB yang turun 6,96 ml dari 41 ml menjadi 33,04 ml (16,96%), dan kontrol yang turun 4,10 ml dari 38,43 ml menjadi 34,33 ml (10,67%).

5.1.4 Berat Organ

Pengamatan berat organ tikus didapatkan ketika pembedahan, Organ dibersihkan dari darah dengan aquades, lalu dikeringkan dengan meletakkannya pada kertas penyerap. Kemudian, setiap organ ditimbang berat absolutnya dan dicatat hasilnya.

Tabel 5.1.4 Rata-rata Berat Organ (gram)

| Organ | Kontrol | Dosis 2000 mg/kgBB | Dosis 5000 mg/kgBB |
|------------------------|--------------|--------------------|--------------------|
| Otak | 1.68 ± 0.13 | 1.91 ± 0.06 * | 1.78 ± 0.07 |
| Paru | 1.24 ± 0.13 | 1.31 ± 0.10 | 1.44 ± 0.25 |
| Jantung | 0.56 ± 0.08 | 0.59 ± 0.04 | 0.67 ± 0.11 |
| Hepar | 6.19 ± 1.93 | 7.30 ± 1.08 | 8.51 ± 1.56 |
| Limpa | 0.57 ± 0.08 | 0.74 ± 0.21 | 0.66 ± 0.32 |
| Ginjal Kanan | 0.58 ± 0.09 | 0.71 ± 0.04 | 0.69 ± 0.14 |
| Ginjal Kiri | 0.58 ± 0.09 | 0.67 ± 0.04 | 0.71 ± 0.09 |
| Pankreas | 0.43 ± 0.11 | 0.57 ± 0.02 | 0.58 ± 0.05 |
| Lambung | 2.58 ± 0.24 | 2.26 ± 0.70 | 2.33 ± 0.56 |
| Intestine & Usus Besar | 12.24 ± 2.21 | 14.31 ± 1.58 | 14.32 ± 3.01 |
| Lemak Visceral | 2.05 ± 2.67 | 1.33 ± 0.22 | 0.99 ± 0.31 |
| Uterus | 0.60 ± 0.19 | 0.92 ± 0.20 | 0.76 ± 0.14 |
| Aorta | 0.13 ± 0.05 | 0.11 ± 0.08 | 0.14 ± 0.04 |
| Ovarium Kiri | 0.05 ± 0.04 | 0.07 ± 0.01 | 0.07 ± 0.04 |
| Ovarium Kanan | 0.06 ± 0.04 | 0.07 ± 0.01 | 0.07 ± 0.05 |

Tabel 5.1.4 menunjukkan rata-rata berat organ paru, jantung, hepar, ginjal kiri, pankreas, intestine dan usus besar, ovarium kiri, dan ovarium kanan semakin meningkat sesuai dengan kenaikan dosis. Sedangkan pada berat lemak visceral tikus semakin menurun sesuai dengan kenaikan dosis.

5.2 Analisis Data

5.2.1 Berat Badan

Rerata perubahan berat badan dilakukan uji normalitas menggunakan *Kolmogorov-Smirnov* didapatkan distribusi data normal ($p > 0.05$). Selanjutnya tes homogenitas Lavene didapatkan varians data tidak homogen ($p < 0.05$) pada Hari 0-8 dengan nilai signifikansi 0.037.

Kemudian, dilakukan *Kruskal-Wallis* didapatkan pada Hari 0-8 didapatkan terdapat perbedaan signifikan dengan nilai signifikansi 0.018 ($p < 0.05$), sehingga pada minggu 1 H_0 diterima dan H_0 ditolak, artinya pemberian ekstrak etanol ubi jalar varietas ungu memiliki pengaruh terhadap berat badan tikus wistar betina. Dilanjutkan uji *Mann-Whitney* untuk melihat perbedaan antar kelompoknya didapatkan perbedaan signifikan terjadi antara pemberian dosis 2000 mg/kgBB dan dosis 5000 mg/kgBB dengan nilai signifikansi 0.008 ($p < 0.05$). Pengujian *One Way Anova* dilakukan pada hari 8-15 didapatkan ketiga kelompok tidak berbeda signifikan dengan nilai signifikansi 0.062 ($p > 0.05$).

5.2.2 Perubahan *Intake* Pakan

Rerata perubahan *intake* pakan dilakukan uji normalitas menggunakan *Kolmogorov-Smirnov* didapatkan seluruh data berdistribusi normal ($p > 0.05$). Pengujian homogenitas Lavene didapatkan varians data homogen dengan nilai signifikansi minggu 0-1 dan minggu 1-2 secara berurutan 0,820 dan 0.060 ($p > 0.05$). Pengujian *One Way Anova* didapatkan hasil pada minggu 0-1 terdapat perbedaan signifikan nilai 0.021 ($p < 0.05$). Uji *post hoc test tukey HSD* bertujuan mengetahui perbedaan antar kelompoknya, hasilnya perbedaan

signifikan di Minggu 0-1 terjadi antara kelompok kontrol dengan pemberian dosis 2000 mg/kgBB dengan nilai signifikansi 0.016 ($p < 0.05$).

5.2.3 Intake Minum

Rerata perubahan *intake* minum dilakukan uji normalitas menggunakan *Kolmogorov-Smirnov* didapatkan distribusi data tidak normal pada kelompok kontrol di minggu 0-1 ($0.003 < 0.05$). Uji homogenitas Lavene didapatkan nilai signifikansi minggu 0-1 dan minggu 1-2 secara berurutan 0.142 dan 0.629 sehingga disimpulkan varians data homogen ($p > 0.05$). Pengujian *One Way Anova* dilakukan pada minggu 1-2 didapatkan nilai signifikansi 0.448 ($p > 0.05$) yang bermakna tidak terdapat perbedaan yang signifikan pada ketiga kelompok.

Pengujian Kruskal-Wallis dilakukan pada minggu 0-1 dengan nilai signifikansi 0.403 ($p > 0.05$) yang bermakna H_0 diterima dan H_a ditolak, artinya pemberian ekstrak etanol ubi jalar varietas ungu tidak berpengaruh pada *intake* minum tikus wistar betina.

5.2.4 Berat Organ

Rerata berat organ dilakukan uji normalitas menggunakan *Kolmogorov-Smirnov* didapatkan distribusi data tidak normal ($p < 0.05$) pada kelompok kontrol organ otak, jantung, lambung, lemak, ovarium kiri, dan ovarium kanan, serta pada kelompok dosis 5000 mg/KgBB organ paru-paru, limpa, dan ovarium kanan. Data berat organ yang berdistribusi normal dilakukan tes homogenitas Lavene, didapatkan varians data tidak homogen pada organ ginjal kanan dan pankreas dengan nilai signifikansi secara berurutan 0.047 dan 0.041 ($p < 0.05$).

Selanjutnya, berat organ yang memiliki distribusi normal dan varians data homogen (organ herpar, ginjal kiri, instestine dan usus besar, uterus dan aorta)

dilakukan uji *One Way Anova*, hasilnya didapatkan rata-rata ketiga kelompok tidak berbeda ($p > 0.05$). Sedangkan organ yang tidak berdistribusi normal atau memiliki variansi data tidak homogen (otak, paru-paru, jantung, limpa, ginjal kanan, pankreas, lambung, lemak ovarium kiri, ovarium kanan) dilakukan uji *Kruskal-Wallis* didapatkan hasil hanya organ otak yang berbeda signifikan dengan nilai signifikansi 0.018 ($p < 0.05$), artinya H_0 ditolak dan H_a diterima. Kemudian dilakukan uji *Mann-Whitney* untuk melihat perbedaan antar kelompoknya didapatkan perbedaan signifikan antara kelompok kontrol dengan dosis 2000 mg/kg dengan nilai signifikansi $0,021$ serta antara kelompok dosis 2000 mg/kg dengan dosis 5000 mg/kg dengan nilai signifikansi $0,028$.



BAB 6

PEMBAHASAN

Penelitian uji toksisitas akut oral ini memiliki tujuan menentukan efek toksik akut ekstrak etanol ubi jalar (*Ipomoea batatas L.*) varietas ungu kultivar Gunung Kawi terhadap berat badan, intake pakan dan minum, dan berat organ pada tikus *Rattus norvegicus* strain wistar.

6.1 Toksisitas Akut Oral Ekstrak Etanol Ubi Jalar (*Ipomoea Batatas L.*) Varietas Ungu Kultivar Gunung Kawi terhadap Berat Badan *Rattus Norvegicus* Strain Wistar

Dalam penelitian ini diketahui bahwa pemberian ekstrak etanol ubi jalar varietas ungu Gunung Kawi secara oral didapatkan perbedaan perubahan berat badan yang signifikan di Hari 0-8 antara pemberian dosis 2000 mg/kgBB dimana berat badan turun 1,6 gram dari 166 gram menjadi 164,4 gram (0,96%) dan pemberian dosis 5000 mg/kgBB dimana berat badan turun 10,5 gram dari 181,9 gram menjadi 171,4 gram (5,77%) yang lebih banyak dari kontrol. Adapun penurunan berat badan kontrol yaitu 6 gram dari 153,2 gram menjadi 147,1 gram (3,92%).

Berdasarkan hasil penelitian, maka hipotesis yang disusun tidak tepat karena pemberian ekstrak etanol ubi jalar (*Ipomea batatas L.*) varietas ungu kultivar Gunung Kawi tidak menunjukkan tanda toksisitas berupa perbedaan peningkatan berat badan antara kelompok kontrol dan perlakuan. Perbedaan perubahan berat badan yang signifikan terjadi antara pembeian 2000 mg/kgBB dan 5000 mg/kgBB. Keterbatasan penelitian ini tidak menghitung variabel lain

terkait peningkatan berat badan dan *intake* pakan seperti leptin, ekspresi NPY, dan faktor lipogenik.

Penelitian sebelumnya menyatakan bahwa antosianin dapat menurunkan berat badan dengan mengurangi ekspresi NPY hipotalamus, meningkatkan lipolitik, menekan mRNA faktor lipogenik, akibatnya selain menurunkan *intake* pakan juga dapat menurunkan berat badan (Ju et al., 2011; Badshah et al., 2013). Pada penelitian tersebut, pemberian ekstrak etanol ubi jalar varietas ungu dengan dosis 1000, 2000 dan 3000 mg/ml pada 3Te-LT1 adiposit selama 24 jam dapat mengurangi sekresi leptin, menekan mRNA faktor lipogenik, dan meningkatkan lipolitik (Ju et al., 2011). Pemberian antioianin 24 mg/hari selama 40 hari mengurangi ekspresi NPY hipotalamus (Badshah et al., 2013).

Penelitian lainnya menyebutkan uji toksisitas ekstrak metanol *Alstonia scholaris* stem bark (ASME) dengan dosis 2000 mg/Kg peroral menunjukkan tidak ada tanda toksisitas perubahan berat badan (Bello et al., 2016), pengujian toksisitas akut buah murberi dengan dosis 2000 mg/kgBB tidak didapatkan perbedaan tanda toksisitas (berat badan, berat organ, dan perilaku) (Wattanathorn et al., 2012).

6.2 Toksisitas Akut Oral Ekstrak Etanol Ubi Jalar (*Ipomoea Batatas L.*)

Varietas Ungu Kultivar Gunung Kawi terhadap *Intake* Pakan *Rattus Norvegicus* Strain Wistar

Pada analisis data perubahan *intake* pakan didapatkan perbedaan bermakna di Minggu 0-1 antara kontrol yang meningkat 0,08 gram dari 12,53 gram menjadi 13,63 gram (6,21%) dan pemberian dosis 2000 mg/kgBB yang meningkat 4,43 gram dari 12,9 gram menjadi 17,27 gram (34,42%) dengan nilai signifikansi 0.016 ($p < 0.05$).

Peningkatan intake pakan diduga karena berkurangnya sekresi leptin dan glukosa serum; sehingga ekspresi NPY hipotalamus meningkat, akibatnya intake pakan meningkat (Ju et al., 2011; Wu et al., 2016; Sherwood L., 2016). Efek ekspresi neuropeptide Y (NPY) adalah peningkatan nafsu makan (Sherwood L., 2016). Pada penelitian tersebut antosianin berasal dari buah murbei dan ceri 200 mg/kg yang dikonsumsi selama 8 minggu, hasilnya terbukti efektif mengurangi level leptin dan glukosa serum, serta memperbaiki profil lemak sehingga dapat menurunkan berat badan masing-masing 29,6% dan 32,7 % (Wu et al., 2016).

Berdasarkan hasil penelitian, maka hipotesis yang disusun tidak tepat karena pemberian ekstrak etanol ubi jalar (*Ipomoea batatas L.*) varietas ungu kultivar Gunung Kawi secara akut menunjukkan peningkatan *intake* pakan pada pemberian dosis 2000 mg/kgBB yang secara signifikan berbeda dari kelompok kontrol di Minggu 0-1.

6.3 Toksisitas Akut Oral Ekstrak Etanol Ubi Jalar (*Ipomoea Batatas L.*) Varietas Ungu Kultivar Gunung Kawi terhadap *Intake* Minum Tikus *Rattus Norvegicus* Strain Wistar

Hasil penelitian ini menunjukkan pemberian oral ekstrak etanol ubi jalar varietas ungu secara akut tidak menunjukkan perubahan yang signifikan antara kelompok kontrol dan kelompok perlakuan pada tikus wistar betina dengan nilai signifikansi 0.403 ($p > 0.05$), sehingga hipotesis yang disusun tidak tepat.

Regulasi cairan diperankan oleh ADH dan mekanisme haus. Mekanisme haus teraktivasi teraktivasi ketika osmolalitas plasma meningkat 2-3% yaitu sekitar 288-295 mOsm/kg atau peningkatan plasma 2-3% yang mengakibatkan pelepasan arginine vasopresin oleh anteroventral hipotalamus dan posterior pituitary. Tidak signifikannya perubahan intake minum diduga karena osmolalitas

plasma dalam ambang normal 275-290 mOSM/kg atau kadar natrium 135-145 mEq/L (Rambert, 2014).

6.4 Toksisitas Akut Oral Ekstrak Etanol Ubi Jalar (*Ipomoea Batatas* L.) Varietas Ungu Kultivar Gunung Kawi terhadap Berat Organ Tikus *Rattus Norvegicus* Strain Wistar

Berat organ dihitung untuk menentukan target organ suatu sediaan (BPOM, 2014). Adapun organ yang diamati pada penelitian ini adalah otak, paru-paru, jantung, hepar, limpa, ginjal kanan, ginjal kiri, pankreas, lambung, intestine dan usus besar, lemak, uterus, aorta, ovarium kiri, dan ovarium kanan. Hasil pengamatan berat organ pada pemberian ekstrak etanol ubi jalar varietas ungu Gunung Kawi secara oral tidak menunjukkan perbedaan bermakna pada paru-paru, jantung, hepar, limpa, ginjal kanan, ginjal kiri, pankreas, lambung, intestine dan usus besar, lemak, uterus, aorta, ovarium kiri, dan ovarium kanan, namun pada organ otak terdapat perbedaan bermakna yaitu antara kelompok kontrol (1,68 gram) dan dosis 2000 mg/kg (1,91 gram) serta antara kelompok dosis 2000 mg/kg (1,91 gram) dengan dosis 5000 mg/kg (1,78 gram).

Otak merupakan indikator sensitif terhadap metabolisme tubuh dan jumlah lemak yang tersimpan dalam tubuh, hal ini terkait aksi leptin dan insulin untuk menjaga homeostasis energi. (Belgardt and Brüning, 2010). Hasil penelitian ini bertentangan dengan penelitian sebelumnya pada uji toksisitas buah murbei dengan dosis 2000 mg/kgBB dimana tidak didapatkan perbedaan tanda toksisitas akut (berat badan, berat organ, dan perilaku), data penelitian ini didapatkan dari masing-masing 15 sampel betina dan jantan, kemudian diamati pada jam ke- 1, 2, 4, dan 6 pemberian ekstrak dan dilanjutkan setiap hari hingga hari ke- 14 hari, pada hari ke 15 tikus dibedah dengan dipuasakan 16-18 jam sebelumnya (Wattanathorn et al., 2012). Pemberian ekstrak antosianin ubi jalar

varietas ungu selama 5 minggu pada tikus diet tinggi lemak dengan dosis 10-20 mg/KgBB dapat menurunkan apoptosis sel hipokampus, namun pada dosis 80 mg/KgBB mampu meningkatkan caspase-3 otak yang merupakan enzim efektor proses apoptosis atau proses degradasi sel sehingga sifat antosianin berubah menjadi proapoptosis dan prooksidan dengan penelitian subkronis (Darwatiek et al., 2018; (Prakosa et al., 2018).

Berdasarkan hasil penelitian, maka dapat dikatakan bahwa hipotesis yang disusun sebelumnya tidak tepat, diduga pemberian ekstrak etanol ubi jalar (*Ipomoea batatas L.*) varietas ungu kultivar Gunung Kawi dengan dosis 2000 mg/kgBB dengan berat 1,91 gram yang lebih tinggi dari kelompok kontrol dan dosis 5000 mg/kgBB berpotensi mempengaruhi berat organ otak. Namun, perbedaan berat otak ini perlu dikuatkan oleh temuan biokimia dan histomorfologi untuk menentukan toksisitasnya.

BAB 7

PENUTUP

7.1 Kesimpulan

Ekstrak etanol ubi jalar (*Ipomoea batatas L.*) varietas ungu kultivar Gunung Kawi memiliki efek toksik berupa tidak berbedanya perubahan berat badan, peningkatan perubahan *intake* pakan, tidak berbedanya perubahan *intake* minum, dan tidak mengakibatkan perbedaan berat organ tikus *Rattus norvegicus* strain wistar betina kecuali hanya pada organ otak.

1. Perbedaan perubahan berat badan yang signifikan terjadi pada pemberian oral ekstrak etanol ubi jalar (*Ipomoea Batatas L.*) varietas ungu kultivar Gunung Kawi antara dosis 2000 mg/kgBB yang turun 1,6 gram dari 166 gram menjadi 164,4 gram (0,96%) dengan dosis 5000 mg/kgBB yang turun 10,5 gram dari 181,9 gram menjadi 171,4 gram (5,77%) di hari 0-8.
2. Terdapat perbedaan perubahan *intake* pakan yang signifikan pada pemberian oral ekstrak etanol ubi jalar (*Ipomoea Batatas L.*) varietas ungu kultivar Gunung Kawi antara kontrol yang meningkat 0,08 gram dari 12,53 gram menjadi 13,63 gram (6,21%) dan dosis 2000 mg/kgBB yang meningkat 4,43 gram dari 12,9 gram menjadi 17,27 gram (34,42%) di Minggu 0-1.
3. Tidak terdapat perbedaan perubahan *intake* minum yang signifikan pemberian oral ekstrak etanol ubi jalar (*Ipomoea Batatas L.*) varietas ungu kultivar Gunung Kawi.
4. Tidak didapatkan perbedaan yang signifikan pada organ paru-paru, jantung, hepar, limpa, ginjal kanan, ginjal kiri, pankreas, lambung, intestine dan usus

besar, lemak, uterus, aorta, ovarium kiri, dan ovarium kanan, namun terdapat perbedaan signifikan berat organ otak antara dosis 2000 mg/kgBB (1,91 gram) dan kontrol (1,68 gram), serta antara dosis 2000 mg/kgBB (1,91 gram) dan 5000 mg/kgBB (1,78 gram).

7.2 Saran

Berdasarkan hasil penelitian di atas, maka peneliti mengemukakan saran yang diberikan sebagai berikut :

1. Diperlukan penelitian lebih lanjut untuk menentukan efek toksik ekstrak etanol ubi jalar varietas ungu terhadap variabel-variabel yang mempengaruhi mekanisme perubahan berat badan dan *intake* pakan seperti leptin, ekspresi NPY, dan faktor lipogenik.
2. Diperlukan uji histopatologi atau biokimia untuk mengetahui organ yang terdampak efek toksik ekstrak etanol ubi jalar varietas ungu.

DAFTAR PUSTAKA

Arocas, A. & Varela, Paula & Salvador, Ana & Heredia, Francisco J. & Fiszman, Susana. (2012). Differences in Colour Gamut Obtained with Three Synthetic Red Food Colorants Compared with Three Natural Ones. pH and Heat Stability. *International Journal of Food Properties - INT J FOOD PROP.* 16. 10.1080/10942912.2011.565537.

Badshah, H., Ullah, I., Kim, S.E., Kim, T. hyun, Lee, H.Y., Kim, M.O., 2013. Anthocyanins attenuate body weight gain via modulating neuropeptide Y and GABAB1 receptor in rats hypothalamus. *Neuropeptides* 47, 347–353. <https://doi.org/10.1016/j.npep.2013.06.001>

Belgardt, B.F., Brüning, J.C., 2010. CNS leptin and insulin action in the control of energy homeostasis. *Ann. N. Y. Acad. Sci.* 1212, 97–113. <https://doi.org/10.1111/j.1749-6632.2010.05799.x>

Bello, I., Bakkouri, A., Tabana, Y., Al-Hindi, B., Al-Mansoub, M., Mahmud, R., Asmawi, M., 2016. Acute and Sub-Acute Toxicity Evaluation of the Methanolic Extract of *Alstonia scholaris* Stem Bark. *Med. Sci.* 4, 4. <https://doi.org/10.3390/medsci4010004>

BPOM, 2014. Pedoman Uji Toksisitas Nonklinik Secara In Vivo, in: Bpom. pp. 1–16. <https://doi.org/10.1017/CBO9781107415324.004>

Chapman, K., Sewell, F., Allais, L., Delongas, J.L., Donald, E., Festag, M., Kervyn, S., Ockert, D., Noguez, V., Palmer, H., Popovic, M., Roosen, W., Schoenmakers, A., Somers, K., Stark, C., Stei, P., Robinson, S., 2013. A global pharmaceutical company initiative: An evidence-based approach to define the upper limit of body weight loss in short term toxicity studies. *Regul. Toxicol. Pharmacol.* 67, 27–38. <https://doi.org/10.1016/j.yrtph.2013.04.003>

Christopher, P.V., Parasuraman, S., Asmawi, M.Z., Murugaiyah, V., 2017. Acute and subchronic toxicity studies of methanol extract of *Polygonum minus* leaves in Sprague Dawley rats. *Regul. Toxicol. Pharmacol.* 86, 33–41. <https://doi.org/10.1016/j.yrtph.2017.02.005>

Darwatic, Ratnawati, R., Rianawati, S., Sarwono, I., 2018. Pengaruh Antosianin Ubi Ungu terhadap TNF- α , Apoptosis dan Memori Spasial Hipokampus Tikus Model Diabetes Melitus Effect of Purple Sweet Potato Anthocyanin towards TNF- α , Apoptosis, and Spatial Memory in Hippocampus of Rat Model of Diabetes Mellitus 30, 12–18.

DeFuria J., Bennett G., Strissel K. J., "Dietary blueberry attenuates whole-body insulin resistance in high fat-fed mice by reducing adipocyte death and its inflammatory sequelae," *Journal of Nutrition*, vol. 139, pp. 1510–1516, 2009.

Ekawati, Hapsari, 2013. Kajian Varietas dan Bagian Daging Umbi Ubi Ungu dalam Rangka Penyediaan Tepung Ubi Ungu Sehat Termodifikasi 511–516.

Ginting, E., Joko S. Utomo, Rahmi Yulifianti, M. Jusuf, 2011. Potensi Ubijalar

Ungu sebagai Pangan Fungsional. Iptek Tanam. Pangan 6.

Hall J.E., 2016. *Guyton and Hall Textbook of Medical Physiology*. 13th Ed., Elsevier, Philadelphia. p. 305-405.

Hilaly J.E.; Israili Z. H.; and Lyoussi B., "Acute and chronic toxicological studies of *Ajuga iva* in experimental animals," *Journal of Ethnopharmacology*, vol. 91, no. 1, pp. 43–50, 2004

Khoo H.E., Azlan A., Tang S.T., Lim S.M. *Anthocyanidins and Anthocyanins: Colored Pigments as Food, Pharmaceutical Ingredients, and the Potential Health Benefits*. *Food & Nutrition Research*. 2017, 61 (1): 1361779. doi: 10.1080/16546628.2017.1361779.

Klaassen C. D., *Casarett and Doull's Toxicology: The Basic Science of Poisons*, McGraw-Hill Press, New York, NY, USA, 2001.

Ju J.H., Yoon H.S., Park H.J., Kim M.Y., Shin H.K., Park K.Y., Yang J.O., Sohn M.S., Do M.S. *Anti-obesity and antioxidative effects of purple sweet potato extract in 3t3-l1 adipocytes in vitro*. (Abstract). *J. Med. Food*, 2011; 14; 1097–1106.

Mahmudatussa, A., Fardiaz, D., Andarwulan, N., Kusnandar, F., 2014. Karakteristik Warna Dan Aktivitas Antioksidan Antosianin Ubi Jalar Ungu [Color Characteristics and Antioxidant Activity of Anthocyanin Extract from Purple Sweet Potato]. <https://doi.org/10.6066/jtip.2014.25.2.176>

Michael B., Yano B.L., Sellers R.S., Perry R., Morton D., Roome N., Johnson J.K., and Schafer K. 2007. *Evaluation of organ weights for rodent and non-rodent toxicity studies: A review of regulatory guidelines and a survey of current practices*. *Toxicol pathol* 35(5), 742-50.

Montilla, E.C., S. Hillebrand, D. Butschbach, S. Baldermann, N. Watanabe, and P. Winterhalter. 2010. *Preparative isolation of anthocyanins from Japanese purple sweet potato (*Ipomoea batatas* L.) varieties by high-speed countercurrent chromatography*. *J. Agric. Food Chem.* 58 (18): 9899-9904.

Prakosa, A.G., Ratnawati, R., Prabawati, R.K., 2018. Pengaruh Antosianin Ubi Ungu (*Ipomoea Batatas* L.) Kultivar Gunung Kawi Terhadap Ekspresi Caspase-3 Pada Jaringan Otak Tikus Model Dm Tipe 2. *Maj. Kesehat.* 4, 52–58. <https://doi.org/10.21776/ub.majalahkesehatan.2017.004.02.1>

Rambert, G.I., 2014. Gangguan Keseimbangan Air Dan Natrium Serta Pemeriksaan Osmolalitas. *J. Biomedik* 6. <https://doi.org/10.35790/jbm.6.3.2014.6333>

Okamura T., Suzuki S., Ogawa T., Kobayashi J., Kusuoka O., Hatayama K., Mochizuki M., Hoshiya T., Okazaki S., and Tamura K. 2011. *Background data for general toxicology parameters in RccHanTM:WIST rats at 8, 10, 19, and 32 weeks of age. J Toxicol Pathol.* 24: 195-205

Sherwood Lauralee, 2016. *Human Physiology From Cells to Systems.* 9th Ed., Cengage Learning, USA p. 621-624

Shih M.C., Kuo C.C., Chiang W., 2009. *Effects of Drying and Extrusion on Colour, Chemical Composition, Antioxidant Activities and Mitogenic Response of Spleen Lymphocytes of Sweet Potatoes. J. Food Chemistry* Vol. 117, Issue 1: 114–121
Ajzen, I. 2005. *Attitudes, Personality, and Behavior.* New York: Open University Press.

Sengupta, P., 2013. The laboratory rat: Relating its age with human's. *Int. J. Prev. Med.* 4, 624–630.

Silalahi, J. 2006. *Makanan Fungsional.* Kanisius. Yogyakarta.

Suda I., Oki T., Masuda M., Kobayashi M., Nishiba Y., and Furuta S.. 2003. *Physiological functionality of purple-fleshed sweet potatoes containing anthocyanins and their utilization in foods. JARQ* 37(3):167-173.

Wattanathorn, J., Thukumtee, W., Thipkaew, C., Wannanond, P., Tong, T.U., Muchimapura, S., Kaewrueng, W., 2012. Acute and subchronic toxicity of mulberry fruits. *Am. J. Agric. Biol. Sci.* 7, 378–383.
<https://doi.org/10.3844/ajabssp.2012.378.383>

Wu T., Yin J., Zhang G., Long H., Zheng X. *Mulberry and cherry anthocyanin consumption prevents oxidative stress and inflammation in diet-induced obese mice. Mol. Nutr. Food Res.* 2016, 60, 687–694.

Yuet Ping, K., Darah, I., Chen, Y., Sreeramanan, S., Sasidharan, S., 2013. Acute and Subchronic Toxicity Study of *Euphorbia hirta* L. Methanol Extract in Rats. *Biomed Res. Int.* 2013, 1–14. <https://doi.org/10.1155/2013/182064>

LAMPIRAN

Lampiran 1 Keterangan Layak Etik



KEMENTERIAN RISET, TEKNOLOGI, DAN PENDIDIKAN TINGGI
UNIVERSITAS BRAWIJAYA
FAKULTAS KEDOKTERAN
KOMISI ETIK PENELITIAN KESEHATAN

Jalan Veteran Malang - 65145, Jawa Timur - Indonesia
Telp. (62) (0341) 551611 Ext. 168; 569117; 567192 - Fax. (62) (0341) 564755
http://www.fk.ub.ac.id e-mail : kep.fk@ub.ac.id

KETERANGAN KELAIKAN ETIK
("ETHICAL CLEARANCE")

No. 265 / EC / KEPK / 10 / 2018

KOMISI ETIK PENELITIAN KESEHATAN FAKULTAS KEDOKTERAN UNIVERSITAS BRAWIJAYA, SETELAH MEMPELAJARI DENGAN SEKSAMA RANCANGAN PENELITIAN YANG DIUSULKAN, DENGAN INI MENYATAKAN BAHWA PENELITIAN DENGAN

JUDUL : Pengembangan Obat Herbal Terstandar Ekstrak Ubi Ungu Standarisasi Ekstraksi, Pengembangan Metode Analisis HPLC dan Uji Toksisitas.

PENELITI UTAMA : Dr. dr. Retty Ratnawati, M.Sc

ANGGOTA :

- | | |
|---|--------------------------------|
| 1. Bachtiar Rifal Pratita Ihsan, S.Farm, M.Farm., Apt | 11. Isti Novitasari |
| 2. Aswaty Nur, S.Si, M.Kes | 12. Azmi Aziz Nur Arraga |
| 3. Birrul Walidain Hidayah | 13. Ariyani Annisa Pratiwi |
| 4. Doya Fitri Anggraini | 14. Safira Falruz Adani |
| 5. Ferrisaga Jetha Pranawa | 15. Steven Anthony Susanto |
| 6. Rosyida Istiqomah | 16. Violira Erlita Putri Fanda |
| 7. Azzura Jasmine Simanulang | 17. Shanine Reilinia |
| 8. Sahla Rizqiya Andani | 18. Nur Laila Putri Widlani |
| 9. Syifa Chairinisa Karim | 19. Theodore Isaac Molandro |
| 10. Mehyin Ayulanda | |

UNIT / LEMBAGA : Fakultas Kedokteran Universitas Brawijaya Malang.

TEMPAT PENELITIAN : Laboratorium Farmasi, FAAL, Patologi Anatomi, Patologi Klinik Fakultas Kedokteran Universitas Brawijaya dan Laboratorium Biosains Universitas Brawijaya..

DINYATAKAN LAIK ETIK.



Prof. Dr. H. Moch. Isidjadjid ES, SpS, SpBS(K), SH, M.Hum, Dr(Hk)
NIK. 160746883

Catatan :

Keterangan Laik Etik Ini Berlaku 1 (Satu) Tahun Sejak Tanggal Dikeluarkan Pada Akhir Penelitian, Laporan Pelaksanaan Penelitian Harus Diserahkan Kepada KEPK-FKUB Dalam Bentuk Soft Copy. Jika Ada Perubahan Protokol Dan / Atau Perpanjangan Penelitian, Harus Mengajukan Kembali Permohonan Kajian Etik Penelitian (Amandemen Protokol)



Lampiran 2 Surat Keterangan Umur dan Berat Badan Awal Tikus



PENYEDIA HEWAN LABORATORIUM
Jalan Deme No. 66 Gatot Subroto
Bandung Jawa Barat 40273

Phone 085659103775- 081214141369. emai. Wistar_d@yahoo.com

Bandung, 13 Oktober 2018

Kepada Yth
Ibu. Fitria
UNIVERSITAS BRAWIJAYA
MALANG- JAWA TIMUR

SURAT KETERANGAN
RL/D'WISTAR/11.10.2018

Berdasarkan pengiriman tikus Betina 15 ekor, yang dipesan atas nama dr. Retty pada tanggal 31 Agustus 2018. Bersama ini kami sertakan daftar recording tikus yang ibu pesan.

DATA TIKUS LABORATORIUM

Nama Ilmiah : *Rattus Novergicus*
Galur : *wistar*
Umur : 54 Hari (7 Minggu 5 Hari)
Tanggal Lahir : 18 Agustus 2018
Berat Badan Saat dikirim :170 gr-180 gr
Jenis Kelamin :Betina

Demikian surat keterangan ini kami sertakan, semoga bermanfaat.
Terimakasih telah menjadi pelanggan kami.

Hormat Kami



Siti Syadhah, S.Pt. MBA
CEO d'wistar



Lampiran 3 Laporan Hasil Uji Pakan



**LABORATORIUM PENGUJIAN MUTU DAN KEAMANAN PANGAN
(TESTING LABORATORY OF FOOD QUALITY AND FOOD SAFETY)**

**JURUSAN TEKNOLOGI HASIL PERTANIAN
FAKULTAS TEKNOLOGI PERTANIAN
UNIVERSITAS BRAWIJAYA**

Jl. Veteran, Malang 65145, Telp. (0341) 573358
E-mail : labujipangan_thpub@yahoo.com

**KEPADA : Dr. Dr. Retty Ratnawati, M.Kes
FK - UB
MALANG**

**LAPORAN HASIL UJI
REPORT OF ANALYSIS**

Nomor / Number : 0853/THP/LAB/2018
 Nomor Analisis / Analysis Number : 0853
 Tanggal penerbitan / Date of issue : 13 November 2018
 Yang bertanda tangan di bawah ini menerangkan, bahwa hasil pengujian
 The undersigned ratifies that examination
 Dari contoh / of the sample (s) of : **SUSU PAP**
 :
 analisis / For analysis :
 Keterangan contoh / Description of sample :
 Diambil dari / Taken from :
 Oleh / By :
 Tanggal penerimaan contoh / Received :
 Tanggal pelaksanaan analisis / Date of analysis : 18 Oktober 2018
 Hasil adalah sebagai berikut / Resulted as follows : 18 Oktober 2018

| Parameter | Nutrition Facts/ Informasi Nilai Gizi | |
|---------------------------------------|---------------------------------------|------------|
| | Serving Size/ Takaran Saji | : 100 g |
| | Calories/ Kalori | : 363 kkal |
| | Calories From Fat/ Kalori | : 48 kkal |
| | Berat | % AKG* |
| Lemak Total/ Total Fat | 5,34 g | 8,22 |
| Protein/ Protein | 13,82 g | 27,64 |
| Karbohidrat Total/ Total Carbohydrate | 64,98 g | 21,66 |
| Air/ Moisture | 9,56 g | - |
| Abu/ Ash | 6,30 g | - |

* Persen Angka Kecukupan Gizi berdasarkan pada diet 2000 Kalori

HASIL PENGUJIAN INI HANYA BERLAKU UNTUK CONTOH-CONTOH TERSEBUT DI ATAS. PENGAMBIL CONTOH BERTANGGUNG JAWAB ATAS KEBENARAN TANDING BARANG



Dr. Widya Dwi Rukmi P., STP, MP
NIP. 19700504 199903 2 002



Lampiran 4 Hasil Pencatatan Data

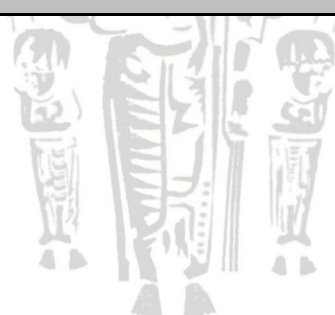
Perubahan Berat Badan (gram)

| Kode | Hari 0-8 | Hari 9-15 |
|--------------------|-----------------------------|-----------------------------|
| AK1 | -11 | 16.5 |
| AK2 | -10 | 12 |
| AK3 | -2.5 | 11.5 |
| AK4 | -5.5 | 25 |
| AK5 | -1 | 18.5 |
| Rerata ± SD | -6 ± 4.43 (3.92%) | 16.7 ± 5.51 (11.35%) |
| A2000-1 | -2.5 | 20.5 |
| A2000-2 | -1.5 | 21.5 |
| A2000-3 | -3 | 26 |
| A2000-4 | -0.5 | 23.5 |
| A2000-5 | -0.5 | 17.5 |
| Rerata ± SD | -1.6 ± 1.14 (0.96%) | 21.8 ± 3.19 (13.26%) |
| A5000-1 | -15.5 | 19 |
| A5000-2 | -7.5 | 17.5 |
| A5000-3 | -7 | 7 |
| A5000-4 | -12.5 | 8 |
| A5000-5 | -10 | 16.5 |
| Rerata ± SD | -10.5 ± 3.55 (5.77%) | 13.6 ± 5.65 (7.93%) |



Perubahan Intake Pakan dan Minum

| Kode | Perubahan Intake Pakan (gram) | | Perubahan Intake Minum (ml) | |
|--------------------|---------------------------------------|---------------------------------------|--|---|
| | Minggu 0-1 | Minggu 1-2 | Minggu 0-1 | Minggu 1-2 |
| AK1 | 0.50 | 1.17 | 7.83 | 0.30 |
| AK2 | 3.33 | 0.45 | 8.17 | -4.45 |
| AK3 | 0.83 | -0.52 | 16.25 | -11.96 |
| AK4 | 1.17 | 1.24 | 8.08 | -0.81 |
| AK5 | -1.83 | 0.62 | 9.00 | -3.60 |
| Rerata ± SD | 0.80 ± 1.84 (6.21%) | 0.59 ± 0.71 (4.31%) | 9.87 ± 3.60 (34.55%) | -4.10 ± 4.81 (10.67%) |
| A2000-1 | 4.83 | -2.07 | 7.33 | -4.26 |
| A2000-2 | 1.67 | -0.74 | 10.67 | -5.49 |
| A2000-3 | 4.67 | -2.81 | 14.49 | -10.77 |
| A2000-4 | 7.33 | -2.93 | 11.67 | -10.00 |
| A2000-5 | 3.67 | 5.62 | 9.75 | -4.26 |
| Rerata ± SD | 4.43 ± 2.05 (34.42%) | -0.59 ± 3.58 (3.4%) | 10.78 ± 2.62 (35.67%) | -6.96 ± 3.18 (16.96%) |
| A5000-1 | 2.00 | 4.29 | 13.08 | -10.87 |
| A5000-2 | 3.00 | 7.26 | 17.83 | -11.24 |
| A5000-3 | 1.33 | -2.95 | 3.67 | -5.26 |
| A5000-4 | 4.50 | -1.02 | 23.92 | -12.86 |
| A5000-5 | 3.50 | 0.71 | 10.92 | -10.52 |
| Rerata ± SD | 2.87 ± 1.24 (21.53%) | 1.66 ± 4.11 (10.25%) | 13.88 ± 7.58 (44.1%) | -10.15 ± 2.88 (22.38%) |



Lampiran 5 Hasil Uji SPSS Perubahan Berat Badan.

PERUBAHAN BERAT BADAN

| | | Tests of Normality | | | | | |
|-----------|--------------|---------------------------------|----|-------|--------------|----|------|
| | | Kolmogorov-Smirnov ^a | | | Shapiro-Wilk | | |
| | Dosis | Statistic | df | Sig. | Statistic | df | Sig. |
| Hari 0-8 | Kontrol | .217 | 5 | .200* | .911 | 5 | .474 |
| | 2000 mg/kgBB | .233 | 5 | .200* | .884 | 5 | .329 |
| | 5000 mg/kgBB | .201 | 5 | .200* | .931 | 5 | .602 |
| Hari 9-15 | Kontrol | .203 | 5 | .200* | .916 | 5 | .505 |
| | 2000 mg/kgBB | .142 | 5 | .200* | .996 | 5 | .995 |
| | 5000 mg/kgBB | .296 | 5 | .175 | .826 | 5 | .129 |

*. This is a lower bound of the true significance.

a. Lilliefors Significance Correction

| | | Test of Homogeneity of Variances | | | |
|-----------|--------------------------------------|----------------------------------|-----|-------|------|
| | | Levene Statistic | df1 | df2 | Sig. |
| Hari 0-8 | Based on Mean | 4.373 | 2 | 12 | .037 |
| | Based on Median | 3.040 | 2 | 12 | .085 |
| | Based on Median and with adjusted df | 3.040 | 2 | 8.481 | .101 |
| | Based on trimmed mean | 4.284 | 2 | 12 | .039 |
| Hari 9-15 | Based on Mean | 1.612 | 2 | 12 | .240 |
| | Based on Median | .522 | 2 | 12 | .606 |
| | Based on Median and with adjusted df | .522 | 2 | 9.019 | .610 |
| | Based on trimmed mean | 1.532 | 2 | 12 | .255 |

| | | ANOVA | | | | |
|-----------|----------------|----------------|----|-------------|-------|------|
| | | Sum of Squares | df | Mean Square | F | Sig. |
| Hari 9-15 | Between Groups | 171.433 | 2 | 85.717 | 3.549 | .062 |
| | Within Groups | 289.800 | 12 | 24.150 | | |
| | Total | 461.233 | 14 | | | |



Test Statistics^{a,b}

| Hari 0-8 | |
|------------------|-------|
| Kruskal-Wallis H | 8.058 |
| df | 2 |
| Asymp. Sig. | .018 |

a. Kruskal Wallis Test

b. Grouping Variable: Dosis

Kontrol dan 5000 mg/kgBB

Test Statistics^a

| Hari 0-8 | |
|--------------------------------|-------------------|
| Mann-Whitney U | 5.500 |
| Wilcoxon W | 20.500 |
| Z | -1.467 |
| Asymp. Sig. (2-tailed) | .142 |
| Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)] | .151 ^b |

a. Grouping Variable: Dosis

b. Not corrected for ties.

Kontrol dan 2000 mg/kgBB

Test Statistics^a

| Hari 0-8 | |
|--------------------------------|-------------------|
| Mann-Whitney U | 4.500 |
| Wilcoxon W | 19.500 |
| Z | -1.681 |
| Asymp. Sig. (2-tailed) | .093 |
| Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)] | .095 ^b |

a. Grouping Variable: Dosis

b. Not corrected for ties.

2000 mg/kgBB dan 5000 mg/kgBB

Test Statistics^a

| Hari 0-8 | |
|--------------------------------|-------------------|
| Mann-Whitney U | .000 |
| Wilcoxon W | 15.000 |
| Z | -2.619 |
| Asymp. Sig. (2-tailed) | .009 |
| Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)] | .008 ^b |

a. Grouping Variable: Dosis

b. Not corrected for ties.



Lampiran 6 Hasil Uji SPSS Perubahan *Intake* Pakan.

PERUBAHAN INTAKE PAKAN

Tests of Normality

| Universitas Brawijaya | Universitas Brawijaya | Kolmogorov-Smirnov ^a | | | Shapiro-Wilk | | |
|-----------------------|-----------------------|---------------------------------|----|-------|--------------|----|------|
| | | Statistic | df | Sig. | Statistic | df | Sig. |
| Minggu 0-1 | Kontrol | .235 | 5 | .200* | .952 | 5 | .752 |
| | 2000 mg/kgBB | .223 | 5 | .200* | .971 | 5 | .882 |
| | 5000 mg/kgBB | .157 | 5 | .200* | .983 | 5 | .952 |
| Minggu 1-2 | Kontrol | .221 | 5 | .200* | .897 | 5 | .396 |
| | 2000 mg/kgBB | .317 | 5 | .112 | .747 | 5 | .028 |
| | 5000 mg/kgBB | .191 | 5 | .200* | .963 | 5 | .826 |

*. This is a lower bound of the true significance.

a. Lilliefors Significance Correction

Test of Homogeneity of Variances

| | | Levene Statistic | df1 | df2 | Sig. |
|------------|--------------------------------------|------------------|-----|-------|------|
| Minggu 0-1 | Based on Mean | .201 | 2 | 12 | .820 |
| | Based on Median | .169 | 2 | 12 | .847 |
| | Based on Median and with adjusted df | .169 | 2 | 9.862 | .847 |
| | Based on trimmed mean | .202 | 2 | 12 | .820 |
| Minggu 1-2 | Based on Mean | 3.588 | 2 | 12 | .060 |
| | Based on Median | 1.618 | 2 | 12 | .239 |
| | Based on Median and with adjusted df | 1.618 | 2 | 7.725 | .259 |
| | Based on trimmed mean | 3.217 | 2 | 12 | .076 |

ANOVA

| | | Sum of Squares | df | Mean Square | F | Sig. |
|------------|----------------|----------------|----|-------------|-------|------|
| Minggu 0-1 | Between Groups | 33.222 | 2 | 16.611 | 5.451 | .021 |
| | Within Groups | 36.567 | 12 | 3.047 | | |
| | Total | 69.789 | 14 | | | |
| Minggu 1-2 | Between Groups | 12.599 | 2 | 6.300 | .626 | .551 |
| | Within Groups | 120.806 | 12 | 10.067 | | |
| | Total | 133.406 | 14 | | | |



Multiple Comparisons

| Dependent Variable | (I) Dosis | (J) Dosis | Mean Difference (I-J) | Std. Error | Sig. | 95% Confidence Interval | | | |
|--------------------|--------------|--------------|-----------------------|------------|----------|-------------------------|-------------|---------|--------|
| | | | | | | Lower Bound | Upper Bound | | |
| Minggu 0-1 | Tukey HSD | Kontrol | 2000 | -3.63400* | 1.10404 | .016 | -6.5794 | -.6886 | |
| | | mg/kgBB | 5000 | -2.06600 | 1.10404 | .189 | -5.0114 | .8794 | |
| | 2000 mg/kgBB | Kontrol | 5000 | 3.63400* | 1.10404 | .016 | .6886 | 6.5794 | |
| | | mg/kgBB | 5000 | 1.56800 | 1.10404 | .362 | -1.3774 | 4.5134 | |
| | | 5000 mg/kgBB | Kontrol | 2000 | 2.06600 | 1.10404 | .189 | -.8794 | 5.0114 |
| | | | mg/kgBB | 2000 | -1.56800 | 1.10404 | .362 | -4.5134 | 1.3774 |
| Minggu 1-2 | Tukey HSD | Kontrol | 2000 | 1.17800 | 2.00671 | .830 | -4.1756 | 6.5316 | |
| | | mg/kgBB | 5000 | -1.06600 | 2.00671 | .858 | -6.4196 | 4.2876 | |
| | 2000 mg/kgBB | Kontrol | 5000 | -1.17800 | 2.00671 | .830 | -6.5316 | 4.1756 | |
| | | mg/kgBB | 5000 | -2.24400 | 2.00671 | .522 | -7.5976 | 3.1096 | |
| | | 5000 mg/kgBB | Kontrol | 2000 | 1.06600 | 2.00671 | .858 | -4.2876 | 6.4196 |
| | | | mg/kgBB | 2000 | 2.24400 | 2.00671 | .522 | -3.1096 | 7.5976 |

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



Lampiran 7 Hasil Uji SPSS Perubahan *Intake* Minum.

PERUBAHAN INTAKE MINUM

Tests of Normality

| | Dosis | Kolmogorov-Smirnov ^a | | | Shapiro-Wilk | | |
|------------|--------------|---------------------------------|----|-------------------|--------------|----|------|
| | | Statistic | df | Sig. | Statistic | df | Sig. |
| Minggu 1-2 | Kontrol | .395 | 5 | .010 | .655 | 5 | .003 |
| | 2000 mg/kgBB | .168 | 5 | .200 [*] | .991 | 5 | .982 |
| | 5000 mg/kgBB | .148 | 5 | .200 [*] | .995 | 5 | .993 |
| Minggu 1-2 | Kontrol | .271 | 5 | .200 [*] | .883 | 5 | .321 |
| | 2000 mg/kgBB | .278 | 5 | .200 [*] | .806 | 5 | .090 |
| | 5000 mg/kgBB | .351 | 5 | .043 | .825 | 5 | .127 |

*. This is a lower bound of the true significance.

a. Lilliefors Significance Correction

Test of Homogeneity of Variances

| | | Levene Statistic | df1 | df2 | Sig. |
|------------|---------------|------------------|-----|-----|------|
| Minggu 0-1 | Based on Mean | 2.306 | 2 | 12 | .142 |
| Minggu 1-2 | Based on Mean | .481 | 2 | 12 | .629 |

ANOVA

| | | Sum of Squares | df | Mean Square | F | Sig. |
|------------|----------------|----------------|----|-------------|-------|------|
| Minggu 0-1 | Between Groups | 44.343 | 2 | 22.171 | .860 | .448 |
| | Within Groups | 309.298 | 12 | 25.775 | | |
| | Total | 353.641 | 14 | | | |
| Minggu 1-2 | Between Groups | 91.483 | 2 | 45.741 | 3.308 | .072 |
| | Within Groups | 165.934 | 12 | 13.828 | | |
| | Total | 257.417 | 14 | | | |

Test Statistics^{a,b}

| | Minggu 0-1 |
|------------------|------------|
| Kruskal-Wallis H | 1.820 |
| Df | 2 |
| Asymp. Sig. | .403 |

a. Kruskal Wallis Test

b. Grouping Variable: Dosis



Lampiran 8 Hasil Uji SPSS Berat Organ

BERAT ORGAN

| | Dosis | Kolmogorov-Smirnov ^a | | |
|--------------------------|--------------|---------------------------------|----|------|
| | | Statistic | df | Sig. |
| Otak | Kontrol | .349 | 5 | .046 |
| | 2000 mg/KgBB | .275 | 5 | .200 |
| | 5000 mg/KgBB | .258 | 5 | .200 |
| Paru-paru | Kontrol | .225 | 5 | .200 |
| | 2000 mg/KgBB | .193 | 5 | .200 |
| | 5000 mg/KgBB | .424 | 5 | .004 |
| Jantung | Kontrol | .350 | 5 | .045 |
| | 2000 mg/KgBB | .313 | 5 | .124 |
| | 5000 mg/KgBB | .286 | 5 | .200 |
| Hepar | Kontrol | .226 | 5 | .200 |
| | 2000 mg/KgBB | .309 | 5 | .135 |
| | 5000 mg/KgBB | .222 | 5 | .200 |
| Limpa | Kontrol | .182 | 5 | .200 |
| | 2000 mg/KgBB | .227 | 5 | .200 |
| | 5000 mg/KgBB | .347 | 5 | .049 |
| Ginjal Kanan | Kontrol | .293 | 5 | .187 |
| | 2000 mg/KgBB | .225 | 5 | .200 |
| | 5000 mg/KgBB | .227 | 5 | .200 |
| Ginjal Kiri | Kontrol | .205 | 5 | .200 |
| | 2000 mg/KgBB | .268 | 5 | .200 |
| | 5000 mg/KgBB | .220 | 5 | .200 |
| Pankreas | Kontrol | .189 | 5 | .200 |
| | 2000 mg/KgBB | .310 | 5 | .131 |
| | 5000 mg/KgBB | .265 | 5 | .200 |
| Lambung | Kontrol | .453 | 5 | .001 |
| | 2000 mg/KgBB | .240 | 5 | .200 |
| | 5000 mg/KgBB | .179 | 5 | .200 |
| Intestine dan Usus Besar | Kontrol | .198 | 5 | .200 |
| | 2000 mg/KgBB | .218 | 5 | .200 |
| | 5000 mg/KgBB | .268 | 5 | .200 |
| Lemak | Kontrol | .397 | 5 | .010 |
| | 2000 mg/KgBB | .231 | 5 | .200 |
| | 5000 mg/KgBB | .280 | 5 | .200 |
| Uterus | Kontrol | .337 | 5 | .065 |



| | | | | |
|---------------|--------------|------|---|------|
| | 2000 mg/KgBB | .292 | 5 | .189 |
| | 5000 mg/KgBB | .248 | 5 | .200 |
| Aorta | Kontrol | .175 | 5 | .200 |
| | 2000 mg/KgBB | .260 | 5 | .200 |
| | 5000 mg/KgBB | .188 | 5 | .200 |
| Ovarium kiri | Kontrol | .423 | 5 | .004 |
| | 2000 mg/KgBB | .231 | 5 | .200 |
| | 5000 mg/KgBB | .342 | 5 | .056 |
| Ovarium kanan | Kontrol | .400 | 5 | .009 |
| | 2000 mg/KgBB | .237 | 5 | .200 |
| | 5000 mg/KgBB | .368 | 5 | .025 |

Test of Homogeneity of Variances

| | | Levene | | | |
|--------------------------|---------------|-----------|-----|-----|------|
| | | Statistic | df1 | df2 | Sig. |
| Hepar | Based on Mean | .531 | 2 | 12 | .601 |
| Ginjal Kanan | Based on Mean | 3.986 | 2 | 12 | .047 |
| Ginjal Kiri | Based on Mean | 1.083 | 2 | 12 | .370 |
| Pankreas | Based on Mean | 4.224 | 2 | 12 | .041 |
| Intestine dan Usus Besar | Based on Mean | .522 | 2 | 12 | .606 |
| Uterus | Based on Mean | .025 | 2 | 12 | .976 |
| Aorta | Based on Mean | .598 | 2 | 12 | .565 |

ANOVA

| | | Sum of Squares | df | Mean Square | F | Sig. |
|--------------------------|----------------|----------------|----|-------------|-------|------|
| Hepar | Between Groups | 13.509 | 2 | 6.755 | 2.764 | .103 |
| | Within Groups | 29.327 | 12 | 2.444 | | |
| | Total | 42.836 | 14 | | | |
| Ginjal Kiri | Between Groups | .043 | 2 | .021 | 3.517 | .063 |
| | Within Groups | .073 | 12 | .006 | | |
| | Total | .116 | 14 | | | |
| Intestine dan Usus Besar | Between Groups | 14.339 | 2 | 7.169 | 1.312 | .305 |
| | Within Groups | 65.591 | 12 | 5.466 | | |
| | Total | 79.930 | 14 | | | |
| Uterus | Between Groups | .253 | 2 | .126 | 3.824 | .052 |
| | Within Groups | | | | | |



| | | | | | | |
|-------|----------------|------|----|------|------|------|
| | Within Groups | .397 | 12 | .033 | | |
| | Total | .650 | 14 | | | |
| Aorta | Between Groups | .002 | 2 | .001 | .324 | .729 |
| | Within Groups | .042 | 12 | .003 | | |
| | Total | .044 | 14 | | | |

Test Statistics^{a,b}

| | Otak | Paru-paru | Jantung | Limpa | Ginjal Kanan | Pankreas | Lambung | Lemak | Ovarium kiri | Ovarium kanan |
|------------------|-------------|-----------|---------|-------|--------------|----------|---------|-------|--------------|---------------|
| Kruskal-Wallis H | 8.014 | 2.698 | 3.208 | 2.022 | 3.628 | 5.494 | .747 | 1.940 | 4.101 | 2.753 |
| df | 2 | 2 | 2 | 2 | 2 | 2 | 2 | 2 | 2 | 2 |
| Asymp. Sig. | .018 | .260 | .201 | .364 | .163 | .064 | .688 | .379 | .129 | .252 |

a. Kruskal Wallis Test

b. Grouping Variable: Dosis

Kelompok Kontrol dan 2000 mg/kgBB

| | Otak |
|--------------------------------|-------------------|
| Mann-Whitney U | 1.500 |
| Wilcoxon W | 16.500 |
| Z | -2.305 |
| Asymp. Sig. (2-tailed) | .021 |
| Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)] | .016 ^b |

a. Grouping Variable: Dosis

b. Not corrected for ties.

Kelompok Kontrol dan 5000 mg/kgBB

| | Otak |
|--------------------------------|-------------------|
| Mann-Whitney U | 5.500 |
| Wilcoxon W | 20.500 |
| Z | -1.467 |
| Asymp. Sig. (2-tailed) | .142 |
| Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)] | .151 ^b |

a. Grouping Variable: Dosis

b. Not corrected for ties.

Kelompok 2000 mg/kgBB dan 5000 mg/kgBB

| | Otak |
|--------------------------------|-------------------|
| Mann-Whitney U | 2.000 |
| Wilcoxon W | 17.000 |
| Z | -2.193 |
| Asymp. Sig. (2-tailed) | .028 |
| Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)] | .032 ^b |

a. Grouping Variable: Dosis

b. Not corrected for ties.



Lampiran 9 Dokumentasi Penelitian

Kandang tikus dengan minum dan identitas



Penimbangan sisa pakan



Pengisian Minum



Penimbangan Berat Badan



Penimbangan berat Organ



Pembedahan

