

**UJI TOKSISITAS SUBKRONIS ORAL EKSTRAK ETANOL UBI UNGU
(*Ipomoea batatas L.*) KULTIVAR GUNUNG KAWI TERHADAP BERAT
ORGAN DAN HISTOPATOLOGI PARU RATTUS NORVEGICUS
STRAIN WISTAR**

TUGAS AKHIR

**Untuk Memenuhi Persyaratan
Memperoleh Gelar Sarjana Kedokteran**



Oleh:

Isti Novitasari

NIM: 16507010111060

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

MALANG

2020

HALAMAN PENGESAHAN

TUGAS AKHIR

**UJI TOKSISITAS SUBKRONIS ORAL EKSTRAK ETANOL UBI UNGU
(*Ipomoea batatas L.*) KULTIVAR GUNUNG KAWI TERHADAP BERAT
ORGAN DAN HISTOPATOLOGI PARU *RATTUS NORVEGICUS*
STRAIN WISTAR**

Oleh:

Isti Novitasari

NIM 165070101111060

Telah diuji pada

Hari: Rabu

Tanggal: 22 Januari 2020

dan dinyatakan lulus oleh

Penguji I,

Dr. dr. Karyono Mintaroem Sp.PA

NIP. 19501116 198002 1 000

Pembimbing I/ Penguji II,

Pembimbing II/ Penguji III,

Dr. dr. Retty Ratnawati, MSc

NIP. 19550201 198503 2 001

Edwin Widodo, S.Si, M.Sc, Ph.D

NIP. 19810504 200501 1 001

Mengetahui,

Ketua Program Studi Kedokteran

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

NIP. 19631022 199601 2 001

PERNYATAAN KEASLIAN TULISAN

Saya yang bertanda tangan dibawah ini:

Nama : Isti Novitasari

NIM : 165070101111060

Program Studi : Program Studi Kedokteran

Fakultas Kedokteran Universitas Brawijaya

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

Malang,

Yang membuat pernyataan,

Isti Novitasari

NIM. 165070101111060

KATA PENGANTAR

Segala puji syukur kehadiran Allah SWT atas petunjuk-Nya sehingga penulis dapat menyelesaikan Tugas Akhir yang berjudul “Uji Toksisitas Subkronis Oral Ekstrak Etanol Ubi Ungu (*Ipomoea batatas* L.) Kultivar Gunung Kawi terhadap Berat Organ dan Histopatologi Paru *Rattus Norvegicus* Strain Wistar”. Dengan terselesaikannya penulisan tugas akhir ini, penulis ingin menyampaikan rasa terima kasih yang terdalam kepada:

1. Dr. dr. Retty Ratnawati, M.Sc, sebagai dosen pembimbing pertama yang mengizinkan penulis untuk terlibat dalam proyek penelitian, serta atas segala bantuan, dukungan, kritik, dan saran yang diberikan dalam proses penyelesaian tugas akhir ini.
2. Bapak Edwin Widodo, S.Si, M.Sc, Ph.D, sebagai dosen pembimbing kedua yang telah memberikan bantuan, dukungan, kritik, dan saran bagi penulis untuk menyelesaikan tugas akhir ini.
3. Dr. dr. Karyono Mintaroem Sp.PA sebagai penguji I yang sudah bersedia menguji penulis serta memberikan masukan untuk menyempurnakan naskah Tugas Akhir.
4. Dr. dr. Wisnu Barlianto, M.Si.Med., Sp.A(K), sebagai Dekan Fakultas Kedokteran Universitas Brawijaya.
5. dr. Triwahju Astuti, M.Kes, Sp.P(K), sebagai Ketua Program Studi Kedokteran FKUB.
6. dr. Hendy Setyo Yudhanto, Sp.PA, yang bersedia membimbing dan memberikan bantuan saat pembacaan preparat histopatologi.

7. Segenap anggota Tim Pengelola Tugas Akhir FKUB yang telah membantu melancarkan urusan administrasi, sehingga penulis dapat melaksanakan Tugas Akhir dengan lancar.

8. Segenap petugas Laboratorium Biosains (Bu Fitri dan tim) yang telah membantu proses pemeliharaan tikus.

9. Pak Mizan dan Bu Henny Laboratorium Patologi Anatomi FKUB atas bantuannya dalam membuat preparat histopatologi paru tikus.

10. Yang tercinta Ibunda Endang Nuswin Argyati, Ayahanda Ali Toha, Mas Arul, Mbak Dhani, Mbak Nia, Mas Ulyy serta dua keponakan saya Athar dan Sky atas segala kasih sayang, dukungan dan semangat untuk penulis dalam menyelesaikan Tugas Akhir.

11. Sahabat-sahabat kuliah yang selalu mendukung dan berjuang bersama Syifa, Azmi, Chintya, Tiwi, Vio, Ochi, Ucha, Lolita, Michelle, Luluk, Fiya, Dipta, Ipik, Anty, Elsa, Cacak.

12. Kepada sahabat saya sejak SMA, Miga Dwi Shinta dan Aufa Rahmawati yang selalu mendukung serta membantu dalam bentuk apapun.

13. Segenap tim penelitian antosianin yang sudah menyelesaikan penelitian bersama-sama dengan sangat baik.

14. Semua pihak yang telah membantu penyelesaian proses penulisan tugas akhir ini yang tidak dapat saya sebutkan satu persatu.

Penulis menyadari bahwa penulisan naskah tugas akhir ini masih terdapat kekurangan, oleh karena itu segala kritik dan saran sangat diharapkan untuk perbaikan penulisan karya penulis di masa yang akan datang.

Malang, 3 November 2019

Penulis

ABSTRAK

Novitasari, Isti. 2020. **Uji Toksisitas Subkronis Oral Ekstrak Etanol Ubi Ungu (*Ipomoea batatas* L.) Kultivar Gunung Kawi terhadap Berat Organ dan Histopatologi Paru *Rattus norvegicus* Strain Wistar**. Tugas Akhir, Program Studi Kedokteran, Fakultas Kedokteran Universitas Brawijaya. Pembimbing: (1) Dr. dr. Retty Ratnawati, MSc. (2) Edwin Widodo, S.Si, MSc, Ph.D.

Efek antioksidan pada zat antosianin yang dikandung ubi jalar ungu (*Ipomoea batatas* L.) memiliki potensi sebagai Obat Herbal Terstandar. Masyarakat menganggap ubi jalar ungu sebagai salah satu opsi pengobatan yang lebih murah dan aman. Berdasarkan BPOM Nomor 7 Tahun 2014, perlu dilakukan suatu pengujian untuk melihat adanya efek toksisitas. Uji ini akan membuktikan layak tidaknya suatu zat menjadi obat yang dapat dikonsumsi oleh masyarakat. Penelitian ini membuktikannya dengan melihat efek dari pemberian ekstrak etanol ubi ungu terhadap berat organ dan histopatologi paru *Rattus norvegicus* strain wistar. Setelah tikus di bedah, organ paru diambil, ditimbang, dan dimasukkan ke larutan formalin 10%. Lalu, dikirim ke Laboratorium Patologi Anatomi FKUB untuk dilakukan pembuatan preparat histopatologi dengan metode pengecatan HE (Hemaktosilin-Eosin). Penelitian dilakukan secara *in vivo* dengan menggunakan desain penelitian *control group post test design*. Hasil pengamatan akan di uji menggunakan metode One-Way ANOVA untuk parametrik dan Kruskal wallis untuk non parametrik dengan tingkat kepercayaan 95% ($\alpha=0,05$). Lalu, dilanjutkan uji post hoc menggunakan Tukey's untuk parametrik dan Mann Whitney untuk non parametrik. Hasil dari penelitian ini membuktikan bahwa paparan ekstrak etanol ubi jalar ungu (*Ipomoea batatas* L.) kultivar Gunung Kawi menunjukkan adanya perbedaan yang signifikan pada berat relatif pada kedua jenis kelamin. Sedangkan, pada pengamatan histopatologi paru yaitu dengan penghitungan jumlah aktivasi BALT menunjukkan adanya perbedaan yang signifikan pada jenis kelamin betina saja.

Kata kunci: Antosianin, Ubi Jalar Ungu (*Ipomoea batatas* L.), Toksisitas, Berat Organ, Histopatologi Paru (Aktivasi BALT).

ABSTRACT

Novitasari, Isti. 2020. **Subchronic Toxicity Study of Purple Sweet Potato (*Ipomoea Batatas L.*) Oral Ethanolic Extract Kawi Mountain Cultivar to Pulmonary Weight Organ and Histopathological Appearance of *Rattus norvegicus* Wistar Strain.** Final Assignment, Medical Program, Faculty of Medicine Universitas Brawijaya. Supervisors: (1) Dr. dr. Retty Ratnawati, MSc. (2) Edwin Widodo, S.Si, M.Sc, Ph.D.

Antioxidant effect on anthocyanin substances contained in purple sweet potato (*Ipomoea batatas L.*) has potential as a *Obat Herbal Terstandar*. The community considers purple sweet potato as one of the cheaper and safer treatment options. Based on BPOM No. 7 of 2014, a test is needed to see the effects of toxicity. This test will prove the worthiness of a substance into a drug that can be consumed by the public. This research proves it by looking at the effects of ethanol extract of purple sweet potato on organ weight and pulmonary histopathology of *Rattus norvegicus* strain wistar. After the rats were operated on, the lung organs were removed, weighed, and put in 10% formaldehyde solution. Then, it was sent to the Anatomical Pathology Laboratory of FKUB to make histopathological preparations by HE (Hemactocillin-Eosin) method. The study was conducted in vivo using the control group post test design. It will be tested using the One-Way ANOVA method for parametric and Kruskall wallis for non-parametric with 95% confidence level ($\alpha = 0.05$). Then, the post hoc test continued using Tukey's for parametric and Mann Whitney for non-parametric. The results of this study prove that exposure to ethanol extract of purple sweet potato (*Ipomoea batatas L.*) of Gunung Kawi cultivars showed a significant difference in relative weight in both sexes. Meanwhile, the observation of pulmonary histopathology by calculating the amount of BAL activation indicates a significant difference in the female sex only.

Keywords: Anthocyanin, Sweet potato (*Ipomoea batatas L.*), Toxicity, Weight of Organ, Pulmonary Histopathology (Activation of BAL).

DAFTAR ISI

Halaman

| | |
|-----------------------------------|------|
| Halaman Judul | i |
| Halaman Pengesahan | ii |
| Pernyataan Keaslian Tulisan | iii |
| Kata Pengantar | iv |
| Abstrak | vi |
| Abstract | vii |
| Daftar Isi | viii |
| Daftar Gambar | xi |
| Daftar Tabel | xii |
| Daftar Lampiran | xiii |
| Daftar Singkatan | xiv |

BAB I PENDAHULUAN

| | |
|----------------------------------|---|
| 1.1 Latar Belakang Masalah | 1 |
| 1.2 Rumusan Masalah | 4 |
| 1.3 Tujuan Penelitian | 4 |
| 1.3.1 Tujuan Umum | 4 |
| 1.3.2 Tujuan Khusus | 4 |
| 1.4 Manfaat Penelitian | 4 |
| 1.4.1 Manfaat Akademik | 4 |
| 1.4.2 Manfaat Praktis | 5 |

BAB II KAJIAN PUSTAKA

| | |
|---|----|
| 2.1 Uji Toksisitas | 6 |
| 2.1.1 Definisi Uji Toksisitas | 6 |
| 2.1.2 Uji Toksisitas Subkronis Oral | 6 |
| 2.2 Antosianin | 7 |
| 2.2.1 Definisi Antosianin | 7 |
| 2.2.2 Manfaat Antosianin | 8 |
| 2.3 Profil dan Taksonomi Ubi Jalar Ungu | 10 |
| 2.3.1 Taksonomi Ubi Jalar Ungu | 10 |



| | | |
|---|---|----|
| 2.3.2 | Profil Umum Ubi Jalar Ungu | 10 |
| 2.4 | Organ Paru Tikus Wistar | 12 |
| 2.4.1 | Anatomi dan Histologi Paru | 12 |
| 2.4.2 | Fisiologi Paru | 13 |
| 2.4.3 | Efek Toksisitas Pada Organ Paru | 14 |
| 2.4.4 | Gambaran Aktivasi BALT pada Histopatologi Paru | 15 |
| BAB III KERANGKA KONSEP DAN HIPOTESIS PENELITIAN | | |
| 3.1 | Kerangka Konsep Penelitian | 17 |
| 3.2 | Hipotesis Penelitian | 19 |
| BAB IV METODE PENELITIAN | | |
| 4.1 | Rancangan Penelitian | 20 |
| 4.2 | Populasi dan Sampel | 20 |
| 4.2.1 | Populasi atau Subjek Penelitian | 20 |
| 4.2.2 | Kriteria Inklusi dan Eksklusi | 20 |
| 4.2.3 | Prosedur dan Teknik Pengambilan Sampel | 21 |
| 4.2.4 | Jumlah Sampel | 21 |
| 4.3 | Variabel Penelitian | 22 |
| 4.3.1 | Variabel Independen | 22 |
| 4.3.2 | Variabel Dependen | 22 |
| 4.3.3 | Variabel Kontrol | 22 |
| 4.4 | Lokasi dan Waktu Penelitian | 22 |
| 4.5 | Instrumen Penelitian | 23 |
| 4.5.1 | Alat | 23 |
| 4.5.2 | Bahan | 23 |
| 4.6 | Definisi Istilah/Operasional | 24 |
| 4.7 | Pengumpulan Data | 25 |
| 4.7.1 | Metode Pengenceran Ekstrak Etanol Ubi Jalar Ungu | 25 |
| 4.7.2 | Metode Aklimatisasi dan Pemeliharaan Tikus | 25 |
| 4.7.3 | Metode Pemaparan Ekstrak Etanol Ubi Ungu Sonde | 26 |
| 4.7.4 | Metode Pembedahan, Pengambilan, dan Penimbangan Organ | 27 |
| 4.7.5 | Metode Pengerjaan Preparat Histopatologi | 39 |
| 4.7.6 | Metode Pengambilan Data Jumlah Aktivasi BALT pada | |

| | |
|--|----|
| Gambaran Histopatologi Paru..... | 30 |
| 4.8 Analisis Data..... | 31 |
| 4.9 Jadwal Penelitian..... | 31 |
| BAB V HASIL PENELITIAN DAN ANALISIS DATA | |
| 5.1 Hasil Penelitian..... | 32 |
| 5.1.1 Berat Relatif Paru..... | 33 |
| 5.1.2 Histopatologi Organ Paru (Jumlah Aktivasi BALTh)..... | 34 |
| 5.2 Analisis Data..... | 36 |
| 5.2.1 Analisis Berat Relatif Paru..... | 37 |
| 5.2.2 Analisis Histopatologi Organ Paru (Jumlah Aktivasi BALTh)..... | 40 |
| BAB VI PEMBAHASAN | |
| 6.1 Hasil Pemberian Ekstrak Etanol Ubi Jalar Ungu (Ipomoea batatas L.) terhadap Berat Relatif Paru <i>Rattus Norvegicus</i> strain wistar | 44 |
| 6.2 Hasil Pemberian Ekstrak Etanol Ubi Jalar Ungu (Ipomoea batatas L.) terhadap Gambaran Aktivasi BALTh (Bronchus Associated Lymphoid Tissue) Paru <i>Rattus Norvegicus</i> strain wistar | 46 |
| 6.3 Keterbatasan Penelitian..... | 49 |
| BAB VII PENUTUP | |
| 7.1 Kesimpulan..... | 50 |
| 7.2 Saran..... | 50 |
| Daftar Pustaka..... | 52 |
| Lampiran..... | 55 |

DAFTAR GAMBAR

Gambar 2.1 Struktur Umum Kimia dengan struktur dasar Antosianin dan Antosianidin pada tumbuhan 8

Gambar 2.2 Regional anatomi organ paru tikus 12

Gambar 2.3 Anatomi lobus paru pada tikus 12

Gambar 2.4 Gambar normal histologi paru tikus 13

Gambar 2.5 Efek dosis ekstrak methanol dosis 1000 mg/kgBB terhadap histopatologi paru tikus pada salah satu penelitian sebelumnya 14

Gambar 5.1 Perbandingan Rerata Berat Relatif Organ Paru Tikus Tiap Kelompok Dosis pada Masing-Masing Jenis Kelamin 33

Gambar 5.2 Perbandingan Rerata Jumlah Aktivasi BALT Histopatologi Paru Tikus Tiap Kelompok Dosis pada Masing-Masing Jenis Kelamin 34

Gambar 5.3 Gambaran BALT pada Preparat Histopatologi Paru Tikus Jantan Dosis Kontrol 35

Gambar 5.4 Gambaran BALT pada Preparat Histopatologi Paru Tikus Jantan Dosis 10 mg/kgBB 35

Gambar 5.5 Gambaran BALT pada Preparat Histopatologi Paru Tikus Jantan Dosis 20 mg/kgBB 35

Gambar 5.6 Gambaran BALT pada Preparat Histopatologi Paru Tikus Jantan Dosis 40 mg/kgBB 35

Gambar 5.7 Gambaran BALT pada Preparat Histopatologi Paru Tikus Betina Dosis Kontrol 35

Gambar 5.8 Gambaran BALT pada Preparat Histopatologi Paru Tikus Betina Dosis 10 mg/kgBB 35

Gambar 5.9 Gambaran BALT pada Preparat Histopatologi Paru Tikus Betina Dosis 20 mg/kgBB 36

Gambar 5.10 Gambaran BALT pada Preparat Histopatologi Paru Tikus Betina Dosis 40 mg/kgBB 36



DAFTAR TABEL

| | |
|---|----|
| Tabel 2.1 Tabel Kadar Antosianin pada Berbagai Tumbuhan..... | 11 |
| Tabel 4.1 Definisi Istilah Variabel Penelitian..... | 24 |
| Tabel 4.2 Jadwal Penelitian..... | 31 |
| Tabel 5.1 Hasil Rerata Berat Relatif Organ Paru Tikus..... | 33 |
| Tabel 5.2 Rata-rata Jumlah Gambaran BALT pada Preparat Histopatologi Paru Tikus..... | 34 |
| Tabel 5.3 Hasil Uji Normalitas, Homogenitas, dan Kruskal Wallis Berat Relatif Organ Paru Tikus..... | 37 |
| Tabel 5.4 Data Uji <i>Mann Whitney Test</i> Antar Dosis Pada Parameter Berat Relatif Organ Paru Tikus..... | 39 |
| Tabel 5.5 Data Uji <i>Mann Whitney Test</i> Antar Jenis Kelamin Pada Parameter Berat Relatif Organ Paru..... | 40 |
| Tabel 5.6 Hasil Uji Normalitas, Homogenitas, dan Kruskal Wallis Jumlah Aktivasi BALT pada Gambaran Histopatologi Paru Tikus..... | 41 |
| Tabel 5.7 Data Uji <i>Mann Whitney</i> Antar Dosis Pada Parameter Jumlah Aktivasi BALT Histopatologi Paru Tikus..... | 42 |
| Tabel 5.8 Data Uji <i>Mann Whitney Test</i> Antar Jenis Kelamin Pada Parameter Jumlah Aktivasi BALT Histopatologi Paru Tikus..... | 43 |



DAFTAR LAMPIRAN

| | |
|---|----|
| Lampiran 1. Kandungan Susu Pap (Pellet Carf Starter)..... | 55 |
| Lampiran 2. Ethical Clearance | 56 |
| Lampiran 3. Surat Keterangan Lahir Tikus..... | 57 |
| Lampiran 4. Data Berat Relatif Paru Tikus | 58 |
| Lampiran 5. Data Jumlah Aktivasi BALT pada Gambaran Histopatologi Paru Tikus..... | 61 |
| Lampiran 6. Uji Normalitas Berat Relatif Paru Tikus | 62 |
| Lampiran 7. Uji Homogenitas Berat Relatif Paru Tikus..... | 65 |
| Lampiran 8. Uji Nonparametrik <i>Kruskal Wallis Test</i> Berat Relatif Paru Tikus | 66 |
| Lampiran 9. Uji <i>Mann Whitney Test</i> Berat Relatif Paru Tikus | 68 |
| Lampiran 10. Uji Normalitas Jumlah Aktivasi BALT Histopatologi Paru Tikus | 76 |
| Lampiran 11. Uji Homogenitas Jumlah Aktivasi BALT Histopatologi Paru Tikus..... | 80 |
| Lampiran 12. Uji Nonparametrik <i>Kruskal Wallis Test</i> Jumlah Aktivasi BALT Histopatologi Paru Tikus | 81 |
| Lampiran 13. Uji <i>Mann Whitney Test</i> Jumlah Aktivasi BALT Histopatologi Paru Tikus..... | 82 |



DAFTAR SINGKATAN

| | |
|-------|--|
| A | Lobus Aksesorius |
| BALT | <i>Broncus-Associated Lymphoid Tissue</i> |
| BPOM | Badan Pengawas Obat dan Makanan |
| C | Lobus Kaudal |
| Cr | Lobus Kranial |
| FDCs | <i>Follicular Dendritic Cells</i> |
| GALT | <i>Gut-Associated Lymphoid Tissue</i> |
| HE | <i>Hematoxylin Eosin</i> |
| HEVs | <i>High Endothelial Venules</i> |
| IgA+ | Immunoglobulin A+ |
| ITIS | <i>Integrated Taxonomic Information System</i> |
| LL | Lobus Kiri |
| M | Lobus Medial |
| MALT | <i>Mucosa-Associated Lymphoid Tissue</i> |
| MDA | <i>Malondialdehyde</i> |
| NOAEL | <i>No Observed Adverse Effect Level</i> |
| OHT | Obat Herbal Terstandar |
| PA | Patologi Anatomi |
| pIgA | <i>polymeric Immunoglobulin A</i> |
| PUFA | <i>Polyunsaturated Fatty Acids</i> |
| ROS | <i>Reactive Oxygen Species</i> |
| SigA | <i>Secretory immunoglobulin A</i> |



HALAMAN PENGESAHAN

TUGAS AKHIR

**UJI TOKSISITAS SUBKRONIS ORAL EKSTRAK ETANOL UBI UNGU
(Ipomoea batatas L.) KULTIVAR GUNUNG KAWI TERHADAP BERAT
ORGAN DAN HISTOPATOLOGI PARU *RATTUS NORVEGICUS*
STRAIN WISTAR**

Oleh:

Isti Novitasari

NIM 165070101111060

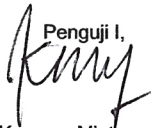
Telah diuji pada

Hari: Rabu

Tanggal: 22 Januari 2020

dan dinyatakan lulus oleh

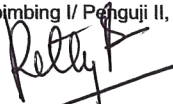
Penguji I,



Dr. dr. Karyono Minjaroem Sp.PA

NIP. 19501116 198002 1 000

Pembimbing I/ Penguji II,



Dr. dr. Retty Ratnawati, MSc

NIP. 19550201 198503 2 001

Pembimbing II/ Penguji III,

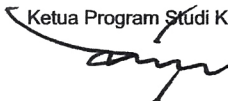


Edwin Widodo, S.Si, M.Sc, Ph.D

NIP. 19810504 200501 1 001

Mengetahui,

Ketua Program Studi Kedokteran



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

NIP. 19631022 199601 2 001

ABSTRAK

Novitasari, Isti. 2020. **Uji Toksisitas Subkronis Oral Ekstrak Etanol Ubi Ungu (*Ipomoea batatas L.*) Kultivar Gunung Kawi terhadap Berat Organ dan Histopatologi Paru *Rattus norvegicus* Strain Wistar**. Tugas Akhir, Program Studi Kedokteran, Fakultas Kedokteran Universitas Brawijaya. Pembimbing: (1) Dr. dr. Retty Ratnawati, MSc. (2) Edwin Widodo, S.Si, MSc, Ph.D.

Efek antioksidan pada zat antosianin yang dikandung ubi jalar ungu (*Ipomoea batatas L.*) memiliki potensi sebagai Obat Herbal Terstandar. Masyarakat menganggap ubi jalar ungu sebagai salah satu opsi pengobatan yang lebih murah dan aman. Berdasarkan BPOM Nomor 7 Tahun 2014, perlu dilakukan suatu pengujian untuk melihat adanya efek toksisitas. Uji ini akan membuktikan layak tidaknya suatu zat menjadi obat yang dapat dikonsumsi oleh masyarakat. Penelitian ini membuktikannya dengan melihat efek dari pemberian ekstrak etanol ubi ungu terhadap berat organ dan histopatologi paru *Rattus norvegicus* strain wistar. Setelah tikus di bedah, organ paru diambil, ditimbang, dan dimasukkan ke larutan formalin 10%. Lalu, dikirim ke Laboratorium Patologi Anatomi FKUB untuk dilakukan pembuatan preparat histopatologi dengan metode pengecatan HE (Hemaktosilin-Eosin). Penelitian dilakukan secara *in vivo* dengan menggunakan desain penelitian *control group post test design*. Hasil pengamatan akan di uji menggunakan metode One-Way ANOVA untuk parametrik dan Kruskal wallis untuk non parametrik dengan tingkat kepercayaan 95% ($\alpha=0,05$). Lalu, dilanjutkan uji post hoc menggunakan Tukey's untuk parametrik dan Mann Whitney untuk non parametrik. Hasil dari penelitian ini membuktikan bahwa paparan ekstrak etanol ubi jalar ungu (*Ipomoea batatas L.*) kultivar Gunung Kawi menunjukkan adanya perbedaan yang signifikan pada berat relatif pada kedua jenis kelamin. Sedangkan, pada pengamatan histopatologi paru yaitu dengan penghitungan jumlah aktivasi BALB menunjukkan adanya perbedaan yang signifikan pada jenis kelamin betina saja.

Kata kunci: Antosianin, Ubi Jalar Ungu (*Ipomoea batatas L.*), Toksisitas, Berat Organ, Histopatologi Paru (Aktivasi BALB).

ABSTRACT

Novitasari, Isti. 2020. **Subchronic Toxicity Study of Purple Sweet Potato (*Ipomoea Batatas L.*) Oral Ethanolic Extract Kawi Mountain Cultivar to Pulmonary Weight Organ and Histopathological Appearance of *Rattus norvegicus* Wistar Strain.** Final Assignment, Medical Program, Faculty of Medicine Universitas Brawijaya. Supervisors: (1) Dr. dr. Retty Ratnawati, MSc. (2) Edwin Widodo, S.Si, M.Sc, Ph.D.

Antioxidant effect on anthocyanin substances contained in purple sweet potato (*Ipomoea batatas L.*) has potential as a *Obat Herbal Terstandar*. The community considers purple sweet potato as one of the cheaper and safer treatment options. Based on BPOM No. 7 of 2014, a test is needed to see the effects of toxicity. This test will prove the worthiness of a substance into a drug that can be consumed by the public. This research proves it by looking at the effects of ethanol extract of purple sweet potato on organ weight and pulmonary histopathology of *Rattus norvegicus* strain wistar. After the rats were operated on, the lung organs were removed, weighed, and put in 10% formaldehyde solution. Then, it was sent to the Anatomical Pathology Laboratory of FKUB to make histopathological preparations by HE (Hemactocillin-Eosin) method. The study was conducted in vivo using the control group post test design. It will be tested using the One-Way ANOVA method for parametric and Kruskal Wallis for non-parametric with 95% confidence level ($\alpha = 0.05$). Then, the post hoc test continued using Tukey's for parametric and Mann Whitney for non-parametric. The results of this study prove that exposure to ethanol extract of purple sweet potato (*Ipomoea batatas L.*) of Gunung Kawi cultivars showed a significant difference in relative weight in both sexes. Meanwhile, the observation of pulmonary histopathology by calculating the amount of BAL activation indicates a significant difference in the female sex only.

Keywords: Anthocyanin, Sweet potato (*Ipomoea batatas L.*), Toxicity, Weight of Organ, Pulmonary Histopathology (Activation of BAL).

BAB I

Pendahuluan

1.1 Latar Belakang Masalah

Sejak perkembangan peradaban manusia, tentu telah mencoba beragam bahan baik botani, nabati, maupun dari mineral dalam upaya mencari makanan. Melalui pengalamannya ini mereka mengenal makanan yang aman dan berbahaya. Hal ini membuktikan, bahwa efek berbahaya (toksik) yang ditimbulkan oleh zat racun (toksin) telah dikenal oleh manusia sejak awal perkembangan peradaban manusia. Sedangkan, dalam perkembangan peradaban masyarakat modern menuntut adanya perbaikan kondisi kesehatan dan kehidupan. Untuk memenuhi tujuan ini berbagai jenis bahan kimia harus diproduksi dan digunakan dalam jumlah besar. Dalam hal ini, tidak jarang pemakaian bahan kimia yang tidak sesuai dengan aturan atau berlebihan justru memberi beban pencemaran terhadap lingkungan. Banyaknya pencemaran terhadap lingkungan yang terjadi ini menghasilkan program pengujian yang lebih intensif, memiliki lebih banyak indikator toksisitas, dan memiliki persyaratan yang lebih ketat sebelum suatu bahan kimia baru dapat dilepas pemakaiannya ke masyarakat (Wirasuta *et al*, 2006).

Uji toksisitas bertujuan untuk mencari efek antioksidan dari berbagai zat yang masih berpotensi untuk dikembangkan lagi manfaatnya. Dari berbagai zat dari alam yang memiliki efek antioksidan tersebut, zat antosianin sebagai sumber antioksidan alami cukup menarik untuk dikaji mengingat banyaknya manfaat dari kandungan antosianin (Husna *et al*, 2013).

Antosianin merupakan komponen bioaktif kelompok flavonoid yang dapat memberikan warna merah, ungu, biru, pada bunga, buah, dan sayur tergantung pada pH lingkungan tempatnya berada. Diantara berbagai macam bunga, buah, dan sayur yang telah ditemukan mengandung antosianin tersebut, ubi ungu ditinjau memiliki potensi sebagai umbi-umbian yang dapat dimanfaatkan lebih jauh lagi (Mahmudatussa'adah *et al*, 2014).

Ubi jalar ungu (*Ipomoea batatas L.*) merupakan salah satu jenis ubi jalar yang banyak ditemui di Indonesia selain ubi yang berwarna putih, kuning, dan merah. Perbedaan aktivitas antioksidan pada ubi jalar merah dan ungu adalah pada jenis zat warnanya. Pada ubi jalar merah yang ditemukan dominan adalah jenis *pelargonidin-3-rutinoside-5-glucoside*, sedangkan pada ubi jalar ungu adalah antosianin dan penoidin glikosida yang mempunyai antioksidan lebih kuat. Dengan demikian, ubi jalar ungu mempunyai potensi besar sebagai sumber antioksidan alami (Hardoko *et al*, 2010).

Keberadaan senyawa antosianin pada ubi jalar ungu menjadikan jenis bahan pangan ini sangat menarik untuk diolah menjadi makanan yang mempunyai nilai fungsional. Berdasarkan survey dengan subjek orang-orang Italia, didapatkan *anthocyanins daily intake* berada pada kisaran 25 sampai 215 mg/orang, bergantung pada umur dan jenis kelamin. Jika dikonsumsi diatas batas ini akan cukup berpengaruh pada tubuh. Efek samping konsumsi antosianin belum ditemukan karena belum adanya laporan toksisitas atau *intolerants* antosianin. Regulasi penggunaannya sebagai *food additive* diatur oleh *Food and Drugs Administration* di US dan Uni Eropa sebagai salah satu pewarna dalam golongan *Exempt from Certification Food Additive Color*. Dengan dimasukkannya antosianin dalam golongan tersebut, maka

penggunaan antosianin dianggap aman selama masih dikonsumsi dalam batas wajar (Husna *et al*, 2013).

Terdapat beberapa penelitian sebelumnya yang telah menunjukkan bahwa kandungan antosianin pada ubi jalar ungu ini memiliki efek apoptotik, yaitu seperti dengan adanya kemampuannya untuk mengurangi jumlah dari sel busa pada tikus dengan diberikannya diet atherogenik dengan berbagai dosis ekstrak (Maharani *et al.*, 2012), juga antosianin sebagai antioksidan akan menghambat apoptosis sel sehingga menurunkan aktivasi caspase-3 (Prakosa *et al.*, 2017).

Data yang tersedia mengenai efek antioksidan yang dikandung oleh antosianin inilah menjadikan antosianin memiliki potensi untuk dikembangkan menjadi Obat Herbal Terstandar (OHT). Dalam melakukan uji toksisitas ini, organ paru termasuk menjadi salah satu parameter yang harus diamati. Karena organ paru termasuk dalam kelompok organ vital prinsipal bersama hepar, jantung, ginjal, dan lien. Organ paru juga termasuk dalam kelompok organ yang diperiksa secara histopatologi dalam prosedur uji toksisitas subkronis oral. Sehingga, peneliti nantinya dapat mengetahui lebih lanjut pengaruh pemberian ekstrak etanol ubi ungu (*Ipomoea batatas* L.) kultivar Gunung Kawi secara oral terhadap berat organ dan histopatologi paru *Rattus norvegicus* strain wistar setelah pengamatan selama 90 hari (subkronis) (BPOM, 2014).

1.2 Rumusan Masalah

Berdasarkan uraian diatas maka penelitian ini diajukan untuk menjawab rumusan masalah sebagai berikut:

Apakah pemberian ekstrak etanol ubi ungu (*Ipomoea batatas L.*) kultivar

Gunung Kawi secara oral selama 90 hari (subkronis) berpengaruh terhadap berat organ dan histopatologi paru *Rattus norvegicus* strain wistar?

1.3 Tujuan Penelitian

1.3.1 Tujuan Umum

Tujuan umum dari penelitian ini adalah untuk mengetahui efek pemberian ekstrak etanol ubi ungu (*Ipomoea batatas L.*) kultivar Gunung Kawi terhadap kondisi organ paru tikus wistar (*Rattus norvegicus*).

1.3.2 Tujuan Khusus

Tujuan khusus dari penelitian ini adalah untuk mengetahui pengaruh pemberian ekstrak etanol ubi ungu (*Ipomoea batatas L.*) kultivar Gunung Kawi pada dosis subkronis secara oral selama 90 hari terhadap berat organ dan histopatologi paru *Rattus norvegicus* strain wistar.

1.4 Manfaat Penelitian

1.4.1 Manfaat Akademik

Dengan dilaksanakannya penelitian ini diharapkan peneliti dapat mengetahui pengaruh pemberian ekstrak etanol ubi ungu (*Ipomoea batatas L.*) kultivar Gunung Kawi pada dosis subkronis secara oral selama 90 hari terhadap berat organ dan histopatologi paru *Rattus norvegicus* strain wistar.

1.4.2 Manfaat Praktis

Penelitian ini diharapkan dapat mengetahui efek toksisitas terhadap berat organ dan histopatologi paru *Rattus norvegicus* strain wistar dari ekstrak etanol ubi ungu (*Ipomoea batatas L.*) kultivar Gunung Kawi yang diberikan secara oral setelah pengamatan selama 90 hari (subkronis) yang digunakan sebagai dasar teori pembuatan obat herbal terstandar.



BAB II

Kajian Pustaka

2.1 Uji Toksisitas

2.1.1 Definisi Uji Toksisitas

Uji toksisitas adalah pengujian yang bertujuan untuk mendeteksi efek toksik suatu zat pada sistem biologi serta dapat memperoleh data dosis-respon yang khas dari sediaan uji. Data yang diperoleh dapat digunakan untuk memberi informasi mengenai derajat bahaya sediaan uji tersebut bila terjadi paparan pada manusia, sehingga dapat ditentukan dosis penggunaannya demi keamanan manusia. Uji toksisitas menggunakan hewan uji sebagai model berguna untuk melihat adanya reaksi biokimia, fisiologik dan patologik pada manusia terhadap suatu sediaan uji. Hasil uji toksisitas tidak dapat digunakan secara mutlak untuk membuktikan keamanan suatu bahan/ sediaan pada manusia, namun dapat memberikan petunjuk adanya toksisitas relatif dan membantu identifikasi efek toksik bila terjadi paparan pada manusia. Faktor-faktor yang menentukan hasil uji toksisitas secara *in vivo* dapat dipercaya adalah: pemilihan spesies hewan uji, galur dan jumlah hewan; cara pemberian sediaan uji; pemilihan dosis uji; efek samping sediaan uji; teknik dan prosedur pengujian termasuk cara penanganan hewan selama percobaan (BPOM,2014).

2.1.2 Uji Toksisitas Subkronis Oral

Uji toksisitas subkronis oral adalah suatu pengujian untuk mendeteksi efek toksik yang muncul setelah pemberian sediaan uji dengan dosis berulang yang diberikan secara oral pada hewan uji selama sebagian umur hewan, tetapi tidak lebih dari 10% seluruh umur hewan. Prinsip dari uji toksisitas subkronis oral

adalah sediaan uji dalam beberapa tingkat dosis diberikan setiap hari pada beberapa kelompok hewan uji dengan satu dosis per kelompok selama 28 atau 90 hari, bila diperlukan ditambahkan kelompok satelit untuk melihat adanya efek tertunda atau efek yang bersifat *reversibel*. Selama waktu pemberian sediaan uji, hewan harus diamati setiap hari untuk menentukan adanya toksisitas. Hewan yang mati selama periode pemberian sediaan uji, bila belum melewati periode *rigor mortis* (kaku) segera diotopsi, dan organ serta jaringan diamati secara makropatologi dan histopatologi. Pada akhir periode pemberian sediaan uji, semua hewan yang masih hidup diotopsi selanjutnya dilakukan pengamatan secara makropatologi pada setiap organ dan jaringan. Selain itu juga dilakukan pemeriksaan hematologi, biokimia klinis dan histopatologi.

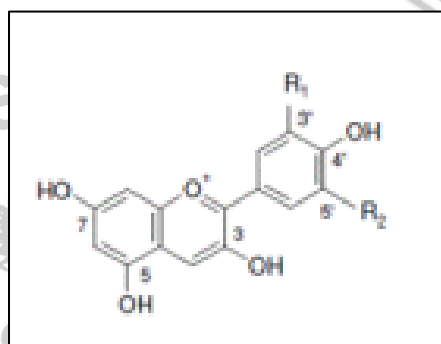
Tujuan uji toksisitas subkronis oral adalah untuk memperoleh informasi adanya efek toksik zat yang tidak terdeteksi pada uji toksisitas akut; informasi kemungkinan adanya efek toksik setelah pemaparan sediaan uji secara berulang dalam jangka waktu tertentu; informasi dosis yang tidak menimbulkan efek toksik (*No Observed Adverse Effect Level / NOAEL*); dan mempelajari adanya efek kumulatif dan efek reversibilitas zat tersebut (BPOM, 2014).

2.2 Antosianin

2.2.1 Definisi Antosianin

Antosianin berasal dari bahasa Yunani, yaitu "*anthos*" yang berarti bunga dan "*kyaneos*" yang berarti biru (Pojer et al, 2013). Antosianin adalah senyawa yang memberikan efek warna merah, biru, dan ungu pada buah, sayur, dan tanaman hias yang termasuk dalam golongan flavonoid. Senyawa ini tersusun oleh sebuah aglikon (antosianidin) yang teresterefikasi dengan satu atau lebih gugus gula (glikon). Antosianin ditemukan dalam enam bentuk antosianidin, yaitu

pelargonidin, sianidin, peonidin, delphinidin, petunidin, dan malvidin. Gugus gula sangat bervariasi namun kebanyakan dalam bentuk glukosa, ramnosa, galaktosa, atau arabinosa (Andarwulan *et al*, 2012). Struktur utama antosianin terdiri dari glikosida dan antosianidin, aglikosida, dan aglikon flavilium (2-fenilbenzopirilium) yang bervariasi pada hidroksil yang berbeda atau pengubahan metoksil pada susunan tengahnya, yang akan ditunjukkan pada gambar 2.1 dibawah ini (Pervaiz *et al*, 2017).



Gambar 2.1 (Pervaiz *et al*, 2017)

Struktur Umum Kimia dengan struktur dasar Antosianin dan Antosianidin pada tumbuhan.

2.2.2 Manfaat Antosianin

Berdasarkan signifikansi kualitas pewarnaannya terhadap buah dan sayur, baik yang baru dipanen atau bahkan sudah diproses menjadikannya sebagai zat yang sedang banyak diteliti oleh *food scientists* ataupun *horticulturists*. Keluarga senyawa flavonoid ini dianggap oleh beberapa pihak dapat menjadi zat penurun kanker, stres oksidatif dan penyakit jantung.

Pigmen pada antosianin dianggap mempunyai fungsi sebagai penangkal radikal bebas, sifat antioksidan, dan perlindungan terhadap berbagai zat patogen, menjadi daya tarik bagi penyerbuk untuk melakukan penyerbukan dan bagi predator untuk menyebarkan benih, sebaik modulasi baru dari sinyal

kaskade dan memberikan kapasitas antioksidan, sehingga dipercaya untuk melindungi sel pada tumbuhan untuk melawan radiasi sinar ultraviolet (UV), intensitas cahaya yang tinggi, suhu yang dingin, tekanan air, luka serta bertahan dari mikroba dan pitopatogen.

Sejatinya, fungsi utama dari antosianin adalah aktivitas antioksidan serta sebagai benteng kerusakan DNA. Gabungan kedua hal ini bertanggungjawab untuk menahan radikal bebas yang berbahaya seperti zat oksigen tunggal ($1O_2$), superoksida radikal (O_2^-), hidroksil radikal (HO) dan oksigen peroksida (H_2O_2), serta grup kimia yang langsung menuju peroksidasi lipid dari membran sel.

Ekspresi dari gen pada zat antosianin ini dapat berubah-ubah bergantung pada perkembangan dimer pirimidinnya. Antosianin telah diketahui sebagai inhibitor yang kuat dan juga sebagai antioksidan untuk zat yang berasal dari peroksidasi lipid, dibandingkan dengan standar antioksidan yang lain. Struktur fenoliknya akan bergantung pada aksi antioksidan, contohnya kemampuan untuk mencari *reactive oxygen species* (ROS) seperti superoksida (O_2), peroksida (ROO^-), oksigen singlet (O_2), hidroksil radikal (HO), dan oksigen peroksida (H_2O_2). Dengan beberapa alasan tersebut, kandungan antosianin pada buah-buahan menjadi aspek yang penting dalam mengembangkan kultivar tumbuhan dengan kemungkinan konten antosianin yang lebih tinggi (Pervaiz *et al.* 2017).

2.3 Profil dan Taksonomi Ubi Jalar Ungu

2.3.1 Taksonomi Ubi Jalar Ungu

Menurut itis.gov (2018) taksonomi dari ubi jalar ungu adalah sebagai berikut:

| | |
|--------------|------------------------------------|
| Kingdom | : Plantae |
| Subkingdom | : Viridiplantae |
| Infrakingdom | : Streptophyta |
| Supradivisio | : Embryophyta |
| Divisio | : Tracheophyta |
| Subdivisio | : Spermatophyta |
| Classis | : Magnoliopsida |
| Supraordo | : Asteranae |
| Ordo | : Solanales |
| Familia | : Convolvulaceae |
| Genus | : Ipomoea L. |
| Spesies | : <i>Ipomoea batatas</i> (L.) Lam. |

2.3.2 Profil Umum Ubi Jalar Ungu

Ubi Jalar (*Ipomoea batatas* L.) adalah tumbuhan yang pertama kali ditemukan di Benua Amerika. Banyak orang yang mengira bahwa ubi ungu ini merupakan tumbuhan asli Indonesia meskipun pada kenyataannya bukan.

Negara produsen ubi jalar yang terbesar di benua Asia pun adalah negara Cina.

Namun, ketersediaannya yang melimpah membuat ubi jalar ungu di Indonesia ini memiliki potensi yang cukup besar untuk dijadikan sebagai bahan baku suatu produk, termasuk obat herbal terstandar (Andarwulan *et al*, 2012).

Di berbagai daerah di Indonesia pemanfaatan ubi jalar biasanya sebagai makanan fungsional, suplemen, maupun bahan pewarna alami. Kandungan antosianin pada ubi jalar ungu ini disajikan dalam Tabel 2.1 yang menyajikan data berbagai kandungan antosianin pada beberapa macam tumbuhan termasuk ubi jalar ungu (Andarwulan *et al*, 2012).

| Sumber | Kandungan pigmen (mg/100 g berat basah) |
|-----------------------|---|
| Buah plum | 2-25 |
| Bawang bombay merah | 7-21 |
| Lobak merah | 11-60 |
| Stroberi | 15-35 |
| Reaberi merah | 20-60 |
| Kol merah | 25 |
| Blueberry | 25-495 |
| Blackberry | 83-326 |
| Cranberry | 60-200 |
| Anggur | 6-600 |
| Ubi jalar ungu | 84-600 |

Tabel 2.1 (Andarwulan *et al*, 2012)

Tabel Kadar Antosianin pada berbagai tumbuhan.

Data yang tertera pada tabel diatas membuktikan bahwa kandungan antosianin pada ubi jalar ungu lebih banyak dibandingkan dengan kandungan antoisianin pada tumbuhan lainnya.

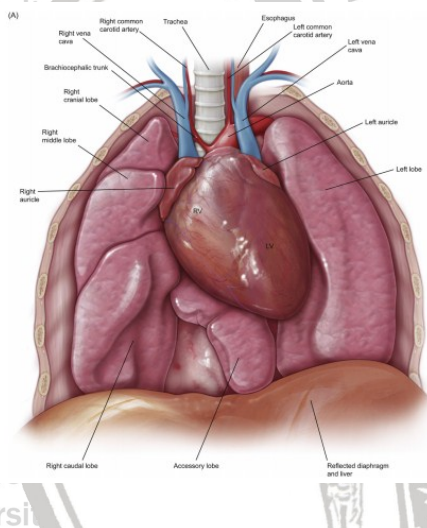
Bentuk sianidin dan peonidin merupakan bentuk antosianin yang banyak dikandung oleh ubi jalar ungu. Sebagian besar dari total antosianin berada dalam bentuk terasilasi (berkaitan dengan struktur kimianya) dalam ubi jalar ungu, bentuk ini relatif lebih stabil terhadap perubahan pH, suhu, dan cahaya.

Sehingga, membuat antosianin dalam ubi jalar ungu menjadi lebih berpotensi sebagai sumber pewarna alami (Andarwulan *et al*, 2012).

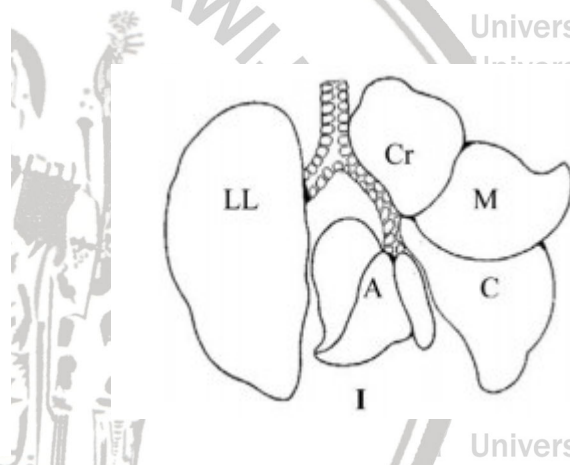
2.4 Organ Paru Tikus Wistar

2.4.1 Anatomi dan Histologi Paru

Pada tikus, paru-paru kanan terbagi menjadi empat lobus, dimana paru-paru kirinya hanya mempunyai satu lobus. Empat lobus pada paru kanan tersebut terbagi menjadi bagian kranial, tengah, kaudal, dan asesori. Pada beberapa skema nomenklatur, lobus asesori terbagi menjadi asesori intermediet dan lobus diafragma, dengan begitu paru-paru kanan menjadi memiliki lima lobus (Treuting *et al*, 2018).



Gambar 2.2 Regional anatomi organ paru-paru tikus (Treuting *et al*, 2018).

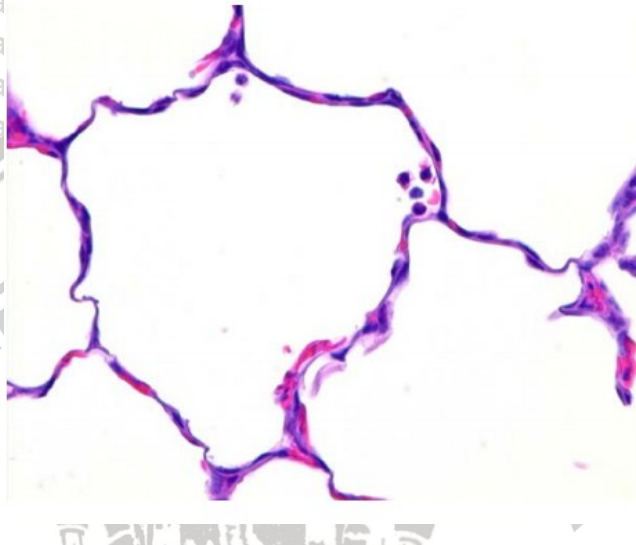


Gambar 2.3

Anatomi lobus paru pada tikus: A = aksesorius, C = kaudal, Cr = kranial, LL = kiri, M = medial (Junior *et al*, 2005)

Transisi saluran udara ke dalam zona pernapasan ada pada tingkat bronkiolus terminal. Parenkim paru-paru distal ke bronkiolus terminal dikenal sebagai asinus, bagian ini merupakan unit fungsional paru-paru sebagai tempat pertukaran gas. Secara morfologis asinus terdiri dari bronkiolus terminal, duktus alveolar, kantung alveolar, dan bagian paling akhir atau ujung dari alveolus.

Pada tikus, bronkiolus tidak berkembang dengan baik, dengan demikian segmen anatomi asinus juga duktus alveolarnya mempunyai ukuran yang lebih kecil (Treuting *et al.*, 2018).



Gambar 2.4 Gambar normal histologi paru tikus (Kubiak *et al.*, 2010)

Pada gambaran histologi organ paru tikus yang normal tidak didapatkan adanya deposit fibrin (membrana hyalin) pada ruang udara, perdarahan pada ruang udara, atau kongesti kapiler alveolar, dan dinding alveolar tersusun hanya dari satu sel saja (tidak ada penebalan), serta tidak ditemukan atau kurang dari 10 leukosit per area sampel (Kubiak *et al.*, 2010).

2.4.2 Fisiologi Paru

Sistem respirasi pada kelompok hewan yang berbeda dapat menunjukkan adanya perbedaan organ dalam sistem respirasi, namun sejatinya terdapat beberapa karakteristik yang memiliki kesamaan. Hewan memiliki sistem kapiler yang besar, permukaan tempat pertukaran gas bertekstur yang tipis dan lembab;

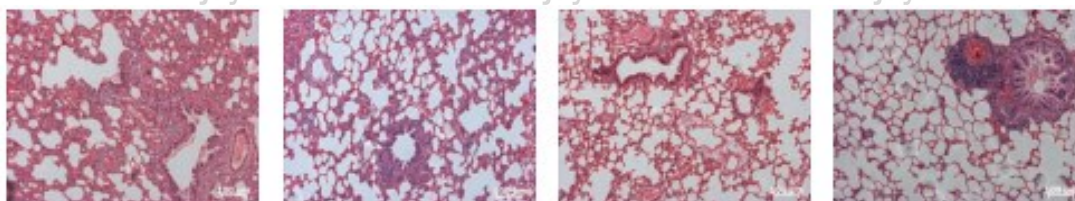
media pembawa oksigen (udara atau air) yang diproduksi secara terus menerus;

darah yang mengalir dalam suatu sistem pembuluh (Maina 2002).

Sistem respirasi bawah adalah sebuah sistem hierarki yang dapat dibagi menjadi komponen fungsional yaitu zona respirasi. dan komponen struktural yaitu zona penyaluran. Zona penyaluran terdiri dari saluran udara pengangkut gas masuk dan keluar dari paru-paru, termasuk trakea, bronkus, dan berlanjut menuju bronkiolus terminal. Zona respirasi berhubungan dengan parenkim paru-paru dan juga termasuk bronkiolus respirasi, duktus alveolar, kantung alveolar, dan alveoli. Agar paru-paru berfungsi dengan benar, zona penyaluran harus terbuka menuju zona respirasi dimana zona tersebut merupakan tempat terjadinya pertukaran gas. (Treuting *et al*, 2018).

2.4.3 Efek Toksisitas pada Organ Paru

Pada salah satu penelitian uji toksisitas subkronis oral yang memakai ekstrak methanol dari *Euphorbia hirta L.* pada tikus dengan empat kelompok dosis dimana dosis pertama kontrol dan ketiga lainnya 50, 250 dan 1000 (dosis tinggi), saat dilakukan pemeriksaan secara mikroskopis tidak menunjukkan adanya perubahan dalam struktur sel atau efek merugikan lainnya. Pemeriksaan dilakukan dengan cara diamati menggunakan mikroskop cahaya menggunakan beberapa perbesaran. Selain itu, juga tidak didapatkan tanda-tanda patologis pada gambaran histologi organ vital lainnya (Ping *et al*, 2013).



Gambar 2.5 Efek ekstrak methanol pada dosis 1000 mg/kg terhadap histopatologi paru tikus pada salah satu penelitian sebelumnya; (dari kiri) kontrol jantan; perlakuan jantan; kontrol betina; perlakuan betina, tidak menunjukkan adanya perubahan yang berarti (Ping *et al*, 2013).

2.4.4 Gambaran Aktivasi BALT pada Histopatologi Paru

Organ paru merupakan salah satu organ yang secara langsung berkomunikasi dengan lingkungan di luar tubuh, melalui fungsi terpentingnya yaitu menjadi tempat untuk bertukarnya udara. Hal ini yang menyebabkan organ paru menjadi sangat memungkinkan untuk menjadi sasaran dari berbagai jenis invasi patogen (He W *et al*, 2019).

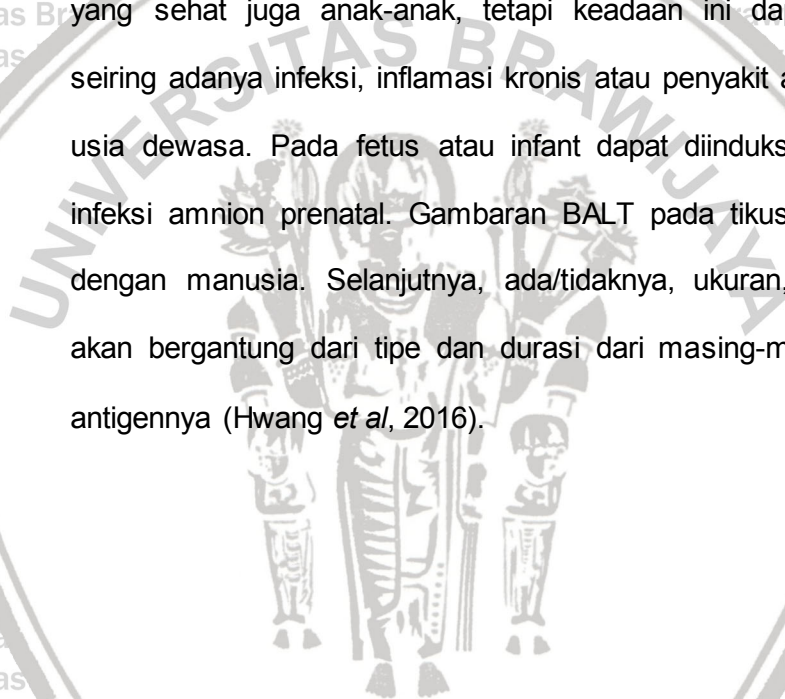
Dalam proses pemeliharaan dan regulasi homeostasis imun pada sel mukosa paru terdapat suatu jaringan yang berperan penting yaitu BALT (Broncus-Associated Lymphoid Tissue). Menurut Randall (2010), BALT adalah suatu jaringan limfoid pertahanan mukosa yang ditemukan di sekitar saluran pernapasan tersusun sebagai fokus sistem pertahanan lokal.

Jika dibandingkan dengan GALT (Gut-Associated Lymphoid Tissue) atau MALT (Mucosa-Associated Lymphoid Tissue), BALT relatif berbeda dalam proses perkembangannya, hal ini dikarenakan BALT tidak terjadi dari bentuk primitifnya melainkan terjadi oleh stimulasi antigen saat setelah lahir. Baik BALT maupun GALT pada umumnya mengandung limfosit, sel dendrit, sel stroma, *Follicular Dendritic Cells (FDCs)* dan *High Endothelial Venules (HEVs)*, (Foo & Phipps, 2010).

Pada prinsipnya, BALT diinduksi oleh adanya produksi IgA⁺ yang menskresi *polymeric Immunoglobulin A (pIgA)*. Ketika pIgA bertransportasi ke lumen akan menginduksi formasi *secretory immunoglobulin A (SIgA)* dimana hal ini akan meregulasi

homeostasis mikroba, menginduksi toleransi imun, serta menghambat inflamasi (Peterson, *et al* 2007).

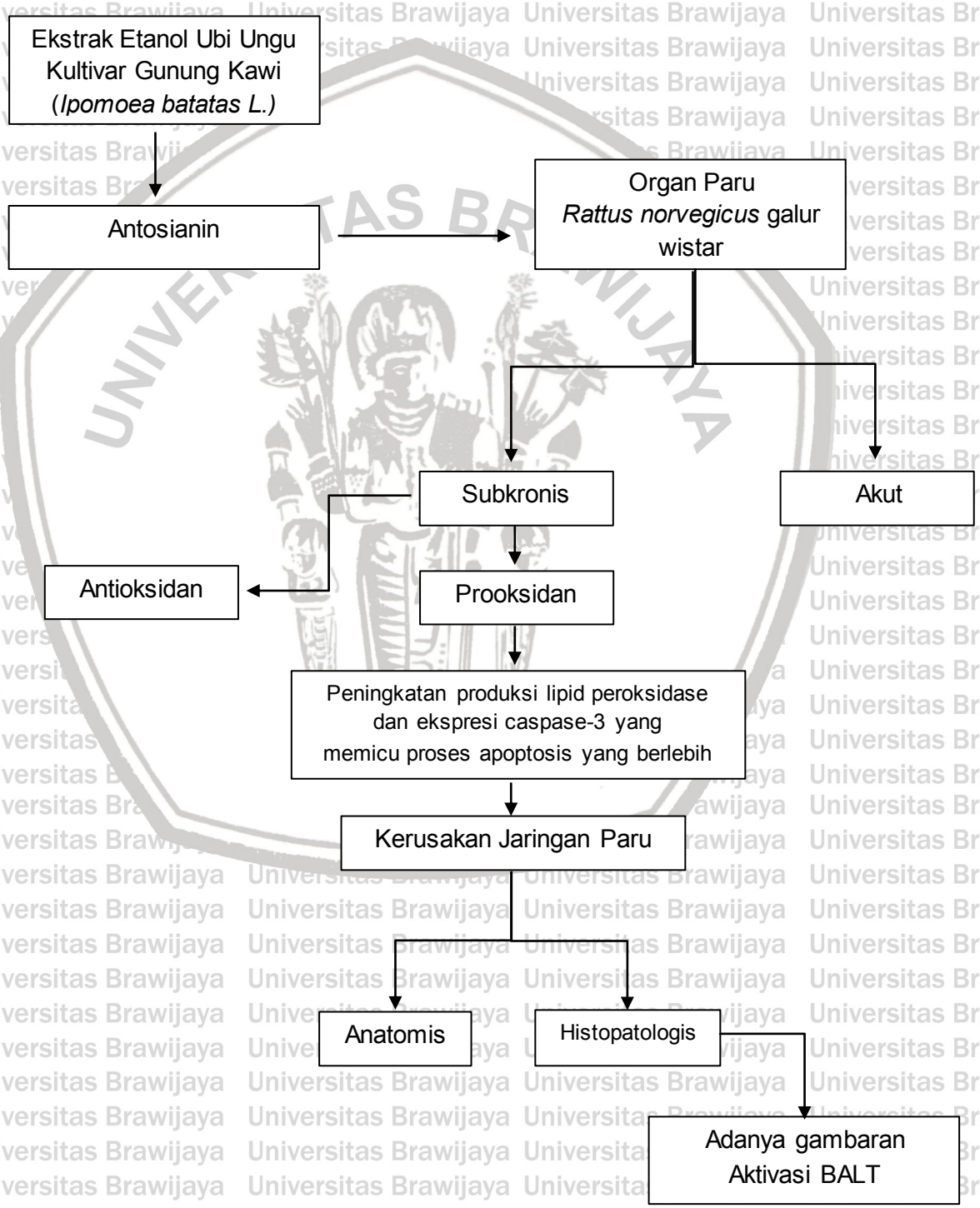
BALT bervariasi pada tiap spesies yang berbeda ataupun pada tiap status fisiologis dalam spesies yang sama. Sebagai contoh, BALT dapat ditemukan secara mudah pada kelinci dan tikus yang sehat serta pada beberapa spesies babi tetapi tidak ada pada anjing dan kucing. Pada manusia, BALT terdapat hanya 40% pada dewasa yang sehat juga anak-anak, tetapi keadaan ini dapat meningkat seiring adanya infeksi, inflamasi kronis atau penyakit autoimun pada usia dewasa. Pada fetus atau infant dapat diinduksi oleh adanya infeksi amnion prenatal. Gambaran BALT pada tikus/mencit sama dengan manusia. Selanjutnya, ada/tidaknya, ukuran, serta jumlah akan bergantung dari tipe dan durasi dari masing-masing pajanan antigennya (Hwang *et al*, 2016).



BAB III

Kerangka Konsep dan Hipotesis Penelitian

3.1 Kerangka Konsep Penelitian



Penjelasan:

Ubi jalar mudah dibudidayakan, dapat tumbuh pada berbagai macam jenis tanah, produktivitasnya tinggi, dengan masa tanam yang relatif pendek (3-6 bulan). Antosianin diketahui memiliki fungsi yang baik untuk kesehatan seperti mencegah risiko kanker. Selain itu, juga sebagai antidiabetes dan antioksidan (Mahmudatussa'adah *et al*, 2014). Berbagai manfaat inilah yang memberikan potensi ubi jalar ungu digunakan sebagai Obat Herbal Terstandar (OHT). Agar dapat mengetahui data keamanan yang diperlukan untuk dapat menjadi Obat Herbal Terstandar itulah maka perlu dilakukan uji toksisitas subkronis oral (BPOM, 2014).

Efek antioksidan antosianin telah terbukti menghambat pertumbuhan tumor yang diinduksi pada hewan coba tikus bersamaan dengan adanya injeksi subkutan pada sel tumor paru-paru. *Cyanidin-3-glucoside* diberikan secara intraperitoneal pada hewan coba tikus dengan dosis 9.5 mg/kg, yang memberikan dampak penurunan ukuran dan menghambat metastasis tumor yang diproduksi oleh sel karsinoma paru-paru manusia A549 (Wang *et al*, 2009). Pada penelitian lain disebutkan bahwa total antosianin dalam jus ceri dan anggur memberikan efek perlindungan terhadap stres oksidatif yang diinduksi oleh H₂O₂ pada sel V79-4 (Yoo *et al*, 2010). Pengobatan dengan menggunakan antosianin (cyanidin 3-glucoside) ini juga menghasilkan penghambatan aktivasi c-Jun dan NF- κ B yang dapat mengurangi invasif sel kanker secara *in vitro* dan karena itu sangat bermanfaat dalam mengembangkan terapi kanker yang potensial (Chen *et al*, 2005).

Sedangkan untuk efek prooksidan yang ditimbulkan dengan pemakaian antosianin ditemukan pada penelitian sebelumnya yang menunjukkan bahwa jika

pemberian antosianin dengan dosis 80 mg/kg BB akan terjadi peningkatan ekspresi caspase-3 dan produksi lipid peroksidase yang memicu proses apoptosis dan kerusakan pada sel organ hewan coba (Ardani *et al.*, 2017). Pada organ paru efek apoptosis tersebut dapat dilihat dari anatomi dan abnormalitas gambaran histopatologinya.

3.2 Hipotesis Penelitian

Pemberian ekstrak etanol ubi ungu kultivar Gunung Kawi tidak menimbulkan toksisitas dengan tidak adanya perubahan berat organ paru serta tidak adanya perubahan pada gambaran histologi paru pada tikus *Rattus norvegicus* galur Wistar yang diuji.



BAB IV

Metode Penelitian

4.1 Rancangan Penelitian

Penelitian yang dilakukan merupakan penelitian *in vivo* menggunakan hewan coba tikus wistar (*Rattus norvegicus*) yang diberi perlakuan dengan pemberian ekstrak etanol ubi jalar ungu (*Ipomoea batatas L.*) kultivar Gunung Kawi untuk diuji efek toksisitasnya. Pada penelitian *in vivo* ini, peneliti memakai jenis penelitian eksperimental laboratorik karena terdapat kelompok perlakuan dan kelompok kontrol pada hewan coba tikus. Desain penelitian ini menggunakan desain *Control Group Post Test Design*. Dengan rancangan ini memungkinkan peneliti mengukur pengaruh perlakuan (intervensi) pada kelompok eksperimen dengan cara membandingkan kelompok eksperimen dengan kelompok kontrol negatif.

4.2 Populasi dan Sampel

4.2.1 Populasi atau subjek penelitian

Populasi atau subjek penelitian yang digunakan pada penelitian ini adalah tikus wistar (*Rattus norvegicus*) yang berjumlah 80 ekor dengan rincian 40 ekor betina dan 40 ekor jantan untuk perlakuan subkronis oral.

4.2.2 Kriteria Inklusi dan Eksklusi

- **Kriteria inklusi:**

Kriteria inklusi yang ditentukan pada penelitian ini adalah hewan coba berjenis tikus wistar (*Rattus norvegicus*) berbulu putih, tikus harus

berada dalam kondisi yang sehat dan aktif, berjenis kelamin jantan dan betina, telah berumur 6-8 minggu jika untuk pengujian subkronis oral, memiliki berat badan yang berada pada kisaran 120-200 gram, dan masih berstatus nullipara (belum pernah beranak).

- **Kriteria eksklusi:**

Kriteria eksklusi yang ditentukan pada penelitian ini adalah hewan coba berjenis tikus wistar (*Rattus norvegicus*) yang berjenis kelamin betina sedang bunting, lalu untuk tikus yang tidak mau makan serta mengalami penurunan keadaan fisik atau mati jika merupakan efek dari toksisitas yang ditimbulkan oleh ekstrak etanol ubi ungu tersebut

4.2.3 Prosedur dan Teknik Pengambilan Sampel

Pada Uji toksisitas subkronis oral sampel tikus yang digunakan berdasarkan PerKB POM No.7 Tahun 2014, yakni 20 ekor tikus terdiri dari 10 ekor jantan dan betina tiap kelompok dosis yang terbagi dalam empat kelompok dosis perlakuan. Hewan dikelompokkan secara acak sedemikian rupa sehingga penyebaran berat badan merata untuk semua kelompok dengan variasi berat badan tidak lebih 20% dari rata-rata berat badan. Uji toksisitas subkronis oral dilakukan 90 hari karena digunakan untuk menguji sediaan uji yang penggunaannya secara klinis berulang dalam waktu 1-4 minggu.

4.2.4 Jumlah Sampel

Pada rancangan penelitian uji toksisitas subkronis dibagi dalam empat perlakuan, yaitu :

- Pemberian Aquades selama 90 hari (Kontrol)

- Pemberian ekstrak etanol ubi ungu/hari 10 mg/kg BB selama 90 hari
- Pemberian ekstrak etanol ubi ungu/hari 20 mg/kg BB selama 90 hari
- Pemberian ekstrak etanol ubi ungu/hari 40 mg/kg BB selama 90 hari

Didapatkan ketiga dosis tersebut karena berdasarkan penelitian sebelumnya yang dilakukan oleh Prakosa *et al* (2017) mendapatkan hasil bahwa dosis 10 dan 20 mg/kgBB menunjukkan efek antioksidan pada antosianin, sedangkan untuk dosis 80 mg/kgBB menunjukkan efek prooksidan. Tetapi peneliti sebelumnya menilai bahwa jarak dosis terlalu jauh. Sehingga, dibuatlah dosis 40 mg/kgBB sebagai kelipatan dari dosis 20 mg/kgBB sekaligus dosis yang berada di antara dosis 20 dan 80 mg/kgBB untuk diuji efeknya tersebut.

4.3 Variabel Penelitian

4.3.1 Variabel Independen / bebas

Yaitu Ekstrak etanol ubi ungu dengan berbagai dosis sebagai berikut:

1. 10 mg/kg berat badan.
2. 20 mg/kg berat badan.
3. 40 mg/kg berat badan.

4.3.2 Variabel Dependen / terikat

Yaitu berat organ paru beserta histopatologinya (posisi, warna, dan bentuk).

4.3.3 Variabel Kontrol

Yaitu makanan yang diberikan berupa Susu Pap, air minum, kondisi kandang, kondisi ruangan/lab (suhu, kelembapan), serta waktu pemaparan ekstrak etanol ubi ungunya.

4.4 Lokasi dan Waktu Penelitian

Penelitian dilaksanakan pada bulan Oktober 2018 – Januari 2018, dengan lokasi penelitian sebagai berikut:

1. Pemeliharaan hewan coba dilakukan di Laboratorium Biosains Universitas Brawijaya
2. Pembuatan ekstrak etanol ubi ungu dilakukan di Laboratorium Program Studi Farmasi FKUB Universitas Brawijaya
3. Pemeriksaan dan pembedahan dilakukan di Laboratorium Biosains Universitas Brawijaya
4. Pemeriksaan dan pembuatan histopatologi preparat organ dilakukan di Laboratorium Patologi Anatomi Fakultas Kedokteran Universitas Brawijaya Malang.

4.5 Instrumen Penelitian

4.5.1 Alat

1. Pemeliharaan binatang coba : kandang plastik, tempat pakan, dan botol air.
2. Sonde untuk memaparkan ekstrak etanol ubi ungu secara oral.
3. pengambilan dan penyimpanan sampel darah : Jarum suntik dan spuit 10 ml disposable, tabung *falcon* 15 ml,
4. Satu set alat untuk pembedahan,
5. Botol penyimpanan sampel organ.

4.5.2 Bahan

1. Pakan standar, yakni Susu Pap.
2. Air mineral (isi ulang).

3. Ketamine untuk euthanasia 1,5 mL/kg BB.
4. Ekstrak etanol ubi ungu didapat dari isolasi dan purifikasi Ubi Ungu (*Ipomoea batatas* L) Varian Ungu Kultivar Gunung Kawi yang dilakukan di Laboratorium Prog.Studi Farmasi FKUB.
5. Formalin 10 % untuk mengawetkan organ.
6. Sarung tangan dan masker.

4.6 Definisi Istilah/Operasional

Tabel 4.1 Definisi Istilah Variabel Penelitian

| Jenis Variabel | Definisi Variabel |
|---|--|
| Uji Toksisitas Subkronis oral | Uji toksisitas subkronis oral adalah suatu pengujian untuk mendeteksi efek toksik yang muncul setelah pemberian sediaan uji dengan dosis berulang yang diberikan secara oral pada hewan uji dalam beberapa tingkat dosis diberikan setiap hari pada beberapa kelompok hewan uji dengan satu dosis per kelompok selama 28 atau 90 hari, |
| Ekstrak etanol ubi jalar ungu | Hasil ekstraksi dengan metode maserasi etanol dari ubi ungu <i>Ipomoea batatas</i> (L) yang diperoleh dari lereng Gunung Kawi, Dusun Segelan, Desa Baleasri, Kec. Ngajum, Kab. Malang, Jawa Timur, Indonesia. |
| Tikus wistar (<i>Rattus norvegicus</i>) | Tikus berbulu putih dengan berat sekitar 120-200 gram. |

| | |
|--------------------------------------|--|
| Pemeriksaan histopatologi organ paru | Pemeriksaan mikroskopis terhadap perubahan patologis yang terjadi pada jaringan tubuh (organ paru) untuk menentukan adanya kelainan atau penyakit. |
|--------------------------------------|--|

4.7 Pengumpulan Data

4.7.1 Metode Pengenceran Ekstrak Etanol Ubi Jalar Ungu

1. Alat dan bahan yaitu kalkulator, mikropipet, vortex, tabung *falcon* 50 mL, timbangan, sendok timbang, kertas alumunium, akuades steril, dan ekstrak etanol ubi jalar ungu disiapkan.
2. Dosis yang diberikan kepada tikus dihitung berdasarkan berat badannya dengan kalkulator untuk menentukan berapa jumlah ekstrak yang dibutuhkan.
3. Ekstrak etanol ubi jalar ungu padat diambil dengan sendok timbang dan diletakkan di timbangan yang dialasi kertas alumunium hingga sesuai dengan berat yg dibutuhkan.
4. Ekstrak yang telah ditimbang dipindahkan ke dalam tabung *falcon* sesuai dosisnya.
5. Ekstrak etanol ubi jalar ungu dalam masing-masing tabung dilarutkan dengan akuades steril sebanyak 20 mL.
6. Isi tabung *falcon* dicampur menggunakan vortex sampai rata dan tidak ada gumpalan ekstrak etanol ubi jalar ungu.

7. Ekstrak etanol ubi jalar ungu yang sudah diencerkan disimpan di dalam lemari es sampai waktu pemberian kepada tikus.

4.7.2 Metode Aklimatisasi dan Pemeliharaan Tikus

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

4.7.3 Metode Pemaparan Ekstrak Etanol Ubi Ungu dengan Sonde

1. Pemaparan ekstrak dilakukan oleh teknisi dari Laboratorium Biosains Universitas Brawijaya yang memiliki pengalaman dalam menggunakan sonde.
2. Tabung falcon berisi ekstrak etanol ubi jalar ungu cair dikeluarkan dari lemari es dan dibiarkan di suhu ruangan selama beberapa menit

sampai suhu ekstrak sesuai suhu ruangan agar pemberian ekstrak

lebih nyaman bagi tikus.

3. Sonde besi dipasangkan pada spuit *disposable* ukuran 5 mL.
4. Ekstrak etanol ubi jalar ungu cair diambil ke dalam spuit.
5. Sarung tangan dipakai untuk melindungi tangan dari gigitan tikus saat mengangkat tikus untuk memasukkan sonde.
6. Kandang tikus yang sesuai dengan dosis ekstrak di dalam spuit dibuka dan tikus dipegang dengan tangan kiri.
7. Tikus difiksasi dan dibuka mulutnya menggunakan tangan kiri, sementara sonde dimasukkan ke dalam kerongkongan dan lambung tikus dengan tangan kanan.
8. Sebanyak 1 mL ekstrak dimasukkan ke dalam lambung tikus.
9. Sonde dikeluarkan dari mulut tikus dan tikus dikembalikan ke dalam kandang.
10. Kelompok kontrol diberikan sonde akuades steril.

4.7.4 Metode Pembedahan, Pengambilan, dan Penimbangan Organ

1. Pembedahan dilakukan oleh teknisi dari Laboratorium Biosains Universitas Brawijaya yang memiliki pengalaman dalam membedah tikus.
2. Tikus telah dipuasakan 24 jam sebelum pembedahan agar saluran pencernaan kosong sehingga bobot organ akurat.
3. Berat badan tikus yang akan dibedah ditimbang dan dicatat pada tabel berat badan.
4. Kandang tikus dipindahkan ke ruang bedah Laboratorium Biosains Universitas Brawijaya.

5. Peralatan yang dibutuhkan, yaitu ketamine, papan parafin, peralatan bedah, spuit 10 mL, *vacutainer* merah dan ungu, tabung tempat organ berisi formaldehida 10%, cawan petri berisi NaCl 0,9% untuk mencuci organ, dan neraca analitik, disiapkan di ruang bedah.
6. Setiap spuit, *vacutainer*, dan tempat organ diberi label sesuai tikus yang akan dibedah.
7. Tikus diinjeksi dengan ketamine 1,5mL/kgBB sebagai *sacrifice* sebelum hewan dibedah.
8. Tikus difiksasi pada papan bedah dengan menusukkan jarum pada keempat ekstremitas tikus.
9. Insisi dilakukan pada tikus dengan pisau bedah dari perut hingga dada, kemudian dilanjutkan hingga ketiak dari masing-masing ekstremitas tikus untuk membuka rongga dada dan perut.
10. Semua organ tikus dan jaringan lemak pada viscera dilepaskan dengan hati-hati, dibilas dengan NaCl 0,9% di dalam cawan petri, dan ditimbang dengan neraca analitik. Berat organ dicatat dalam tabel.
11. Setelah semua organ ditimbang, organ disusun pada plastik organ dan didokumentasikan.
12. Organ dimasukkan dalam tabung organ sesuai labelnya. Organ yang diambil adalah jantung, paru-paru, hati, kedua ginjal, limpa, pankreas, otak, testis (pada tikus jantan), dan ovarium serta uterus (pada tikus betina).
13. Tabung berisi organ diantarkan ke Laboratorium Patologi Anatomi FKUB dan *vacutainer* berisi darah diantarkan ke Laboratorium Patologi Klinik FKUB.

3. Proses Deparafinisasi

Setelah di sayat atau di potong dengan ketebalan 3-5 mikron, ditaruh di dalam oven selama 30 menit dengan suhu panas 70-80 derajat, kemudian dimasukkan ke dalam 2 tabung larutan *xylol* masing-masing 20 menit (hidrasi), dan yang terakhir dimasukkan ke air mengalir selama 15 menit.

4. Proses Pewarnaan (HE)

- a. Cat utama Harris Hematoksilin selama 10-15 menit
- b. Cuci dengan air mengalir selama 15 menit
5. Alkohol bertingkat
 - a. Alkohol 70% 3 menit
 - b. Alkohol 80% 3 menit
 - c. Alkohol asam 1% 2-5 celup
 - d. *Ammonia lithium karbonat* 3-5 celup (bila kurang biru)
 - e. *Eosin* 10-15 menit
6. Penjernihan (Clearring)
 - a. *Xylol* 15 menit
 - b. *Xylol* 15 menit
 - c. Alkohol 96% 3 menit
 - d. Alkohol absolut 3 menit

4.7.6 Metode Pengambilan Data Jumlah Aktivasi BALT pada Gambaran Histopatologi Paru

1. Preparat Paru dibaca dibawah mikroskop dengan perbesaran 10x dan 40x untuk dilihat ada tidaknya gambaran aktivasi BALT.
2. Dilakukan penghitungan jumlahnya pada 10 lapang pandang dengan menggeser secara perlahan satu persatu dengan metode zigzag.

3. Data dicatat dan dikonsultasikan ke Laboratorium Patologi Anatomi

Fakultas Kedokteran Universitas Brawijaya dengan dr. Hendy Sp.PA.

4.8 Analisis Data

Data hasil penelitian berat organ dan histopatologi akan disajikan dalam bentuk mean. Data variabel bebas bertipe ordinal dan variabel terikat bertipe numerik rasio. Untuk analisis data antar kelompok dosis menggunakan One – Way ANOVA jika data terdistribusi normal. Apabila data tidak terdistribusi normal akan digunakan uji nonparametrik *Kruskal-Wallis Test*. Sebelumnya sudah terlebih dahulu dilakukan uji normalitas menggunakan *Shapiro-Wilk Test* dan homogenitasnya dengan *Levene Test*. Untuk analisis data antar jenis kelamin, jika data normal dan homogen akan menggunakan uji parametrik *unpaired t-Test*, dan jika tidak menggunakan uji nonparametrik *Mann-Whitney Test*.

4.9 Jadwal Penelitian

Tabel 4.2 Jadwal Penelitian

| Kegiatan | 2018-2019 | | | | | | | | | | | | | |
|---------------------|-----------|---|---------|---|----------|---|----------|---|---------|---|----------|---|-------|---|
| | September | | Oktober | | November | | Desember | | Januari | | Februari | | Maret | |
| Pembuatan Ekstrak | ■ | ■ | ■ | ■ | ■ | | | | | | | | | |
| Pengenceran Ekstrak | | | | ■ | ■ | ■ | ■ | ■ | ■ | | | | | |
| Persiapan Kandang | | | | ■ | | | | | | | | | | |
| Pembelian Tikus | ■ | ■ | ■ | ■ | | | | | | | | | | |
| Aklimatisasi | | | | ■ | | | | | | | | | | |
| Pemeliharaan Tikus | | | | ■ | ■ | ■ | ■ | ■ | ■ | ■ | | | | |
| Pengamatan Perilaku | | | | ■ | ■ | ■ | ■ | ■ | ■ | ■ | | | | |
| Pemaparan Ekstrak | | | | ■ | ■ | ■ | ■ | ■ | ■ | ■ | | | | |
| Pembedahan | | | | | | | | | | ■ | | | | |
| Analisis Data | | | | | | | | | | | ■ | ■ | | |
| Laporan | | | | | | | | | | | | | ■ | ■ |



BAB V

Hasil Penelitian dan Analisis Data

5.1 Hasil Penelitian

Hasil yang didapat dari penelitian ini bertujuan untuk melihat apakah ada perubahan terhadap berat relatif organ dan gambaran histopatologi paru *Rattus norvegicus* galur wistar baik jantan maupun betina, yang menunjukkan efek toksik dari pemberian antosianin pada ubi jalar ungu. Penelitian ini berlangsung selama 90 hari dengan setiap harinya diberikan ekstrak etanol ubi ungu dengan cara sonde, yang sebelumnya terlebih dahulu dilakukan masa aklimatisasi selama 11 hari. Penelitian ini menggunakan total sejumlah 80 tikus dengan rincian 40 tikus jantan dan 40 tikus betina yang terbagi dalam empat kelompok dosis, yaitu kontrol (akuades), dosis 10 mg/kgBB, dosis 20mg/kgBB, dan dosis 40 mg/kgBB yang masing-masing dosisnya terdiri dari 10 ekor tikus jantan dan 10 ekor tikus betina. Selama penelitian terdapat 7 tikus yang dieksklusi terlebih dahulu karena mati sebelum hari pembedahan yaitu, 2 tikus betina (dengan kode S20B7 dan SKB3) serta 5 tikus jantan (dengan kode SKJ9, S40J4, S40J6, S40J7, dan S40J8).

Setelah perlakuan selama 90 hari tersebut, tikus dibedah di Laboratorium Biosains Universitas Brawijaya untuk kemudian organ parunya diambil, ditimbang lalu dimasukkan ke larutan formalin 10%, dikirim ke Laboratorium Patologi Anatomi Fakultas Kedokteran Universitas Brawijaya untuk dilakukan pembuatan preparat histopatologi. Selanjutnya, data hasil berat relatif dan histopatologi organ paru akan diolah dengan perangkat lunak SPSS versi 20, serta preparat tersebut akan dilakukan pengamatan dan dilihat apakah ada perubahan pada gambaran histopatologinya. Pembacaan dilakukan di ruang pengamatan

Laboratorium Anatomi Fakultas Kedokteran Universitas Brawijaya dengan konsultasi bersama dr. Hendy Setyo Yudhanto, Sp.PA.

5.1.1 Berat Relatif Paru

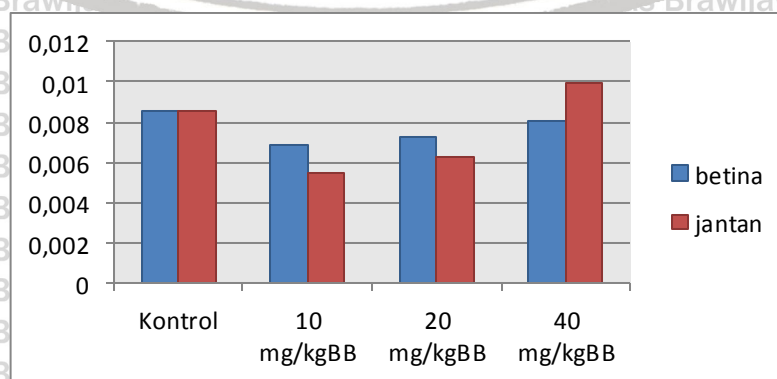
Pengamatan makroskopik organ dilakukan dengan cara menghitung berat relatif organ paru. Menurut PerKB POM No. 7 Tahun 2014, Berat relatif organ diperoleh dari hasil perhitungan dibawah ini:

$$\text{Berat relatif organ} = \frac{\text{berat organ absolut (g)}}{\text{berat badan (g)}}$$

Hasil pengamatan berat relatif organ paru akan ditunjukkan pada lampiran. Sedangkan, hasil rerata dan simpangan baku akan ditunjukkan pada tabel berikut.

Tabel 5.1 Hasil Rerata Berat Relatif Organ Paru Tikus

| | Betina (Rerata ± SD) | Jantan (Rerata ± SD) |
|------------|---|---|
| Kontrol | $8,59 \times 10^{-3} \pm 3,48 \times 10^{-3}$ | $8,61 \times 10^{-3} \pm 5,68 \times 10^{-3}$ |
| 10 mg/kgBB | $6,92 \times 10^{-3} \pm 2,23 \times 10^{-3}$ | $5,53 \times 10^{-3} \pm 1,05 \times 10^{-3}$ |
| 20 mg/kgBB | $7,31 \times 10^{-3} \pm 1,53 \times 10^{-3}$ | $5,53 \times 10^{-3} \pm 1,05 \times 10^{-3}$ |
| 40 mg/kgBB | $8,07 \times 10^{-3} \pm 1,09 \times 10^{-3}$ | $9,87 \times 10^{-3} \pm 5,07 \times 10^{-3}$ |



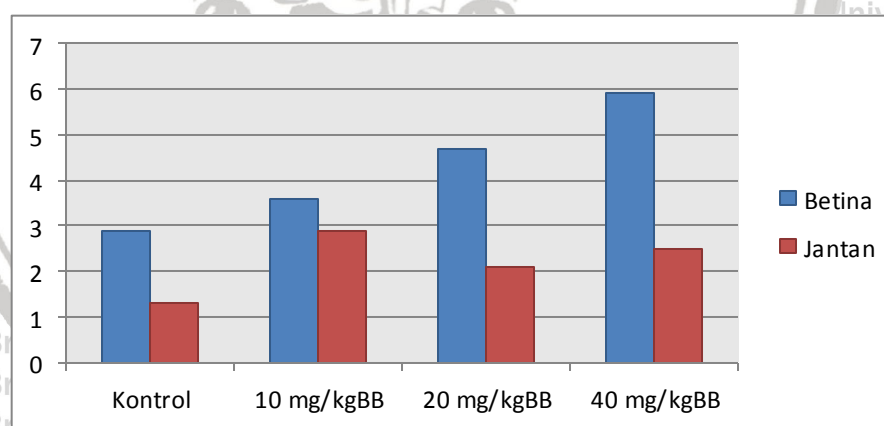
Gambar 5.1 Perbandingan Rerata Berat Relatif Organ Paru Tikus Tiap Kelompok Dosis pada Masing-Masing Jenis Kelamin

5.1.2 Histopatologi Organ Paru (Jumlah Aktivasi BALT)

Untuk data histopatologi organ paru dilakukan pengamatan secara mikroskopis dengan menghitung banyaknya jumlah gambaran aktivasi BALT (*Bronchus Associated Lymphoid Tissue*). Hasil pengamatan jumlah gambaran aktivasi BALT akan ditunjukkan pada lampiran. Sedangkan, hasil rerata dan simpangan baku akan ditunjukkan pada tabel berikut.

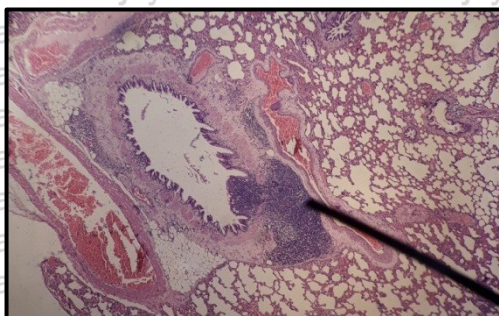
Tabel 5.2 Rata-rata Jumlah Gambaran BALT pada Preparat Histopatologi Paru Tikus

| Parameter | Kontrol | 10 mg/kgBB | 20 mg/kgBB | 40 mg/kgBB |
|-----------|-------------|-------------|-------------|-------------|
| | Rerata ± SD | Rerata ± SD | Rerata ± SD | Rerata ± SD |
| Betina | 2,9 ± 2,42 | 3,6 ± 2,17 | 4,7 ± 2,41 | 5,9 ± 2,51 |
| Jantan | 1,3 ± 0,82 | 2,9 ± 1,29 | 2,1 ± 1,52 | 2,5 ± 1,84 |

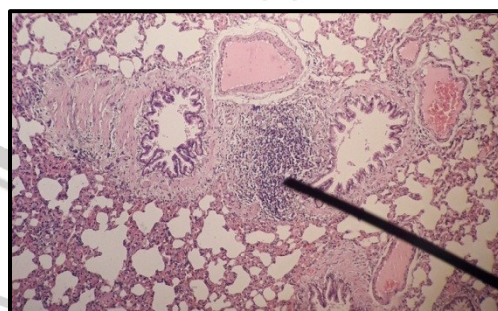


Gambar 5.2 Perbandingan Rerata Jumlah Aktivasi BALT Histopatologi Paru Tikus Tiap Kelompok Dosis pada Masing-Masing Jenis Kelamin

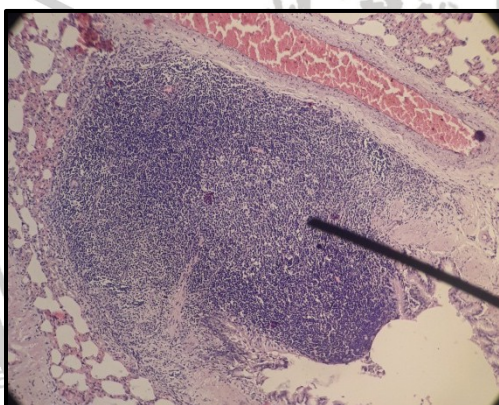
Beberapa contoh gambaran aktivasi BALT pada hasil pengamatan mikroskopis sel paru tikus menggunakan mikroskop cahaya dengan pengecatan HE pada perbesaran 10x dan 40x.



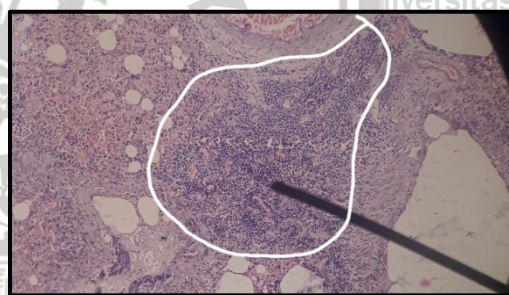
Gambar 5.3 Gambaran BALT pada Paru Tikus Kontrol Jantan Kode C; Irisan Membujur; 10 x 10; (ditunjukkan dengan tanda garis hitam)



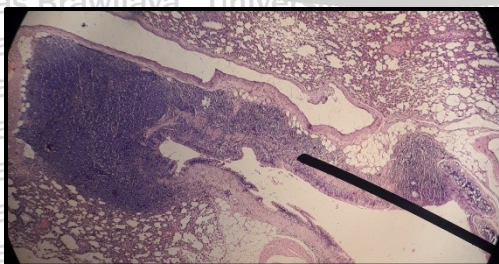
Gambar 5.4 Gambaran BALT pada Paru Tikus 10 mg/kgBB Jantan Kode D; Irisan Membujur; 10 x 10; (ditunjukkan dengan tanda garis hitam)



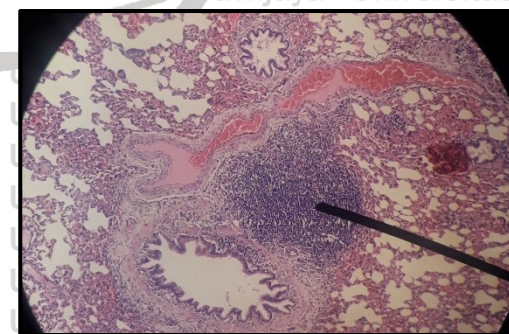
Gambar 5.5 Gambaran BALT pada Paru Tikus 20 mg/kgBB Jantan Kode F; Irisan Melintang; 40 x 10; (ditunjukkan dengan tanda garis hitam)



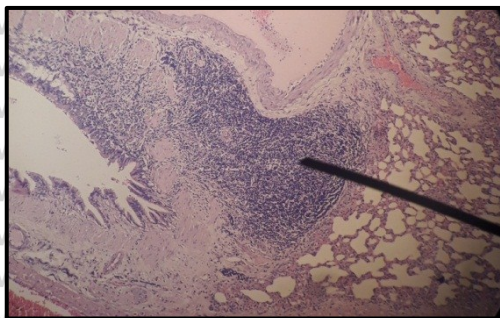
Gambar 5.6 Gambaran BALT pada Paru Tikus 40 mg/kgBB Jantan Kode G; Irisan Membujur; 10 x 10; (ditunjukkan dengan tanda garis hitam)



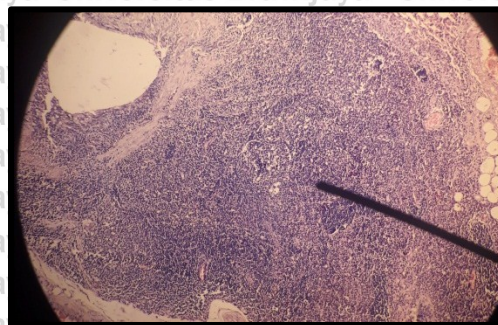
Gambar 5.7 Gambaran BALT pada Paru Tikus Kontrol Betina Kode A; Irisan Membujur; 10 x 10; (ditunjukkan dengan tanda garis hitam)



Gambar 5.8 Gambaran BALT pada Paru Tikus 10 mg/kgBB Betina Kode H; Irisan Melintang; 10 x 10; (ditunjukkan dengan tanda garis hitam)



Gambar 5.9 Gambaran BALT pada Paru Tikus 20 mg/kgBB Betina Kode D; Irisan Melintang; 10 x 10; (ditunjukkan dengan tanda garis hitam)



Gambar 5.10 Gambaran BALT pada Paru Tikus 40 mg/kgBB Betina Kode C; Irisan Membujur; 10 x 10; (ditunjukkan dengan tanda garis hitam)

5.2 Analisis Data

Analisis data mengenai efek toksik antosianin terhadap berat relatif organ paru *Rattus norvegicus* galur wistar diolah dengan menggunakan perangkat lunak SPSS versi 20. Dilakukan uji normalitas dengan *Shapiro-Wilk Test* dan uji homogenitas *Levene Test* terlebih dahulu, jika data yang dianalisis terbukti tidak homogen dan/atau tidak terdistribusi secara normal, maka uji akan diganti menggunakan uji nonparametrik *Kruskal-Wallis Test*. Analisis data antar jenis kelamin dalam satu kelompok dosis dilakukan menggunakan *unpaired t-Test* bila terdistribusi secara normal dan/atau homogen, jika data terbukti tidak normal ataupun homogen dilakukan dengan menggunakan *Mann-Whitney Test*.

Sedangkan, analisis data histopatologi paru dilakukan dengan mengamati preparat dibawah mikroskop untuk menilai ada/tidaknya gambaran BALT (*Bronchus Associated Lymphoid Tissue*) serta dihitung jumlahnya sebagai indikasi adanya proses imunitas yang dilakukan sel bronkus paru. Selanjutnya, akan di uji statistik dengan

menggunakan uji non parametrik *Kruskal-Wallis Test*, karena hasil uji normalitas pada data menunjukkan hasil tidak terdistribusi secara normal dan untuk uji homogenitasnya menunjukkan hasil tidak homogen, lalu akan diuji menggunakan *Mann-Whitney Test* untuk mengetahui dosis mana yang mengalami perubahan signifikan secara spesifik.

Seluruh hasil uji SPSS (normalitas, homogenitas, kruskal wallis, dan mann whitney) akan dicantumkan di lembar lampiran.

5.2.1 Analisis Berat Relatif Paru

Untuk uji normalitas, homogenitas, dan *Kruskal-Wallis Test* pada data berat organ paru akan menggunakan Hipotesis nol (H_0) yaitu “tidak adanya perubahan berat organ secara signifikan antar kelompok dosis”. Sedangkan, untuk uji *unpaired t-Test* ataupun *Mann-Whitney Test* akan menggunakan Hipotesis nol (H_0) yaitu “tidak adanya perubahan berat organ secara signifikan antar jenis kelamin”. Hipotesis nol (H_0) diterima jika nilai *p value* >0,05 dan ditolak apabila nilai *p value* < 0,05 (α (tingkat kesalahan) = 0,05).

Tabel 5.3 Hasil Uji Normalitas, Homogenitas, dan Kruskal Wallis Berat Relatif Organ Paru Tikus

| | Jantan | | | | Betina | | | |
|-----------------------|---------------|--------------|--------------|---------------|---------------|---------------|---------------|--------------|
| | Kontrol | 10 | 20 | 40 | Kontrol | 10 | 20 | 40 |
| Normalitas | 0,001 (TN) | 0,256 (N) | 0,192 (N) | 0,010 (TN) | 0,000 (TN) | 0,000 (TN) | 0,033 (TN) | 0,838 (N) |
| Homogenitas | 0,002 (TH) | | | | 0,440 (H) | | | |
| Kruskal Wallis | 0,04 (S) | | | | 0,02 (S) | | | |

Keterangan: TN: Tidak Normal; N: Normal; TH: Tidak Homogen; H: Homogen; TS: Tidak Signifikan ($p > 0,05$); S: Signifikan ($p < 0,05$)

- **Uji Normalitas**

Uji normalitas yang digunakan adalah uji *Shapiro-Wilk*, karena data dalam satu kelompok dosis kurang dari 50. Berfungsi untuk melihat distribusi dari sebuah data. Hasil dari uji *Shapiro-Wilk* yang ditunjukkan pada tabel 5.3, terbukti bahwa data berat relatif paru pada tikus jantan dan betina terdistribusi tidak normal.

- **Uji Homogenitas**

Uji homogenitas merupakan uji yang dilakukan untuk mengetahui bahwa dua atau lebih kelompok data berasal dari populasi yang memiliki variansi sama (homogen). Uji yang digunakan adalah *Levene test* karena dapat digunakan untuk data yang tidak terdistribusi normal. Hasil yang didapatkan dari uji *Levene test* pada tabel 5.3 ini menunjukkan bahwa data pada tikus jantan terbukti tidak homogen, sedangkan pada tikus betina terbukti homogen.

- **Uji nonparametrik *Kruskal-Wallis Test***

Uji nonparametrik *Kruskal-Wallis Test* bertujuan untuk membandingkan dua kelompok atau lebih yang independen secara signifikan. Uji ini digunakan karena data menunjukkan bahwa tidak homogen ataupun terdistribusi normal. Hasil dari uji *Kruskal-Wallis Test* yang terdapat pada tabel 5.3 menunjukkan bahwa adanya perubahan berat relatif organ secara signifikan antar kelompok dosis baik pada tikus jantan maupun tikus betina.

- **Uji nonparametrik Mann-Whitney Test antar dosis**

Uji ini digunakan jika salah satu atau kedua data menunjukkan terdistribusi secara tidak normal ataupun tidak homogen. Uji ini akan menunjukkan jika ada perbedaan statistik yang signifikan diantara kelompok dosis dalam satu jenis kelamin yang sama. Hasil akan tertera pada tabel berikut ini.

Tabel 5.4 Data Uji *Mann Whitney Test* Antar Dosis Pada Parameter Berat Relatif Organ Paru Tikus

| Jantan | | | |
|--------|---------|-------|-------|
| | kontrol | 10 | 20 |
| 10 | 0.096 | | |
| 20 | 0.406 | 0.174 | |
| 40 | 0.364 | 0.013 | 0.041 |
| Betina | | | |
| | kontrol | 10 | 20 |
| 10 | 0.019 | | |
| 20 | 0.290 | 0.151 | |
| 40 | 0.545 | 0.007 | 0.096 |

Keterangan: Tulisan berwarna merah: signifikan

Dari tabel diatas dapat disimpulkan bahwa terdapat perbedaan berat relatif organ paru hanya antara dosis 10 mg/kgBB yang signifikan terhadap dosis kontrol pada tikus betina dan jantan.

- **Uji nonparametrik Mann-Whitney Test antar jenis kelamin**

Uji ini digunakan jika salah satu atau kedua data menunjukkan terdistribusi secara tidak normal ataupun tidak homogen. Uji ini akan menunjukkan jika ada perbedaan statistik

yang signifikan diantara kelompok jenis kelamin dalam satu kelompok dosis yang sama. Hasil akan tertera pada tabel berikut ini. Dari tabel 5.5 dapat disimpulkan bahwa tidak terdapat perbedaan berat relatif organ paru yang signifikan pada seluruh dosis antara kedua jenis kelamin.

Tabel 5.5 Data Uji *Mann-Whitney Test* Antar Jenis Kelamin Pada Parameter Berat Relatif Organ Paru

| Dosis | Uji Mann-Whitney | Keterangan |
|------------|------------------|------------------|
| Kontrol | 0,257 | Tidak Signifikan |
| 10 mg/kgBB | 0,070 | Tidak Signifikan |
| 20 mg/kgBB | 0,059 | Tidak Signifikan |
| 40 mg/kgBB | 0,597 | Tidak Signifikan |

5.2.2 Analisis Histopatologi Organ Paru (Jumlah Aktivasi BALT)

Untuk uji normalitas, homogenitas, dan *Kruskal-Wallis Test* pada data berat organ paru akan menggunakan Hipotesis nol (H_0) yaitu “tidak adanya perubahan gambaran histopatologi paru secara signifikan tiap kelompok dosis”. Sedangkan, untuk uji *Mann-Whitney Test* akan menggunakan Hipotesis nol (H_0) yaitu “tidak adanya perubahan gambaran histopatologi paru secara signifikan antar masing-masing kelompok dosis”. Hipotesis nol (H_0) diterima jika nilai *p value* $>0,05$ dan ditolak apabila nilai *p value* $< 0,05$ (α (tingkat kesalahan) = 0,05).

Tabel 5.6 Hasil Uji Normalitas, Homogenitas, dan Kruskal Wailis Jumlah Aktivasi BALT pada Gambaran Histopatologi Paru Tikus

| | Jantan | | | | Betina | | | |
|-----------------------|---------------|---------------|--------------|--------------|--------------|---------------|--------------|--------------|
| | Kontrol | 10 | 20 | 40 | Kontrol | 10 | 20 | 40 |
| Normalitas | 0,045 (TN) | 0,003 (TN) | 0,441 (N) | 0,426 (N) | 0,199 (N) | 0,005 (TN) | 0,283 (N) | 0,199 (N) |
| Homogenitas | 0,130 (H) | | | | 0,733 (H) | | | |
| Kruskal Wailis | 0,053 (TS) | | | | 0,042 (S) | | | |

Keterangan: TN: Tidak Normal; N: Normal; TH: Tidak Homogen; H: Homogen; TS: Tidak Signifikan ($p > 0,05$); S: Signifikan ($p < 0,05$)

- **Uji Normalitas**

Uji normalitas yang digunakan disini adalah uji *Shapiro-Wilk* karena data dalam satu kelompok dosis kurang dari 50. Berfungsi untuk melihat distribusi dari sebuah data. Hasil dari uji *Shapiro-Wilk* yang ditunjukkan pada tabel 5.6 terbukti bahwa data jumlah aktivasi BALT pada tikus jantan dan betina terdistribusi tidak normal.

- **Uji Homogenitas**

Uji homogenitas merupakan uji yang dilakukan untuk mengetahui bahwa dua atau lebih kelompok data berasal dari populasi yang memiliki variansi sama (homogen). Uji yang digunakan adalah *Levene test* karena dapat digunakan untuk data yang tidak terdistribusi normal. Hasil yang ditunjukkan pada tabel 5.6 bahwa data jumlah aktivasi BALT pada tikus jantan dan betina terbukti homogen.

- **Uji nonparametrik Kruskal-Wallis Test**

Uji nonparametrik *Kruskal-Wallis Test* bertujuan untuk membandingkan dua kelompok atau lebih yang independen

secara signifikan. Uji ini digunakan karena data menunjukkan bahwa tidak homogen ataupun terdistribusi normal. Hasil pada tabel 5.6 menunjukkan bahwa tidak adanya perbedaan jumlah aktivasi BALT yang signifikan pada tikus jantan. Sedangkan, pada tikus betina terdapat perbedaan yang signifikan.

- **Uji nonparametrik Mann-Whitney Test antar dosis**

Uji ini digunakan jika salah satu atau kedua data menunjukkan terdistribusi secara tidak normal ataupun tidak homogen. Uji ini akan menunjukkan jika ada perbedaan statistik yang signifikan diantara kelompok dosis dalam satu kelompok jenis kelamin yang sama. Hasil akan tertera pada tabel berikut ini.

Tabel 5.7 Data Uji *Mann Whitney* Antar Dosis Pada Parameter Jumlah Aktivasi BALT Histopatologi Paru Tikus

| Betina | | | |
|---------------|----------------|-----------|-----------|
| | kontrol | 10 | 20 |
| 10 | 0.313 | | |
| 20 | 0.079 | 0.263 | |
| 40 | 0.014 | 0.055 | 0.285 |

Keterangan: Tulisan berwarna merah: signifikan

Dari dilakukannya uji ini dapat disimpulkan bahwa terdapat perbedaan gambaran histopatologi paru tikus betina yang signifikan antara dosis kontrol dengan dosis 40 mg/kgBB.

- **Uji nonparametrik Mann-Whitney Test antar jenis kelamin**

Uji ini digunakan jika salah satu atau kedua data menunjukkan terdistribusi secara tidak normal ataupun tidak homogen. Uji ini akan menunjukkan jika ada perbedaan statistik

yang signifikan diantara kelompok jenis kelamin dalam satu kelompok dosis yang sama.

Dari hasil yang didapatkan menunjukkan bahwa terdapat perbedaan yang signifikan antara tikus jantan dengan betina hanya pada dosis 20 mg/kgBB dan dosis 40 mg/kgBB.

Tabel 5.8 Data Uji *Mann Whitney Test* Antar Jenis Kelamin Pada Parameter Jumlah Aktivasi BALT Histopatologi Paru Tikus

| Dosis | Uji Mann Whitney | Keterangan |
|------------|------------------|------------------|
| Kontrol | 0,083 | Tidak Signifikan |
| 10 mg/kgBB | 0,471 | Tidak Signifikan |
| 20 mg/kgBB | 0,012 | Signifikan |
| 40 mg/kgBB | 0,008 | Signifikan |

BAB VI

Pembahasan

Sesuai dengan hipotesis penelitian yang telah diungkapkan pada bab sebelumnya, bahwa penelitian ini akan membuktikan ada atau tidaknya perubahan yang bermakna antara pemberian ekstrak etanol ubi jalar ungu (*Ipomoea batatas L.*) dengan berat relatif paru serta gambaran histopatologi organ paru (aktivasi BALT) pada *Rattus norvegicus* galur wistar dalam jangka waktu pemberian 90 hari.

6.1 Hasil Pemberian Ekstrak Etanol Ubi Jalar Ungu (*Ipomoea batatas L.*) terhadap Berat Relatif Paru *Rattus Norvegicus* strain wistar

Berat relatif organ merupakan indeks penting untuk melihat keadaan fisiologis dan patologis organ tubuh hewan coba setelah paparan bahan toksik. Berat relatif digunakan karena dianggap hasilnya lebih stabil dibandingkan dengan hanya berat organ paru. Karena dengan membandingkan berat organ dengan berat badan tikus akan dapat dilihat kesesuaian antara berat organ dan berat badan tikus, apakah normal atau tidak. Berat relatif organ merupakan hal yang mendasar untuk mendiagnosis ada tidaknya kerusakan organ karena reaksi metabolisme bahan toksik. Berat relatif organ ini diperoleh dari hasil berat organ basah terhadap berat badan tikus (Jothy *et al.*, 2011).

Pada penelitian sebelumnya didapatkan data yang bervariasi terkait dengan adanya peningkatan berat relatif organ paru di dalam suatu uji toksisitas. Penelitian yang dilakukan oleh Tanri, N (2011) menunjukkan bahwa terdapat

peningkatan berat paru yang signifikan yang sebanding dengan penambahan dosis produk yang diberikan dalam jangka waktu pemberian 90 hari. Tetapi juga terdapat penelitian lain yang memaparkan bahwa efek antioksidan dalam antosianin pada ekstrak etanol ubi ungu ini dapat memulihkan kerusakan-kerusakan jaringan tubuh pasca radiasi, sehingga berat badan juga akan meningkat (Fan *et al*, 2012)

Berdasarkan data berat relatif paru yang didapatkan dalam penelitian ini, sesuai dengan tabel 5.4 menunjukkan bahwa pada tikus jantan maupun tikus betina mengalami perbedaan yang signifikan hanya pada dosis 10 mg/kgBB terhadap dosis kontrol dengan nilai $p = 0,096$ untuk tikus jantan dan $p = 0,019$ untuk tikus betina (dinilai dari $p < 0,05$). Untuk data rerata berat relatif paru, terdapat peningkatan sesuai dengan peningkatan dosis yang diberikan, namun tidak berbeda secara uji statistik. Hasil data pada tikus jantan menunjukkan pada dosis 40 mg/kgBB ($9,87 \times 10^{-3} \pm 5,07 \times 10^{-3}$) jika dibandingkan dengan dosis kontrol ($8,61 \times 10^{-3} \pm 5,68 \times 10^{-3}$), dosis lainnya juga lebih rendah. Sedangkan, pada tikus betina rerata berat organ paru tetap meningkat sesuai dengan dosis, tetapi dosis kontrol mempunyai rerata tertinggi ($8,59 \times 10^{-3} \pm 3,48 \times 10^{-3}$) dibandingkan dengan dosis lainnya.

Pada beberapa penelitian sebelumnya, seperti penelitian yang dilakukan oleh Marice Sihombing dan Raflizar (2010) pada tikus putih didapatkan bahwa peningkatan berat organ paru pada tikus putih sesuai dengan bertambahnya umur hewan tersebut. Selain itu, di dalam pakan tikus berupa susu pap juga terkandung berbagai nutrisi seperti karbohidrat, protein, lemak, serta air yang tidak dapat disingkirkan pengaruhnya terhadap peningkatan berat organ.

Sehingga, penambahan berat badan serta berat organ pada tikus *rattus norvegicus* dalam penelitian ini juga bisa disebabkan oleh berbagai faktor tidak hanya oleh kandungan antosianin yang terdapat pada ekstrak etanol ubi ungu kultivar Gunung Kawi tersebut.

6.2 Hasil Pemberian Ekstrak Etanol Ubi Jalar Ungu (*Ipomoea batatas L.*) terhadap Gambaran Aktivasi BALT (*Bronchus Associated Lymphoid Tissue*) Paru *Rattus Norvegicus* strain wistar

Organ paru dari tikus laboratorium merupakan salah satu organ yang mudah mengalami kelainan patologis. Lesio yang ditemukan pada organ paru dapat disebabkan akibat berbagai macam etiologi. Kelainan kongenital dapat menunjukkan kondisi patologis seperti hipoplasia jaringan paru, namun hal kelainan kongenital pada paru tikus jarang ditemukan. Penyebab lain kondisi patologis yang sering ditemukan yaitu akibat agen infeksius, seperti bakteri dan virus yang menyerang organ paru tikus dapat menyebabkan kondisi inflamasi hingga nekora paru. Kondisi inflamasi pada umumnya dapat dikaitkan dengan berbagai tanda-tanda yang dapat dilihat pada pengamatan histopatologis (Herbert *et al.* 2017).

Pada penelitian ini, ditentukan bahwa parameter untuk melihat tanda peradangan pada sel paru yaitu dengan melihat ada tidaknya aktivasi *Bronchus Associated Lymphoid Tissue* (BALT), yang merupakan jaringan limfoid pertahanan mukosa yang ditemukan di sekitar saluran pernapasan tersusun sebagai fokus sistem pertahanan lokal (Randall 2010). Peradangan pada organ paru-paru berhubungan erat dengan sistem pertahanan lokal paru-paru, BALT ini sendiri terdiri dari agregat limfosit yang mengandung sel limfosit B dan sel limfosit

T (Renne *et al.* 2009). BALT dapat ditemukan di berbagai spesies mamalia termasuk tikus, namun tidak di seluruh mamalia. Aktivasi BALT dapat disebabkan karena hadirnya mikroorganisme atau benda asing yang masuk ke dalam saluran pernapasan yang memberikan stimulasi sehingga limfosit di dalam agregat BALT berproliferasi untuk membentuk pertahanan (Randall 2010).

Terkait dengan adanya aktivasi BALT yang ditemukan pada histopatologi paru rattus norvegicus pada penelitian ini sesuai dengan penelitian sebelumnya yang dilakukan dalam jangka waktu 90 hari oleh Utama (2018), menunjukkan bahwa terdapat aktivasi BALT di dalam sampel dengan PA radang kronis noduler dengan presentase 78,95% yang sebelumnya ini tidak ditemukan di dalam sampel dengan PA radang akut eksudatif. Gambaran ini terjadi karena dalam keadaan akut, sel-sel pertahanan di dalam BALT belum sempat melakukan proliferasi sehingga BALT mengalami deplesi, sedangkan pada keadaan kronis, peradangan telah berjalan cukup lama sehingga sel-sel pertahanan di dalam BALT dapat merespon dengan berproliferasi sehingga gambaran yang ditunjukkan berupa aktivasi BALT.

Berdasarkan hasil pengamatan terhadap aktivasi BALT pada histopatologi paru tikus, sesuai dengan tabel 5.7 didapatkan bahwa adanya perbedaan gambaran BALT signifikan pada tikus betina hanya pada dosis 40 mg/kgBB terhadap dosis kontrol. Pada data rerata, terdapat kenaikan yang cukup berarti pada tikus betina sesuai dengan meningkatnya dosis yang diberikan.

Pada tikus jantan, terdapat sedikit peningkatan pada dosis 10 mg/kgBB tetapi tidak terlalu berarti.

Untuk peningkatan data rerata adanya aktivasi BALT pada tikus betina yang menunjukkan terdapat perbedaan yang signifikan dapat disebabkan karena adanya peran hormon estrogen sebagai modulator imun. Pada penelitian sebelumnya yaitu penelitian yang melihat hubungan respon imun pada tikus betina yang hormon estrogennya telah dimodulasi menunjukkan bahwa pada tikus betina yang diberi perlakuan ovariectomi mendapat hasil yang signifikan untuk penurunan proliferasi limfosit dibandingkan dengan tikus yang dilakukan *sham-operated* (operasi palsu). Sedangkan, pada tikus betina yang diberikan pelet estrogen selama 30 hari menunjukkan hasil signifikan untuk peningkatan proliferasi limfosit dibandingkan dengan tikus yang hanya diberikan plasebo. Suplementasi estrogen akan meningkatkan kadar serum estradiol yang juga akan bertanggung jawab untuk perubahan pada respon inflamasi dan respon imun didapat.

Dibuktikan bahwa dosis estrogen yang diberikan pada tikus betina tersebut salah satunya dapat meningkatkan formasi *malondialdehyde* (MDA). MDA merupakan salah satu produk akhir dari proses peroksidasi *polyunsaturated fatty acids* (PUFA) dalam sel. Kadar MDA ini umumnya dipakai untuk *marker* dari stres oksidatif (keadaan dimana kadar radikal bebas dalam tubuh melebihi kapasitas tubuh untuk menetralkannya) serta status antioksidan pada pasien pengidap kanker. Pembentukan radikal bebas yang diinduksi oleh hormon estrogen yang diukur melalui peroksidasi lipid menunjukkan bahwa paparan estrogen yang berkepanjangan dapat menyebabkan dampak negatif yang mengakibatkan defisit dalam interaksi neuroendokrinimun pada kelenjar getah bening. Jika tubuh berada dalam kondisi stres oksidatif maka menyebabkan terjadinya produksi berlebih dari MDA. Pembentukan MDA secara berlebihan

tersebut dapat mempercepat proses penuaan yang mengganggu fungsi kekebalan tubuh dan fungsi seluler lainnya sehingga dapat mengakibatkan adanya perkembangan defek atau penyakit khusus pada tikus betina. (Pratap *et al*, 2015).

6.3 Keterbatasan Penelitian

Dalam penelitian ini ditemukan kendala dan keterbatasan peneliti yang mungkin dapat memengaruhi validitas dari hasil penelitian.

Pertama, adanya sejumlah tujuh tikus mati dalam penelitian ini yang dapat disebabkan oleh berbagai faktor yang terkait, seperti keadaan kesehatan baik fisik maupun mental tikus sejak awal kedatangan yang berbeda-beda dan tidak dapat dipastikan 100% keabsahannya. Selanjutnya, dosis yang digunakan dalam penelitian ini merupakan dosis yang tergolong kecil (10, 20, dan 40 mg/kgBB). Tetapi, menurut BPOM (2014) dikatakan jika ingin memastikan bahwa ekstrak etanol ubi jalar ungu ini aman dikonsumsi perlu dilanjutkan hingga dosis uji tertinggi yaitu 1000 mg/kgBB. Selain itu, tidak adanya data berat organ paru awal dari tikus atau data dari penelitian sebelumnya dapat mengurangi penentuan data peningkatan berat organ paru.

BAB VII

Penutup

7.1 Kesimpulan

1. Pemberian ekstrak etanol ubi ungu (*Ipomoea batatas* L.) kultivar Gunung Kawi hanya pada dosis 10mg/kgBB yang berpengaruh secara signifikan terhadap dosis kontrol pada perubahan berat relatif paru *Rattus norvegicus* strain Wistar setelah pemaparan ekstrak etanol selama 90 hari.
2. Pemberian ekstrak etanol ubi ungu (*Ipomoea batatas* L.) kultivar Gunung Kawi hanya pada dosis 40mg/kgBB yang berpengaruh secara signifikan terhadap dosis kontrol pada histopatologi paru *Rattus norvegicus* strain Wistar dilihat dari parameter jumlah aktivasi BALB setelah pemaparan ekstrak etanol selama 90 hari.

7.2 Saran

Terdapat beberapa hal yang perlu dilakukan untuk menindaklanjuti penelitian ini:

1. Perlu dilakukan penelitian lebih lanjut uji toksisitas ekstrak etanol ubi ungu (*Ipomoea batatas* L.) kultivar Gunung Kawi terhadap *Rattus norvegicus* dengan dosis yang lebih tinggi hingga 1000mg/kgBB agar dapat lebih diketahui ada atau tidaknya efek toksik ekstrak etanol ubi ungu serta dapat mengetahui berapa dosis LD₅₀ ekstrak etanol ubi ungu.
2. Perlu dilakukan penelitian lebih lanjut uji toksisitas ekstrak etanol ubi ungu (*Ipomoea batatas* L.) kultivar Gunung Kawi terhadap *Rattus norvegicus* dengan pengamatan histopatologi imunohistokimia organ

sehingga tanda-tanda toksik yang mungkin muncul dapat terdeteksi

lebih jelas.

3. Perlu ditambahkan kelompok satelit pada penelitian selanjutnya yang tetap dipelihara selama 30 hari setelah pemberian sediaan uji (90 hari) dihentikan untuk melihat reversibilitas dari efek toksik yang mungkin timbul.



DAFTAR PUSTAKA

Andarwulan, N. dan Faradilla, RH.F. (2012). Pewarna Alami Untuk Pangan. Seafast Center Bogor.

Badan Pengawas Obat dan Makanan. 2014. Peraturan Kepala Badan Pengawas Obat dan Makanan Republik Indonesia Nomor 7 Tahun 2014 tentang Pedoman Uji Toksisitas Nonklinik secara In Vivo. Jakarta. 1990.

Chen P.N., Chu S.C., Chiou H.L., Kuo W.H., Chiang C.L., Hsieh Y.S. 2005. Mulberry anthocyanins, cyanidin 3-rutinoside and cyanidin 3-glucoside, exhibited an inhibitory effect on the migration and invasion of a human lung cancer cell line. Elsevier Volume 235 Issue 2. <https://doi.org/10.1016/j.canlet.2005.04.033>.

Fan Z.L., Wang Z.Y., Tian S.Q. Protective Effect of Anthocyanins from Lingonberry on Radiation-induced Damages. *Int. J. Environ. Res. Public Health*. 2012; 9: 4732-4743.

Foo SY, Phipps S. 2010. Regulation of inducible BALT formation and contribution to immunity and pathology. *Mucosal Immunology* 3(6):537–544. DOI: 10.1038/mi.2010.52.

Hardoko, H., dkk. Pemanfaatan Ubi Jalar Ungu (*Ipomoea batatas* L. Poir) sebagai Pengganti Sebagian Tepung Terigu dan Sumber Antioksidan pada Roti Tawar. *J. Teknol dan Industri Pangan UPH*. 2010. 21 (1): 25-32.

He W, Zhang W, Cheng C, Li J, Wu X, Li M, Chen Z, Wang W. 2019. The distributive and structural characteristics of bronchus-associated lymphoid tissue (BALT) in Bactrian camels (*Camelus bactrianus*). *PeerJ* 7:e6571. <http://doi.org/10.7717/peerj.6571>.

Herbert RA, Janardhan KS, Pandiri AR, Cesta MF, Chen V, Miller RA. 2017. Lung, pleura, and mediastinum. Di dalam: Suttie A, Leininger JR, Bradley AE, editor. *Boorman's Pathology of the Rat. 2nd Edition*. London (UK): Elsevier Inc. Hlm 437-466.

Husna N. E., Novita M., Rohaya S. Kandungan Antosianin dan Aktivitas Antioksidan Ubi Jalar Ungu Segar dan Produk Olahannya. *Agritech IPB*. 2013. 33 (3): 296-302.

Hwang JY, Randall TD, Silva-Sanchez A. 2016. Inducible Bronchus-Associated Lymphoid Tissue: taming inflammation in the lung. *Frontiers in Immunology* 7:Article 258 DOI 10.3389/fimmu.2016.00258.

Ipomoea batatas (L.) Lam. Diakses [16 Desember 2018], dari database online Integrated Taxonomic Information System, <http://www.itis.gov>.

Jothy, Zakaria, Chen, Yee Ling Lau, Latha dan Sasidhran, 2011. Acute Oral Toxicity of Methanolic Extract of Cassia Fistula in Mice. *Molecules* 2011,16, 5268-5282.

Junior RLR, Carvalho LRD, Cataneo AJM. 2005. Compensatory lung growth: protein, DNA and RNA lung contents in undernourished trilobectomized rats. *Acta Cirúrgica Brasileira*. 20(3): 219-224.

Kubiak, B. D., dkk (2010). Peritoneal Negative Pressure Therapy Prevents Multiple Organ Injury in a Chronic Porcine Sepsis and Ischemia/Reperfusion model. Department of Surgery, Upstate University Hospital, Syracuse, NY and Department of Biological Sciences, SUNY Cortland, Cortland NY.

Laszlo, K. (2015). Anthocyanins. Departement of Pharmacognosy, Semmelweis University.

Maharani, T., Sargowo, D. Anthocyanin Effect from Purple Ipomoea Batatas Decrease Formation CD40L, NFkB, and MDA in Inflammation Aterogenesis. *International Journal of Science and Technology*. 2011, 1 (2): 9-15.

Mahmudatussa'adah A., dkk. (2014) Karakterisitik Warna dan Aktivitas Antioksidan Antosianin Ubi Jalar Ungu. *SEAFast Center, Institut Pertanian Bogor*. 25 (2), pp. 176-184. doi: 10.6066/jtip.2014.25.2.176

Maina JN. 2002. Fundamental structure aspects and features in the bioengineering of the gas exchangers: comparatives perspectives. *Adv Anat Emrby Cell Biol*. 163:1-108.

Pervaiz, T., dkk. (2017) Naturally Occurring Anthocyanin, Structure, Functions, and Biosynthetic Pathway in Fruit Plants. *Journal of Plant Biochemistry & Physiology* doi: 10.4172/2329-9029.1000187

Peterson DA, McNulty NP, Guruge JL, Gordon JI. 2007. IgA response to symbiotic bacteria as a mediator of gut homeostasis. *Cell Host and Microbe* 2(5):328–339. DOI 10.1016/j.chom.2007.09.013.

Ping, Y. K., dkk.(2013). Acute and Subchronic Toxicity Study of Euphorbia hirta L. Methanol Extract in Rats. *BioMed Research International* Vol. 2013. 182064.

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

Pratap UP., Sharma HR., Mohanty A., Kale P., Gopinath S., Hima L., Priyanka HP., ThyagaRajan S. Estrogen upregulates inflammatory signals through

NF- κ B, IFN- γ , and nitric oxide via Akt/mTOR pathway in the lymph node lymphocytes of middle-aged female rats. Integrative Medicine Laboratory, SRM University, India. 2015; <https://doi.org/10.1016/j.intimp.2015.09.024>.

Pojer, E., Mattivi, F., Johnson, D., Stockley, C.S. (2013). The Case for Anthocyanin Consumption to Promote Human Health: a Review. *The Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety*, 12:483-508.

Randall TD. 2010. *Bronchus-associated lymphoid tissue (BALT) structure and function*. *Adv Immunol*. 107: 184-241.

Renne RA, Dungworth DL, Keenan CM, Morgan KT, Hahn FF, Schwartz LW. 2009. Proliferative and nonproliferative lesions of the rat and mouse respiratory tract. *Toxicol Pathol*. 37(7): 5S-73S.

Sihombing M, Rafizlar. Status Gizi dan Fungsi Hati Mencit (Galur CBS-Swiss) dan Tikus Putih (Galur Wistar) di Laboratorium Hewan Percobaan Puslitbang Biomedis dan Farmasi. *Media Litbang Kesehatan*. 2010;XX(1):33-40.

Sugata M., Lin CY., Shih YC. (2015) Anti Inflammatory and Anticancer Activities of Taiwanese Purple-Fleshed Sweet Potatoes (*Ipomoea batatas* L. Lam) Extracts. *Biomed Research International*, pp 1-10. doi: 10.1155/2015/768093.

Tanri NP. Uji Toksisitas Oral Akut dan Subkronik Produk Pangan BPPT yang In Vitro Meningkatkan Respon Imun Tubuh. Skripsi. Tidak Diterbitkan. Universitas Indonesia. Jakarta. 2011.

Treuting, P.M. dan Suzanne. D. 2018. *Comparative Anatomy and Histology: a Mouse and Human Atlas Second Edition*.

Utama GA. Kejadian Alami Perubahan Patologi Organ Paru-Paru Tikus Putih (*Rattus norvegicus*) yang Digunakan sebagai Hewan Percobaan. Skripsi. Diterbitkan. Institut Pertanian Bogor. Bogor. 2018.


Wang L.S., Stoner G.D. 2008. Anthocyanins and their role in cancer prevention. Department of Internal Medicine and Comprehensive Cancer Center, Ohio State University, College of Medicine, Columbus, OH 43210 USA.

Wirasuta I. M. A. dan Rasmaya N. 2006. Toksikologi Umum. Bali: Laboratorium Kimia Forensik, Jurusan Kimia Fakultas MIPA Universitas Udayana.

Yoo K. M., Al-Farsi M., Lee H., Yoon H., Lee C. Y. 2010. Antiproliferative effects of cherry juice and wine in Chinese hamster lung fibroblast cells and their phenolic constituents and antioxidant activities. Elsevier Volume 123 Issue 3. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2010.05.043>.

LAMPIRAN

Lampiran 1. Kandungan Susu Pap (Pellet Carf Starter)



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 | |
| | : 363 kkal | |
| | : 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 2. Ethical Clearance



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. Violra Ersita Putri Fanda |
| 7. Azzura Jasmine Simanulang | 17. Shanine Reilinvia |
| 8. Sahla Rizqiyah Andani | 18. Nur Laila Putri Widiani |
| 9. Syifa Chairinisa Karim | 19. Theodore Isaac Molandro |
| 10. Meilyn 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. Mochamad Hidayat ES, SpS, SpBS(K), SH, M.Hum, Dr(Hk)
 NIK. 160746683

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 3. Surat Keterangan Lahir 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 80 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 : 38 Hari (5 Minggu 3 Hari)
 Tanggal Lahir : 25 Juli 2018
 Berat Badan Saat dikirim :150 gr-180 gr
 Jenis Kelamin : 40 ekor betina, 40 ekor jantan

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

Hormat Kami



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



Lampiran 4. Data Berat Relatif Paru Tikus

• Jantan

| Kode | Berat Paru (gram) | BB Terakhir (gram) | Berat relatif |
|------|-------------------|--------------------|---------------|
| KJA | 1,9 | 319 | 0,005956113 |
| KJB | 1,79 | 358 | 0,005 |
| KJC | 1,84 | 269 | 0,006840149 |
| KJD | 2,2 | 210 | 0,01047619 |
| KJE | 1,89 | 297 | 0,006363636 |
| KJF | 1,36 | 202 | 0,006732673 |
| KJG | 3,28 | 289 | 0,011349481 |
| KJH | 1,61 | 337 | 0,004777448 |
| KJI | 4,7 | 200 | 0,0235 |
| KJJ | 1,65 | 321 | 0,005140187 |
| 1JA | 1,61 | 299 | 0,005385 |
| 1JB | 1,63 | 320 | 0,005094 |
| 1JC | 1,67 | 371 | 0,004501 |
| 1JD | 1,69 | 332 | 0,00509 |
| 1JE | 2,01 | 299 | 0,006722 |
| 1JF | 1,58 | 371 | 0,004259 |
| 1JG | 2,15 | 315 | 0,006825 |
| 1JH | 1,51 | 329 | 0,00459 |
| 1JI | 1,52 | 270 | 0,00563 |
| 1JJ | 2,2 | 304 | 0,007237 |
| 2JA | 1,61 | 243 | 0,006626 |
| 2JB | 1,39 | 338 | 0,004112 |
| 2JC | 1,83 | 327 | 0,005596 |
| 2JD | 1,47 | 260 | 0,005654 |
| 2JE | 1,8 | 307 | 0,005863 |
| 2JF | 1,78 | 290 | 0,006138 |
| 2JG | 2,29 | 287 | 0,007979 |
| 2JH | 1,64 | 288 | 0,005694 |
| 2JI | 2,71 | 297 | 0,009125 |
| 2JJ | 2,1 | 348 | 0,006034 |
| 4JA | 1,73 | 311 | 0,005563 |
| 4JB | 2,22 | 339 | 0,006549 |
| 4JC | 1,67 | 268 | 0,006231 |
| 4JD | 3,08 | 225 | 0,013689 |
| 4JE | 1,71 | 273 | 0,006264 |
| 4JF | 4,68 | 250 | 0,01872 |
| 4JG | 3,25 | 294 | 0,011054 |



| | | | |
|-----|------|-----|----------|
| 4JH | 4,25 | 242 | 0,017562 |
| 4JI | 2,03 | 293 | 0,006928 |
| 4JJ | 1,87 | 303 | 0,006172 |

• Betina

| Kode | Berat Paru (gram) | BB Terakhir (gram) | Berat relatif |
|------|-------------------|--------------------|---------------|
| KBA | 1,84 | 200 | 0,0092 |
| KBB | 1,64 | 185,5 | 0,008841 |
| KBC | 1,42 | 215 | 0,006605 |
| KBD | 1,27 | 176 | 0,007216 |
| KBE | 1,88 | 282,5 | 0,006655 |
| KBF | 2,91 | 161 | 0,018075 |
| KBG | 1,18 | 192 | 0,006146 |
| KBH | 1,86 | 241,5 | 0,007702 |
| KBI | 2,1 | 244 | 0,008607 |
| KBJ | 1,49 | 215,5 | 0,006914 |
| 1BA | 1,32 | 227,5 | 0,005802198 |
| 1BB | 1,53 | 240 | 0,006375 |
| 1BC | 1,24 | 209,5 | 0,005918854 |
| 1BD | 1,19 | 216,5 | 0,005496536 |
| 1BE | 1,42 | 229 | 0,006200873 |
| 1BF | 1,55 | 232,5 | 0,006666667 |
| 1BG | 1,6 | 232,5 | 0,00688172 |
| 1BH | 1,59 | 245,5 | 0,006476578 |
| 1BI | 2,5 | 189,5 | 0,013192612 |
| 1BJ | 1,34 | 214,5 | 0,006247086 |
| 2BA | 1,88 | 253,5 | 0,007416174 |
| 2BB | 1,89 | 220 | 0,008590909 |
| 2BC | 1,47 | 219,5 | 0,006697039 |
| 2BD | 1,14 | 195,5 | 0,005831202 |
| 2BE | 1,24 | 203,5 | 0,006093366 |
| 2BF | 1,44 | 215 | 0,006697674 |
| 2BG | 1,32 | 120 | 0,011 |
| 2BH | 1 | 165,5 | 0,006042296 |
| 2BI | 1,28 | 173 | 0,007398844 |
| 2BJ | 1,34 | 180,5 | 0,007423823 |
| 4BA | 1,58 | 229 | 0,006899563 |
| 4BB | 1,74 | 217,5 | 0,008 |
| 4BC | 1,94 | 208 | 0,009326923 |
| 4BD | 2,22 | 229,5 | 0,009673203 |



| | | | |
|-----|------|-------|-------------|
| 4BE | 1,52 | 209,5 | 0,00725537 |
| 4BF | 1,78 | 193,5 | 0,009198966 |
| 4BG | 1,23 | 160,5 | 0,007663551 |
| 4BH | 1,79 | 212,5 | 0,008423529 |
| 4BI | 1,22 | 192 | 0,006354167 |
| 4BJ | 1,43 | 180,5 | 0,007922438 |



Lampiran 5. Data Jumlah Aktivasi BALT pada Gambaran Histopatologi Paru Tikus

| Jantan | A | B | C | D | E | F | G | H | I | J |
|----------------|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| Kontrol | 1 | 3 | 1 | 1 | 0 | 1 | 1 | 1 | 2 | 2 |
| 10 | 2 | 2 | 2 | 3 | 4 | 3 | 2 | 3 | 2 | 6 |
| 20 | 1 | 3 | 1 | 0 | 2 | 1 | 2 | 2 | 4 | 5 |
| 40 | 2 | 5 | 5 | 0 | 0 | 3 | 1 | 2 | 3 | 4 |

| Betina | A | B | C | D | E | F | G | H | I | J |
|----------------|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| Kontrol | 1 | 5 | 0 | 2 | 2 | 2 | 5 | 8 | 3 | 1 |
| 10 | 3 | 4 | 2 | 4 | 2 | 5 | 2 | 3 | 9 | 2 |
| 20 | 9 | 4 | 4 | 3 | 7 | 2 | 2 | 3 | 7 | 6 |
| 40 | 9 | 8 | 2 | 3 | 8 | 8 | 3 | 5 | 6 | 7 |

Lampiran 6. Uji Normalitas Berat Relatif Paru Tikus

• Jantan

Tests of Normality

| | dosis | Kolmogorov-Smirnov ^a | | | Shapiro-Wilk | | |
|--------------------|----------|---------------------------------|----|-------|--------------|----|------|
| | | Statistic | df | Sig. | Statistic | df | Sig. |
| beratrelatifjantan | kontrol | ,322 | 10 | ,004 | ,682 | 10 | ,001 |
| | dosis 10 | ,171 | 10 | ,200* | ,906 | 10 | ,256 |
| | dosis 20 | ,241 | 10 | ,102 | ,895 | 10 | ,192 |
| | dosis 40 | ,319 | 10 | ,005 | ,787 | 10 | ,010 |

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

a. Lilliefors Significance Correction

Descriptives

| | dosis | Statistic | Std. Error |
|--------------------|---|-----------|------------|
| beratrelatifjantan | Mean | ,0086 | ,00180 |
| | 95% Confidence Interval for Lower Bound | ,0045 | |
| | Mean Upper Bound | ,0127 | |
| | 5% Trimmed Mean | ,0080 | |
| | Median | ,0065 | |
| | Variance | ,000 | |
| | kontrol Std. Deviation | ,00569 | |
| | Minimum | ,00 | |
| | Maximum | ,02 | |
| | Range | ,02 | |
| | Interquartile Range | ,01 | |
| | Skewness | 2,368 | ,687 |
| | Kurtosis | 6,044 | 1,334 |
| | Mean | ,0055 | ,00033 |
| dosis 10 | 95% Confidence Interval for Lower Bound | ,0048 | |
| | Mean Upper Bound | ,0063 | |
| | 5% Trimmed Mean | ,0055 | |
| | Median | ,0052 | |
| | Variance | ,000 | |
| | Std. Deviation | ,00105 | |
| | Minimum | ,00 | |





| | | | | | |
|--|----------|-----------------------------|-------------|--------|--------|
| | | Maximum | | ,01 | |
| | | Range | | ,00 | |
| | | Interquartile Range | | ,00 | |
| | | Skewness | | ,547 | ,687 |
| | | Kurtosis | | -1,175 | 1,334 |
| | | Mean | | ,0063 | ,00044 |
| | | 95% Confidence Interval for | Lower Bound | ,0053 | |
| | | Mean | Upper Bound | ,0073 | |
| | | 5% Trimmed Mean | | ,0062 | |
| | | Median | | ,0059 | |
| | | Variance | | ,000 | |
| | dosis 20 | Std. Deviation | | ,00138 | |
| | | Minimum | | ,00 | |
| | | Maximum | | ,01 | |
| | | Range | | ,01 | |
| | | Interquartile Range | | ,00 | |
| | | Skewness | | ,880 | ,687 |
| | | Kurtosis | | 1,379 | 1,334 |
| | | Mean | | ,0099 | ,00160 |
| | | 95% Confidence Interval for | Lower Bound | ,0062 | |
| | | Mean | Upper Bound | ,0135 | |
| | | 5% Trimmed Mean | | ,0096 | |
| | | Median | | ,0067 | |
| | | Variance | | ,000 | |
| | dosis 40 | Std. Deviation | | ,00507 | |
| | | Minimum | | ,01 | |
| | | Maximum | | ,02 | |
| | | Range | | ,01 | |
| | | Interquartile Range | | ,01 | |
| | | Skewness | | ,974 | ,687 |
| | | Kurtosis | | -,744 | 1,334 |

• **Betina**

Tests of Normality

| | dosis | Kolmogorov-Smirnov ^a | | | Shapiro-Wilk | | |
|--------------------|----------|---------------------------------|----|-------|--------------|----|------|
| | | Statistic | df | Sig. | Statistic | df | Sig. |
| beratrelatifbetina | kontrol | ,331 | 10 | ,003 | ,643 | 10 | ,000 |
| | dosis 10 | ,408 | 10 | ,000 | ,547 | 10 | ,000 |
| | dosis 20 | ,273 | 10 | ,033 | ,830 | 10 | ,033 |
| | dosis 40 | ,149 | 10 | ,200* | ,965 | 10 | ,838 |

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

a. Lilliefors Significance Correction

Descriptives

| | dosis | Statistic | Std. Error | |
|--------------------|----------------------------------|----------------------------------|------------|--------|
| beratrelatifbetina | Mean | ,0086 | ,00110 | |
| | 95% Confidence Interval for Mean | | | |
| | Lower Bound | ,0061 | | |
| | Upper Bound | ,0111 | | |
| | 5% Trimmed Mean | ,0082 | | |
| | Median | ,0075 | | |
| | Variance | ,000 | | |
| | Std. Deviation | ,00349 | | |
| | Minimum | ,01 | | |
| | Maximum | ,02 | | |
| | Range | ,01 | | |
| | Interquartile Range | ,00 | | |
| | Skewness | 2,662 | ,687 | |
| | Kurtosis | 7,669 | 1,334 | |
| kontrol | Mean | ,0069 | ,00071 | |
| | 95% Confidence Interval for Mean | | | |
| | Lower Bound | ,0053 | | |
| | Upper Bound | ,0085 | | |
| | 5% Trimmed Mean | ,0067 | | |
| | Median | ,0063 | | |
| | Variance | ,000 | | |
| | Std. Deviation | ,00224 | | |
| | Minimum | ,01 | | |
| | Maximum | ,01 | | |
| | dosis 10 | Mean | ,0069 | ,00071 |
| | | 95% Confidence Interval for Mean | | |
| | | Lower Bound | ,0053 | |
| | | Upper Bound | ,0085 | |
| 5% Trimmed Mean | | ,0067 | | |
| Median | | ,0063 | | |
| Variance | | ,000 | | |
| Std. Deviation | | ,00224 | | |
| Minimum | | ,01 | | |
| Maximum | | ,01 | | |



| | | | | |
|----------|-----------------------------|-------------|--------|--------|
| | Range | | ,01 | |
| | Interquartile Range | | ,00 | |
| | Skewness | | 2,964 | ,687 |
| | Kurtosis | | 9,099 | 1,334 |
| | Mean | | ,0073 | ,00049 |
| | 95% Confidence Interval for | Lower Bound | ,0062 | |
| | Mean | Upper Bound | ,0084 | |
| | 5% Trimmed Mean | | ,0072 | |
| | Median | | ,0070 | |
| | Variance | | ,000 | |
| dosis 20 | Std. Deviation | | ,00154 | |
| | Minimum | | ,01 | |
| | Maximum | | ,01 | |
| | Range | | ,01 | |
| | Interquartile Range | | ,00 | |
| | Skewness | | 1,686 | ,687 |
| | Kurtosis | | 3,301 | 1,334 |
| | Mean | | ,0081 | ,00035 |
| | 95% Confidence Interval for | Lower Bound | ,0073 | |
| | Mean | Upper Bound | ,0089 | |
| | 5% Trimmed Mean | | ,0081 | |
| | Median | | ,0080 | |
| | Variance | | ,000 | |
| dosis 40 | Std. Deviation | | ,00109 | |
| | Minimum | | ,01 | |
| | Maximum | | ,01 | |
| | Range | | ,00 | |
| | Interquartile Range | | ,00 | |
| | Skewness | | ,028 | ,687 |
| | Kurtosis | | -,992 | 1,334 |



Lampiran 7. Uji Homogenitas Berat Relatif Paru Tikus

• Jantan

Test of Homogeneity of Variances

| beratrelatifjantan | | | |
|--------------------|-----|-----|------|
| Levene Statistic | df1 | df2 | Sig. |
| 6,272 | 3 | 36 | ,002 |

Descriptives

| beratrelatifjantan | | | | | | | | |
|--------------------|----|-------|----------------|------------|----------------------------------|-------------|---------|---------|
| | N | Mean | Std. Deviation | Std. Error | 95% Confidence Interval for Mean | | Minimum | Maximum |
| | | | | | Lower Bound | Upper Bound | | |
| | | | | | kontrol | 10 | | |
| dosis 10 | 10 | ,0055 | ,00105 | ,00033 | ,0048 | ,0063 | ,00 | ,01 |
| dosis 20 | 10 | ,0063 | ,00138 | ,00044 | ,0053 | ,0073 | ,00 | ,01 |
| dosis 40 | 10 | ,0099 | ,00507 | ,00160 | ,0062 | ,0135 | ,01 | ,02 |
| Total | 40 | ,0076 | ,00415 | ,00066 | ,0062 | ,0089 | ,00 | ,02 |

• Betina

Test of Homogeneity of Variances

| beratrelatifbetina | | | |
|--------------------|-----|-----|------|
| Levene Statistic | df1 | df2 | Sig. |
| ,921 | 3 | 36 | ,440 |

Descriptives

| beratrelatifbetina | | | | | | | | |
|--------------------|----|-------|----------------|------------|----------------------------------|-------------|---------|---------|
| | N | Mean | Std. Deviation | Std. Error | 95% Confidence Interval for Mean | | Minimum | Maximum |
| | | | | | Lower Bound | Upper Bound | | |
| | | | | | kontrol | 10 | | |
| dosis 10 | 10 | ,0069 | ,00224 | ,00071 | ,0053 | ,0085 | ,01 | ,01 |
| dosis 20 | 10 | ,0073 | ,00154 | ,00049 | ,0062 | ,0084 | ,01 | ,01 |
| dosis 40 | 10 | ,0081 | ,00109 | ,00035 | ,0073 | ,0089 | ,01 | ,01 |
| Total | 40 | ,0077 | ,00228 | ,00036 | ,0070 | ,0085 | ,01 | ,02 |



Lampiran 8. Uji Nonparametrik *Kruskal Wallis Test Berat Relatif Paru Tikus*

• **Jantan**

| Test Statistics ^{a,b} | |
|--------------------------------|--------------------|
| | beratrelatifjantan |
| Chi-Square | 8,308 |
| df | 3 |
| Asymp. Sig. | ,040 |

a. Kruskal Wallis Test

b. Grouping Variable: dosis

| | Ranks | | |
|--------------------|----------|----|-----------|
| | dosis | N | Mean Rank |
| beratrelatifjantan | kontrol | 10 | 22,60 |
| | dosis 10 | 10 | 13,20 |
| | dosis 20 | 10 | 18,50 |
| | dosis 40 | 10 | 27,70 |
| | Total | 40 | |

• **Betina**

| Test Statistics ^{a,b} | |
|--------------------------------|--------------------|
| | beratrelatifbetina |
| Chi-Square | 9,812 |
| df | 3 |
| Asymp. Sig. | ,020 |

a. Kruskal Wallis Test

b. Grouping Variable: dosis

| | Ranks | | |
|--------------------|----------|----|-----------|
| | dosis | N | Mean Rank |
| beratrelatifbetina | kontrol | 10 | 24,20 |
| | dosis 10 | 10 | 11,90 |
| | dosis 20 | 10 | 18,80 |
| | dosis 40 | 10 | 27,10 |
| | Total | 40 | |



Lampiran 9. Uji Mann Whitney Test Berat Relatif Paru Tikus

- Antar Dosis Jantan

| Ranks | | | | |
|--------------------|----------|----|-----------|--------------|
| Brawijaya Un | dosis | N | Mean Rank | Sum of Ranks |
| | kontrol | 10 | 12,70 | 127,00 |
| beratrelatifjantan | dosis 10 | 10 | 8,30 | 83,00 |
| | Total | 20 | | |

| Test Statistics ^a | |
|--------------------------------|------------------------|
| | beratrelatifjanta n |
| Mann-Whitney U | 28,000 |
| Wilcoxon W | 83,000 |
| Z | -1,663 |
| Asymp. Sig. (2-tailed) | ,096 |
| Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)] | ,105 ^b |

a. Grouping Variable: dosis

b. Not corrected for ties.

| Ranks | | | | |
|--------------------|----------|----|-----------|--------------|
| | dosis | N | Mean Rank | Sum of Ranks |
| | kontrol | 10 | 11,60 | 116,00 |
| beratrelatifjantan | dosis 20 | 10 | 9,40 | 94,00 |
| | Total | 20 | | |

| Test Statistics ^a | |
|--------------------------------|------------------------|
| | beratrelatifjanta n |
| Mann-Whitney U | 39,000 |
| Wilcoxon W | 94,000 |
| Z | -,832 |
| Asymp. Sig. (2-tailed) | ,406 |
| Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)] | ,436 ^b |

a. Grouping Variable: dosis

b. Not corrected for ties.



Ranks

| | dosis | N | Mean Rank | Sum of Ranks |
|--------------------|----------|----|-----------|--------------|
| beratrelatifjantan | kontrol | 10 | 9,30 | 93,00 |
| | dosis 40 | 10 | 11,70 | 117,00 |
| | Total | 20 | | |

Test Statistics^a

| | beratrelatifjanta n |
|--------------------------------|------------------------|
| Mann-Whitney U | 38,000 |
| Wilcoxon W | 93,000 |
| Z | -,907 |
| Asymp. Sig. (2-tailed) | ,364 |
| Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)] | ,393 ^b |

a. Grouping Variable: dosis

b. Not corrected for ties.

Ranks

| | dosis | N | Mean Rank | Sum of Ranks |
|--------------------|----------|----|-----------|--------------|
| beratrelatifjantan | dosis 10 | 10 | 8,70 | 87,00 |
| | dosis 20 | 10 | 12,30 | 123,00 |
| | Total | 20 | | |

Test Statistics^a

| | beratrelatifjanta n |
|--------------------------------|------------------------|
| Mann-Whitney U | 32,000 |
| Wilcoxon W | 87,000 |
| Z | -1,361 |
| Asymp. Sig. (2-tailed) | ,174 |
| Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)] | ,190 ^b |

a. Grouping Variable: dosis

b. Not corrected for ties.



Ranks

| | dosis | N | Mean Rank | Sum of Ranks |
|--------------------|----------|----|-----------|--------------|
| beratrelatifjantan | dosis 10 | 10 | 7,20 | 72,00 |
| | dosis 40 | 10 | 13,80 | 138,00 |
| | Total | 20 | | |

Test Statistics^a

| | beratrelatifjanta n |
|--------------------------------|------------------------|
| Mann-Whitney U | 17,000 |
| Wilcoxon W | 72,000 |
| Z | -2,495 |
| Asymp. Sig. (2-tailed) | ,013 |
| Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)] | ,011 ^b |

a. Grouping Variable: dosis

b. Not corrected for ties.

Ranks

| | dosis | N | Mean Rank | Sum of Ranks |
|--------------------|----------|----|-----------|--------------|
| beratrelatifjantan | dosis 20 | 10 | 7,80 | 78,00 |
| | dosis 40 | 10 | 13,20 | 132,00 |
| | Total | 20 | | |

Test Statistics^a

| | beratrelatifjanta n |
|--------------------------------|------------------------|
| Mann-Whitney U | 23,000 |
| Wilcoxon W | 78,000 |
| Z | -2,041 |
| Asymp. Sig. (2-tailed) | ,041 |
| Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)] | ,043 ^b |

a. Grouping Variable: dosis

b. Not corrected for ties.



• **Antar Dosis Betina**

Ranks

| | dosis | N | Mean Rank | Sum of Ranks |
|--------------------|----------|----|-----------|--------------|
| | kontrol | 10 | 13,60 | 136,00 |
| beratrelatifbetina | dosis 10 | 10 | 7,40 | 74,00 |
| | Total | 20 | | |

Test Statistics^a

| | beratrelatifbetin a |
|--------------------------------|------------------------|
| Mann-Whitney U | 19,000 |
| Wilcoxon W | 74,000 |
| Z | -2,343 |
| Asymp. Sig. (2-tailed) | ,019 |
| Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)] | ,019 ^b |

a. Grouping Variable: dosis

b. Not corrected for ties.

Ranks

| | dosis | N | Mean Rank | Sum of Ranks |
|--------------------|----------|----|-----------|--------------|
| | kontrol | 10 | 11,90 | 119,00 |
| beratrelatifbetina | dosis 20 | 10 | 9,10 | 91,00 |
| | Total | 20 | | |

Test Statistics^a

| | beratrelatifbetin a |
|--------------------------------|------------------------|
| Mann-Whitney U | 36,000 |
| Wilcoxon W | 91,000 |
| Z | -1,058 |
| Asymp. Sig. (2-tailed) | ,290 |
| Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)] | ,315 ^b |

a. Grouping Variable: dosis

b. Not corrected for ties.



Ranks

| | dosis | N | Mean Rank | Sum of Ranks |
|--------------------|----------|----|-----------|--------------|
| beratrelatifbetina | kontrol | 10 | 9,70 | 97,00 |
| | dosis 40 | 10 | 11,30 | 113,00 |
| | Total | 20 | | |

Test Statistics^a

| | beratrelatifbetin a |
|--------------------------------|------------------------|
| Mann-Whitney U | 42,000 |
| Wilcoxon W | 97,000 |
| Z | -,605 |
| Asymp. Sig. (2-tailed) | ,545 |
| Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)] | ,579 ^b |

a. Grouping Variable: dosis

b. Not corrected for ties.

Ranks

| | dosis | N | Mean Rank | Sum of Ranks |
|--------------------|----------|----|-----------|--------------|
| beratrelatifbetina | dosis 10 | 10 | 8,60 | 86,00 |
| | dosis 20 | 10 | 12,40 | 124,00 |
| | Total | 20 | | |

Test Statistics^a

| | beratrelatifbetin a |
|--------------------------------|------------------------|
| Mann-Whitney U | 31,000 |
| Wilcoxon W | 86,000 |
| Z | -1,436 |
| Asymp. Sig. (2-tailed) | ,151 |
| Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)] | ,165 ^b |

a. Grouping Variable: dosis

b. Not corrected for ties.



Ranks

| | dosis | N | Mean Rank | Sum of Ranks |
|--------------------|----------|----|-----------|--------------|
| beratrelatifbetina | dosis 10 | 10 | 6,90 | 69,00 |
| | dosis 40 | 10 | 14,10 | 141,00 |
| | Total | 20 | | |

Test Statistics^a

| | beratrelatifbetin a |
|--------------------------------|------------------------|
| Mann-Whitney U | 14,000 |
| Wilcoxon W | 69,000 |
| Z | -2,721 |
| Asymp. Sig. (2-tailed) | ,007 |
| Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)] | ,005 ^b |

a. Grouping Variable: dosis

b. Not corrected for ties.

Ranks

| | dosis | N | Mean Rank | Sum of Ranks |
|--------------------|----------|----|-----------|--------------|
| beratrelatifbetina | dosis 20 | 10 | 8,30 | 83,00 |
| | dosis 40 | 10 | 12,70 | 127,00 |
| | Total | 20 | | |

Test Statistics^a

| | beratrelatifbetin a |
|--------------------------------|------------------------|
| Mann-Whitney U | 28,000 |
| Wilcoxon W | 83,000 |
| Z | -1,663 |
| Asymp. Sig. (2-tailed) | ,096 |
| Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)] | ,105 ^b |

a. Grouping Variable: dosis

b. Not corrected for ties.



• Antar Jenis Kelamin

Ranks

| | gender | N | Mean Rank | Sum of Ranks |
|---------|--------|----|-----------|--------------|
| kontrol | jantan | 10 | 9,00 | 90,00 |
| | betina | 10 | 12,00 | 120,00 |
| Total | | 20 | | |

Test Statistics^a

| | kontrol |
|--------------------------------|-------------------|
| Mann-Whitney U | 35,000 |
| Wilcoxon W | 90,000 |
| Z | -1,134 |
| Asymp. Sig. (2-tailed) | ,257 |
| Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)] | ,280 ^b |

- a. Grouping Variable: gender
 b. Not corrected for ties.

Ranks

| | gender | N | Mean Rank | Sum of Ranks |
|---------|--------|----|-----------|--------------|
| dosis10 | jantan | 10 | 8,10 | 81,00 |
| | betina | 10 | 12,90 | 129,00 |
| Total | | 20 | | |

Test Statistics^a

| | dosis10 |
|--------------------------------|-------------------|
| Mann-Whitney U | 26,000 |
| Wilcoxon W | 81,000 |
| Z | -1,814 |
| Asymp. Sig. (2-tailed) | ,070 |
| Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)] | ,075 ^b |

- a. Grouping Variable: gender
 b. Not corrected for ties.



Ranks

| | gender | N | Mean Rank | Sum of Ranks |
|---------|--------|----|-----------|--------------|
| dosis20 | jantan | 10 | 8,00 | 80,00 |
| | betina | 10 | 13,00 | 130,00 |
| | Total | 20 | | |

Test Statistics^a

| | dosis20 |
|--------------------------------|-------------------|
| Mann-Whitney U | 25,000 |
| Wilcoxon W | 80,000 |
| Z | -1,890 |
| Asymp. Sig. (2-tailed) | ,059 |
| Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)] | ,063 ^b |

a. Grouping Variable: gender

b. Not corrected for ties.

Ranks

| | gender | N | Mean Rank | Sum of Ranks |
|---------|--------|----|-----------|--------------|
| dosis40 | jantan | 10 | 9,80 | 98,00 |
| | betina | 10 | 11,20 | 112,00 |
| | Total | 20 | | |

Test Statistics^a

| | dosis40 |
|--------------------------------|-------------------|
| Mann-Whitney U | 43,000 |
| Wilcoxon W | 98,000 |
| Z | -,529 |
| Asymp. Sig. (2-tailed) | ,597 |
| Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)] | ,631 ^b |

a. Grouping Variable: gender

b. Not corrected for ties.



Lampiran 10. Uji Normalitas Jumlah Aktivasi BALT Histopatologi Paru Tikus

• Jantan

Tests of Normality

| | dosis | Kolmogorov-Smirnov ^a | | | Shapiro-Wilk | | |
|-----------------|----------|---------------------------------|----|-------|--------------|----|------|
| | | Statistic | df | Sig. | Statistic | df | Sig. |
| jumlahkgbjantan | kontrol | ,342 | 10 | ,002 | ,841 | 10 | ,045 |
| | dosis 10 | ,269 | 10 | ,039 | ,744 | 10 | ,003 |
| | dosis 20 | ,226 | 10 | ,158 | ,929 | 10 | ,441 |
| | dosis 40 | ,113 | 10 | ,200* | ,928 | 10 | ,426 |

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

a. Lilliefors Significance Correction

Descriptives

| | dosis | Statistic | Std. Error |
|-----------------|----------------------------------|-----------|------------|
| jumlahkgbjantan | Mean | 1,3000 | ,26034 |
| | 95% Confidence Interval for Mean | | |
| | Lower Bound | ,7111 | |
| | Upper Bound | 1,8889 | |
| | 5% Trimmed Mean | 1,2778 | |
| | Median | 1,0000 | |
| | Variance | ,678 | |
| | Std. Deviation | ,82327 | |
| | Minimum | ,00 | |
| | Maximum | 3,00 | |
| | Range | 3,00 | |
| | Interquartile Range | 1,00 | |
| | Skewness | ,806 | ,687 |
| | Kurtosis | 1,237 | 1,334 |
| kontrol | Mean | 2,9000 | ,40689 |
| | 95% Confidence Interval for Mean | | |
| | Lower Bound | 1,9796 | |
| | Upper Bound | 3,8204 | |
| | 5% Trimmed Mean | 2,7778 | |
| | Median | 2,5000 | |
| | Variance | 1,656 | |
| | Std. Deviation | 1,28668 | |
| | Minimum | 2,00 | |
| | dosis 10 | | |



| | | | | |
|--|----------|---|---------|--------|
| | | Maximum | 6,00 | |
| | | Range | 4,00 | |
| | | Interquartile Range | 1,25 | |
| | | Skewness | 1,792 | ,687 |
| | | Kurtosis | 3,393 | 1,334 |
| | | Mean | 2,1000 | ,48189 |
| | | 95% Confidence Interval for Lower Bound | 1,0099 | |
| | | Mean Upper Bound | 3,1901 | |
| | | 5% Trimmed Mean | 2,0556 | |
| | | Median | 2,0000 | |
| | | Variance | 2,322 | |
| | dosis 20 | Std. Deviation | 1,52388 | |
| | | Minimum | ,00 | |
| | | Maximum | 5,00 | |
| | | Range | 5,00 | |
| | | Interquartile Range | 2,25 | |
| | | Skewness | ,735 | ,687 |
| | | Kurtosis | ,042 | 1,334 |
| | | Mean | 2,5000 | ,58214 |
| | | 95% Confidence Interval for Lower Bound | 1,1831 | |
| | | Mean Upper Bound | 3,8169 | |
| | | 5% Trimmed Mean | 2,5000 | |
| | | Median | 2,5000 | |
| | | Variance | 3,389 | |
| | dosis 40 | Std. Deviation | 1,84089 | |
| | | Minimum | ,00 | |
| | | Maximum | 5,00 | |
| | | Range | 5,00 | |
| | | Interquartile Range | 3,50 | |
| | | Skewness | ,000 | ,687 |
| | | Kurtosis | -1,173 | 1,334 |



• **Betina**

Tests of Normality

| | dosis | Kolmogorov-Smirnov ^a | | | Shapiro-Wilk | | |
|-----------------|----------|---------------------------------|----|-------|--------------|----|------|
| | | Statistic | df | Sig. | Statistic | df | Sig. |
| jumlahkgbbetina | kontrol | ,245 | 10 | ,091 | ,896 | 10 | ,199 |
| | dosis 10 | ,231 | 10 | ,141 | ,760 | 10 | ,005 |
| | dosis 20 | ,214 | 10 | ,200* | ,910 | 10 | ,283 |
| | dosis 40 | ,198 | 10 | ,200* | ,896 | 10 | ,199 |

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

a. Lilliefors Significance Correction

Descriptives

| | dosis | Statistic | Std. Error |
|-----------------|----------------------------------|-------------|------------|
| jumlahkgbbetina | Mean | 2,9000 | ,76667 |
| | 95% Confidence Interval for Mean | Lower Bound | 1,1657 |
| | | Upper Bound | 4,6343 |
| | 5% Trimmed Mean | 2,7778 | |
| | Median | 2,0000 | |
| | Variance | 5,878 | |
| | Std. Deviation | 2,42441 | |
| | Minimum | ,00 | |
| | Maximum | 8,00 | |
| | Range | 8,00 | |
| kontrol | Interquartile Range | 4,00 | |
| | Skewness | 1,081 | ,687 |
| | Kurtosis | ,804 | 1,334 |
| | Mean | 3,6000 | ,68638 |
| | 95% Confidence Interval for Mean | Lower Bound | 2,0473 |
| | | Upper Bound | 5,1527 |
| | 5% Trimmed Mean | 3,3889 | |
| | Median | 3,0000 | |
| | Variance | 4,711 | |
| | Std. Deviation | 2,17051 | |
| dosis 10 | Minimum | 2,00 | |
| | Maximum | 9,00 | |



| | | | |
|----------|---|---------|--------|
| | Range | 7,00 | |
| | Interquartile Range | 2,25 | |
| | Skewness | 1,949 | ,687 |
| | Kurtosis | 4,321 | 1,334 |
| | Mean | 4,7000 | ,76085 |
| | 95% Confidence Interval for Lower Bound | 2,9788 | |
| | Mean Upper Bound | 6,4212 | |
| | 5% Trimmed Mean | 4,6111 | |
| | Median | 4,0000 | |
| | Variance | 5,789 | |
| dosis 20 | Std. Deviation | 2,40601 | |
| | Minimum | 2,00 | |
| | Maximum | 9,00 | |
| | Range | 7,00 | |
| | Interquartile Range | 4,25 | |
| | Skewness | ,560 | ,687 |
| | Kurtosis | -,925 | 1,334 |
| | Mean | 5,9000 | ,79512 |
| | 95% Confidence Interval for Lower Bound | 4,1013 | |
| | Mean Upper Bound | 7,6987 | |
| | 5% Trimmed Mean | 5,9444 | |
| | Median | 6,5000 | |
| | Variance | 6,322 | |
| dosis 40 | Std. Deviation | 2,51440 | |
| | Minimum | 2,00 | |
| | Maximum | 9,00 | |
| | Range | 7,00 | |
| | Interquartile Range | 5,00 | |
| | Skewness | -,436 | ,687 |
| | Kurtosis | -1,469 | 1,334 |



Lampiran 11. Uji Homogenitas Jumlah Aktivasi BALT Histopatologi Paru Tikus

• Jantan

Test of Homogeneity of Variances

| jumlahkgbjantan | | | |
|------------------|-----|-----|------|
| Levene Statistic | df1 | df2 | Sig. |
| 2,008 | 3 | 36 | ,130 |

Descriptives

| | N | Mean | Std. Deviation | Std. Error | 95% Confidence Interval for Mean | | Minimum | Maximum |
|----------|----|--------|----------------|------------|----------------------------------|-------------|---------|---------|
| | | | | | Lower Bound | Upper Bound | | |
| | | | | | kontrol | 10 | | |
| dosis 10 | 10 | 2,9000 | 1,28668 | ,40689 | 1,9796 | 3,8204 | 2,00 | 6,00 |
| dosis 20 | 10 | 2,1000 | 1,52388 | ,48189 | 1,0099 | 3,1901 | ,00 | 5,00 |
| dosis 40 | 10 | 2,5000 | 1,84089 | ,58214 | 1,1831 | 3,8169 | ,00 | 5,00 |
| Total | 40 | 2,2000 | 1,48842 | ,23534 | 1,7240 | 2,6760 | ,00 | 6,00 |

Test of Homogeneity of Variances

| jumlahkgbbetina | | | |
|------------------|-----|-----|------|
| Levene Statistic | df1 | df2 | Sig. |
| ,430 | 3 | 36 | ,733 |

Descriptives

| | N | Mean | Std. Deviation | Std. Error | 95% Confidence Interval for Mean | | Minimum | Maximum |
|----------|----|--------|----------------|------------|----------------------------------|-------------|---------|---------|
| | | | | | Lower Bound | Upper Bound | | |
| | | | | | kontrol | 10 | | |
| dosis 10 | 10 | 3,6000 | 2,17051 | ,68638 | 2,0473 | 5,1527 | 2,00 | 9,00 |
| dosis 20 | 10 | 4,7000 | 2,40601 | ,76085 | 2,9788 | 6,4212 | 2,00 | 9,00 |
| dosis 40 | 10 | 5,9000 | 2,51440 | ,79512 | 4,1013 | 7,6987 | 2,00 | 9,00 |
| Total | 40 | 4,2750 | 2,56193 | ,40508 | 3,4557 | 5,0943 | ,00 | 9,00 |



Lampiran 12. Uji Nonparametrik *Kruskal Wallis Test* Jumlah Aktivasi BALT Histopatologi Paru Tikus

• **Jantan**

Test Statistics^{a,b}

| | |
|-------------|---------------------|
| | jumlahkgbjanta n |
| Chi-Square | 7,703 |
| df | 3 |
| Asymp. Sig. | ,053 |

a. Kruskal Wallis Test

b. Grouping Variable: dosis

Ranks

| | dosis | N | Mean Rank |
|-----------------|----------|----|-----------|
| jumlahkgbjantan | kontrol | 10 | 13,05 |
| | dosis 10 | 10 | 26,75 |
| | dosis 20 | 10 | 19,55 |
| | dosis 40 | 10 | 22,65 |
| | Total | 40 | |

• **Betina**

Test Statistics^{a,b}

| | |
|-------------|---------------------|
| | jumlahkgbbetin a |
| Chi-Square | 8,190 |
| df | 3 |
| Asymp. Sig. | ,042 |

a. Kruskal Wallis Test

b. Grouping Variable: dosis

Ranks

| | dosis | N | Mean Rank |
|-----------------|----------|----|-----------|
| jumlahkgbbetina | kontrol | 10 | 13,70 |
| | dosis 10 | 10 | 17,85 |
| | dosis 20 | 10 | 22,85 |
| | dosis 40 | 10 | 27,60 |
| | Total | 40 | |



Lampiran 13. Uji Mann Whitney Test Jumlah Aktivasi BALT Histopatologi Paru Tikus

- **Antar Dosis Betina**

Ranks

| | dosis | N | Mean Rank | Sum of Ranks |
|-----------------|----------|----|-----------|--------------|
| | kontrol | 10 | 9,20 | 92,00 |
| jumlahkgbbetina | dosis 10 | 10 | 11,80 | 118,00 |
| | Total | 20 | | |

Test Statistics^a

| | jumlahkgbbetin a |
|--------------------------------|---------------------|
| Mann-Whitney U | 37,000 |
| Wilcoxon W | 92,000 |
| Z | -1,008 |
| Asymp. Sig. (2-tailed) | ,313 |
| Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)] | ,353 ^b |

a. Grouping Variable: dosis

b. Not corrected for ties.

Ranks

| | dosis | N | Mean Rank | Sum of Ranks |
|-----------------|----------|----|-----------|--------------|
| | kontrol | 10 | 8,20 | 82,00 |
| jumlahkgbbetina | dosis 20 | 10 | 12,80 | 128,00 |
| | Total | 20 | | |

Test Statistics^a

| | jumlahkgbbetin a |
|--------------------------------|---------------------|
| Mann-Whitney U | 27,000 |
| Wilcoxon W | 82,000 |
| Z | -1,757 |
| Asymp. Sig. (2-tailed) | ,079 |
| Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)] | ,089 ^b |

a. Grouping Variable: dosis

b. Not corrected for ties.



Ranks

| | dosis | N | Mean Rank | Sum of Ranks |
|-----------------|----------|----|-----------|--------------|
| jumlahkgbbetina | kontrol | 10 | 7,30 | 73,00 |
| | dosis 40 | 10 | 13,70 | 137,00 |
| | Total | 20 | | |

Test Statistics^a

| | jumlahkgbbetin a |
|--------------------------------|---------------------|
| Mann-Whitney U | 18,000 |
| Wilcoxon W | 73,000 |
| Z | -2,446 |
| Asymp. Sig. (2-tailed) | ,014 |
| Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)] | ,015 ^b |

a. Grouping Variable: dosis

b. Not corrected for ties.

Ranks

| | dosis | N | Mean Rank | Sum of Ranks |
|-----------------|----------|----|-----------|--------------|
| jumlahkgbbetina | dosis 10 | 10 | 9,05 | 90,50 |
| | dosis 20 | 10 | 11,95 | 119,50 |
| | Total | 20 | | |

Test Statistics^a

| | jumlahkgbbetin a |
|--------------------------------|---------------------|
| Mann-Whitney U | 35,500 |
| Wilcoxon W | 90,500 |
| Z | -1,120 |
| Asymp. Sig. (2-tailed) | ,263 |
| Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)] | ,280 ^b |

a. Grouping Variable: dosis

b. Not corrected for ties.



Ranks

| | dosis | N | Mean Rank | Sum of Ranks |
|-----------------|----------|----|-----------|--------------|
| jumlahkgbbetina | dosis 10 | 10 | 8,00 | 80,00 |
| | dosis 40 | 10 | 13,00 | 130,00 |
| | Total | 20 | | |

Test Statistics^a

| | jumlahkgbbetin a |
|--------------------------------|---------------------|
| Mann-Whitney U | 25,000 |
| Wilcoxon W | 80,000 |
| Z | -1,917 |
| Asymp. Sig. (2-tailed) | ,055 |
| Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)] | ,063 ^b |

a. Grouping Variable: dosis

b. Not corrected for ties.

Ranks

| | dosis | N | Mean Rank | Sum of Ranks |
|-----------------|----------|----|-----------|--------------|
| jumlahkgbbetina | dosis 20 | 10 | 9,10 | 91,00 |
| | dosis 40 | 10 | 11,90 | 119,00 |
| | Total | 20 | | |

Test Statistics^a

| | jumlahkgbbetin a |
|--------------------------------|---------------------|
| Mann-Whitney U | 36,000 |
| Wilcoxon W | 91,000 |
| Z | -1,068 |
| Asymp. Sig. (2-tailed) | ,285 |
| Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)] | ,315 ^b |

a. Grouping Variable: dosis

b. Not corrected for ties.



• Antar Jenis Kelamin

Ranks

| | Gender | N | Mean Rank | Sum of Ranks |
|---------|--------|----|-----------|--------------|
| Kontrol | Jantan | 10 | 8,30 | 83,00 |
| | Betina | 10 | 12,70 | 127,00 |
| | Total | 20 | | |

Test Statistics^a

| | Kontrol |
|--------------------------------|-------------------|
| Mann-Whitney U | 28,000 |
| Wilcoxon W | 83,000 |
| Z | -1,734 |
| Asymp. Sig. (2-tailed) | ,083 |
| Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)] | ,105 ^b |

a. Grouping Variable: Gender

b. Not corrected for ties.

Ranks

| | gender | N | Mean Rank | Sum of Ranks |
|---------|--------|----|-----------|--------------|
| dosis10 | jantan | 10 | 9,60 | 96,00 |
| | betina | 10 | 11,40 | 114,00 |
| | Total | 20 | | |

Test Statistics^a

| | dosis10 |
|--------------------------------|-------------------|
| Mann-Whitney U | 41,000 |
| Wilcoxon W | 96,000 |
| Z | -,720 |
| Asymp. Sig. (2-tailed) | ,471 |
| Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)] | ,529 ^b |

a. Grouping Variable: gender

b. Not corrected for ties.



Ranks

| | gender | N | Mean Rank | Sum of Ranks |
|---------|--------|----|-----------|--------------|
| dosis20 | jantan | 10 | 7,20 | 72,00 |
| | betina | 10 | 13,80 | 138,00 |
| | Total | 20 | | |

Test Statistics^a

| | dosis20 |
|--------------------------------|-------------------|
| Mann-Whitney U | 17,000 |
| Wilcoxon W | 72,000 |
| Z | -2,526 |
| Asymp. Sig. (2-tailed) | ,012 |
| Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)] | ,011 ^b |

a. Grouping Variable: gender

b. Not corrected for ties.

Ranks

| | gender | N | Mean Rank | Sum of Ranks |
|---------|--------|----|-----------|--------------|
| dosis40 | jantan | 10 | 7,00 | 70,00 |
| | betina | 10 | 14,00 | 140,00 |
| | Total | 20 | | |

Test Statistics^a

| | dosis40 |
|--------------------------------|-------------------|
| Mann-Whitney U | 15,000 |
| Wilcoxon W | 70,000 |
| Z | -2,669 |
| Asymp. Sig. (2-tailed) | ,008 |
| Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)] | ,007 ^b |

a. Grouping Variable: gender

b. Not corrected for ties.

