

Research Article

Subchronic Treatment of Combination Extract Detam 1 Soybean and Jati Belanda Leaves has No Toxic Effect on Function, Weight, and Histopathological of Wistar Rat Kidney

Meilinah Hidayat*, Sijani Prahastuti, Vibiola Chikita***, Dewi Safitri****, Siti F. Rahmawati****, Andreanus A. Soemardji******

*Nutrition Department Maranatha Christian University

** Biochemistry Department Maranatha Christian University

*** Maranatha Christian University

Jl. Prof. Drg. Suria Sumantri MPH 65 Bandung 40164 Indonesia

****Pharmacology Department School of Pharmacy

Bandung Institute of Technology

Jl.Ganessa 10 Bandung 40132 Indonesia

Email: mellahidayat@yahoo.com

Abstract

The combination of Detam 1 soybean and Jati Belanda leaves proved to have effect of weight loss. Since it will become longterm using, toxicity effectvresearch is needed. This study was conducted to determine the effect of subchronic combination of ethanol extract of soybean Detam 1 (EEDS) and Jati belanda (EEJB) on kidney function, with parameters: urea and creatinine, macroscopic and histopathological of kidney. This study were conducted on 120 Wistar rats (60 males, 60 females), 90 days (treatment group) and 120 days (satellite group). Rats were divided into six treatment groups. Test results of urea and creatinine levels of all treatment groups was lower than control group ($p < 0.05$). The treatment turned out to have a good effect on kidney function. Kidney weight of all groups showed no significant difference with the control group ($p > 0.05$). Histopathological score interpretation's result of low dose group male and female kidney rats were not disturbed. In conclusion, the combination of EEDS and EEJB have a good effect on kidney function, did not lead to changes in organ weight and at low doses did not cause disturbance of renal histopathology.

Key words: combination of soybean jati Belanda, subchronic treatment, kidney function, kidney's weight, kidney's histopathology

Research Article

Pemberian Subkronis Kombinasi Ekstrak Kedelai Detam 1 dan Jati Belanda Tidak Berefek Toksik terhadap Fungsi, Berat dan Histopatologis Ginjal Tikus Wistar

*Meilinah Hidayat**, *Sijani Prahastuti***, *Vibiola Chikita****, *Dewi Safitri*****,
*Siti Farah Rahmawati*****, *Andreanus A. Soemardji*****

*Bagian Nutrisi Universitas Kristen Maranatha Bandung

** Bagian Biokimia Universitas Kristen Maranatha Bandung

*** Universitas Kristen Maranatha Bandung

Jalan Prof Drg. Suria Sumantri MPH no 65 Bandung 40164 Indonesia

****Bagian Farmakologi Sekolah Farmasi Institut Teknologi Bandung

Jl. Ganesha 10 Bandung 40132 Indonesia

Email: mellahidayat@yahoo.com

Abstrak

Kombinasi dari kedelai Detam 1 dan daun jati Belanda terbukti memiliki efek penurunan berat badan; untuk konsumsi jangka panjang, diperlukan pengujian toksisitas subkronis. Penelitian ini dilakukan untuk mengetahui efek pemberian subkronis kombinasi ekstrak etanol biji kedelai Detam 1 (EEKD) dan jati Belanda (EEJB) terhadap fungsi ginjal, dengan parameter ureum dan kreatinin, berat makroskopis dan histopatologi ginjal. Dilakukan uji terhadap 120 ekor tikus Wistar (60 ekor jantan dan 60 ekor betina), selama 90 hari (kelompok perlakuan) dan 120 hari (kelompok satelit), dibagi menjadi 6 kelompok perlakuan (3 bahan uji, 1 kontrol dan 2 satelit) masing-masing 10 ekor. Hasil pemeriksaan kadar ureum dan kreatinin kelompok perlakuan (dosis rendah, sedang, tinggi), baik jantan maupun betina lebih rendah daripada kontrol ($p < 0.05$). Rerata berat ginjal semua kelompok tidak menunjukkan perbedaan bermakna dengan kelompok kontrol ($p > 0.05$). Hasil analisis histopatologis ginjal tikus jantan dan betina kelompok dosis rendah tidak terganggu, dosis sedang dan tinggi sedikit terganggu dan satelit dosis tinggi terganggu. Simpulan, pemberian ekstrak kombinasi kedelai dan jati Belanda berefek baik terhadap fungsi ginjal, tidak menyebabkan perubahan berat organ dan pada dosis rendah tidak menyebabkan gangguan histopatologi ginjal.

Kata kunci: kombinasi kedelai jati Belanda, pemberian subkronis, fungsi ginjal, berat ginjal, histopatologi ginjal

Research Article

Pendahuluan

Obesitas telah menjadi masalah kesehatan di seluruh dunia. Berbagai kemungkinan pengobatan diteliti untuk mencari solusinya. Salah satu alternatif terapi adalah penggunaan tanaman obat berkhasiat. Selama ini masyarakat menganggap bahwa semua obat berbasis herbal adalah aman untuk kesehatan. Akan tetapi hal tersebut tidak sepenuhnya benar, dan hal ini perlu diuji lebih lanjut.

Kedelai (*Glycine max* L.Merr) varietas *Detam 1* adalah kedelai varietas unggul dari perkebunan Balitkabi Malang yang mempunyai kadar protein yang lebih tinggi di atas rata rata, yaitu 45,12 % berat bijinya dan mempunyai kadar lemak yang lebih rendah dibanding varietas lainnya.¹ Diperkirakan kedelai *Detam 1* mengandung lebih banyak senyawa aktif dalam metabolit sekunder dari ekstraknya. Penelitian pendahuluan terhadap tikus *Wistar* jantan selama 14 hari dengan perlakuan 11 jenis ekstrak kedelai, menunjukkan bahwa ekstrak yang mempunyai aktivitas antiobesitas paling baik adalah ekstrak protein kedelai varietas *Detam 1* dengan dosis 20 mg/ekor ($p = 0,022$), penurunan berat badan yang terjadi ($p = 0,020$) semula $(238,33 \pm 21,38)$ g menjadi $(189,33 \pm 27,30)$ g.² Penelitian Iswantini 2011 menyebutkan bahwa ekstrak metanol daun jati Belanda varietas Bogor mempunyai aktivitas inhibisi enzim lipase pankreas, sehingga ekstrak etanol daun jati Belanda diharapkan dapat menjadi target terapi antiobesitas.³

Kombinasi dari kedelai *Detam 1* dan daun jati Belanda yang ditanam di perkebunan Bumi Herbal Dago telah diteliti dan terbukti memiliki efek sebagai penurun berat badan dan antihiperlipidemia.^{4,5,6} Penggunaannya sebagai terapi akan dikonsumsi untuk waktu yang cukup panjang dan berulang. Oleh karena itu perlu dilakukan pengujian terhadap toksisitas dan efek samping yang dapat ditimbulkannya. Pada penelitian ini dilakukan penelitian uji toksisitas subkronis dari efek pemberian kombinasi ekstrak etanol biji kedelai *Detam 1* (EEKD) dan ekstrak etanol jati Belanda (EEJB) secara *in vivo* selama 90 hari terhadap fungsi ginjal, dengan parameter ureum dan kreatinin, berat makroskopis, dan histopatologi organ ginjal tikus *Wistar* jantan dan betina.

Tujuan dari penelitian ini adalah mengetahui efek toksik pemberian subkronis kombinasi EEKD dan EEJB terhadap fungsi, pemeriksaan makro dan mikropatologi organ ginjal tikus *Wistar* setelah diberi perlakuan selama 90 hari, dilanjutkan pengamatan 30 hari berikutnya (satelit) untuk kelompok yang tidak diberi perlakuan dan perlakuan dosis tinggi.

Research Article

Metode

Uji toksisitas subkronis dilakukan terhadap 120 ekor tikus Wistar (60 ekor jantan, 60 ekor betina) berumur 6-8 minggu dengan berat antara 150-200 g, selama 90 hari (untuk kelompok perlakuan) dan 120 hari (untuk kelompok pengamatan /satelit), sesuai ketentuan uji toksisitas yang ditetapkan Badan Pengawasan Obat dan Makanan (BPOM).^{7,8} Tikus dibagi menjadi 6 kelompok perlakuan (3 bahan uji, 1 kontrol dan 2 satelit) masing-masing 10 ekor jantan dan 10 ekor betina). Kelompok perlakuan selama 90 hari diberikan kombinasi EEKD dan EEJB perbandingan 1:2 dalam beberapa dosis. **Kelompok Kontrol Negatif**, hanya diberi pelarut, akuades dan CMC 0,5% **Kelompok I**: kombinasi dosis rendah 150 mg/KgBB, **Kelompok II**: kombinasi dosis menengah 300 mg/KgBB, **Kelompok III**: kombinasi dosis tinggi 600 mg/KgBB, Kelompok Satelit selama 120 hari: **Kelompok Satelit Kontrol Negatif**, hanya diberi pelarut CMC 0,5%, **Kelompok Satelit dosis tinggi** 600 mg/KgBB.

Penelitian ini telah memperoleh persetujuan dari Komisi Etik Penelitian Fakultas Kedokteran UK Maranatha-RS Immanuel Bandung dengan SK No: 7/KEP/II/2015.

Parameter yang diukur adalah (1) kadar ureum dan kreatinin setelah perlakuan selama 90 hari, menggunakan metode kolorimetri dengan alat Cobas Roche 131 pada hari ke 91 dan 121, (2) berat organ ginjal semua kelompok menggunakan timbangan digital dengan ketelitian 3 digit di belakang koma, (3) pemeriksaan dan analisis preparat histopatologi pewarnaan Hematoksin Eosin organ ginjal tikus Wistar. Parameter yang digunakan untuk menilai adalah modifikasi & adaptasi dari penelitian Arsad,⁹ Singh¹⁰ dan Karimi¹¹, antara lain gambaran arsitektur secara umum dari bagian *cortex*, *medulla*, epitel dari *tubulus contortus proximal* (TCP) dan distal (TCD) dengan diamati adakah terjadi degenerasi bengkak keruh, *hyalin cast* dan inflamasi pada tubulus. Bagian *cortex*, diamati pembengkakan dari glomerulus (sel membesar), pengerutan glomerulus, perdarahan atau kongesti kapiler interstitiel. Sedangkan bagian *medulla*, diamati juga kongesti kapiler interstitiel dan nefrosis tubulus. Untuk memudahkan perbandingan kerusakan antar kelompok, semua hasil interpretasi tersebut dikonversi menjadi skor dan dijumlahkan.

Hasil data kadar ureum, kreatinin dan berat organ dianalisis menggunakan Analisis Varian (ANOVA), jika signifikan dilanjutkan dengan uji Tukey HSD, dengan batas kemaknaan $\alpha < 0,05$. Total jumlah skor hasil analisis preparat histopatologi dianalisis secara semikuantitatif.

Research Article

Hasil

Setelah diberi perlakuan selama 90 hari, kelompok kontrol negatif, kelompok 1 dosis rendah, kelompok K2 dosis sedang dan kelompok K3 dosis tinggi, pada hari ke 91 diperiksa kadar ureum dan kreatinin serumnya. Darah sebanyak kurang lebih 2 cc diambil melalui intracardial setelah tikus dikorbankan, selanjutnya disentrifuga, dan diperiksa kadar ureumnya dengan alat Cobas Roche 131. Pemeriksaan kelompok satelit ditunggu hingga 30 hari berikutnya dan pada hari ke 121 kelompok satelit kontrol dan satelit dosis tinggi diperiksa juga kadar ureum dan kreatininnya. Hasil pemeriksaan dapat dilihat pada tabel 1 dan 2.

Tabel 1 Hasil Pemeriksaan Kadar Ureum Tikus Wistar Jantan dan Betina

Kelompok	n	JANTAN		BETINA	
		Rerata	SD	Rerata	SD
Kelompok Kontrol Neg	10	64,40	9,947	56,30	5,559
K 1. Dosis Rendah	10	57,50	4,927	52,10	4,458
K 2. Dosis Sedang	10	52,60	4,088	47,00	2,539
K 3. Dosis Tinggi	10	45,20*	2,974	40,10*	1,197
Satelit Kontrol	10	56,40	7,849	49,90	5,626
Satelit Dosis Tinggi	10	40,90*	2,998	38,00*	2,667
Hasil Uji Homogenitas	0,002			0,017	
Varians					
Signifikansi ANAVA	0,000			0,000	
Signifikansi Tukey HSD					

Tabel 2 Hasil Pemeriksaan Kadar Kreatinin Tikus Wistar Jantan dan Betina

Kelompok	n	JANTAN		BETINA	
		Rerata	SD	Rerata	SD
Kelompok Kontrol	10	0,9910	0,14395	0,9060	0,07121
K 1. Dosis Rendah	10	0,8890	0,07651	0,7820*	0,11144
K 2. Dosis Sedang	10	0,8640*	0,07604	0,8180	0,07193
K 3. Dosis Tinggi	10	0,9240	0,06518	0,7890	0,07279
Satelit Kontrol	10	0,8790	0,10236	0,7590	0,12547
Satelit Dosis Tinggi	10	0,8290*	0,05322	0,7610*	0,07078
Hasil Uji Homogenitas	0,033			0,091	
Varians					
Signifikansi ANAVA	0,005			0,005	
Signifikansi Tukey HSD= *					

Research Article

Demikian pula untuk pengamatan berat badan, kelompok kontrol negatif, kelompok 1 dosis rendah, kelompok K2 dosis sedang dan kelompok K3 dosis tinggi, pada hari ke 91 setelah tikus dikorbankan dan dibedah, selanjutnya ditimbang organ ginjalnya. Kelompok satelit dikorbankan pada 30 hari berikutnya yaitu pada hari ke 121; setelah kelompok satelit kontrol dan satelit dosis tinggi dikorbankan lalu ditimbang organ ginjalnya. Hasil pemeriksaan dapat dilihat pada tabel 3.

Tabel 3 Hasil Penimbangan Berat Organ Ginjal Tikus Wistar Jantan dan Betina

Kelompok	n	JANTAN		BETINA	
		Rerata/gr	SD	Rerata/gr	SD
Kelompok Kontrol	10	1,404	0,112	1,170	0,360
K 1. Dosis Rendah	10	1,220	0,170	1,380	0,240
K 2. Dosis Sedang	10	1,360	0,220	1,310	0,120
K 3. Dosis Tinggi	10	1,406	0,203	1,270	0,130
Satelit Kontrol	10	1,320	0,150	1,259	0,134
Satelit Dosis Tinggi	10	1,516	0,272	1,073	1,539
Sig ANAVA		0,069	(p> 0,05)	0,472	(p> 0,05)

Analisis Statistika ANAVA dari organ ginjal tikus jantan menunjukkan signifikansi 0,069; signifikansi betina 0,472; yang berarti tidak terdapat perbedaan yang bermakna antara kelompok perlakuan dan kontrol ($p > 0,05$).

Hasil Analisis Histopatologis Organ Ginjal Tikus Jantan

Tikus dikorbankan pada hari ke 91 dan 121. Setelah organ ginjal ditimbang, dimasukkan ke dalam larutan formalin 1 %, selanjutnya dibuat preparat histopatologi dengan pewarnaan Hematoksin Eosin. Setelah preparat siap, selanjutnya dilihat dan dianalisis di bawah mikroskop cahaya perbesaran 100x dan 400x serta dilakukan interpretasi semi kuantitatif dari preparat, dinilai berdasarkan sistim skoring.

Hasil resume yang didapat dari masing-masing kelompok dicantumkan dalam tabel 4 dan 5 berikut ini.

Research Article

Tabel 4 Resume Hasil Analisis Histopatologi Preparat Ginjal Tikus Jantan

Skor GINJAL	Kelompok Kontrol	Kelompok 1. Rendah	Kelompok 2. Sedang	Kelompok 3. Tinggi	Satelit Kontrol	Satelit D Tinggi
<i>Cortex</i>	0	0	0	0	0	0
Glomerulus membengkak (sel membesar)	0	0	0	0	1	4
Pengerutan glomerulus	0	0	0	0	0	0
Perdarahan	0	0	0	0	0	3
Kongesti kapiler interstitiel	6	6	6	6	6	6
Medulla	0	0	0	0	0	0
Kongesti kapiler interstitiel	6	5	6	6	6	6
Tubular nefrosis	0	0	1	0	0	0
Epitel TCP dan TCD	2	0	5	3	1	3
Tubulus Bengkak keruh	0	2	0	1	0	3
Endapan Hyalin	0	1	0	1	0	1
Inflamasi	9	6	6	6	6	6
TOTAL JUMLAH SKOR	23	20	24	23	20	32

Keterangan:

0: tidak terganggu; 1 : sangat sedikit terganggu; 2: sedikit terganggu pada ¼ lapang pandang; 3: terganggu pada ¼ lapang pandang; 4: terganggu ringan pada ½ lapang pandang; 5: terganggu sedang pada ½ lapang pandang; 6: terganggu berat pada ½ lapang pandang; 7: terganggu berat pada ¾ lapang pandang; 8: terganggu berat pada ¾ lapang pandang; 9 terganggu berat pada > ¾ lapang pandang; 10: terganggu berat pada seluruh lapang pandang.

Tabel 5 Resume Hasil Analisis Histopatologis Preparat Ginjal Tikus Betina

Skor GINJAL	Kelompok Kontrol	Kelompok 1. Rendah	Kelompok 2. Sedang	Kelompok 3. Tinggi	Satelit Kontrol	Satelit D Tinggi
<i>Cortex</i>	0	0	0	0	0	0
Glomerulus membengkak (sel membesar)	0	2	0	2	0	0
Pengerutan glomerulus	0	0	0	0	0	0
Perdarahan	0	0	1	0	2	1
Kongesti kapiler interstitiel	4	5	6	6	0	6
Medulla	0	0	0	0	0	0
Kongesti kapiler interstitiel	5	6	6	6	0	6
Tubular nefrosis	0	0	0	0	6	0
Epitel TCP dan TCD	0	0	0	0	0	0
Tubulus Bengkak keruh	0	3	5	6	6	6
Endapan Hyalin	0	1	0	2	2	2
Inflamasi	2	4	8	5	8	11
TOTAL JUMLAH SKOR	11	21	26	27	24	32

Keterangan:

0: tidak terganggu; 1 : sangat sedikit terganggu; 2: sedikit terganggu pada ¼ lapang pandang; 3: terganggu pada ¼ lapang pandang; 4: terganggu ringan pada ½ lapang pandang; 5: terganggu sedang pada ½ lapang pandang; 6: terganggu berat pada ½ lapang pandang; 7: terganggu berat pada ¾ lapang pandang; 8: terganggu berat pada ¾ lapang pandang; 9 terganggu berat pada > ¾ lapang pandang; 10: terganggu berat pada seluruh lapang pandang.

Research Article

Hasil total penjumlahan skor kelompok kontrol jantan adalah 23, betina 11; kelompok dosis rendah jantan 20, betina 21; kelompok dosis sedang jantan 24, betina 26; kelompok dosis tinggi jantan 23, betina 27; satelit kontrol jantan 20, betina 24 dan satelit dosis tinggi jantan maupun betina adalah 32. Batasan skor yang kami tentukan adalah 10 - 20: dianggap sama dengan kontrol, tidak terganggu; skor antara 21- 30: sedikit terganggu dan skor lebih dari 31: terganggu.

Diskusi

Hasil pemeriksaan ureum kelompok perlakuan (dosis rendah, sedang, tinggi), baik jantan maupun betina menunjukkan kadar yang lebih rendah daripada kadar ureum kelompok kontrol negatif, seperti terlihat pada tabel 1. Hal ini menunjukkan bahwa pemberian bahan uji tidak mengganggu fungsi ginjal, melainkan sebaliknya, mempunyai efek yang baik terhadap fungsi ginjal. Hasil analisis statistika ANAVA kadar ureum menunjukkan perbedaan yang signifikan antara kelompok perlakuan dengan kontrol ($p < 0,05$), sehingga dilanjutkan dengan uji lanjut. Hasil uji lanjut Tukey HSD menunjukkan bahwa kelompok kombinasi EEKD EEJB dosis Tinggi dan Kelompok Satelit dosis tinggi memberikan hasil yang paling baik terhadap kadar ureum tikus Wistar, baik pada tikus jantan maupun betina.

Hasil pemeriksaan kadar kreatinin juga menunjukkan bahwa pemberian perlakuan tidak mengganggu fungsi ginjal, melainkan sebaliknya, kadar kreatinin kelompok perlakuan lebih rendah dibandingkan kadar ureum kelompok kontrol negatif (Tabel 2). Hasil analisis statistika ANAVA kadar kreatinin menunjukkan perbedaan yang sangat signifikan antara kelompok perlakuan dengan kontrol ($p < 0,05$). Hasil uji lanjut Tukey HSD menunjukkan bahwa kelompok kombinasi EEKD EEJB dosis sedang dan kelompok satelit dosis tinggi memberikan hasil yang paling baik terhadap kadar kreatinin tikus Wistar jantan, sedangkan pada tikus betina kelompok dosis rendah dan satelit dosis tinggi. Ekstrak kedelai banyak mengandung isoflavon (antioksidan golongan flavonoid) yang dapat menurunkan kadar radikal bebas pada jaringan ginjal, juga mengurangi peradangan pada pembuluh darah kapiler glomerulus, sehingga permeabilitas membran akan membaik. Pemberian air rebusan kacang kedelai pada tikus model fibrosis ginjal yang diinduksi Streptokinase menunjukkan perbaikan kerusakan sel ginjal dan semakin tinggi konsentrasi menunjukkan hasil yang semakin baik.¹²

Research Article

Jati Belanda mengandung metabolit sekunder tanin dan saponin. Tanin di dalam tubuh akan didegradasi menjadi asam galat, diketahui dapat menyebabkan kerusakan pada pembuluh darah ginjal. Saponin memiliki efek hemolisis pada sel darah merah, selain itu dapat menyebabkan iritasi pada traktus gastrointestinal, diduga berperan dalam menyebabkan kerusakan ginjal.¹³ Penelitian lain yang dilakukan di Universitas Surabaya, uji toksisitas subkronik ekstrak air daun Jati Belanda terhadap fungsi ginjal tikus Wistar jantan, pada dosis 2000 mg/kgBB didapatkan kenaikan kadar ureum dan kreatinin dan disimpulkan menyebabkan gangguan terhadap fungsi ginjal.¹⁴

Kombinasi dua bahan alam dapat memberikan efek sinergisme, yaitu peningkatan aktivitas total antioksidan dan bersifat proteksi terhadap ginjal.^{15,16} Seperti yang terjadi pada penelitian ini, hasil penelitian menunjukkan kombinasi dua bahan uji memberikan efek yang baik terhadap fungsi ginjal. Potensi tanin dan saponin yang terdapat dalam Jati Belanda dan kemungkinan berpotensi mengganggu fungsi ginjal dapat diredam oleh antioksidan yang terutama banyak terdapat dalam kedelai Detam 1.

Berat organ ginjal semua kelompok tidak menunjukkan perbedaan bermakna dengan kelompok kontrol ($p > 0,05$), seperti terlihat pada tabel 3. Bahan uji tidak menyebabkan perubahan berat makroskopis organ ginjal.

Jumlah skor dari hasil interpretasi preparat histopatologi kelompok dosis rendah baik jantan maupun betina adalah tidak terganggu, skor kelompok dosis rendah malah lebih baik daripada kontrol. Dosis sedang dan dosis tinggi sedikit terganggu dan satelit dosis tinggi terganggu. Pemberian bahan uji dosis tinggi berpotensi memiliki efek kumulatif dan tertunda terhadap ginjal tikus jantan dan betina, terlihat dengan adanya gambaran histopatologi yang terganggu pada kelompok satelit dosis tinggi. Apabila dikonversi ke dalam dosis untuk manusia adalah $600 \text{ mg} \times 56 = 33.600 \text{ mg}$ atau 33,6 gram. Akan tetapi penggunaan dosis rendah (dosis yang digunakan untuk terapi), yaitu $150 \times 56 = 8.400 \text{ mg}$ masih dalam batas yang aman untuk kesehatan.

Simpulan

Pemberian subkronis kombinasi ekstrak etanol kedelai Detam 1 dan jati Belanda tidak berefek toksik terhadap fungsi ginjal serta tidak menyebabkan kerusakan makro dan mikropatologi organ ginjal tikus Wistar setelah diberi perlakuan, ditandai dengan tidak terdapatnya perbedaan rerata berat organ ginjal antara kelompok perlakuan dengan kelompok kontrol dan pemberian dosis rendah (dosis untuk manusia 8.400 mg) adalah aman dan tidak menyebabkan gangguan pada gambaran histopatologi ginjal.

Research Article

Ucapan Terima Kasih

Terima kasih kepada Direktorat Jendral Perguruan Tinggi Republik Indonesia yang telah memberikan Hibah Penelitian Nomor: SP DIPA-023.04.1.673453/2015 tertanggal 14 November 2015 Revisi ke 01 tanggal 03 Maret 2015; sehingga penelitian ini dapat terlaksana.

Artikel ini telah dipresentasikan sebagai presentasi oral dalam seminar National Seminar on Anti Aging Medicine (NASWAAM), Bali 4 Maret 2016.

Daftar Pustaka

1. Hidayat M, Kurnia D, Sujatno M, Sutadipura N, Setiawan. Perbandingan kandungan makronutrisi dan isoflavon dari biji, tempe dan ekstrak kedelai *Detam 1* dan *Wilis* serta potensinya dalam menurunkan bobot badan. *Bionatura Jurnal Ilmu Hayati dan Fisik*.2010;12(1):5-13.
2. Hidayat M, Sujatno M, Sutadipura N & Setiawan. Effect several soybean (*Glycine Max* L. Merr) extracts to food intake, body weight and cholecystokinin plasma in rats. *Majalah Ilmu Faal Indonesia*.2009;8(3):151-8.
3. Iswanti D, Silitonga RF, Martatilofo E, Darusman LK. *Zingiber cassumunar*, *Guazuma ulmifolia*, and *Murraya paniculata* Extracts as Antiobesity: In Vitro Inhibitory Effect on Pancreatic Lipase Activity. *Hayati J Biosci*.2011;18(1).
4. Hidayat M, Soeng S, Prahastuti S. Characteristics of combination of ethanol extract Detam 1 soybean (*Glycine max* L.merr) and ethanol extract of Jati Belanda leaves (*Guazuma ulmifolia*) in potential inhibition of pancreas lipase enzyme. *International Seminar on Natural Products Medicine*. ITB. Poster.2012.
5. Krisetya YA, Hidayat M, Soeng S. Perbandingan efek ekstrak etanol eedelai Detam 1, Jati Belanda dan Kombinasinya terhadap Penghambatan Kenaikan Berat Badan tikus Wistar Jantan yang diinduksi Pakan Tinggi Lemak. *Repository.Universitas Kristen Maranatha Bandung*;2013.
6. Hidayat M, Soeng S, Prahastuti S, Tiono H, Krisetya YA, Sugiono M. Characteristics of ethanol extract of Detam 1 Indonesian soybean, Jati Belanda leaves and the effects of their combinations to weight gain and the jejenum histopathological changes in male Wistar rats. *Eur J Med Plants*.2015;7(2):87-98.
7. BPOM. Badan Pengawas Obat dan Makanan Republik Indonesia.Peraturan Kepala Badan Pengawas Obat dan Makanan Republik Indonesia Nomor 7 Tahun 2014 Tentang Pedoman Uji Toksisitas Nonklinik Secara *In Vivo*. 2014.
8. OECD. Organization for Economic Cooperation and Development. Guidelines for testing of Chemicals, OECD; 2001. p 407-8.
9. Arsad SS, Esa NM, Hamzah H. Histopathologic Changes in Liver and Kidney Tissues from Male Sprague Dawley Rats Treated with Rhabdiphora Decursiva (Roxb.) Schott Extract. *J Cytol Histol*.2014;S4:001-6.
10. Singh A, Kumar R. Evaluation of acute toxicity of aqueous extract of *Eclipta alba* and its effects on liver of male Swiss albino mice. *J Herb Med Tox*.2011;5:89-95.
11. Karimi H, Kia HD, Hosseinkhani A. Histological effects of different levels of sorghum grain on the liver and kidney of GhezelxArkhur Merino crossbred lambs. *Anim Vet Sci*.2014;2(4):130-4
12. Wandatira N, Aulanni'am, Oktavianie AP. Studi ekspresi E-Cadherin dan gambaran histopatologi ginjal tikus (*Rattus Norvegicus*) fibrosis ginjal pascainduksi Streptokinase yang diterapi air rebusan kacang kedelai. *Repository.Program Kedokteran Hewan Universitas Brawijaya*;2012.
13. Akomolafe SF, Akinyemi AJ, and Anadozie SO. Phenolic Acids (Gallic and Tannic Acids) Modulate Antioxidant Status and Cisplatin Induced Nephrotoxicity in Rats. *International Scholarly Research Notices*.2014; Article ID 984709.
14. Fanggriani M. Uji Toksisitas Subkronik Ekstrak Air Daun Jati Belanda terhadap Fungsi Ginjal Tikus Jantan. *Repository. Fakultas Farmasi Universitas Surabaya*;2003.
15. Lin CL, Huang HC, Lin JK. Theaflavins attenuate hepatic lipid accumulation through activating AMPK in human HepG2 cells. *J Lipid Res*.2007;48(23):34-43.
16. Hidayat M, Soeng S, Prahastuti S, Hermanto PT, Andhika YK. Aktivitas Antioksidan dan Antitrigliserida Ekstrak Tunggal Kedelai, Daun Jati Belanda serta Kombinasinya. *Bionatura - Jurnal Ilmu Hayati dan Fisik*. 2014;16(2):89-94.