

**PENGARUH EKSTRAK ETANOL DAUN GEDI MERAH (*Abelmoschus manihot*  
L. Medik) TERHADAP KADAR SOD DAN HISTOPATOLOGI HATI  
TIKUS YANG DIINDUKSI STREPTOZOTOSIN-NIKOTINAMID**



**Oleh :**

**Sopan Sopian  
20144064A**

**FAKULTAS FARMASI  
UNIVERSITAS SETIA BUDI  
SURAKARTA  
2018**

**PENGARUH EKSTRAK ETANOL DAUN GEDI MERAH (*Abelmoschus manihot*  
L. Medik) TERHADAP KADAR SOD DAN HISTOPATOLOGI HATI  
TIKUS YANG DIINDUKSI STREPTOZOTOSIN-NIKOTINAMID**



**Oleh:**

**Sopan Sopian  
20144064A**

**FAKULTAS FARMASI  
UNIVERSITAS SETIA BUDI  
SURAKARTA  
2018**

**PENGESAHAN SKRIPSI**

berjudul

**PENGARUH EKSTRAK ETANOL DAUN GEDI MERAH (*Abelmoschus manihot*  
L. Medik) TERHADAP KADAR SOD DAN HISTOPATOLOGI HATI  
TIKUS YANG DIINDUKSI STREPTOZOTOSIN-NIKOTINAMID**

Oleh :

**Sopan Sopian**  
**20144064A**

Dipertahankan di hadapan Panitia Penguji Skripsi  
Fakultas Farmasi Universitas Setia Budi  
Pada tanggal 18 April 2018

Mengetahui,  
Fakultas Farmasi  
Universitas Setia Budi

Dekan,



Prof. Dr. R.A. Oefari, SU., MM., M.Sc., Apt

Pembimbing,

Dr. Gunawan Pamuji W., M.Si., Apt.

Pembimbing Pendamping,

Mamik Ponco Rahayu, M.Si., Apt.

Penguji :

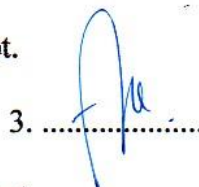
1. Dwi Ningsih, M.Farm., Apt.

1.  .....

2. Sri Rejeki Handayani, M.Farm., Apt.

2.  .....

3. Ghani Nurfiiana, M.Farm., Apt.

3.  .....

4. Dr. Gunawan Pamudji W., M.Si., Apt.

4.  .....

## PERSEMBAHAN

Dan jangan sekali-kali kamu mengatakan tentang sesuatu:  
“sesungguhnya aku akan mengerjakan ini besok pagi. Kecuali (dengan menyebut):”*Insha Allah*”.  
(Q.S Al-Kahfi: 23-24)

*Niscaya Allah akan meninggikan orang-orang yang beriman di antaramu dan orang-orang yang diberi ilmu pengetahuan beberapa derajat. dan Allah Maha mengetahui apa yang kamu kerjakan*  
(QS. Al-Mujadalah -11)

*Seutama-utama manusia ialah seorang mukmin yang berilmu. Jika ia dibutuhkan, maka ia memberi manfaat. Dan jika ia tidak dibutuhkan maka ia dapat memberi manfaat pada dirinya sendiri”.*  
(HR. Al-Baihaqi)

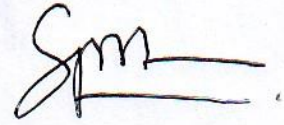
Niat adalah ukuran dalam menilai benarnya suatu perbuatan, oleh karenanya, ketika niatnya benar, maka perbuatan itu benar, dan jika niatnya buruk, maka perbuatan itu buruk.  
(Imam An Nawaw)

## **PERNYATAAN**

Saya menyatakan bahwa skripsi ini adalah hasil pekerjaan saya sendiri dan tidak terdapat karya yang pernah diajukan untuk memperoleh gelar kesarjanaan di suatu Perguruan Tinggi dan sepanjang pengetahuan saya tidak terdapat karya atau pendapat yang pernah ditulis atau diterbitkan oleh orang lain, kecuali yang secara tertulis diacu dalam naskah ini dan disebutkan dalam daftar pustaka.

Apabila skripsi ini merupakan jiplakan dari penelitian/karya ilmiah/skripsi orang lain, maka saya siap menerima sanksi, baik secara akademis maupun hukum.

Surakarta, April 2018



Sopan Sopian

## KATA PENGANTAR

Puji syukur kepada Allah SWT yang telah melimpahkan rahmat, hidayah, dan karunia-Nya sehingga penulis dapat menyelesaikan skripsi yang berjudul **“PENGARUH EKSTRAK ETANOL DAUN GEDI MERAH (*Abelmoschus monihot* L.Medik) TERHADAP KADAR SOD DAN HISTOPATOLOGI HATI TIKUS YANG DIINDUKSI STREPTOZOTOSIN-NIKOTINAMID”**. Skripsi ini disusun sebagai syarat untuk memperoleh derajat sarjana di Fakultas Farmasi Universitas Setia Budi Surakarta.

Penulis menyadari bahwa dalam penyusunan dan penulisan skripsi ini tidak lepas dari bantuan, dukungan, dan bimbingan dari berbagai pihak sehingga penulis menyampaikan terimakasih kepada yang terhormat :

1. Dr. Ir. Djoni Tarigan, MBA selaku rektor Universitas Setia Budi.
2. Prof. Dr. R. A. Oetari, SU., MM., M.Sc., Apt, selaku dekan Fakultas Farmasi Universitas Setia Budi.
3. Dr Gunawan Pamudji W.,M.Si.,Apt., selaku pembimbing utama yang telah memberikan bimbingan, arahan, nasehat, dan ilmunya sehingga penulis dapat menyelesaikan skripsi ini.
4. Mamik Ponco Rahayu.,M.Si.,Apt., selaku pembimbing pendamping yang telah memberikan bimbingan, pengarahan, dan nasehat sehingga penulis dapat menyelesaikan skripsi ini.
5. Tim penguji yang telah meluangkan waktu serta memberikan kritik dan saran sehingga skripsi ini menjadi lebih baik.
6. Bapak, ibu, kakak, adik dan semua keluarga terima kasih untuk do'a, dukungan dan semangat yang diberikan
7. Tim skripsi Daus, Jofrin, Fani dan Yati terima kasih atas kerjasama dan bantuannya selama ini untuk menyelesaikan penelitian skripsi ini.
8. Para sahabat khususnya Marwan, Udin, Jemy, Deni, Serliandi, Nyoman, Rika, Oyak, Sukron, Hadrah, Lisa, Rasyid, Arilalu dan teman-teman yang lain terima kasih banyak atas bantuan dan supportnya selama ini untuk supaya skripsi ini selesai.

9. Segenap dosen, staff, laboran, dan asisten laboratorium, perpustakaan Fakultas Farmasi Universitas Setia Budi yang telah memberikan bantuan selama penelitian.
10. Semua pihak yang tidak dapat penulis sebutkan satu persatu yang telah membantu dalam menyelesaikan skripsi ini.

Penulis menyadari bahwa tanpa bantuan dari pihak terkait maka skripsi ini tidak selesai dengan baik. Penulis juga menyadari bahwa skripsi ini masih jauh dari sempurna, oleh karena itu penulis sangat berharap kritik dan saran. Penulis berharap semoga skripsi ini dapat bermanfaat bagi seluruh masyarakat dan perkembangan ilmu pengetahuan khususnya di bidang farmasi.

Surakarta, April 2018

Penulis

## DAFTAR ISI

|  | Halaman |
|--|---------|
| HALAMAN JUDUL .....  | i       |
| PENGESAHAN SKRIPSI.....  | ii      |
| PERSEMBAHAN.....   | iii     |
| PERNYATAAN .....   | iv      |
| KATA PENGANTAR .....   | v       |
| DAFTAR ISI.....  | vii     |
| DAFTAR GAMBAR .....  | xi      |
| DAFTAR TABEL.....  | xii     |
| DAFTAR LAMPIRAN.....   | xiii    |
| INTISARI.....  | xiv     |
| ABSTRACT.....  | xv      |
| BAB I PENDAHULUAN.....   | 1       |
| A. Latar Belakang.....   | 1       |
| B. Perumusan Masalah.....                                      | 3       |
| C. Tujuan Penelitian.....                                      | 3       |
| D. Manfaat Penelitian.....                                     | 4       |
| BAB II TINJAUAN PUSTAKA .....                                  | 5       |
| A. Daun Gedi Merah ( <i>Abelmoschus manihot</i> L. Medik)..... | 5       |
| 1. Klasifikasi.....  | 5       |
| 2. Nama Lain .....   | 5       |
| 3. Deskripsi.....  | 5       |
| 4. Etiologi .....  | 6       |
| 5. Kandungan kimia dan kegunaan .....                          | 6       |
| B. Tinjauan Fitokimia.....                                     | 7       |
| 1. Flavonoid.....  | 7       |
| 2. Alkaloid.....   | 7       |
| 3. Saponin.....  | 8       |
| 4. Tanin.....  | 8       |
| C. Simplisia .....   | 8       |
| 1. Pengertian simplisia .....                                  | 8       |
| 2. Pengambilan simplisia.....                                  | 9       |
| 3. Sortasi.....  | 9       |
| 4. Pengeringan .....   | 9       |
| 5. Pemeriksaan mutu simplisia .....                            | 9       |



|     |   |    |
|-----|---|----|
| D.  | Ekstraksi .....                               | 10 |
| 1.  | Pengertian ekstraksi.....                     | 10 |
| 2.  | Metode ekstraksi.....                         | 10 |
| 3.  | Pelarut.....                                  | 11 |
| E.  | Diabetes Melitus .....                        | 11 |
| 1.  | Klasifikasi DM .....                          | 12 |
| 1.1 | DM tipe 1 .....                               | 12 |
| 1.2 | DM tipe 2 .....                               | 12 |
| 1.3 | DM gestasional .....                          | 12 |
| 1.4 | DM lain .....                                 | 12 |
| 2.  | Diagnosis diabetes melitus .....              | 13 |
| 3.  | Manifestasi klinik diabetes melitus .....     | 13 |
| 4.  | Komplikasi diabetes melitus.....              | 13 |
| 5.  | Terapi farmakologi diabetes melitus .....     | 14 |
| 5.1 | Golongan biguanida.....                       | 14 |
| 5.2 | Golongan sulfonilurea.....                    | 14 |
| 5.3 | Golongan meglitignid .....                    | 14 |
| 5.4 | Golongan thiazolidin.....                     | 14 |
| 5.5 | Golongan inhibitor $\alpha$ -glukosidase..... | 15 |
| 6.  | Terapi non farmakologi .....                  | 15 |
| 6.1 | Terapi gizi medis (diet).....                 | 15 |
| 6.2 | Olahraga .....                                | 15 |
| 6.3 | Berhenti merokok .....                        | 15 |
| 7.  | Stress oksidatif pada diabetes .....          | 15 |
| F.  | Diabetes Nefropati .....                      | 16 |
| 1.  | Definisi diabetes nefropati (ND) .....        | 16 |
| 2.  | Etiologi diabetes nefropati.....              | 16 |
| 3.  | Patogenesis diabetes nefropati.....           | 17 |
| 3.1 | Membran basalis glomerulus (MBG). .....       | 17 |
| 3.2 | Nodul mesangeal. ....                         | 17 |
| G.  | Radikal Bebas .....                           | 17 |
| 1.  | Pengertian.....                               | 17 |
| 2.  | Sumber radikal bebas .....                    | 17 |
| 3.  | Mekanisme pembentukan.....                    | 18 |
| 4.  | Efek radikal bebas .....                      | 18 |
| H.  | Antioksidan.....                              | 19 |
| 1.  | Antioksidan primer.....                       | 19 |
| 2.  | Antioksidan sekunder .....                    | 19 |
| 3.  | Antioksidan tersier .....                     | 19 |
| J.  | Hati .....                                    | 20 |
| 1.  | Struktur hati .....                           | 21 |
| 2.  | Fungsi hati .....                             | 21 |
| 2.1 | Fungsi pembentukan dan ekskresi empedu .....  | 21 |
| 2.2 | Fungsi metabolik .....                        | 22 |
| 2.3 | Fungsi vaskular hati.....                     | 22 |
| 2.4 | Fungsi pertahanan tubuh.....                  | 22 |
| 3.  | Kerusakan hati .....                          | 22 |
| 3.1 | Degenerasi hidropik.....                      | 22 |
| 3.2 | Degenerasi lemak. ....                        | 23 |
| 3.3 | Degenerasi amiloid.....                       | 23 |

|                                |  |    |
|--------------------------------|--|----|
| 3.4                            | Degenerasi bengkak keruh.....                                    | 23 |
| 3.5                            | Degenerasi glikogen.....   | 23 |
| 3.6                            | Nekrosis.....  | 23 |
| K.                             | Uji Antidiabetes.....  | 24 |
| 1.                             | Metode uji antidiabetes.....                                     | 24 |
| 1.1.                           | Metode uji toleransi glukosa.....                                | 24 |
| 1.2.                           | Metode uji antidiabetes dengan zat penginduksi.....              | 24 |
| 2.                             | Streptozotosin dan Nikotinamid.....                              | 24 |
| L.                             | Streptozotosin.....  | 25 |
| M.                             | Nikotinamida.....  | 26 |
| N.                             | Glibenklamid.....  | 27 |
| 1.                             | Indikasi dan kontraindikasi.....                                 | 27 |
| 2.                             | Dosis dan aturan pakai.....                                      | 27 |
| 3.                             | Farmakokinetika.....   | 27 |
| 4.                             | Mekanisme kerja.....   | 27 |
| 5.                             | Efek samping.....  | 28 |
| O.                             | Hewan Uji.....   | 28 |
| 1.                             | Sistematika hewan uji.....                                       | 28 |
| 2.                             | Karakteristik hewan uji.....                                     | 28 |
| P.                             | Landasan Teori.....  | 29 |
| Q.                             | Hipotesis.....   | 31 |
| BAB III METODE PENELITIAN..... |  | 32 |
| A.                             | Populasi dan Sampel.....   | 32 |
| 1.                             | Populasi.....  | 32 |
| 2.                             | Sampel.....  | 32 |
| B.                             | Variabel Penelitian.....   | 32 |
| 1.                             | Identifikasi variabel utama.....                                 | 32 |
| 2.                             | Klasifikasi variabel utama.....                                  | 32 |
| 3.                             | Definisi operasional variabel utama.....                         | 33 |
| C.                             | Bahan dan Alat.....  | 34 |
| D.                             | Jalannya Penelitian.....   | 34 |
| 1.                             | Determinasi daun gedi merah.....                                 | 34 |
| 2.                             | Pengambilan sampel.....  | 34 |
| 3.                             | Pembuatan serbuk daun gedi merah.....                            | 35 |
| 4.                             | Penetapan kadar air.....   | 35 |
| 5.                             | Pembuatan ekstrak etanol daun gedi merah.....                    | 35 |
| 6.                             | Uji bebas alkohol.....   | 36 |
| 7.                             | Identifikasi senyawa kandungan kimia serbuk daun gedi merah..... | 36 |
| 7.1.                           | Identifikasi flavonoid.....                                      | 36 |
| 7.2.                           | Identifikasi tanin.....  | 36 |
| 7.3.                           | Identifikasi saponin.....  | 37 |
| 7.4.                           | Identifikasi alkaloid.....                                       | 37 |
| 8.                             | Pembuatan larutan uji.....                                       | 37 |
| 8.1.                           | Larutan suspensi CMC Na 0,5%.....                                | 37 |
| 8.2.                           | Larutan glibenklamid.....  | 37 |
| 8.3.                           | Larutan uji ekstrak daun gedi merah.....                         | 37 |
| 8.5.                           | Larutan STZ-NA.....  | 38 |
| 9.                             | Penentuan dosis.....   | 38 |
| 9.1.                           | Dosis glibenklamid.....  | 38 |

|   |    |
|---|----|
| 9.2. Dosis sediaan uji .....  | 38 |
| 9.3. Dosis STZ-NA .....   | 38 |
| 10. Perlakuan hewan uji .....   | 38 |
| 11. Pengorbanan hewan uji.....  | 39 |
| 12. Preparasi hati .....  | 39 |
| 13. Pengukuran kadar SOD .....  | 40 |
| 14. Histopatologi hati .....  | 40 |
| 14.1. Fiksasi pertama .....   | 40 |
| 14.2. Pemotongan kasar.....   | 40 |
| 14.3. Fiksasi kedua .....   | 40 |
| 14.4. Pencucian.....  | 41 |
| 14.5. Proses dehidrasi .....  | 41 |
| 14.6. Perendaman dalam parafin cair. ....   | 41 |
| 14.7. Pembuatan sediaan blok. ....  | 41 |
| 14.8. Pemotongan organ. ....  | 41 |
| 14.9. Pewarnaan jaringan.....   | 41 |
| E. Analisa Data .....   | 43 |
| F. Kerangka Penelitian.....   | 44 |
| G. Alur Pemeriksaan Histopatologi.....  | 45 |
| <br>  |    |
| BAB IV HASIL PENELITIAN DAN PEMBAHASAN .....                                      | 46 |
| 1. Hasil determinasi tanaman .....  | 46 |
| 2. Deskripsi tanaman .....  | 46 |
| 3. Hasil pembuatan serbuk daun gedi merah.....                                    | 47 |
| 4. Hasil penetapan kadar air serbuk daun gedi merah.....                          | 47 |
| 5. Hasil pembuatan ekstrak etanol daun gedi merah .....                           | 48 |
| 6. Uji bebas alkohol ekstrak etanol daun gedi merah.....                          | 48 |
| 7. Hasil identifikasi senyawa daun gedi merah dengan metode<br>reaksi kimia ..... | 49 |
| 8. Hasil pengukuran kadar Superoksidasi Dismutase (SOD) pada<br>hati tikus .....  | 49 |
| 9. Hasil histopatologi organ hati.....  | 53 |
| 10. Hubungan antara Kadar SOD dan Histopatologi Hati.....                         | 59 |
| <br>  |    |
| BAB V KESIMPULAN DAN SARAN.....   | 61 |
| A. Kesimpulan .....   | 61 |
| B. Saran .....  | 61 |
| <br>  |    |
| DAFTAR PUSTAKA .....  | 62 |
| <br>  |    |
| LAMPIRAN.....   | 70 |

## DAFTAR GAMBAR

|  | Halaman |
|--|---------|
| Gambar 1. Struktur kimia flavonoid.....  | 7       |
| Gambar 2. Struktur kimia streptozotocin.....   | 26      |
| Gambar 3. Struktur kimia nikotinamida. ....  | 27      |
| Gambar 4. Skema pembuatan ekstrak etanol 96% serbuk daun gedi merah .....  | 36      |
| Gambar 5. Kerangka Pikir Penelitian .....  | 44      |
| Gambar 6. Skema pembuatan preparat hati .....  | 45      |
| Gambar 7. Grafik hasil rata-rata pengukuran kadar SOD .....  | 51      |
| Gambar 8. Gambaran histopatologi sel hati tikus, gambaran normal (N),<br>gambaran degenerasi parenkimatososa (DP), gambaran degenerasi<br>hidropik (DH) dan gambaran nekrosis (Ne). .... | 54      |
| Gambar 9. Grafik rata-rata skoring kerusakan pada hati tikus .....   | 56      |

## DAFTAR TABEL

|   | Halaman |
|---|---------|
| Tabel 1. Prosedur pengukuran aktivitas SOD .....  | 40      |
| Tabel 2. Kriteria penilaian derajat histopatologi sel hepar model Skoring<br>Histopathologi ManjaRoenigk..... | 42      |
| Tabel 3. Hasil rendemen bobot kering terhadap bobot basah daun gedi merah .                                   | 47      |
| Tabel 4. Hasil penetapan kadar air serbuk daun gedi merah .....   | 47      |
| Tabel 5. Hasil pembuatan ekstrak etanol daun gedi merah .....   | 48      |
| Tabel 6. Hasil uji bebas alkohol ekstrak daun gedi merah .....  | 48      |
| Tabel 7. Hasil identifikasi kandungan kimia serbuk dan ekstrak daun gedi<br>merah. ....                       | 49      |
| Tabel 8. Rata-rata hasil pengukuran kadar SOD pada hati tikus.....  | 50      |
| Tabel 9. Hasil skoring gambaran histopatologi pada hati tikus.....  | 55      |
| Tabel 10. Hasil korelasi antara kadar SOD dan histopatologi hati.....   | 59      |

## DAFTAR LAMPIRAN

|  | Halaman |
|--|---------|
| Lampiran 1. Surat determinasi tanaman .....  | 71      |
| Lampiran 2. Ethical clearance .....  | 72      |
| Lampiran 3. Surat keterangan bebas peminjaman .....  | 73      |
| Lampiran 4. Sertifikat pelatihan hewan coba .....  | 74      |
| Lampiran 5. Surat keterangan histopatologi .....   | 75      |
| Lampiran 6. Foto tanaman gedi merah .....  | 76      |
| Lampiran 7. Foto hewan percobaan, proses pembedahan hati tikus .....                       | 77      |
| Lampiran 8. Foto hasil histopatologi organ hati tikus .....                                | 79      |
| Lampiran 9. Hasil perhitungan rendemen serbuk daun gedi merah .....                        | 80      |
| Lampiran 10. Hasil penetapan kadar air daun gedi merah .....                               | 81      |
| Lampiran 11. Perhitungan rendemen ekstrak daun gedi merah .....                            | 82      |
| Lampiran 12. Hasil identifikasi kimia serbuk daun gedi merah .....                         | 83      |
| Lampiran 13. Hasil identifikasi ekstrak etanol daun gedi merah .....                       | 84      |
| Lampiran 14. Perhitungan dosis .....   | 85      |
| Lampiran 15. Hasil penimbangan hewan uji dan dosis pemberian .....                         | 88      |
| Lampiran 16. Hasil pengukuran kadar SOD hati tikus .....                                   | 89      |
| Lampiran 17. Jumlah sel pada gambaran histopatologi organ hati .....                       | 91      |
| Lampiran 18. Hasil skoring sel pada gambaran histopatologi organ hati .....                | 92      |
| Lampiran 19. Gambar Histopatologi hati tikus putih jantan .....                            | 93      |
| Lampiran 20. Hasil uji statistik kadar SOD .....   | 96      |
| Lampiran 21. Hasil uji statistik histopatologi hati .....                                  | 98      |
| Lampiran 22. Hasil uji statistik correlation antara kadar SOD dan histopatologi hati ..... | 100     |

## INTISARI

**SOPHAN, S., 2018, PENGARUH EKSTRAK ETANOL DAUN GEDI MERAH (*Abelmoschus manihot* L.Medik) TERHADAP KADAR SOD DAN HISTOPATOLOGI HATI TIKUS YANG DIINDUKSI STREPTOZOTOSIN-NIKOTINAMID, SKRIPSI, FAKULTAS FARMASI, UNIVERSITAS SETIA BUDI, SURAKARTA.**

Pada keadaan patologik seperti diabetes, peningkatan stress oksidatif dalam tubuh akan menyebabkan penurunan aktivitas endogen dalam tubuh sehingga tubuh tidak mampu menangkap radikal bebas dan mencegah kerusakan sel. Salah satu sumber antioksidan alami yaitu daun gedi merah (*Abelmoschus manihot* L.Medik). Tujuan penelitian ini adalah untuk mengetahui aktivitas peningkatan kadar SOD dan gambaran histopatologi hati pada tikus yang diinduksi streptozotocin-nikotinamid.

Penelitian ini dilakukan dengan menggunakan 30 ekor tikus wistar jantan yang diinduksi dengan STZ-NA dosis tunggal 45 mg/kg BB dan 110 mg/kg BB secara intraperitoneal. Pengujian dibagi menjadi 6 kelompok, masing-masing 5 ekor tikus. Kelompok I: kontrol normal, kelompok II: kontrol negatif, kelompok III: kontrol positif menggunakan glibenklamid, kelompok IV, V dan VI adalah kelompok perlakuan dengan ekstrak etanol daun gedi merah dosis 100 mg/kg BB, 200 mg/kg BB dan 400 mg/kg BB. Tikus terindikasi DM selama 15 setelah diinduksi STZ-NA dan perlakuan diberikan ekstrak secara oral sekali sehari selama 14 hari. Parameter yang diamati adalah peningkatan kadar SOD dan gambaran histopatologi hati tikus. Analisa data menggunakan metode ANOVA dilanjutkan uji LSD *Post Hoc*.

Hasil penelitian ini menunjukkan bahwa ekstrak etanol daun gedi merah dosis 100 mg/kg BB, 200 mg/kg BB dan 400 mg/kg BB dapat meningkatkan kadar SOD dan memperbaiki gambaran histopatologi hati tikus. Dosis yang paling efektif dalam meningkatkan kadar SOD tikus adalah dosis 400 mg/kg BB dan setiap dosis memiliki kemampuan yang sama dalam memperbaiki gambaran histopatologi hati tikus.

---

Kata kunci : Daun gedi merah, SOD, histopatologi hati, antioksidan

## ABSTRACT

**SOPIAN, S., 2018, EFFECT OF ETANOLIC EXTRACT OF RED GEDI LEAF (*Abelmochus manihot* L.Medik ) TOWARD SOD LEVELS AND LIVER HISTOPATOLOGY ON STREPTOZOTOSIN-NIKOTINAMID INDUCED RATS, THESIS, FACULTY OF PHARMACY, SETIA BUDI UNIVERSITY, SURAKARTA .**

On pathologic circumstance such as diabetes, the increase of oxidative stress in body will decrease of endogenous activity so the body unable to arrest free radical and prevent cell damage. One of natural antioxidants source as antidiabetes is red gedi leaf (*Abelmochus manihot* L.Medik ). The objective of this study was to investigate the activity of the liver in streptozotocin-nicotinamid-induced rats.

The study used STZ-NA-induced male wistar rats at the single dose of STZ 45 mg/kg BW and NA 110 mg/kg BW intraperitonially. A total of 30 rats divide into 6 groups, considered 5 rats each. Group I: normal control, group II: negative control, group III: positive control with glibenclamide, group IV, V and VI were treatment group administered by ethanolic extract of gedi merah leaf at the dose of 100 mg/kg BW, 200 mg/kg BW and 400 mg/kg BW. Mice indicated DM for 15 after induced STZ-NA and treated with oral extract once daily for 14 days. Parameters observed were elevated SOD levels and histopathologic images of rat liver. Data analysis using ANOVA method followed by LSD post hoc test.

The results showed that ethanolic extract of gedi merah leaf at the doses of 100 mg/kg BW, 200 mg/kg BW and 400 mg/kg BW could increase of SOD levels and remedy the liver rat histopathology. The most effective dose in increase of SOD levels of rat was dose of 400 mg/kg BW and each dose had the same ability to improve histopathologic images of rat liver.

---

Keywords: gedi merah leaf, SOD, liver histopathology, antioxidant



# **BAB I**

## **PENDAHULUAN**

### **A. Latar Belakang**

Masyarakat di negara berkembang sekitar 75-80% dari total penduduk memilih melakukan pengobatan herbal sebagai pengobatan utama, hal ini karena obat herbal lebih diterima dalam hal kebudayaan, lebih terjangkau, lebih sesuai di dalam tubuh dan memiliki efek samping yang ringan (Musa *et al.* 2009). Budaya bangsa yang berkaitan dengan pemeliharaan kesehatan dan pengobatan penyakit lebih banyak menggunakan tumbuhan. Hal ini didukung oleh melimpahnya berbagai macam flora yang berkhasiat di tanah air (Sudibyo 1998).

Salah satu tanaman yang menurut masyarakat Sulawesi memiliki efek pengobatan ialah tanaman gedi. Tanaman gedi dikenal oleh masyarakat Sulawesi Utara sebagai tanaman sayuran dengan dicampur dalam makanan khas Kota Manado yang biasa disebut bubur manado (Tinutuan). Tanaman gedi terdiri atas dua jenis yaitu Gedi merah (*Abelmoschus manihot* L. Medik) dan Gedi hijau (*Abelmoschus esculentus* L.). Gedi hijau digunakan sebagai sayuran sedangkan Gedi merah digunakan untuk pengobatan beberapa penyakit (Mamahit dan Soekamto 2010).

Berdasarkan hasil penelitian penelitian Pine dkk (2010) bahwa kadar flavonoid pada ekstrak daun gedi merah yang diperoleh secara maserasi tergolong tinggi. Flavonoid pada sayuran merupakan metabolit sekunder yang dimanfaatkan untuk kesehatan dan berperan sebagai antioksidan. Antioksidan adalah senyawa yang dapat digunakan untuk mengurangi efek radikal bebas dalam tubuh. Radikal bebas yang berlebihan dalam tubuh dapat memicu terbentuknya stres oksidatif. Salah satu penyakit degeneratif penyebab dari radikal bebas yaitu penyakit diabetes militus.

Penyakit diabetes militus (DM) adalah penyakit yang ditimbulkan sebagai akibat kelainan metabolisme karbohidrat, dimana glukosa darah tidak dapat digunakan dengan baik, sehingga menyebabkan hiperglikemia. Kadar glukosa darah yang tinggi dan terus menerus dapat menyebabkan suatu keadaan gangguan

pada berbagai organ tubuh. Akibat keracunan yang menetap ini, timbul perubahan-perubahan pada organ-organ tubuh sehingga timbul berbagai komplikasi. Komplikasi umumnya timbul pada semua penderita baik dalam derajat ringan atau berat (Permana 2007).

Kondisi tersebut di atas dimungkinkan karena DM dapat memicu terjadinya stres oksidatif dengan cara menghasilkan ROS melalui autooksidasi glukosa. Proses autooksidasi glukosa dikatalisis oleh senyawa logam seperti besi dan seng. Hasil katalisis tersebut adalah senyawa oksigen reaktif yang memiliki gugus fungsional dengan atom oksigen yang bermuatan elektron lebih. Salah satu antioksidan di dalam tubuh untuk melawan ROS adalah superoksida dismutase (SOD) (Fiqriyana 2010).

Superoksida dismutase (SOD) adalah antioksidan yang bekerja dengan cara menyeimbangkan radikal bebas atau spesies oksigen reaktif (ROS) dengan reaksi enzimatik dan mengubahnya menjadi produk yang lebih stabil dengan cara SOD mengkatalisis reaksi dismutase radikal bebas anion superoksida ( $O_2^-$ ) menjadi hidrogen peroksida dan molekul oksigen sehingga tidak berbahaya (Halliwell 2006). Salah satu kerusakan sel yang dapat terjadi akibat meningkatnya radikal bebas adalah kerusakan sel hati. Hati merupakan organ yang berpotensi mengalami kerusakan karena organ pertama setelah saluran pencernaan yang terpapar oleh bahan yang bersifat toksik. Studi histologi mengenai nekrosis pada hepatosit dapat menjadi indikator yang kuat untuk mengungkapkan kerusakan pada hepar. Selain nekrosis, kerusakan sel dapat juga terjadi pada sinusoid (saluran darah) dan vena sentralis akibat paparan dari induksinya (Szkudelski 2001).

STZ merupakan substansi penginduksi DM yang memiliki potensi alkali dan bersifat toksik. STZ menghambat dari siklus kreb, menurunkan produksi ATP mitokondria dan selanjutnya akan menghambat sekresi insulin yang diinduksi glukosa (Lanze 2007; Szkudelski 2017). STZ masuk ke dalam sel  $\beta$  pankreas secara selektif melalui GLUT-2 dalam membran plasma. NA adalah vitamin B3 yang bekerja dengan cara menghambat aksi STZ dalam menurunkan biosintesa proinsulin, memperbaiki efek penghambatan sekresi insulin, menghambat

kegagalan oksidasi glukosa dan menghambat penurunan kemampuan hidup sel  $\beta$  pankreas akibat STZ (Szkudelski 2001).

Berdasarkan pemaparan sebelumnya maka diperlukan penelitian mengenai efektivitas daun gedi merah yang berkhasiat sebagai antidiabetes yang dilihat dari kadar SOD dan histopatologi hepar tikus. Karena salah satu indikasi berhasilnya uji efektivitas dari penyakit diabetes militus ialah dengan adanya peningkatan kadar SOD dan gambaran struktur sel yang baik pada hati tikus. Selanjutnya dalam penelitian ini digunakan pemilihan dosis rendah sampai tinggi agar mendapatkan dosis yang efektif untuk penyakit diabetes.

### **B. Perumusan Masalah**

Berdasarkan latar belakang yang dikemukakan di atas dapat dirumuskan permasalahan berikut ini :

Pertama, apakah ekstrak etanol daun gedi merah (*Abelmoschus manihot* L. Medik) dapat meningkatkan kadar SOD pada tikus diabetes yang diinduksi streptozotosin-nikotinamid ?

Kedua, berapa dosis efektif ekstrak etanol daun gedi merah (*Abelmoschus manihot* L. Medik) dalam meningkatkan kadar SOD pada tikus diabetes?

Ketiga, apakah pemberian ekstrak etanol daun gedi merah (*Abelmoschus manihot* L. Medik) dapat memperbaiki gambaran histopatologi hati tikus yang diinduksi streptozotosin-nikotinamid ?

### **C. Tujuan Penelitian**

Pertama, mengetahui ekstrak etanol daun gedi merah (*Abelmoschus manihot* L. Medik) dalam meningkatkan kadar SOD pada tikus diabetes.

Kedua, mengetahui dosis efektif ekstrak etanol daun gedi merah (*Abelmoschus manihot* L. Medik) dalam meningkatkan kadar SOD pada tikus diabetes.

Ketiga, mengetahui pengaruh ekstrak etanol daun gedi merah (*Abelmoschus manihot* L. Medik) dapat memperbaiki gambaran histopatologi hati pada tikus diabetes.

#### **D. Manfaat Penelitian**

Hasil penelitian ini diharapkan dapat memberikan pengetahuan masyarakat dalam usaha mengembangkan obat tradisional yang dapat dimanfaatkan untuk meningkatkan pelayanan kesehatan dengan mendapatkan data dan fakta yang dapat dipertanggung jawabkan secara ilmiah sehingga dapat dibuktikan bahwa ekstrak daun gedi merah (*Abelmoschus manihot* L. Medik) dapat berkhasiat sebagai anti diabetes.

## BAB II

### TINJAUAN PUSTAKA

#### A. Daun Gedi Merah (*Abelmoschus manihot* L. Medik)

##### 1. Klasifikasi

Dalam sistem klasifikasi tumbuhan, daun gedi merah diklasifikasikan sebagai berikut :

|           |   |
|-----------|---|
| Kingdom   | : Plantae   |
| Divisi    | : Spermatophyte                                     |
| Subdivisi | : Angiospermae                                      |
| kelas     | : Monocotyledonae                                   |
| Ordo      | : Malvales  |
| Famili    | : Malvaceae   |
| Genus     | : <i>Abelmoschus</i>                                |
| Spesies   | : <i>Abelmoschus manihot</i> L. Medik (Kayadu 2013) |

##### 2. Nama Lain

Daun gedi merah di Indonesia lebih banyak tumbuh dan dikenal di bagian Indonesia Timur, dengan nama yang berbeda-beda. Dari Sulawesi Utara tepatnya di ibu kota provinsi yaitu Manado, tanaman ini dikenal sebagai tanaman gedi. Sedangkan di daerah Papua biasa disebut dengan daun katsuri. Tidak hanya di Indonesia saja yang mengenal tanaman gedi tetapi juga di negara lain dengan namanya masing-masing. Seperti Philipina disebut Lagikuway, Thailand disebut Po fai, dan di Inggris disebut Edible hibiscus. Gedi (Sulawesi), Gidi (Minahasa); nating, iyondong kuei, maree (Sulawesi Utara), degi (Ternate), ki dedi, edi (Jawa) dan singa depa (Sunda) (Sutarto 2007).

##### 3. Deskripsi

Tanaman gedi berasal dari suku Malvaceae yaitu suku yang sama dengan tanaman kembang sepatu. Tanaman ini merupakan tumbuhan tahunan yang berbatang tegak dengan tinggi tanaman sekitar 1,2 – 1,8 meter dan permukaan kulit batang licin atau sedikit kasar (Kayadu 2013).

Bunga berukuran besar dan berbentuk lonceng dengan diameter 4-8 cm. tangkai bunga gedi berukuran pendek dan berbulu halus. Buah gedi berbentuk kapsul dengan panjang 5-20 cm tanaman gedi memiliki biji berbentuk bulat dan berwarna coklat dengan diameter 2-4 cm (Kayadu 2013).

#### **4. Etiologi**

Tanaman gedi tumbuh subur di lingkungan tropis pada dataran rendah dengan ketinggian 0-500 m tetapi masih dapat tumbuh hingga mencapai ketinggian 1200 m dpl. Tanaman gedi memerlukan distribusi curah hujan yang merata sepanjang tahun dengan curah hujan 1200 mm per tahun (Kayadu 2013).

Gedi mampu tumbuh pada berbagai jenis tanah, tetapi akan tumbuh dengan baik pada jenis tanah lempung berpasir dan tanah liat dengan pH antara 5-7. Pertumbuhannya akan terhambat pada tanah-tanah yang sangat basa karena terjadi defisiensi unsur mikro dan kekeringan (Kayadu 2013)

#### **5. Kandungan kimia dan kegunaan**

Berdasarkan penelitian yang dilakukan oleh Joni *et al.* (2016), ditemukan bahwa daun gedi merah mengandung senyawa flavonoid, saponin, tanin dan alkaloid.

Daun gedi merah memiliki Kandungan mucilago terdiri atas polisakarida dan protein. Tanaman ini mengandung quercetin-3-o-robinobiosid, hyperin, isoquercetin, gossipetin-8-o-glukuronid, dan myricetin (Liu *et al.* 2006). Bunganya mengandung quercetin-3-robinoside, quercetin-3'-glikosida, hyperin, myrecetin, antosianin, dan hyperoside. Hyperoside memiliki kemampuan antivirus, antinosiseptif, antiinflamasi, kardioprotektif, hepatoprotektif, dan efek protektif terhadap gastrimukosal (lapisan membran mukus pada lambung). Daun gedi juga telah diuji dapat mencegah ovariectomy-induced femoral osteopenia (kondisi densitas mineral tulang yang lebih rendah dari batas normal pada bagian sendi tungkai akibat operasi pengangkatan rahim/ovarium) (Lin-lin *et al.* 2007; Jain *et al.* 2009).

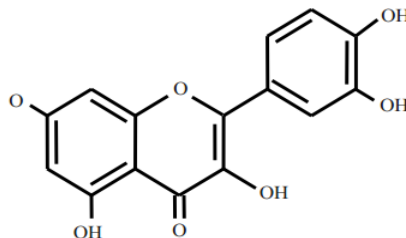
Karakterisasi ekstrak etanol daun tanaman gedi yang dilakukan oleh Pine *et al.* (2011) menunjukkan bahwa daun tanaman gedi memiliki senyawa flavonoid glikosida yang berpotensi sebagai sumber antioksidan. Ekstrak etanol daun gedi

yang berasal dari Palu memiliki aktivitas antioksidan tertinggi dengan nilai  $IC_{50}$  sebesar 0,575 mg/ml. Hal ini menunjukkan bahwa tanaman ini memiliki potensi untuk dikembangkan sebagai salah satu tanaman penghasil antioksidan yang tinggi. Namun dalam dosis yang terlalu tinggi, ekstrak etanol daun gedi memiliki sifat toksik walaupun toksisitasnya tergolong dalam toksisitas rendah (Assagaf *et al.* 2013).

## B. Tinjauan Fitokimia

### 1. Flavonoid

Flavonoid adalah suatu senyawa fenol yang terbesar yang ditemukan di alam. Flavonoid di alam juga sering dijumpai dalam bentuk glikosidanya. Senyawa-senyawa ini merupakan zat warna merah, ungu, biru dan sebagian zat warna kuning pada tanaman (Kristanti *et al.* 2008). Flavonoid tersebut dapat bersifat sebagai antidiabetes karena flavonoid mampu berperan sebagai senyawa yang menekan kadar glukosa dan meningkatkan aktivitas glukokinase hepatic dengan meningkatkan pelepasan insulin dari pulau Langerhans pankreas (Bhusnan *et al.* 2010).



Gambar 1. Struktur kimia flavonoid

### 2. Alkaloid

Alkaloid adalah senyawa basa nitrogen organik yang terdapat pada tumbuhan. adanya pasangan elektron bebas pada atom nitrogen, menyebabkan alkaloid bersifat basa. Alkaloid bereaksi dengan asam membentuk garam yang tidak larut dalam air. Alkaloid sukar larut dalam air, tetapi mudah larut dalam  $CHCl_3$ , eter, dan pelarut organik lainnya. Kebanyakan alkaloid mempunyai aktivitas fisiologi tertentu, sehingga bisa sering digunakan sebagai obat. Peran alkaloid

dalam tumbuhan antara lain sebagai zat racun yang melindungi tumbuhan dari gangguan serangga dan hewan (Harborne 1987).

### **3. Saponin**

Saponin merupakan senyawa kimia yang banyak terdapat pada tanaman. Strukturnya terdiri dari *aglycone* (triterpene atau steroid) dan gugus glukosa. Saponin memiliki banyak fungsi biologi dan farmakologi diantaranya sebagai hemolisa, kardiotonik, hipoglikemik, hipokolesterolemik, modulator imun, hepatoproteksi, antioksidan, dan antikardiogenik (Yoshikawa *et al.* 2006). Saponin dapat dideteksi dengan pembentukan larutan koloidal dengan air yang apabila digojog menimbulkan buih yang stabil. Saponin (triterpenoid, steroidal glikosidase) memiliki aktivitas menstimulasi pelepasan insulin dan memblok pembentukan glukosa dalam aliran darah (Bhusnan *et al.* 2010).

### **4. Tanin**

Tanin diketahui dapat memicu metabolisme glukosa dan lemak, sehingga timbunan kedua sumber kalori ini dalam darah dapat dihindari. Tanin juga mempunyai aktivitas hipoglikemik yaitu dengan meningkatkan glikogenesis, selain itu tanin juga berfungsi sebagai *astringent* atau pengkhelat yang dapat mengerutkan membran epitel usus halus sehingga mengurangi penyerapan sari makanan yang menghambat asupan gula dan laju peningkatan gula darah tidak terlalu tinggi (Dalimartha 2005).

## **C. Simplisia**

### **1. Pengertian simplisia**

Simplisia adalah bahan alamiah yang dipergunakan sebagai obat yang belum mengalami pengolahan apapun juga dan kecuali dinyatakan lain simplisia merupakan bahan yang dikeringkan. Simplisia dapat berupa simplisia nabati, simplisia hewani dan simplisia mineral (DepKes 1985).

Simplisia nabati adalah simplisia yang berupa tanaman utuh, bagian tanaman, atau eksudat tanaman. Eksudat tanaman adalah isi sel yang secara spontan keluar dari tanaman atau dengan cara tertentu dikeluarkan dari selnya, atau zat-zat



nabati lainnya yang dengan cara tertentu dipisahkan dari tanamannya. Simplisia hewani adalah simplisia berupa hewan utuh, bagian hewan, atau zat-zat yang berguna yang dihasilkan oleh hewan dan belum berupa zat kimia murni (DepKes 1985).

## **2. Pengambilan simplisia**

Kualitas baku simplisia sangat dipengaruhi beberapa faktor, seperti umur tumbuhan atau bagian tumbuhan pada waktu panen, bagian tumbuhan, waktu panen dan lingkungan tempat tumbuh (DepKes RI 1985).

## **3. Sortasi**

Sortasi dilakukan untuk memisahkan kotoran-kotoran atau bahan-bahan asing lainnya dari bahan simplisia sehingga tidak ikut terbawa pada proses selanjutnya yang akan mempengaruhi hasil akhir. Sortasi terdiri dari dua cara, yaitu: sortasi basah dan kering.

Sortasi basah dilakukan dengan memisahkan kotoran-kotoran atau bahan asing lainnya setelah dilakukan pencucian dan perajangan, sedangkan sortasi kering bertujuan untuk memisahkan benda-benda asing seperti bagian-bagian tumbuhan yang tidak diinginkan dan pengotor yang lain dan masih tertinggal pada simplisia kering (DepKes RI 1985).

## **4. Pengeringan**

Pengeringan bertujuan agar simplisia tidak mudah rusak, sehingga dapat disimpan dalam waktu yang relatif lama. Pengurangan kadar air dalam menghentikan reaksi enzimatik akan mencegah penurunan mutu atau kerusakan pada simplisia (DepKes RI 1985).

Pengeringan simplisia dilakukan dengan menggunakan sinar matahari atau dengan alat pengering. Suhu pengeringan tergantung pada bahan simplisia dan cara pengeringannya. Simplisia dapat dikeringkan dengan suhu 30°C-90°C tetapi suhu terbaik adalah tidak melebihi 60°C (Depkes RI 1985).

## **5. Pemeriksaan mutu simplisia**

Pemeriksaan mutu fisis secara tepat meliputi: kurang kering atau mengandung air, termakan serangga atau hewan lain, ada-tidaknya pertumbuhan kapang, dan perubahan warna atau perubahan bau. Analisis bahan meliputi

penetapan jenis konstituen (zat kandungan), kadar konstituen (kadar abu, kadar sari, kadar air, kadar logam) dan standarisasi simplisia. Kemurnian mutu simplisia meliputi kromatografi kinerja tinggi, lapis tipis, kolom, kertas, dan gas untuk menentukan senyawa atau komponen kimia tunggal dalam simplisia hasil metabolit primer dan sekunder tanaman (Gunawan 2004).

## **D. Ekstraksi**

### **1. Pengertian ekstraksi**

Ekstrak adalah sediaan pekat diperoleh dengan mengekstraksi zat aktif dari simplisia nabati atau simplisia hewani menggunakan pelarut yang sesuai. Kemudian semua atau hampir semua pelarut diuapkan. Massa atau serbuk yang tersisa diperlukan sedemikian rupa hingga memenuhi standart baku yang telah ditetapkan (Depkes RI 1995).

Faktor-faktor yang mempengaruhi mutu ekstrak menurut Sampurno *et al.* (2000) ada 2 yaitu faktor biologi dan faktor kimia. Faktor biologi yaitu mutu ekstrak dipengaruhi dari bahan asal (tumbuhan obat) dipandang secara khusus dari segi biologi yaitu jenis tumbuhan, lokasi tumbuhan asal, waktu panen, penyimpanan, bahan tumbuhan, dan bagian yang digunakan.

Faktor kimia yaitu mutu ekstrak dipengaruhi dari bahan asal (tumbuhan obat) dipandang secara khusus dari kandungan kimia, yaitu: Faktor internal seperti jenis senyawa aktif dalam bahan, komposisi kualitatif senyawa aktif, kadar total rata-rata senyawa aktif. Faktor eksternal seperti metode ekstraksi perbandingan ukuran alat ekstraksi, pelarut yang digunakan dalam ekstraksi, kandungan logam berat, ukuran kekerasan, dan kekeringan bahan.

### **2. Metode ekstraksi**

Metode dasar penyari adalah maserasi, perkolasi, dan soxhletasi. Pemilihan terhadap metode tersebut disesuaikan dengan kepentingan dalam memperoleh sari yang baik jenis ekstraksi dan bahan ekstraksi yang digunakan sangat tergantung dari kelarutan bahan kandungan serta stabilitasnya (Voight 1994).

Merasasi merupakan cara ekstraksi yang dilakukan dengan merendam serbuk simplisia dalam cairan penyari. Cairan penyari yang digunakan dapat berupa

air, etanol, air-etanol, atau pelarut lain. Maserasi dilakukan untuk ekstraksi simplisia yang mudah larut dalam cairan penyari, tidak mengandung zat yang mudah mengembang dalam cairan penyari, serta tidak mengandung benzoin atau sirak (Anonim 1986). Simplisia yang akan diekstraksi ditempatkan pada wadah atau bejana yang bermulut lebar bersama larutan penyari yang telah ditetapkan, bejana ditutup rapat kemudian dikocok berulang-ulang sehingga memungkinkan pelarut masuk ke seluruh permukaan simplisia (Ansel 1989). Rendaman tersebut disimpan terlindung dari cahaya langsung (mencegah reaksi yang dikatalisis oleh cahaya atau perubahan warna). Waktu maserasi pada umumnya 5 hari, setelah waktu tersebut keseimbangan antara bahan yang diekstraksi pada bagian dalam sel dengan luar sel telah tercapai. Dengan pengocokan dijamin keseimbangan konsentrasi bahan ekstraksi lebih cepat dalam cairan. Keadaan diam selama maserasi menyebabkan turunnya perpindahan bahan aktif (Voight 1994).

### **3. Pelarut**

Pelarut merupakan zat yang digunakan untuk melarutkan suatu zat atau suatu obat dalam preparat larutan. Dalam memilih pelarut harus berdasarkan pada faktor-faktor seperti stabil secara fisika-kimia, nilai yang terjangkau, bereaksi netral, selektif dalam menarik zat yang diinginkan dan mudah didapat.

Banyak jenis pelarut yang umum digunakan salah satunya ialah etanol 96% dengan indeks polaritas 4,3 dan titik didih 78°C. Pemilihan etanol sebagai pelarut karena etanol memiliki sifat selektif, kapang dan kuman sulit tumbuh dalam etanol, mempunyai absorpsi yang baik dan dapat bercampur dengan air pada segala kondisi (Depkes 1986).

### **E. Diabetes Melitus**

DM adalah sekelompok gangguan metabolisme dari lemak, karbohidrat, dan protein yang menghasilkan gangguan dalam sekresi insulin, kerja insulin (sensitivitas), atau keduanya (Dipiro *et al.* 2008). Peningkatan kadar glukosa darah yang berkaitan dengan DM terjadi akibat sekresi insulin yang tidak adekuat atau tidak ada, dengan atau tanpa gangguan kerja insulin (Katzung 2010).

## 1. Klasifikasi DM

Jenis diabetes mellitus menurut organisasi kesehatan dunia (WHO) yaitu :

**1.1 DM tipe 1.** Diabetes mellitus tipe 1 (Diabetes Mellitus yang tergantung insulin [*Insulin Dependent Diabetes Mellitus/ IDDM*]) merupakan 5-10 persen dari semua kasus diabetes mellitus, biasanya ditemukan pada anak atau orang dewasa dan tidak ada pembentukan insulin sehingga penderita memerlukan suntikan insulin setiap hari. Pada diabetes mellitus tipe 1 terjadi pada sel  $\beta$  Langerhans sehingga mengakibatkan produksi insulin berhenti atau sedikit sekali (Nugroho 2006).

**1.2. DM tipe 2.** Diabetes mellitus tipe 2 yaitu adanya resistensi insulin atau gangguan sekresi insulin. Pada tipe 2 ini tidak selalu dibutuhkan insulin, kadang-kadang cukup dengan diet dan antidiabetik oral. Karenanya tipe ini sering disebut dengan *noninsulin dependent diabetes mellitus* atau NIDDM (Robbins *et al.* 2007). Disebabkan oleh dua hal yaitu respon jaringan terhadap insulin atau sering disebut dengan resistensi insulin dan penurunan produksi insulin akibat regulasi sekresinya terganggu atau terjadi kerusakan fungsional pada sel  $\beta$  Langerhans. Sebagian besar penderita diabetes mellitus tipe 2 disebabkan karena kegemukan karena kelebihan makanan (Nugroho 2006).

Patogenesis diabetes mellitus tipe II lebih sedikit diketahui, meskipun tipe ini sering ditemukan. Pada diabetes tipe ini dapat terjadi akibat efek genetik dan juga dipengaruhi oleh lingkungan. Dua efek metabolisme yang menandai diabetes mellitus tipe II adalah gangguan sekresi insulin pada sel  $\beta$  dan ketidakmampuan jaringan perifer merespon insulin (Robbins *et al.* 2007).

**1.3. DM gestasional.** Diabetes mellitus yang terjadi pada kehamilan toleransi terhadap glukosa secara normal berfluktuasi selama kehamilan. Sebagian besar perempuan dengan diabetes mellitus gestasional memperlihatkan pemulihan kadar glukosa normal setelah persalinan (Sacher & Mc Pherson 2004).

**1.4. DM lain.** Diabetes mellitus tipe lain merupakan diabetes mellitus yang timbul akibat penyakit lain yang mengakibatkan gula darah meningkat misalnya infeksi berat, pemakaian obat kortikosteroid dan lain-lain. Dalam klasifikasi diabetes mellitus ini individu mengalami hiperglikemia akibat kelainan spesifik seperti kelainan genetik fungsi sel  $\beta$  dan endokrinopati (Nabyl 2012).

## 2. Diagnosis diabetes melitus

Diagnosis DM harus didasarkan atas pemeriksaan konsentrasi glukosa darah. Penentuan diagnosis DM harus memperhatikan asal bahan darah yang diambil dan cara pemeriksaan yang dipakai. Pemeriksaan yang dianjurkan adalah pemeriksaan glukosa dengan cara enzimatis dengan bahan darah plasma vena. Kriteria diagnosis DM meliputi kadar glukosa plasma sewaktu  $\geq 200$  mg/dL (11,1 mmol/L) atau kadar glukosa plasma puasa  $\geq 126$  mg/dL (7,0 mmol/L). Kadar glukosa plasma 2 jam pada TTGO  $\geq 200$  mg/dL (11,1 mmol/L) sesudah pemberian glukosa 75 g (Sudoyo *et al.* 2006).

## 3. Manifestasi klinik diabetes melitus

Penderita diabetes mellitus tipe 1 biasanya memiliki tubuh yang kurus dan cenderung berkembang menjadi diabetes ketoasidosis karena insulin sangat kurang disertai peningkatan hormon glukagon. Sejumlah 20-40% pasien mengalami diabetes ketodiasis setelah beberapa hari mengalami polyuria (pengeluaran urin secara berlebihan), polydipsia (minum air secara berlebihan), polifagia (makan secara berlebihan) dan kehilangan berat badan (Sukandar *et al.* 2008).

Pasien dengan diabetes mellitus tipe 2 sering asimtomatik. Munculnya komplikasi dapat mengindikasikan bahwa pasien telah menderita diabetes mellitus selama bertahun-tahun, umumnya muncul neuropati dan terdeteksi letargi, polyuria, nokturia dan polydipsia sedangkan penurunan bobot badan secara signifikan jarang terjadi (Sukandar *et al.* 2008).

## 4. Komplikasi diabetes melitus

Komplikasi yang sering terjadi pada penyakit diabetes melitus diakibatkan karena kelainan pembuluh darah seperti makro dan mikroangiopati. Mikroangiopati diabetika misalnya akan menimbulkan berbagai perubahan pada pembuluh-pembuluh darah halus (*kapiler*) yang ada di ginjal, mata, dan juga pada saraf. Akibatnya timbul berbagai komplikasi seperti pada kapiler glomerulus ginjal yang akan menyebabkan *neuropati diabetic* dan pada retina mata yang akan menyebabkan *retinopati diabetic* dan berakhir dengan kebutaan, sedangkan komplikasi pada saraf akan menimbulkan *neuropati diabetic*. Akibat *makroangiopati* yang melibatkan pembuluh darah lebih besar dapat terjadi

penyumbatan pada pembuluh darah jantung yang menyebabkan penyakit jantung koroner. Penyempitan pada pembuluh darah tungkai bawah dapat menyebabkan gangrene pada kaki, sedangkan kelainan pada pembuluh darah otak menyebabkan pati cerebrovascular yang mengakibatkan stroke. Timbulnya komplikasi kronis ini memang bukan disebabkan oleh beratnya penyakit diabetes melitus, tetapi lebih disebabkan oleh lamanya menderita penyakit tersebut (Dalimartha 2005).

## **5. Terapi farmakologi diabetes melitus**

**5.1. Golongan biguanida.** Mekanisme obat golongan ini adalah menghambat glukoneogenesis dan meningkatkan penggunaan glukosa di jaringan. Contoh obat golongan biguanida adalah metformin hidroklorida, fenformin dan buformin. Pemberian biguanida pada orang nondiabetik tidak menurunkan kadar gula darah, tetapi sediaan biguanida ternyata menunjukkan efek potensiasi dengan insulin (Sukandar *et al.* 2008).

**5.2. Golongan sulfonilurea.** Dikenal 2 generasi sulfonilurea, generasi I terdiri dari tolbutamid, tolazamid, dan klorpropamid. Generasi II yang potensi hipoglikemik lebih besar yaitu glibenklamid, glikazid dan glimepirid (Mansjoer *et al.* 2001).

Mekanisme kerja golongan obat ini sering disebut sebagai insulin sekretagogueus, kerjanya merangsang sekresi insulin dari granul sel  $\beta$  Langerhans. Contoh obat golongan ini adalah klorpropamid, glibenklamid, glipisid, gliklasid, glikuidon, glimepirid (Mansjoer *et al.* 2001).

**5.3. Golongan meglitinid.** Mekanisme kerja meglitinid adalah hampir sama dengan sulfonilurea yaitu dengan memblok ATP-sensitif  $K^+$  Channels pada sel  $\beta$  pankreas untuk merangsang sekresi insulin. Obat ini kurang poten dibanding sulfonilurea, namun aksinya lebih cepat. Contoh obatnya adalah repaglinid dan netelignid (Nugroho 2006).

**5.4. Golongan thiazolidin.** Mekanisme kerjanya adalah meningkatkan sensitivitas insulin pada otot dan jaringan adiposa serta menghambat glukogenesis hepatic. Contoh golongan obat ini yaitu proglitazon, rosiglitazon dan troglitazon (Sukandar *et al.* 2008).

**5.5. Golongan inhibitor  $\alpha$ -glukosidase.** Obat golongan ini bekerja secara kompetitif menghambat kerja *alpha glucosidase* di dalam saluran cerna, sehingga menurunkan penyerapan glukosa dan menurunkan hiperglikemia *post prandial*. Obat ini bekerja di lumen usus dan tidak menyebabkan hipoglikemia serta tidak berpengaruh terhadap kadar insulin. (Sudoyo *et al.* 2006).

## **6. Terapi non farmakologi**

Terapi non farmakologi pada diabetes mellitus ada berbagai cara yaitu :

**6.1 Terapi gizi medis (diet).** Perencanaan makan sebaiknya dengan kandungan zat gizi yang cukup disertai pengurangan total lemak terutama lemak jenuh. Dianjurkan pembatasan kalori sedang yaitu 250-500 kkal lebih mudah dari asupan rata-rata sehari (Soegondo 2013).

**6.2 Olahraga.** Sudah lama diketahui bahwa olahraga menimbulkan penurunan kadar gula darah yang disebabkan oleh karena peninggian penggunaan glukosa di daerah perifer. Ini berlaku baik pada orang normal maupun pada penderita diabetes mellitus yang ringan. Tetapi bila kadar gula darah tinggi (lebih dari 18 mmol/L=320 mg%) dan bila ada ketosis, olahraga sebaliknya akan menyebabkan keadaan diabetes lebih parah, gula dan ketonemia akan meninggi karena bertambahnya glukoneogenesis dan ketogenesis dalam hepar (Tan & Rahardja 2002).

**6.3 Berhenti merokok.** Nikotin dapat mempengaruhi secara buruk penyerapan glukosa oleh sel, akibatnya kadar glukosa menjadi naik (Tan & Rahardja 2002).

## **7. Stress oksidatif pada diabetes**

Pada DM pertahanan antioksidan dan system perbaikan seluler akan terangsang sebagai respon tantangan oksidatif (Nuttal *et al.* 1999). Sumber stress oksidatif yang terjadi berasal dari peningkatan produksi radikal bebas akibat autooksidasi glukosa, penurunan konsentrasi antioksidan berat molekul rendah di jaringan, dan gangguan aktivitas pertahanan antioksidan enzimatik (Kowluru 2001). Kemaknaan stress oksidatif pada patologi penyakit sering tidak tentu (Halliwell dan Gutteridge 1999). Dengan demikian stress oksidatif dan gangguan pertahanan antioksidan merupakan keistimewaan DM yang terjadi sejak awal

penyakit. Di samping itu, stress oksidatif juga memiliki kontribusi pada perburukan dan perkembangan kejadian komplikasi. Beberapa studi mengungkapkan penurunan status antioksidan dalam plasma dan serum sampel dibandingkan kontrol berdasarkan usia. Fenomena ini dapat terjadi sejak anak-anak serta berjalan secara progresif dan memburuk sesuai perjalanan waktu dan berkembangnya komplikasi (Nuttal *et al.* 1999).

Diabetes pada anak ditemukan penurunan glutathion eritrosit, glutathion total,  $\alpha$ -tokoferol plasma, dan  $\beta$ -karoten plasma secara bermakna. Penurunan berbagai antioksidan tersebut terkait dengan pembentukan senyawa penanda adanya stress oksidatif, misalnya peningkatan lipid hidroperoksida, diena terkonjugasi, dan protein karbonil secara bermakna (Haffner 1999). Pada diabetes usia 50-60 tahun ditemukan peningkatan peroksidasi lipid sejak onset diabetes.

DM merupakan salah satu kelainan metabolik yang dapat menimbulkan komplikasi vascular dan nonvascular. Salah satu hipotesis penyebab munculnya berbagai komplikasi tersebut adalah stress oksidatif. Pada diabetes terdapat tiga jalur munculnya stress oksidatif, yaitu autooksidasi glukosa, glikasi protein nonenzimatik, dan jalur poliol sorbitol (aldose reduktase).

## **F. Diabetes Nefropati**

### **1. Definisi diabetes nefropati (ND)**

ND merupakan penyebab utama gagal ginjal yang ditandai dengan adanya mikroalbuminuria yang disertai dengan peningkatan tekanan darah sehingga mengakibatkan menurunnya filtrasi glomerulus dan akhirnya menyebabkan gagal ginjal tahap akhir (Gross *et al.* 2005).

### **2. Etiologi diabetes nefropati**

Hipertensi merupakan faktor pada DM yang sering menyebabkan terjadinya diabetes nefropati secara langsung. Hipertensi yang tidak terkontrol dapat mempercepat diabetes nefropati pada fase yang lebih tinggi (Fase V ND).



### 3. Patogenesis diabetes nefropati

Manifestasi patologis ginjal meliputi peningkatan ketebalan membran basalis glomerulus, pembentukan nodul mesangial serta pembentukan mikroaneurism (Gross *et al.* 2005).

**3.1 Membran basalis glomerulus (MBG).** DM dan hiperglikemia juga menyebabkan terjadinya penebalan MBG serta menurunnya kadar glikoaminoglikan dan sistein. Hal ini menyebabkan hilangnya sifat anionik MBG yang mengakibatkan meningkatnya permeabilitas dan timbulnya albuminuria, dimana MBG menebal kurang lebih 15% setelah 2 tahun mengidap DM, 30% setelah 5 tahun dan penebalan menjadi dua kali lipat setelah 20 tahun.

**3.2 Nodul mesangial.** Nodul mesangial akan meningkatkan produksi matriks pada penderita DM dan hipertensi akibatnya terjadi pelebaran mesangial sehingga permukaan filtrasi efektif mengecil.

## G. Radikal Bebas

### 1. Pengertian

Radikal bebas adalah atom atau gugus atom apa saja yang mempunyai satu atau lebih elektron tidak berpasangan. Elektron dari radikal bebas yang tidak berpasangan ini sangat mudah menarik elektron dari molekul lainnya sehingga radikal bebas tersebut menjadi lebih reaktif. Senyawa yang dihasilkan oleh polusi, asap rokok, kondisi stress, bahkan oleh sinar matahari akan berinteraksi dengan radikal bebas di dalam tubuh (Hernani dan Rahardjo 2005).

### 2. Sumber radikal bebas

Sumber radikal bebas dapat berasal dari dalam tubuh (*endogenous*) yang terbentuk sebagai sisa proses metabolisme (proses pembakaran) protein atau karbohidrat dan lemak yang dikonsumsi. Radikal bebas dapat pula diperoleh dari luar tubuh (*eksogenous*) yang berasal dari polusi udara, asap kendaraan motor, asap rokok, berbagai bahan kimia, makanan yang terlalu hangus dan lain sebagainya. Beberapa contoh radikal bebas antara lain : anion superoksida, radikal hidroksil ( $\text{OH}\cdot$ ), nitrit oksida ( $\text{NO}\cdot$ ), hidrogen peroksida ( $\text{H}_2\text{O}_2$ ) dan sebagainya (Windono *et al.* 2001).

### **3. Mekanisme pembentukan**

Tubuh secara terus menerus membentuk radikal oksigen (Khlifi *et al.* 2005). Radikal ini dibentuk melalui mekanisme metabolisme normal. Radikal bebas juga terbentuk akibat respon terhadap pengaruh luar tubuh seperti polusi udara, sinar ultraviolet, asap kendaraan bermotor dan asap rokok. Salah satu unsur kimia sering terlibat dalam pembentukan radikal bebas oksigen. Molekul oksigen ( $O_2$ ) sangat penting untuk fungsi sel karena memainkan peranan penting dalam serangkaian reaksi biokimia yang terjadi dalam rantai pernapasan yang bertanggung jawab untuk sebagian besar produksi adenosine trifosfat (ATP), yang menyediakan energi yang dibutuhkan untuk banyak reaksi seluler dan fungsi. Sumber radikal bebas terjadi melalui sederetan mekanisme reaksi, yang pertama pembentukan awal radikal bebas (inisiasi), lalu perambatan atau terbentuknya radikal baru (propagasi). Tahap terakhir yaitu pengubahan menjadi radikal bebas stabil dan tidak reaktif. Autooksidasi adalah senyawa yang mengandung ikatan rangkap, hidrogen alilik, benzenik atau tersier yang rentan terhadap oksidasi oleh udara (Winarsi 2007).

Radikal bebas dapat bereaksi dengan radikal bebas yang lain atau dengan molekul non radikal. Elektron yang tidak berpasangan dari dua radikal yang saling bertemu akan bergabung dengan membentuk ikatan kovalen dan tidak bersifat sebagai radikal. Radikal yang bertemu dengan spesies non radikal akan menghasilkan radikal baru (Winarsi 2007).

### **4. Efek radikal bebas**

Radikal bebas dibutuhkan tubuh untuk membunuh kuman dalam keadaan normal. Radikal bebas dalam jumlah sangat banyak dan bertemu dengan asam lemak tidak jenuh yang ada di dalam membran sel akan menyebabkan kerusakan oksidatif dan terjadilah proses penuaan.

Radikal bebas sebenarnya penting bagi kesehatan dan fungsi tubuh yang normal dalam memerangi peradangan, membunuh bakteri, dan mengendalikan tonus otot polos pembuluh darah dan organ-organ dalam tubuh kita. Radikal bebas yang dihasilkan melebihi batas proteksi antioksidan seluler, maka akan menyerang sel itu sendiri. Struktur sel yang berubah turut merubah fungsinya, yang akan mengarah pada proses munculnya penyakit (Khomsan 2009).

## H. Antioksidan

Antioksidan adalah senyawa pemberi elektron yang mampu menangkal atau meredam dampak negatif oksidan dalam tubuh. Antioksidan bekerja dengan cara mendonorkan satu elektronnya kepada senyawa yang bersifat oksidan sehingga aktivitas senyawa oksidan tersebut bisa dihambat. Antioksidan terbagi menjadi tiga kelompok besar yaitu:

### 1. Antioksidan primer

Antioksidan primer disebut juga antioksidan enzimatis. Antioksidan meliputi enzim SOD, katalase dan glutathion peroksidase (GSHPx). Enzim-enzim tersebut mampu menekan atau menghambat pembentukan radikal bebas dengan cara memutus reaksi berantai dan mengubahnya menjadi produk lebih stabil, disebut sebagai reaksi *chain breaking antioxidant*. Suatu senyawa dikatakan sebagai antioksidan primer apabila dapat memberikan atom hidrogen secara cepat kepada senyawa radikal, kemudian radikal antioksidan yang terbentuk segera berubah menjadi senyawa yang lebih stabil (Winarsi 2007).

### 2. Antioksidan sekunder

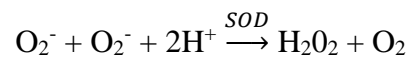
Antioksidan sekunder merupakan antioksidan non enzimatis atau antioksidan eksogen. Antioksidan dalam kelompok ini disebut sebagai sistem pertahanan preventif. Dalam sistem pertahanan ini, terbentuknya senyawa oksigen reaktif dihambat dengan cara pengkelatan logam atau dirusak pembentukannya. Antioksidan non enzimatis dapat berupa komponen non nutrisi dan komponen nutrisi dari sayuran dan buah-buahan meliputi vitamin E, vitamin C,  $\beta$ -karoten, flavonoid, asam urat, bilirubin dan albumin. Kerja antioksidan non enzimatis dengan cara memotong reaksi oksidasi berantai dari radikal bebas atau dengan cara menangkap radikal bebas (*scavenger free radical*). Akibatnya, radikal bebas tidak akan bereaksi dengan komponen seluler (Lampe 1999).

### 3. Antioksidan tersier

Kelompok antioksidan tersier meliputi sistem enzim DNA repair dan metionin sulfoksida reduktase. Enzim-enzim tersebut berfungsi dalam perbaikan biomolekuler yang rusak akibat reaktivitas radikal bebas (Fridovich 1981).

### I. Superoksida Dismutase (SOD)

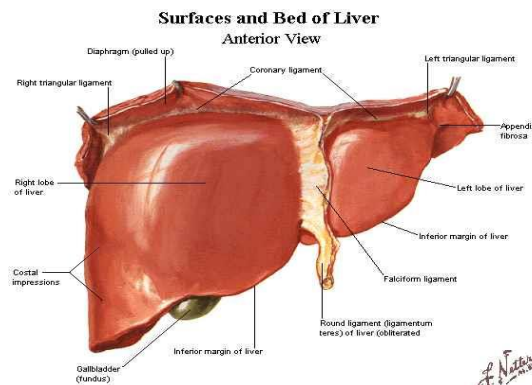
SOD merupakan antioksidan pencegah yang dapat menghambat kerusakan anion superoksida. Cara kerja SOD yaitu dengan mengkonversi anion superoksida menjadi komponen lain yang kurang berbahaya, yaitu hidrogen peroksida. Hidrogen peroksida di dalam mitokondria akan mengalami detoksifikasi oleh enzim katalase menjadi senyawa H<sub>2</sub>O dan O<sub>2</sub>, sedangkan H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> yang berdifusi ke dalam sitosol akan didetoksifikasi oleh enzim glutathion peroksidase (Lee *et al.* 2004). SOD bersifat tidak stabil terhadap panas, cukup stabil pada kondisi basa dan masih mempunyai aktivitas walaupun disimpan sampai lima tahun pada suhu 5 °C.



Aktivitas enzim SOD memiliki peran penting dalam sistem pertahanan tubuh, terutama terhadap aktivitas senyawa oksigen reaktif yang dapat menyebabkan stres oksidatif. Berdasarkan adanya logam yang berperan sebagai kofaktor pada sisi aktif enzim, dapat dikelompokkan menjadi 3 yaitu Cu/ZnSOD, MnSOD dan FeSOD (Bannister *et al.* 1987). Menurut Haliwell & Gutteridge (2007), aktivitas SOD tertinggi ditemukan di hati, kelenjar adrenalin, ginjal, darah, limfa, pankreas, otak, paru-paru, lambung, usus, ovarium dan timus.

### J. Hati

Hati merupakan kelenjar tubuh yang terbesar, terletak di bagian teratas dalam rongga abdomen sebelah kanan di bawah diafragma. Beratnya antara 1000-1500 gram, kurang lebih 25% berat badan orang dewasa dan merupakan organ pusat metabolisme tubuh dengan fungsi yang kompleks dan rumit. Hati mempunyai dua jenis persediaan darah, yaitu yang datang melalui arteri hepatica dan melalui vena porta. Hati juga memiliki dua bagian yaitu lobus kanan dan lobus kiri (Pearce 2009; Noer 1996).



**Gambar 2. Gambaran makroskopik hati manusia dari anterior (Putz & Pabst 2007).**

## 1. Struktur hati

Hati terbentuk dari dua jenis sel yaitu sel hepatosit yang berasal dari epitel yang melakukan berbagai kegiatan metabolit dan sel-sel Kupffer yang sel-sel retikulendotel di seluruh tubuh mempunyai fungsi fagositosis dan perombakan. Satuan anatomis yang terkecil ialah lobulus yang tersusun dari rangkaian hepatosit yang ditopang oleh anyaman retikulin yang mengitari saluran darah yang bernama sinusoid. Aliran darah sedemikian sehingga tiap lobulus dimasuki dari bagian perifer, kemudian menyusun ke tengah lobulus melalui sinusoid dan pada akhirnya berkumpul dalam vena centralis. Darah dalam sinusoid dan sel-sel hati yang membatasi sinusoid bersentuhan erat sehingga pertukaran zat dalam darah sinusoid dan hepatosit menjadi maksimal (Corwin 2009).

## 2. Fungsi hati

Hati mempunyai fungsi yang sangat banyak dan kompleks. Hati penting untuk mempertahankan tubuh dan berfungsi memetabolisme tubuh. Hati mempunyai kapasitas cadangan yang besar dan cukup membutuhkan 10-20% fungsi jaringan untuk mempertahankan hidup. Kerusakan total atau pembuangan hati mengakibatkan kematian dalam 10 jam. Hati mempunyai kemampuan regenerasi, pembuangan hati sebagian, pada kebanyakan kasus sel hati yang mati atau sakit akan diganti dengan jaringan hati yang baru. Hati juga berfungsi sebagai tempat pembentukan dan ekskresi empedu serta berfungsi sebagai pertahanan tubuh dan fungsi vaskularisasi (Noer 1996).

**2.1 Fungsi pembentukan dan ekskresi empedu.** Hati mengekskresikan sekitar satu liter empedu setiap hari. Saluran empedu mengalirkan, kantung empedu

menyiapkan dan mengeluarkan empedu ke usus halus. Garam empedu oleh usus halus, direabsorpsi dalam ileum, resirkulasi, rekonjugasi, dan resekresi ke hati. Bilirubin merupakan hasil akhir dari metabolisme. Bilirubin digunakan sebagai indikator penyakit hati dan saluran empedu dengan cara mewarnai jaringan dan cairan yang berhubungan dengan bilirubin (Noer 1996).

**2.2 Fungsi metabolik.** Hati merupakan organ yang sangat penting dalam metabolisme karbohidrat, lemak, protein, vitamin dan juga memproduksi energi dan tenaga. Hati juga berperan dalam mengubah ammonia menjadi urea, untuk dikeluarkan melalui ginjal dan usus. Metabolisme lemak yang dilakukan di hati berupa pembentukan lipoprotein, kolesterol, dan fosfolipid juga mengubah karbohidrat dan protein menjadi lemak (Murray *et al.* 2003)

**2.3 Fungsi vaskular hati.** Aliran darah ke hati dalam tubuh orang dewasa setiap menitnya sekitar 1500 cc. Darah portal mengalir ke hati sebanyak 1200 cc melalui sinusoid, diteruskan ke vena sentralis dan ke vena hepatica dan masuk ke dalam vena kava inferior. Di dalam sinusoid, darah arterial bercampur dengan darah portal. Hati berfungsi sebagai ruang penampung dan bekerja sebagai filter (Noer 1996).

**2.4 Fungsi pertahanan tubuh.** Hati mempunyai fungsi sebagai detoksifikasi, enzim di dalam hati melakukan oksidasi, reduktasi, hidrolisis, atau konjugasi zat yang dapat menimbulkan racun, dan mengubahnya menjadi zat secara fisiologi yang tidak aktif.

### **3. Kerusakan hati**

Kerusakan hati ditandai dengan adanya kematian sel. Kematian sel-sel hati diawali dengan adanya degenerasi sel pada hati. Degenerasi sel adalah perubahan struktur sel normal sebelum terjadi kematian sel (Spector 2006).

Kerusakan-kerusakan pada hati meliputi:

**3.1 Degenerasi hidropik.** Fase ini ditandai dengan adanya vakuola-vakuola yang berisi zat yang menyerupai cairan dalam sel. Adanya vakuola membuat sitoplasma tidak terisi sempurna. Sel umumnya lebih besar, sinusoid hepar tampak lebih sempit bila dibandingkan dengan keadaan normal. Degenerasi ini bersifat reversible (Himawan 2003).

**3.2 Degenerasi lemak.** Degenerasi lemak ditandai dengan adanya vakuola lemak intrasitoplasmik yang disebabkan oleh gangguan metabolik dan defisiensi faktor-faktor lipolitik yang penting. Fase terakhir dari degenerasi lemak adalah sel hepar tampak berisi globuli lemak yang besar sehingga nukleus terdaskan ke tepi sel (Anderson 2008).

**3.3 Degenerasi amiloid.** Penimbunan amiloid, suatu kompleks protein-karbohidrat, tampak dalam celah dissi. Biasanya ditemukan pada penyakit menahun seperti tuberkolosis (Himawan 2003).

**3.4 Degenerasi bengkak keruh.** Kerusakan hepar yang disebabkan oleh infeksi atau intoksikasi. Sel hepar bengkak dengan sitoplasma berbutir keruh, mungkin disebabkan oleh pengendapan protein yang disebabkan oleh gangguan metabolisme energi dalam sel yang membuat sel tidak mampu memompa natrium keluar dari sel sehingga terjadi perubahan morfologis yang disebut bengkak keruh (Himawan 2003).

**3.5 Degenerasi glikogen.** Dalam keadaan normal glikogen ditemukan dalam sitoplasma sel hepar. Penimbunan glikogen yang berlebihan terutama tampak pada diabetes melitus, penimbunan glikogen terutama dalam inti dan sedikit saja dalam sitoplasma. Secara biopsi kelihatan buih bergaris-garis halus, sedangkan pada autopsi kelihatan glikogen lisis setelah kematian berlangsung (Himawan 2003).

**3.6 Nekrosis.** Nekrosis adalah perubahan morfologi (Kematian) sel hepar atau jaringan hepar diantara sel yang masih hidup. Tahapan nekrosis berkaitan dengan tepi perubahan inti. Perubahan itu adalah piknosis, karyoreksis dan karyolisis. Pada piknosis, inti sel menyusut dan tampak adanya “awan gelap”. “Awan gelap” ini dikarenakan kromatin yang memadat. Pada karyoreksi terjadi penghancuran inti dengan meninggalkan pecahan-pecahan yang terbesar didalam inti. Sedangkan pada saat karyolisis inti menjadi hilang (lisis) sehingga pada pengamatan tampak sebagai sel yang kosong (Price and Lorraine 2006).

## K. Uji Antidiabetes

### 1. Metode uji antidiabetes

**1.1. Metode uji toleransi glukosa.** Pengujian dilakukan dengan memberikan bahan glukosa untuk melihat pengaruh terhadap toleransi glukosa. Prinsip metode ini adalah hewan uji dipuaskan selama 16-20 jam tetapi tetap diberi minum, kemudian diambil cuplikan darah vena lalu diberikan sediaan obat yang diuji diberikan larutan glukosa secara oral. Pengambilan cuplikan darah vena diulangi setelah perlakuan pada waktu-waktu tertentu (Etuk 2010).

**1.2. Metode uji antidiabetes dengan zat penginduksi.** Keadaan diabetes dapat diinduksi pada hewan percobaan dengan cara pankreatomi dan secara kimia. Zat-zat kimia sebagai oksidator (diabetogen) dapat digunakan zat-zat kimia seperti aloksan, streptozotocin, EDTA dan sebagainya; pada umumnya diberikan secara parenteral. Zat-zat tersebut di atas mampu menginduksi secara permanen dimana terjadi hiperglikemia. Diabetogen yang lain digunakan adalah aloksan, karena obat ini cepat menimbulkan hiperglikemia yang permanen dalam waktu 2 atau 3 hari (Anonim 1993).

### 2. Streptozotocin dan Nikotinamid

Streptozotocin (STZ) merupakan antibiotik antineoplastik berasal dari *Streptomyces achromogenes* atau sintesis yang dapat berefek pada metabolisme glukosa (Martindale 1989). STZ digunakan untuk menginduksi DM tipe 1 atau DM tipe 2 pada hewan uji (Szkudelski 2001). Pada tikus dan anjing, STZ dosis 50 mg/kg secara IV dapat menginduksi DM sedangkan dosis 40 mg/kg berulang secara IP dapat menginduksi DM tipe 1 (Martindale 1989).

STZ merupakan analog nitrosourea dimana bagian N-methyl N nitrosourea (MNU) terkait dengan carbon hexose. Aksi toksik STZ bersifat alkilasi DNA. Nitrosourea biasanya lipofil dan serapan jaringan melewati membran plasma berlangsung cepat. STZ selektif terakumulasi dalam sel  $\beta$  pankreas melalui glukosa transporter GLUT2 afinitas rendah dalam membran plasma (Lenzen 2008; Elsner *et al.* 2000; Schnedl 1994).

STZ menyebabkan toksisitas sel  $\beta$  pankreas karena memiliki GLUT2 lebih banyak dan merupakan sumber radikal bebas (Bedoya *et al.* 1996). STZ



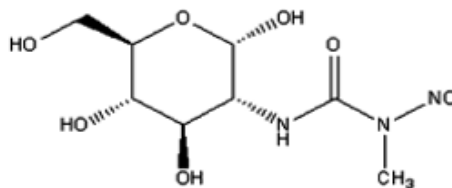
menghambat siklus kreb, menurunkan produksi ATP mitokondria, selanjutnya menghambat sekresi insulin yang diinduksi glukosa (Lenzen 2007; Szkudelski 2001).

NA atau vitamin B3 adalah vitamin yang larut dalam air, sebagai penghambat enzim poly ADP-ribose polymeras (PARP). NA merupakan prekursor biokimia dari *nikotinamid adenine dinukleotida* (NAD). NA berperan untuk perbaikan status pada energi pada jaringan iskhemik, sebagai antioksidan, perbaikan metabolisme dan penghambat apoptosis. Hal ini membuatnya memiliki potensi untuk terapi IDDM. NA tidak memiliki efek samping dan bermanfaat untuk menunda awal mula IDDM. Terapi pre diabetes dengan NA memperbaiki metabolisme DM. NA melindungi sel  $\beta$  dari paparan sitotoksik STZ, melindungi dari radikal bebas, stress oksidatif, memperbaiki syaraf dan mengurangi volume infark pada iskhemik secara *in vivo*. Mekanisme pasti aksi NA dalam DM masih dalam penelitian (Alensi 2009). NA dan thymidine menghambat poly ADP ribose sintetase. Hal ini menyebabkan penurunan radikal hidroksi yang bereaksi dengan DNA. NA menunjukkan perannya sebagai radikal hidroksi *scavenger* (Ledoux 1988).

#### L. Streptozotosin

STZ merupakan derivat nitrosuria yang diisolasi dari *Streptomyces achromogenes* yang mempunyai aktivitas anti-neoplasma dan antibiotik spektrum luas. STZ berfungsi sebagai antibakteri spektrum luas, antitumor, bahan karsinogenik dan secara selektif menghancurkan sel  $\beta$  pada pulau Langerhans (Cooperstein 1981; Rowland dan Bellush 1989; Rea dan Alcolado 2005 dalam Nugroho 2006). STZ sering digunakan untuk *induksi insulin-dependent* dan *non-insulin-dependent diabetes militus* (IDDM dan NIDDM) pada hewan coba (Szkudelski 2001).

Efek samping pemakaian yang sering terjadi adalah mual, toksisitas ginjal dan hati terjadi kira-kira 2/3 kasus, sementara kerusakan tubulus proksimal adalah efek toksik yang paling fatal (Goodman and Gilman 2008).

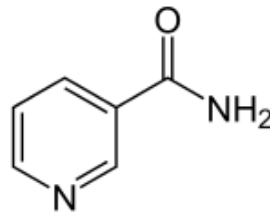


**Gambar 2. Struktur kimia streptozotocin.**

STZ menghambat sekresi insulin dan menyebabkan suatu keadaan yang dikenal dengan IDDM. Streptozotocin secara selektif terakumulasi pada sel  $\beta$  pankreas melalui *low-affinity GLUT-2 glucose transporter* pada membran plasma (Elsner 2000). Masuknya gugus metil (alkilasi) dari streptozotocin ke dalam molekul DNA akan menyebabkan kerusakan pada fragmen DNA. Kerusakan DNA tersebut nantinya akan mengaktifkan *poly adenosine diphosphate (ADP)-ribosylation*. Proses ini akan mengakibatkan penghabisan *nicotinamide adenine dinucleotide (NDA<sup>+</sup>)* selular, lebih lanjut akan terjadi pengurangan *adenosine triphosphate (ATP)* dan akhirnya akan menghambat sekresi dan sintesis insulin (Szkudelski 2001). Penurunan cadangan energi selular ini diduga turut menyebabkan terjadinya nekrosis sel  $\beta$  pankreas.

### M. Nikotinamida

Nikotinamida (C<sub>6</sub>H<sub>6</sub>N<sub>2</sub>O), yang juga dikenal sebagai niasinamida, mempunyai peran yang sangat penting dalam menjaga dan memperbaiki fungsi sel makhluk hidup. Sebagai komponen koenzim I, NAD<sup>+</sup> (*Nicotinamide Adenine Dinukleotide*), dan koenzim II, NADPH<sup>+</sup> (*Nicotinamide Adenin Dinukleotide Phosphate*), nikotinamida terlibat dalam berbagai proses biologis, termasuk dalam produksi energi, sintesis asam lemak, kolesterol dan steroid, transduksi sinyal dan pemeliharaan integritas genom. Defisiensi senyawa ini antara lain dapat menyebabkan avitaminosis, yang berdampak pada sistem pencernaan, kulit (dermatitis) dan gangguan syaraf (Prousky 2003).



Gambar 3. Struktur kimia nikotinamida.

## N. Glibenklamid

### 1. Indikasi dan kontraindikasi

Glibenklamid diindikasikan pada pengobatan diabetes melitus tipe 2 onset maturitas stabil dan tidak terkomplikasi ringan atau tidak parah, yang tidak dapat diobati hanya dengan diet saja. Glibenklamid mengkontraindikasikan pada wanita hamil dan menyusui, porfiria, dan ketoasidosis. Tidak boleh diberikan sebagai obat tunggal pada penderita yang kebutuhan insulinnya tidak stabil, dan diabetes melitus berat (Depkes 2005).

### 2. Dosis dan aturan pakai

Pengobatan dengan glibenklamid dimulai dari dosis rendah (2,5 mg) diberikan pada pagi hari, sedangkan profil mingguan glukosa serum dipantau. Dosis permulaan 1 kali sehari 2,5-5 mg, bila perlu dinaikkan setiap minggu sampai maksimal 2 kali sehari 10 mg (Tjay & Raharja 2002).

### 3. Farmakokinetika

Diberikan peroral, obat-obatan ini terikat pada protein serum dimetabolisme di hati dan dieksresikan di hati atau ginjal (Myeck *et al.* 2001). Metabolismenya di hepar, pada pemberian dosis tunggal hanya 25% metabolitnya dieksresikan melalui urin (Gunawan 2009).

### 4. Mekanisme kerja

Glibenklamid bekerja dengan menghambat *ATP-Sensitive potassium channel* di sel  $\beta$  pankreas, sehingga memantau untuk mengurangi jumlah gula dalam darah orang dengan diabetes tipe 2. Mengurangi kadar glukagon dalam serum, dan meningkatkan pengikatan insulin pada jaringan target dan reseptor (Myeck *et al.* 2001).

## 5. Efek samping

Glibenklamid mempunyai efek samping antara lain : gejala saluran cerna berupa mual, diare, sakit perut, hiper sekresi asam lambung, di daerah jantung. Gejala susunan saraf pusat berupa vertigo, menimbulkan gejala hipertiroidisme dan ikterus obstruktif. Hipoglikemia dapat terjadi pada penderita yang tidak mendapat dosis tepat, tidak makan cukup, atau dengan gangguan fungsi hati atau ginjal (Sukandar *et al.* 2008).

## O. Hewan UMji

### 1. Sistematika hewan uji

Sistematika tikus putih menurut Sugiyono (1995) adalah sebagai berikut:

|             |                            |
|-------------|----------------------------|
| Filium      | : Chordata                 |
| Sub filium  | : Vertebrata               |
| Classis     | : Mamalia                  |
| Sub classis | : Placentalia              |
| Ordo        | : Rodentia                 |
| Familia     | : Muridae                  |
| Genus       | : Rattus                   |
| Spesies     | : <i>Rattus norvegicus</i> |

### 2. Karakteristik hewan uji

Tikus putih adalah satwa liar yang sering berisolasi dengan kehidupan manusia. Mempunyai ciri morfologi berbulu dan lembut, bentuk hidung kerucut dan bentuk badan silindris. Di Asia habitatnya di hutan dan di daerah bersemak, juga ditenakan (untuk penelitian) (Priyambodo 2003).

Tikus relatif resisten terhadap infeksi dan tikus merupakan hewan yang cerdas. Tikus putih umumnya tenang dan mudah ditangani. Suhu tubuh normal 37,5°C, apabila diperlukan kasar akan menjadi galak dan biasanya akan menyerang pemegangnya (Harmita & Maksum 2005).

Umumnya dikenal tiga galur tikus putih yaitu galur Sprague-Dawley, galur Wistar dan galur Long-Evans. Galur Spargue-Dawley yang umumnya digunakan

untuk penelitian mempunyai ciri berwarna putih albino, berkepala kecil dan ekornya lebih panjang dari badannya (Malole dan Pramono 1989).

Tikus putih galur Wistar (*Rattus norvegicus*) merupakan salah satu dari kebanyakan binatang yang dipelajari dalam ilmu pengetahuan (Myers 2004). Pada penelitian biasanya digunakan tikus berumur 2-3 bulan dengan berat badan 150-200 gram (Priyambodo 2003).

## **P. Landasan Teori**

Diabetes melitus merupakan kondisi kronik yang terjadi karena tubuh tidak dapat memproduksi insulin secara normal atau insulin tidak dapat bekerja secara efektif. Seseorang yang terkena diabetes mellitus biasanya ditandai dengan hiperglikemia. Hiperglikemia dapat meningkatkan pembentukan radikal bebas. Radikal bebas adalah suatu atom atau molekul yang sangat reaktif dengan elektron yang tidak memiliki pasangan (Widodo 2013). Radikal bebas ini berbahaya karena sangat reaktif mencari pasangan elektronnya. Jika radikal bebas sudah terbentuk dalam tubuh akan terjadi reaksi berantai dan menghasilkan radikal bebas baru yang akhirnya bertambah banyak. Selanjutnya akan menyerang sel-sel tubuh kita sehingga terjadilah berbagai penyakit (Khomsan 2009).

Tanaman yang dapat digunakan untuk pengobatan DM salah satunya adalah gedi merah (*Abelmoschus manihot* L.Medik). Bagian tanaman yang digunakan adalah bagian daun. Kandungan kimia yang terdapat dalam daunnya diantaranya : flavonoid, saponin, tanin dan alkaloid. Kandungan senyawa dalam tanaman yang diduga berkhasiat sebagai antidiabetes adalah senyawa flavonoid.

Karakterisasi ekstrak etanol daun tanaman gedi yang dilakukan oleh Pine *et al.* (2011) menunjukkan bahwa daun tanaman gedi memiliki senyawa flavonoid glikosida yang berpotensi sebagai sumber antioksidan. Ekstrak etanol daun gedi yang berasal dari Palu memiliki aktivitas antioksidan tertinggi dengan nilai IC<sub>50</sub> sebesar 0,575 mg/ml. Menurut Wu *et al.* (2007) senyawa aktif yang paling dominan di tanaman gedi adalah flavonoid glikosida, dimana hasil penelitian yang dilakukan pada bunga tanaman gedi menunjukkan bahwa senyawa bioaktif hiperin dapat berfungsi sebagai hepatoprotektor.

Flavonoid tersebut dapat bersifat sebagai antidiabetes karena flavonoid mampu berperan sebagai senyawa yang menekan kadar glukosa dan meningkatkan aktivitas glukokinase hepatic dengan meningkatkan pelepasan insulin dari pankreas (Bhushan *et al* 2010).

Senyawa antioksidan merupakan suatu inhibitor yang digunakan untuk menghambat reaksi autooksidasi radikal bebas. Efek antioksidan senyawa fenolik dikarenakan sifat oksidasi yang berperan dalam menetralisasi radikal bebas (Panovska *et al.* 2005).

Superoksida dismutase (SOD) adalah antioksidan yang bekerja dengan cara menyeimbangkan radikal bebas atau spesies oksigen reaktif (ROS) dengan reaksi enzimatik dan mengubahnya menjadi produk yang lebih stabil dengan cara SOD mengkatalisis reaksi dismutase radikal bebas anion superoksida ( $O_2^-$ ) menjadi hidrogen peroksida dan molekul oksigen sehingga tidak berbahaya (Halliwell 2006). Salah satu kerusakan sel yang dapat terjadi akibat meningkatnya radikal bebas adalah kerusakan sel hati. Hati merupakan organ yang berpotensi mengalami kerusakan karena organ pertama setelah saluran pencernaan yang terpapar oleh bahan yang bersifat toksik. Studi histologi mengenai nekrosis pada hepatosit dapat menjadi indikator yang kuat untuk mengungkapkan kerusakan pada hepar akibat paparan dari induksinya (Szkudelski 2001).

DM tipe 2 dapat disebabkan oleh induksi STZ-NA. STZ adalah substansi penginduksi DM yang memiliki potensi alkali dan bersifat toksik. STZ menghambat dari siklus kreb, menurunkan produksi ATP mitokondria dan selanjutnya akan menghambat sekresi insulin yang diinduksi glukosa (Lanzen, 2007; Szkudelski, 2017). STZ masuk kedalam sel  $\beta$  pankreas secara selektif melalui GLUT-2 dalam membran plasma. NA adalah vitamin B3 yang bekerja dengan cara menghambat aksi STZ dalam menurunkan biosintesa proinsulin, memperbaiki efek penghambatan sekresi insulin, menghambat kegagalan oksidasi glukosa dan menghambat penurunan kemampuan hidup sel  $\beta$  pankreas akibat STZ (Szkudelski 2012).

Pada kondisi diabetes akan terjadi penurunan fungsi dari organ tubuh, salah satunya adalah hepar. Fungsi hati penting untuk memelihara kadar glukosa. Dimana

kadar glukosa di dalam darah terlalu pekat sehingga mengharuskan organ hati bekerja jauh melebihi kemampuannya dan dapat menyebabkan kerusakan hati. Kerusakan organ hati Karena adanya tumpukan lemak di dalam tubuh yang menyelimuti organ hati (Tavill 1999).

Pada penelitian ini akan diamati efek anti diabetes dengan pemeriksaan kadar SOD dan pengamatan histopatologi hati pada tikus yang diinduksi STZ dosis 45 mg/kg BB dan NA dosis 110 mg/kg BB. Penelitian menggunakan variasi dosis ekstrak etanol daun gedi merah yaitu dosis 100 mg/kg BB, 200 mg/kg BB dan 400 mg/kg BB yang diberikan secara oral.

### **Q. Hipotesis**

Dari landasan teori dapat disusun hipotesis sebagai berikut :

Pertama, pemberian ekstrak etanol daun gedi merah (*Abelmoschus manihot* L. Medik) dapat meningkatkan kadar SOD pada tikus diabetes.

Kedua, pemberian ekstrak etanol daun gedi merah (*Abelmoschus manihot* L. Medik) memiliki dosis yang efektif dalam meningkatkan kadar SOD.

Ketiga, pemberian ekstrak etanol daun gedi merah (*Abelmoschus manihot* L. Medik) dapat memperbaiki struktur sel hati pada tikus diabetes.

## **BAB III**

### **METODE PENELITIAN**

#### **A. Populasi dan Sampel**

##### **1. Populasi**

Populasi pada penelitian ini adalah daun gedi merah (*Abelmoschus manihot* L. Medik.) yang diambil dari daerah Sawangan Tombulu, Kabupaten Minahasa Sulawesi Utara pada bulan Oktober 2017.

##### **2. Sampel**

Sampel yang digunakan pada penelitian ini adalah daun gedi merah (*Abelmoschus manihot* L. Medik) secara acak, tidak terlalu tua dan tidak terlalu muda dan tidak rusak.

#### **B. Variabel Penelitian**

##### **1. Identifikasi variabel utama**

Variabel utama pada penelitian ini adalah ekstrak etanol daun gedi merah hasil maserasi dengan pelarut etanol 96% yang diuji daya antidiabetesnya terhadap tikus dengan diinduksi STZ-NA.

##### **2. Klasifikasi variabel utama**

Variabel utama memuat identifikasi semua variabel yang diteliti langsung. Variabel utama yang telah diidentifikasi terlebih dahulu dapat diklasifikasikan ke dalam berbagai variabel yaitu variabel bebas, variabel tergantung dan variabel terkontrol.

Variabel bebas adalah variabel yang sengaja diubah-ubah untuk dipelajari pengaruhnya terhadap variabel tergantung. Variabel bebas pada penelitian ini adalah dosis ekstrak etanol 96% daun gedi merah.

Variabel tergantung pada penelitian ini adalah kadar SOD dan gambaran histopatologi hati pada tikus setelah pemberian ekstrak etanol daun gedi merah dengan dosis yang berbeda-beda. Variabel tergantung merupakan variabel akibat



dari variabel utama, variabel tergantung dalam penelitian ini adalah selisih peningkatan kadar SOD pada hewan uji sesudah dan sebelum diberi perlakuan.

Variabel terkontrol adalah variabel yang mempengaruhi variabel tergantung sehingga perlu dinetralisir atau ditetapkan kualifikasinya agar hasil yang didapatkan tidak tersebar dan dapat diulang oleh peneliti lain secara tepat. Variabel terkontrol pada penelitian ini adalah metode ekstraksi daun gedi merah, kondisi fisik hewan uji meliputi berat badan tikus, galur, jenis kelamin, kondisi percobaan, laboratorium, zat penginduksi, dan peneliti.

### **3. Definisi operasional variabel utama**

Pertama, daun gedi merah adalah seluruh daun pada tanaman gedi merah yang segar, berwarna hijau kemerah-merahan, tidak terlalu tua dan tidak terlalu muda dan tidak rusak yang diperoleh dari daerah Manado, Sulawesi Utara.

Kedua, serbuk adalah simplisia kering daun gedi merah yang dihaluskan dengan penggilingan dan diayak dengan pengayak ukuran mesh 40.

Ketiga, ekstrak etanol daun gedi merah adalah cairan hasil dari penarikan sari daun gedi merah dengan cara maserasi menggunakan pelarut etanol 96%, kemudian diuapkan dengan evaporator pada suhu 40 C.

Keempat, hewan uji yang dipakai adalah tikus jantan galur wistar dengan berat badan 150-220 g.

Kelima, glibenklamid adalah serbuk obat hipoglikemik oral yang diperoleh dari PT. Ifars, Solo, Jawa Tengah sebagai kontrol positif.

Keenam, streptozotisin-nikotinamid adalah bahan diabetogenik yang diberikan secara intra peritoneal untuk merusak sel  $\beta$  pankreas pulau Langerhans yang fungsinya menghasilkan insulin sehingga terjadi diabetes. Diberikan secara intraperitoneal dengan dosis 45 mg/kgBB dan 110 mg/kgBB.

Ketujuh, kadar SOD adalah antioksidan yang bekerja dengan cara menyeimbangkan radikal bebas atau spesies oksigen reaktif (ROS). Kadar SOD yang diamati kadarnya pada hati tikus yang telah dipreparasi.

Kedelapan, histopatologi organ hati tikus sebagai histologi yang diamati dengan teknik Hematoxylin Eosin (HE) melalui pengamatan mikroskop. Parameter

histopatologi yang diamati yaitu degenerasi parenkimatos, degenerasi hidrofik dan nekrosis.

### **C. Bahan dan Alat**

#### **1. Alat**

Alat yang digunakan pada penelitian ini adalah peralatan maserasi yang terdiri dari botol coklat, batang pengaduk, kertas saring, corong gelas, labu takar, rotary evaporator, spektrofotometri, spuit, sentrifuse, mikroskop, *Sterling-Bidwell*, bedah (scalpel, pinset, pisau, gunting, jarum, dan meja lilin), mikrotom putar (*rotary microtome*), *cooling plate*, *waterbath*, *object glass* dan *deck glass*, mikroskop cahaya Olimphus CH20.

#### **2. Bahan**

Bahan yang digunakan pada penelitian ini adalah daun gedi merah, etanol 96%, streptozotosin 60 mg/kg BB dilarutkan dalam buffer sitrat (0,1 M; pH 4,5), nikotinamid 120 mg/kg BB dilarutkan dalam normal salin, glibenklamid, serum darah, NBT, xantin dan xantin oksidase, PBS, larutan hematoxylin dan eosine (HE), alcohol, xylen, xylol, paraffin cair, etanol 96 %, assay kit Biovision, pereaksi Mayer, pereaksi Dragendorff, formalin 10 %, larutan etanol 70 %, 80 % dan 90 %, etanol absolut.

### **D. Jalannya Penelitian**

#### **1. Determinasi daun gedi merah**

Tahap pertama yang dilakukan dalam penelitian ini adalah melakukan determinasi tanaman untuk menetapkan kebenaran sampel tanaman berkaitan dengan ciri-ciri mikroskopis dan makroskopis, serta ciri-ciri morfologis yang ada pada tanaman terhadap pustaka yang dilakukan di Laboratorium Biologi Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam (FMIPA) Universitas Sebelas Maret, Surakarta, Jawa Tengah.

#### **2. Pengambilan sampel**

Pengambilan sampel daun gedi merah dilakukan pada daun yang masih segar di daerah Manado Sulawesi Utara. Daun gedi merah kemudian dicuci dengan

air untuk membersihkan kotoran dan debu yang menempel pada daun lalu ditiriskan dan dikeringkan dibawah sinar matahari dengan ditutupi kain hitam dan dioven pada suhu 40°C.

### **3. Pembuatan serbuk daun gedi merah**

Daun gedi merah yang sudah dicuci dengan air untuk membersihkan kotoran atau bahan asing yang menempel pada daun. Setelah itu dilakukan pengeringan, pengeringan dilakukan dengan cara di oven pada suhu 50°C hingga kering yang bertujuan untuk mendapatkan simplisia yang tidak mudah rusak sehingga dapat disimpan dalam waktu yang lama (Voight 1994). Setelah itu dibuat serbuk diayak dengan ayakan nomor mesh 40, kemudian dilakukan perhitungan persentase bobot kering terhadap bobot basah.

### **4. Penetapan kadar air**

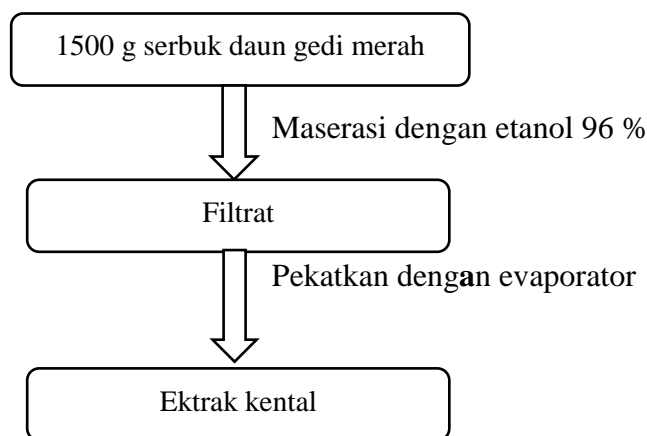
Serbuk simplisia sebanyak 20 gram ditimbang dan dimasukkan kedalam labu destilasi dan ditambahkan 100 ml xylene jenuh air, kemudian memasang alat *Sterling-Bidwell*, lalu dipanaskan dengan hati-hati. Pemanasan dihentikan bila pada tetesan sudah tidak ada air yang menetes lagi, kemudian diukur kadar air menggunakan alat *Sterling-Bidwell* dengan melihat volume pada skala alat. Pembacaan volume air setelah air dan xylene memisah sempurna. Kadar air dihitung dalam % v/b (Yenrina 2015).

$$\text{Kadar air} = \frac{\text{Volume terbaca}}{\text{Berat bahan}} \times 100\%$$

### **5. Pembuatan ekstrak etanol daun gedi merah**

Ekstraksi serbuk daun gedi merah dengan perbandingan 1:10 dilakukan dengan metode maserasi. Serbuk daun gedi merah sebanyak 1.500 gram dimasukkan dalam wadah coklat kemudian ditambahkan cairan penyari yaitu etanol 96% sebanyak 13.750 ml ditutup dan direndam selama 5 hari terlindung dari cahaya sambil sering diaduk. Setelah 5 hari maserat disaring dan diperas dengan menggunakan kain flannel, tambahkan cairan penyari secukupnya 1.250 ml lalu disaring kembali, hingga diperoleh 15.000 ml. Pindahkan ke dalam benjana tertutup, dibiarkan di tempat sejuk selama 2 hari, diendapkan atau disaring.

Sari yang yang diperoleh dipekatan dengan evaporator dengan suhu 40<sup>0</sup> C sampai didapat ekstrak kental.



**Gambar 4. Skema pembuatan ekstrak etanol 96% serbuk daun gedi merah**

## 6. Uji bebas alkohol

Tes bebas alkohol ekstrak etanol daun gedi merah dilakukan dengan cara esterifikasi alkohol, dimana ekstrak daun gedi merah ditambah asam asetat encer dan asam sulfat pekat kemudian dipanaskan. Bila tidak ada bau ester (etil asetat) berarti sudah tidak ada etanol (Depkes 1979).

## 7. Identifikasi senyawa kandungan kimia ekstrak daun gedi merah

Identifikasi kandungan senyawa kimiawi yang terdapat didalam sampel dilakukan dengan menggunakan pereaksi warna secara metode tabung. Identifikasi senyawa meliputi senyawa flavonoid, tanin, saponin, dan alkaloid.

**7.1. Identifikasi flavonoid.** Sejumlah tertentu ekstrak dilembabkan dengan 100 ml air panas kemudian di didihkan selama 5 menit, disaring dan diambil filtratnya 5 ml dimasukkan dalam tabung reaksi ditambahkan serbuk magnesium secukupnya, 1 ml asam klorida dan 2 ml amil alkohol, dikocok kuat-kuat kemudian dibiarkan memisah. Terbentuknya warna merah/kuning/jingga pada lapisan amil alkohol menunjukkan positif flavonoid (Sarker 2006).

**7.2. Identifikasi tanin.** Pemeriksaan tanin dilakukan dengan cara serbuk dan ekstrak daun gedi merah sebanyak 1 gram dilarutkan dalam 100 ml air panas, kemudian didinginkan dan disaring. Filtrat sebanyak 5 ml dimasukkan ke dalam

tabung reaksi ditambah dengan 3 tetes pereaksi  $\text{FeCl}_3$  1%. Tanin positif apabila berbentuk warna hijau kehitaman pada reaksi dengan  $\text{FeCl}_3$  (Depkes 1995).

**7.3. Identifikasi saponin.** Sebanyak 0,5 gram ekstrak daun gedi merah dimasukkan ke dalam tabung reaksi kemudian ditambah air panas 10 ml dan dikocok kuat-kuat selama 10 detik. Kemudian didiamkan 10 menit. Tambahkan 1 tetes HCl 2N dan diamati jika terjadi reaksi positif yang ditunjukkan dengan buih yang terbentuk setinggi 1-10 cm dan tidak hilang (Robinson 1995).

**7.4. Identifikasi alkaloid.** Sebanyak 1 gram sampel dimasukkan dalam tabung reaksi dan ditambah dengan 5 tetes amonia pekat. Setelah itu, disaring kemudian ditambah 2 ml asam sulfat 2N dan dikocok hingga memberi hingga memberi lapisan atas dan bawah. Larutan dibagi menjadi 3 bagian, pada tabung pertama ditambahkan 1 tetes larutan Mayer, adanya alkaloid ditandai dengan terbentuknya endapan putih keruh, jika pada tabung kedua ditambah 1 tetes pereaksi *Dragendorf* dan terbentuknya endapan menandakan adanya alkaloid (Harborne 1987).

## **8. Pembuatan larutan uji**

**8.1. Larutan suspensi CMC Na 0,5%.** CMC Na konsentrasi 0,5% adalah larutan yang digunakan sebagai kontrol negatif, dibuat dengan cara menimbang serbuk CMC Na sebanyak 500 mg kemudian dimasukkan ke dalam cawan penguap dan ditambah sedikit aquadest. Selanjutnya dipanaskan sampai mengembang kemudian dimasukkan ke dalam mortir dan menggerusnya dan menambahkan sedikit demi sedikit aquadest hingga 100 ml, diaduk hingga homogen.

**8.2. Larutan glibenklamid.** Suspensi glibenklamid dibuat dalam kadar 0,009%. Cara pembuatannya dimulai dengan menimbang serbuk glibenklamid sebanyak 9 mg, kemudian disuspensikan ke dalam larutan CMC Na sampai 100 ml, sehingga diperoleh konsentrasi 0,09 mg/ml..

**8.3. Larutan uji ekstrak daun gedi merah.** Banyaknya ekstrak daun gedi merah yang akan digunakan, dihitung berdasarkan berat tikus dari masing-masing tikus, kemudian ditambahkan dalam suspensi CMC Na 0,5% yang sudah dikembangkan sebanyak 2 ml dan diaduk hingga homogen.

**8.5. Larutan STZ-NA.** Pembuatan dosis STZ 45 mg/kg BB dilarutkan dalam buffer sitrat 0,1 M pH 4,5. NA 110 mg/kg BB dilarutkan dalam normal salin (Sheela 2013).

## **9. Penentuan dosis**

**9.1. Dosis glibenklamid.** Dosis glibenklamid diambil berdasarkan penggunaannya pada manusia, yaitu 5 mg untuk 70 kg BB manusia. Faktor konversi manusia dengan berat badan 70 kg ke tikus dengan berat badan 200 gram adalah 0,018. Sehingga, dosis glibenklamid untuk tikus pada penelitian ini adalah 0,09 mg/200 gram BB tikus (0,45 mg/kg BB tikus).

**9.2. Dosis sediaan uji.** Dosis yang diberikan pada tikus mengacu pada penelitian Tandi *et al* (2016). Dibat tiga variasi perbandingan dosis kombinasi ekstrak etanol daun gedi merah yaitu dosis 100 mg/kg BB, dosis 200 mg/kg BB dan dosis 400 mg/kg BB.

**9.3. Dosis STZ-NA.** STZ dilarutkan dalam buffer sitrat 0,1 M ; pH 4,5 dan NA dilarutkan dalam larutan salin (Sheela 2013). Induksi diabetes dilakukan dengan menggunakan kombinasi STZ dengan dosis 45 mg/kg BB dan NA 110 mg/kg BB pada tikus yang diberikan satu kali sehingga dapat menyebabkan DM nefropati dalam lima belas hari setelah induksi STZ-NA. Sebelumnya tikus dipuasakan semalam. NA diberikan 15 menit sebelum pemberian STZ. Induksi STZ-NA diberikan secara intraperitoneal.

## **10. Perlakuan hewan uji**

Pengujian dilakukan dengan metode induksi STZ-NA terhadap 6 kelompok tikus. Tikus ditimbang dan masing-masing diberi tanda pengenal, tikus yang digunakan sebanyak 30 ekor. Semua tikus diadaptasi terlebih dahulu selama 7 hari dan diperiksa kadar gula darah awalnya dan diinduksi dengan STZ-NA kecuali pada tikus kelompok I sebagai kontrol normal pada penelitian ini. Induksi STZ-NA dengan dosis 45 mg/kg BB dan NA 110 mg/kg bb tikus, kemudian dilihat kadar gula darahnya pada hari ke 14. Jika kadar gula darah lebih dari 200 mg/dl maka tikus dikatakan sudah diabetes. Pemberian sediaan uji secara peroral selama 14 hari pada kelompok tikus. Secara acak tikus dibagi menjadi 6 kelompok, masing-masing kelompok terdiri dari 5 ekor.

- Kelompok 1 : Kelompok normal tanpa perlakuan
- Kelompok 2 : Kontrol negatif, tikus diberikan CMC Na 0,5%
- Kelompok 3 : Kontrol positif, tikus diberikan glibenklamid dosis 0,45 mg/kg BB
- Kelompok 4 : tikus diberikan ekstrak etanol daun gedi merah dengan dosis 100 mg/Kg BB tikus selama 14 hari.
- Kelompok 5 : tikus diberikan ekstrak etanol daun gedi merah dengan dosis 200 mg/Kg BB tikus selama 14 hari.
- Kelompok 6 : tikus diberikan ekstrak etanol daun gedi merah dengan dosis 400 mg/Kg BB tikus selama 14 hari.

### **11. Pengorbanan hewan uji**

Pada akhir penelitian, hewan uji dikorbankan dan langsung segera di otopsi untuk dilakukan pengambilan jaringan organ hati yang dilakukan pada hari ke 29. Hewan coba dikorbankan dengan cara dislokasi leher kemudian dilakukan pembedahan. Pembedahan dimulai dengan merebahkan tikus dengan rebah dorsal pada papan pembedahan. Keempat kaki tikus difiksasi menggunakan jarum. Pembedahan dilakukan dengan mengincisi peritoneum. Incisi dilakukan selebar mungkin untuk memudahkan pengambilan organ. Hati terletak di bagian dextra abdomen. Hepar terlihat berwarna merah bata dan berlobus-lobus. Organ hepar diambil dan dicuci dengan NaCl-fisiologis 0,9% kemudian hati dimasukkan ke dalam formalin 10% untuk pengukuran kadar SOD dan pemeriksaan histopatologi dengan pewarnaan HE. Hewan coba yang telah diambil organnya dikubur ditempat yang telah disediakan.

### **12. Preparasi hati**

Tikus dianestesi dengan eter darah dikumpulkan dalam tabung EDTA melalui *cardiac puncture*. Sebagian jaringan dipotong uji histopatologi, sisanya dihomogenkan dalam buffer posfat 50 mM (pH 7,4) yang mengandung inhibitor protease, 0,2  $\mu$ M PMSF dan 1 Mm EDTA pada suhu 4 derajat celcius selama 30 detik (2-15 dengan 15 detik interval pendinginan). Homogenat disaring dan filtrat disentrifuse pada 1088 gram (pada rmax 108 mm) selama 5 menit dalam kondisi dingin. Supernatan yang dihasilkan digunakan untuk pengukuran aktivitas enzim antioksidan.

### 13. Pengukuran kadar SOD

Menambahkan 20 µl larutan sampel pada masing-masing sampel dan blanko 2. Menambahkan H<sub>2</sub>O pada blanko 1 dan blanko 3 dengan baik. Kemudian ditambahkan 200 µl WST (*working solution*) pada setiap sampel. Menambahkan 20 µl larutan buffer ke dalam blanko 2 dan blanko 3. Menambahkan 20 µl *Enzyme Working Solution* pada setiap sampel dan blanko 1, campurkan secara sempurna. Inkubasi *plate well* pada suhu 37° C selama 20 menit. Menganalisis absorbansi dengan *microplate reader* pada panjang gelombang 450 nm. Menghitung aktivitas SOD (*inhibition rate %*) menggunakan rumus sebagai berikut :

$$\text{Perhitungan \% SOD} = \frac{(A1 - A3) - (As - A2)}{(A1 - A3)} \times 100\%$$

Keterangan :

A1 : Absorbansi blanko 1

A3 : Absorbansi blanko 3

A2 : Absorbansi blanko 2

As : Absorbansi sampel

**Tabel 1. Prosedur pengukuran aktivitas SOD**

|                          | sampel | Blanko 1 | Blanko 2 | Blanko 3 |
|--------------------------|--------|----------|----------|----------|
| Larutan sampel           | 20 µl  | -        | 20 µl    | -        |
| ddH <sub>2</sub> O       | -      | 20 µl    | -        | 20 µl    |
| Larutan pereaksi WST     | 200 µl | 200 µl   | 200 µl   | 200 µl   |
| Larutan pengencer buffer | -      | -        | 20 µl    | 20 µl    |
| Larutan pereaksi enzim   | 20 µl  | 20 µl    | -        | -        |

### 14. Histopatologi hati

Prosedur pemeriksaan histopatologi menurut BPOM RI 2014 antara lain :

**14.1. Fiksasi pertama.** Semua organ direndam didalam larutan dapar formalin 10% dan harus sering digoyang. Kemudian organ tersebut dibiarkan di dalam botol selama 1 minggu pada suhu kamar.

**14.2. Pemotongan kasar.** Formalin dari masing-masing botol dibuang, lalu organ dipotong secara kasar. Kemudian potongan organ dari setiap hewan uji dimasukkan kedalam kantong tersendiri, sedangkan sisa potongan dibungkus dengan kain kassa untuk arsip.

**14.3. Fiksasi kedua.** Organ dimasukkan ke dalam botol berisi larutan dapar formalin untuk dilakukan fiksasi yang kedua paling sedikit selama 3 hari.



**14.4. Pencucian.** Setelah fiksasi kedua, untuk menghilangkan sisa formalin, kantong yang berisi organ dimasukkan kedalam bak yang berisi air dan dialiri air ledeng secara terus menerus selama paling sedikit 6 jam.

**14.5. Proses dehidrasi.** Selanjutnya dilakukan proses dehidrasi menggunakan alat dehidrasi otomatis. Air yang terdapat pada jaringan harus digantikan dengan *xylol* untuk dapat dibuat parafin. Proses penggantian air menuju *xylol* diperlukan larutan antara yaitu alkohol dengan konsentrasi bertingkat, etanol, etanol absolut yang ditambah  $\text{CuSO}_4$ , dan *xylol*.

**14.6. Perendaman dalam parafin cair.** Proses pembersihan organ dilakukan dengan cara memasukkan kantong-kantong organ yang telah mengalami proses dehidrasi kedalam bejana yang berisi parafin cair selama 60 menit.

**14.7. Pembuatan sediaan blok.** Pembuatan sediaan blok dilakukan dengan cara menyiapkan beberapa cawan porselin dan dipanaskan di atas api bunsen. Kedalam cawan dituangkan parafin cair. Kantong organ yang terendam dalam bejana yang berisi parafin cair dibuka dan organ segera dimasukkan ke dalam cawan porselin yang telah berisi parafin cair. Selanjutnya cawan yang berisi organ dibiarkan membeku. Kemudian cawan direndam dalam air kira-kira 60 menit lalu disimpan di dalam lemari es selama 12 jam. Setelah itu parafin yang berisi organ yang telah beku dikeluarkan dari cawan dan blok parafin dipotong berdasarkan kelompok organ. Selanjutnya potongan blok parafin dilekatkan pada permukaan blok kayu.

**14.8. Pemotongan organ.** Potongan-potongan organ yang sudah ditanam dalam blok parafin dan dilekatkan pada blok kayu, dipotong menjadi sayatan tipis menggunakan mikrotom. Setelah memperoleh potongan yang bagus, potongan tersebut dimasukkan kedalam bak yang berisi air sehingga mengambang dan selanjutnya ditempelkan pada kaca obyek. Selanjutnya sediaan/ preparat disimpan dalam suhu kamar untuk dilakukan pewarnaan.

**14.9. Pewarnaan jaringan.** Pewarnaan jaringan dilakukan dengan metode Hematoksin-eosin. Pewarnaan dapat dilakukan dengan menggunakan mesin otomatis sebagai berikut: pertama-tama bejana no.1 dan 2 masing-masing diisi dengan *xylene* 100%, bejana no.3 dan 4 dengan etanol absolut, bejana no.5 dengan

etanol 90%, bejana no.6 dengan etanol 80% dan bejana no.7 dengan etanol 70%. Setelah itu tuas pengatur waktu diatur sesuai waktu dari masing-masing bejana. Selanjutnya sediaan histopatologi diletakkan dalam keranjang khusus, lalu mesin dihidupkan dan sediaan pertama-tama direndam didalam bejana no.1 dan 2 untuk proses deparafinasi masing-masing selama 12 menit sambil digoyang, dilakukan dehidrasi dengan merendam preparat dalam etanol absolut I dan II masing-masing selama 5 menit, dipindahkan ke dalam etanol 90; 80 dan 70% masing-masing selama 5 menit, dimasukkan dalam air mengalir selama 12 menit, direndam dalam larutan hematoksilin Mayer selama 5 menit, dicuci dalam air mengalir selama 2 x 12 menit, pewarnaan dengan eosin 0,25% selama 12 menit, dicuci dengan air mengalir selama 5 menit. Selanjutnya dilakukan dehidrasi dengan mencelupkan dalam etanol 70% sebanyak 8 kali, dimasukkan dalam etanol 80; 90 % dan etanol absolut I dan II masing-masing selama 10 menit. Terakhir dimasukkan ke dalam *xylene* I, II, III masing-masing selama 12 menit. Kemudian kaca obyek ditutup dengan kaca penutup memakai perekat eukit. Preparat diamati di bawah mikroskop dengan perbesaran yang sesuai. Inti sel akan tampak berwarna biru kelabu dan sitoplasma merah muda.

### 15. Pengamatan Histologi

Pengamatan dilakukan dengan membandingkan preparat histologi hati antara kelompok perlakuan dengan kelompok kontrol. Preparat histologis hati diamati di bawah mikroskop cahaya dalam lima lapang pandang yang berbeda, dengan perbesaran 100 kali. Setiap lapang pandang dihitung 20 sel secara acak sehingga dalam 1 preparat tersebut teramati 100 sel hati. Kemudian dihitung rerata bobot skor perubahan histopatologi hati dari lima lapangan pandang dari masing-masing tikus dengan model Skoring Histopathologi Manja Roenigk. Kemudian dicatat dan dihitung jumlah persentase kerusakan yang terjadi (Maulida *et al.* 2010).

**Tabel 2. Kriteria penilaian derajat histopatologi sel hepar model Skoring Histopathologi ManjaRoenigk.**

| Tingkat Perubahan        | Nilai |
|--------------------------|-------|
| Normal                   | 1     |
| Degenerasi Parenkimatosa | 2     |
| Degenerasi Hidropik      | 3     |
| Nekrosis                 | 4     |

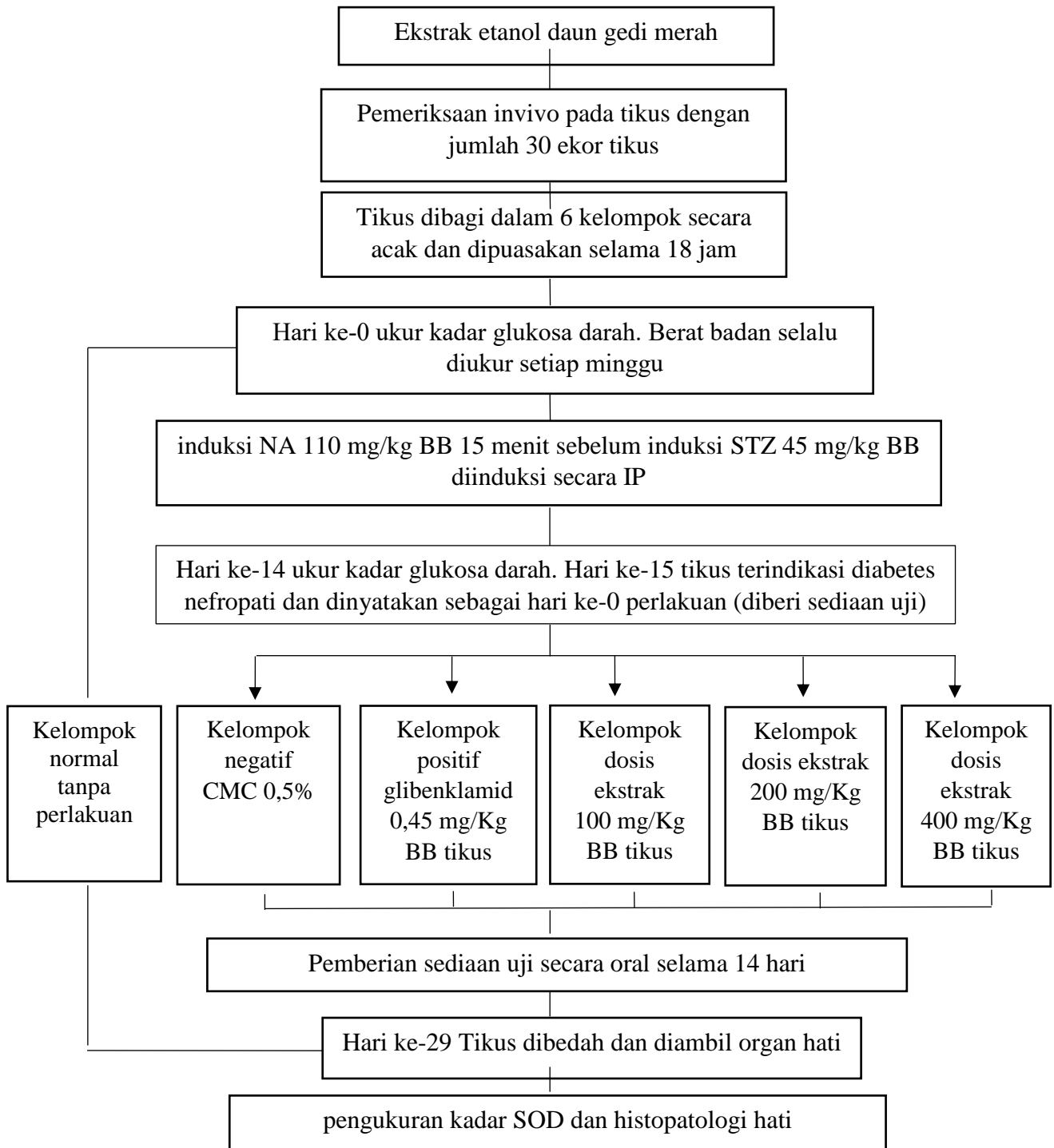
(Maulida *et al.* 2010).

Data yang didapat dari setiap parameter pengamatan dicatat dan disusun ke dalam bentuk tabel. Data diuji kemaknaannya terhadap pengaruh kelompok perlakuan dengan bantuan program SPSS.

### **E. Analisa Data**

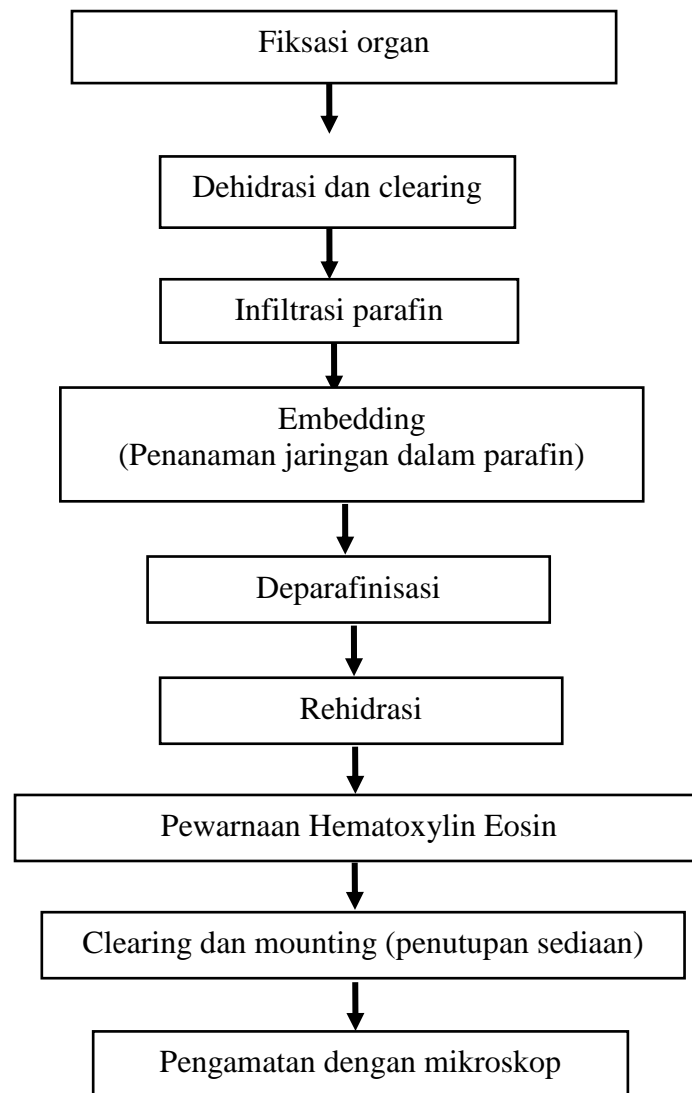
Data yang didapat pada uji ini adalah perubahan kadar SOD serta gambaran histopatologi organ hati. Kemudian diuji distribusi datanya dengan uji *Shapiro-Wilk* bila jumlah data yang didapatkan  $< 50$ , sedangkan kehomogenitasan variannya diuji dengan uji *Levene*. Apabila  $P > 0,05$  maka distribusi normal dan homogenitasnya untuk tiap varian, dilakukan uji parametrik dengann uji Anova dua jalan, apabila  $P < 0,05$  maka data terdistribusi normal dan dilakukan uji Non Parametrik. Jika perbedaannya bermakna, dilanjutkan dengan uji *Least Significant Difference* (LSD) atau *Tukey* dengan taraf kepercayaan 95%. Apabila data terdistribusi tidak normal, dilakukan uji *Kruskal-Wallis* dan jika perbedaan bermakna dilanjutkan dengan uji *Mann-Whithney* untuk mengetahui perbedaan antar perlakuan.

### F. Kerangka Penelitian



Gambar 5. Kerangka Pikir Penelitian

### G. Alur Pemeriksaan Histopatologi



Gambar 6. Skema pembuatan preparat hati

## BAB IV HASIL PENELITIAN DAN PEMBAHASAN

### 1. Hasil determinasi tanaman

Tanaman gedi merah yang digunakan dalam penelitian ini telah dilakukan determinasi, dinyatakan bahwa gedi merah adalah benar-benar *Abelmoschus manihot* L. Medik yang dimaksudkan, sehingga tanaman ini yang akan digunakan dalam penelitian. Data mengenai kebenaran hasil determinasi dapat dilihat pada kunci determinasi dibawah ini :

1b-2b-3b-4b-12b-13b-14b-17b-18b-19b-20b-21a-22b-23b-24b-25b-26b-27b-28b-  
29b-30b-31a-32a-33a-34a-35a-36d-37b-38b-39b-41b-42b-44b-45b-46e-50b-51b-  
53b-54b-56b-57b-58b-59d-72b-73b-74b-631b-632b-633a-634b-635b-636b-637b-  
638a-639b-640b-652d-653b-655b-656a-657b-658a-659b-  
660a\_\_\_\_\_96. Malvaceae 1b-3b-5b-13b-14b-15a-  
16a\_\_\_\_\_14.  
*Abelmoschus* 1a-2b-  
3b\_\_\_\_\_ *Abelmoschus manihot* (L.)  
Medik. (C.A. Backer & R.C. Bakhuizen van den Brink, Jr. 1963).

### 2. Deskripsi tanaman

Habitus : perdu, menahun, tumbuh tegak, tinggi 1.5-1.7 m. Akar : tunggang, bercabang-cabang, kuning muda hingga kuning keputihan. Batang : bulat, berkayu, bercabang-cabang, percabangan monopodial, permukaan batang muda sedikit berambut tetapi gundul pada batang dewasa. Daun : tunggal, tersebar, helaian daun bulat hingga bulat telur memanjang, panjang 10-60 cm, lebar 5-60 cm, pangkal berlekuk seperti jantung, tepi berbagi 5-7 taju, ujungnya membulat, berambut hingga gundul, permukaan atas hijau tua, permukaan bawah hijau muda, pertulangan menjari; taju daun berbentuk segitiga atau lanset memanjang atau bulat telur memanjang atau garis, ujungnya runcing hingga meruncing, tepi rata hingga bergerigi, tangkai daun bulat, panjang 2-60 cm, sedikit berambut hingga gundul, hijau; daun penumpu sepasang, terletak bebas di kanak kiri pangkal tangkai daun, berbentuk lanset, panjang 1-1.5 cm, hijau. Bunga : tunggal, berkelamin 2

(biseksual), berbentuk lonceng, diameter 12 cm, tumbuh di ketiak daun, tumbuh menggantung ke bawah; tangkai bunga bulat, hijau, panjang 1-5 cm, sedikit berambut hingga gundul; daun kelopak tambahan (epicalyx) seringkali 5, panjang 2-3 cm, lebar 0.2-1 cm, hijau, berambut; kelopak bunga berbentuk tabung, berbagi 5, tajunya bentuk lanset, berambut, warna hijau tua; daun mahkota bulat telur terbalik, panjang 3.5-8 cm, lebar 3-6 cm, tepi rata, berwarna kuning cerah dan bagian tengahnya ungu; benang sari bentuk tabung, panjang 1.5-2 cm, kepala sari hamper duduk, kuning; kepala putik berwarna ungu gelap. Buah : buah kapsul, bulat memanjang, panjang 4-5 cm, diameter 2.5-3 cm. Biji : kecil, banyak, berbentuk seperti ginjal, berambut.

### 3. Hasil pembuatan serbuk daun gedi merah

Hasil rendemen bobot kering terhadap bobot basah daun gedi merah dilihat pada Tabel di bawah ini.

**Tabel 3. Hasil rendemen bobot kering terhadap bobot basah daun gedi merah**

| Bobot basah (g) | Bobot kering (g) | Rendemen (%) |
|-----------------|------------------|--------------|
| 9000            | 1700             | 18,88        |

Daun gedi merah sebanyak 9000 gram dikeringkan dan didapatkan presentase bobot kering terhadap bobot daun gedi merah sebesar 18,88 %. Hasil perhitungan bobot kering terhadap bobot basah daun gedi merah dapat dilihat pada Lampiran 9.

### 4. Hasil penetapan kadar air serbuk daun gedi merah

Serbuk daun gedi merah yang diperoleh dilakukan penetapan kadar air dengan cara destilasi menggunakan alat *Sterling-Bidwell*. Hasil penetapan kadar air serbuk daun gedi merah dapat dilihat pada Tabel di bawah ini.

**Tabel 4. Hasil penetapan kadar air serbuk daun gedi merah**

| Berat awal (gram) | Volume akhir (ml) | Kadar air (%) |
|-------------------|-------------------|---------------|
| 20                | 1,5               | 7,5           |
| 20                | 1,4               | 7             |
| 20                | 1,4               | 7             |
| Rata-rata±SD      |                   | 7,167±0,289   |

Kadar air serbuk daun gedi merah memenuhi syarat dimana kadar air suatu serbuk simplisia tidak boleh lebih dari 10 %, maka dalam penyimpanan akan mudah ditumbuhi mikroba. Hasil dari penetapan kadar air dilakukan dengan tiga kali

replikasi menggunakan alat *Sterling-Bidwell* dan diperoleh rata-rata kadarnya 7,167% artinya serbuk daun gedi merah memenuhi syarat pengeringan simplisia. Hasil perhitungan penetapan kadar air serbuk daun gedi merah dapat dilihat pada Lampiran 10.

### 5. Hasil pembuatan ekstrak etanol daun gedi merah

Ekstraksi serbuk daun gedi merah dengan perbandingan 1:10 dilakukan dengan metode maserasi. Serbuk daun gedi merah sebanyak 1.500 gram dimasukkan dalam wadah coklat kemudian ditambahkan cairan penyari yaitu etanol 96% sebanyak 13.750 ml ditutup dan direndam selama 5 hari terlindung dari cahaya sambil sering diaduk. Setelah 5 hari maserat disaring dan diperas dengan menggunakan kain flannel, tambahkan cairan penyari secukupnya 1.250 ml lalu disaring kembali, hingga diperoleh 15.000 ml. Pindahkan ke dalam benjana tertutup, dibiarkan di tempat sejuk selama 2 hari, dienap tuangkan atau disaring. Sari yang yang diperoleh dipekatkan dengan evaporator dengan suhu 40<sup>0</sup> C sampai didapat ekstrak kental. Dari 1500 gram serbuk diperoleh berat ekstrak 104,7646 gram Tabel 5.

**Tabel 5. Hasil pembuatan ekstrak etanol daun gedi merah**

| <b>Berat serbuk (gram)</b> | <b>Berat ekstrak (gram)</b> | <b>Rendemen (%)</b> |
|----------------------------|-----------------------------|---------------------|
| 1500                       | 104,7646                    | 6,984               |

Rendemen ekstrak etanol daun gedi merah yang diperoleh adalah 6,984%. Perhitungan presentase rendemen ekstrak etanol daun gedi merah dapat dilihat pada Lampiran 11.

### 6. Uji bebas alkohol ekstrak etanol daun gedi merah

Uji bebas alkohol ekstrak etanol daun gedi merah dilakukan dengan cara ekstrak ditambahkan dengan asam asetat encer dan asam sulfat pekat kemudian dipanaskan, ekstrak dikatakan bebas dari alkohol apabila tidak terdapat bau ester. Hasil uji bebas alkohol pada Tabel 6 menunjukkan hasil negatif maka dapat disimpulkan bahwa ekstrak etanol daun gedi merah yang diperoleh sudah tidak mengandung etanol 96 %, sehingga dapat diinduksikan pada tikus yang digunakan dalam penelitian ini.

**Tabel 6. Hasil uji bebas alkohol ekstrak daun gedi merah**



| Prosedur  | Hasil   | Pustaka  | Keterangan |
|---|---|--|------------|
| Ekstrak+<br>CH <sub>3</sub> COOH+H <sub>2</sub> SO <sub>4</sub> pekat | Tidak tercium bau khas ester (etil asetat) dari alkohol | Tidak terdapat bau khas ester (etil asetat) dari alkohol (Depkes 1979) | (-)        |

## 7. Hasil identifikasi senyawa daun gedi merah dengan metode reaksi kimia

Serbuk dan ekstrak etanol daun gedi merah yang diperoleh diidentifikasi kandungan kimia yang terkandung di dalamnya. Hasil identifikasi kandungan kimia daun gedi merah dapat dilihat pada Tabel 7.

**Tabel 7. Hasil identifikasi kandungan kimia serbuk dan ekstrak daun gedi merah.**

| Senyawa   | Hasil                                  |  |  | Ket. |
|-----------|--|--|--|------|
|           | Serbuk                                 | Ekstrak                                | Pustaka  |      |
| Tanin     | Terbentuk warna biru kehitaman         | Warna hijau kehitaman                  | warna larutan akan berubah menjadi biru kehitaman atau hijau kehitaman (Depkes 1995) | +    |
| Saponin   | Terbentuk buih                         | Terbentuk buih                         | Adanya buih yang stabil (Robinson 1995)  | +    |
| Alkaloid  | Endapan merah kecoklatan               | Endapan merah kecoklatan               | Berwarna jingga atau adanya endapan jingga kemerahan (Harborne 1987)                 | -    |
| Flavonoid | Merah jingga pada lapisan amil alkohol | Merah jingga pada lapisan amil alkohol | Merah jingga atau kuning jingga pada lapisan amil alkohol (Sarker 2006)              | +    |

Berdasarkan hasil identifikasi kualitatif terhadap ekstrak daun gedi merah pada tabel 7, dapat diketahui bahwa ekstrak etanol daun gedi merah mengandung flavonoid, saponin dan tanin. Identifikasi flavonoid dengan penambahan HCl pekat dimaksudkan untuk menghidrolisis flavonoid menjadi aglikonnya, yaitu dengan menghidrolisis O-glikosil. Glikosil akan tergantikan oleh H<sup>+</sup> dari asam karena sifatnya yang elektrofilik. Glikosida berupa gula yang biasa dijumpai yaitu glukosa, galaktosa dan ramnosa. Reduksi dengan Mg dan HCl pekat ini menghasilkan senyawa kompleks yang berwarna merah atau jingga pada flavanon, flavanonol (Robinson 1985), hal ini juga sesuai dengan penelitian South *et al* (2013) yang mengemukakan bahwa ekstrak daun gedi merah mengandung senyawa flavonoid golongan flavon dan flavanonol.

Saponin ditandai dengan adanya buih karena adanya glikosida yang terhidrolisis dan mempunyai kemampuan membentuk buih di dalam air (Marliana *et al* 2005). Warna hijau yang diberikan pada identifikasi tanin disebabkan karena adanya senyawa kompleks yang terbentuk antara tanin dan FeCl<sub>3</sub>. Namun pada

identifikasi tabung tidak ditemukan adanya endapan pada identifikasi senyawa alkaloid. Hasil identifikasi senyawa dapat dilihat pada Lampiran 12.

### 8. Hasil pengukuran kadar Superoksidasi Dismutase (SOD) pada hati tikus

Penelitian ini menggunakan STZ sebagai agen radikal bebas yang menyebabkan kerusakan oksidatif pada pankreas tikus, dimana pada keadaan hiperglikemik akan menyebabkan terjadinya pembentukan radikal bebas yang lebih tinggi (Suarsana *et al.* 2011). Keadaan diabetes menginduksi terbentuknya ROS secara non enzimatis melalui autooksidasi glukosa menyebabkan terjadinya stress oksidatif yang ditandai dengan dengan berkurangnya kadar SOD (Meija 2013).

Superoksida dismutase (SOD) merupakan salah satu enzim antioksidan yang paling penting. SOD mengkatalisis dismutase anion superoksida menjadi hidrogen peroksida dan oksigen molekuler. Paket assay yang sensitif menggunakan WST-1 yang menghasilkan perwarna formazan setelah reduksi dengan anion superoksida. Tingkat reduksi dengan anion superoksida setara dengan aktivitas xantin oksida (xo) dan dihambat oleh SOD.

Pengukuran kadar SOD ditentukan berdasarkan pengukuran enzim secara tidak langsung, dengan menggunakan metode spektrofotometri. Untuk menganalisis enzim ini, dipakai enzim xantin atau xantin oksidase yang menghasilkan anion superoksida.

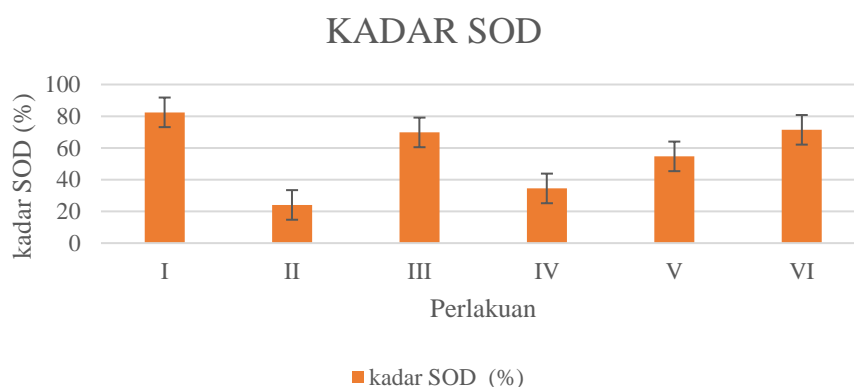
Data hasil rata-rata pengukuran SOD dengan menggunakan enzim xantin dan oksidase menunjukkan hasil yang berbeda pada tiap perlakuan. Perlakuan tersebut yaitu kontrol normal, kontrol negatif (diabetes), dan kontrol positif sesudah perlakuan pemberian ekstrak daun gedi merah tiga dosis 100 mg/kg BB, 200 mg/kg BB dan 400 mg/kg BB dapat dilihat pada Tabel 8 dibawah ini.

**Tabel 8. Rata-rata hasil pengukuran kadar SOD pada hati tikus**

| Kelompok | Absorbansi $\pm$ SD | Kadar SOD (%) $\pm$ SD          |
|----------|---------------------|---------------------------------|
| I        | 0,043 $\pm$ 0,003   | 82,45 $\pm$ 6,22 <sup>bc</sup>  |
| II       | 0,071 $\pm$ 0,002   | 24,08 $\pm$ 3,92 <sup>ac</sup>  |
| III      | 0,049 $\pm$ 0,004   | 69,80 $\pm$ 7,55 <sup>ab</sup>  |
| IV       | 0,065 $\pm$ 0,002   | 34,69 $\pm$ 3,22 <sup>abc</sup> |
| V        | 0,056 $\pm$ 0,003   | 54,69 $\pm$ 5,28 <sup>abc</sup> |
| VI       | 0,048 $\pm$ 0,002   | 71,43 $\pm$ 4,56 <sup>ab</sup>  |

Keterangan :

- I = Kontrol Normal
- II = Kontrol Negatif
- III = Kontrol positif (Glibenklamid 0,45 mg/kg BB tikus)
- IV = Dosis ekstrak daun gedi merah (100 mg/kg BB)
- V = Dosis ekstrak daun gedi merah (200 mg/kg BB)
- VI = Dosis ekstrak daun gedi merah (400 mg/kg BB)
- a = Berbeda signifikan terhadap kelompok normal
- b = Berbeda signifikan terhadap kelompok kontrol negatif
- c = Berbeda signifikan terhadap kelompok kontrol positif



**Gambar 7. Grafik hasil rata-rata pengukuran kadar SOD**

Berdasarkan Gambar 8 diketahui bahwa rerata kadar SOD pada tikus normal lebih tinggi dan berbeda signifikan dibandingkan dengan kadar SOD tikus kontrol negatif dan kontrol kelompok perlakuan ( $p < 0,05$ ). Hal ini disebabkan pada kondisi normal berbagai organ tubuh mampu bekerja dengan baik tak terkecuali organ hati yang memiliki mekanisme sistem pertahanan alamiah berupa enzim antioksidan endogen yaitu SOD yang berperan sebagai lini pertahanan terdepan berfungsi menetralkan dan mempercepat degradasi senyawa radikal bebas untuk mencegah kerusakan komponen makromolekul sel (Valko *et al.* 2007).

Radikal bebas yang dihasilkan selama proses metabolisme normal merupakan sumber radikal bebas endogen yang secara proses seluler dapat melatar belakangi kerusakan sel (Cooke *et al.* 2003). Menurut Kevin *et al.* (2006) bentuk-bentuk radikal bebas yang dihasilkan secara endogen diantaranya superoksidasi anion ( $O_2^-$ ), radikal hidroksil (OH), hidroperoksil (HO) dan oksigen singlet ( $O_2$ ). Radikal bebas bereaksi dengan komponen penyusun membran sel sehingga dapat menyebabkan gangguan dan kerusakan sel. Enzim SOD termasuk enzim

antioksidan intrasel yang diproduksi dalam tubuh yang berfungsi penting bagi tubuh untuk meredam radikal bebas sehingga dapat mencegah kerusakan sel. Enzim superoksida dismutase sebagai salah satu enzim antioksidan intrasel bekerja dengan cara membersihkan radikal bebas atau spesies oksigen reaktif (ROS) dengan reaksi enzimatik dan mengubahnya menjadi produk yang lebih stabil. SOD mengkatalisis reaksi dismutasi radikal bebas anion superoksida ( $O_2^-$ ) menjadi hidrogen peroksida dan molekul oksigen sehingga tidak berbahaya bagi sel (Halliwell 2006).

Berdasarkan rata-rata kadar SOD (Tabel 8) pada ketiga perlakuan berbeda signifikan dibandingkan kontrol negatif ( $p < 0,05$ ). Peningkatan SOD dikarenakan pada ekstrak etanol daun gedi merah memiliki senyawa flavonoid yang bersifat sebagai antioksidan dan dimungkinkan dapat bekerja secara sinergis bersama dengan enzim SOD dalam menetralkan radikal bebas endogen sehingga kadar SOD hati tikus tidak menurun seperti kontrol negatif (diabetes). Hal ini sesuai dengan pendapat Widyastuti dan Nyoman (2012), yang menyatakan bahwa senyawa flavonoid mampu merangsang ekspresi Cu-Zn SOD yang berfungsi melindungi sel dari serangan stres oksidatif.

Hasil uji fitokimia membuktikan bahwa ekstrak etanol daun gedi merah mengandung flavonoid, alkaloid, tanin dan saponin (Joni *et al.* 2016). Das dan Sarma (2009) menyatakan bahwa tanin, flavonoid dan glikosida fenolik adalah antioksidan alami yang berfungsi melindungi sel  $\beta$  pankreas dari radikal bebas.

Mekanisme flavonoid sebagai antioksidan dalam meningkatkan enzim SOD dijelaskan oleh Sugito (2012) bahwa kenaikan kadar SOD di dalam hati disebabkan karena adanya komponen fenolik yang menginduksi gen enzim antioksidan, kemudian menginduksi *antioxidant receptor element* (ARE) dan menginduksi DNA untuk memproduksi enzim antioksidan. Komponen fenolik pada suatu tanaman diduga mampu memicu terekspresinya gen enzim antioksidan seperti Mn-SOD, Cu/Zn-SOD hati, sehingga aktivitasnya meningkat.

Tanin diketahui dapat memacu metabolisme glukosa dan lemak sehingga timbunan kedua sumber kalori ini dalam darah dapat dihindari. Tanin juga mempunyai aktivitas hipoglikemik yaitu dengan meningkatkan glikogenesis. Selain itu, tanin juga berfungsi sebagai pengelut yang dapat mengerutkan membran epitel

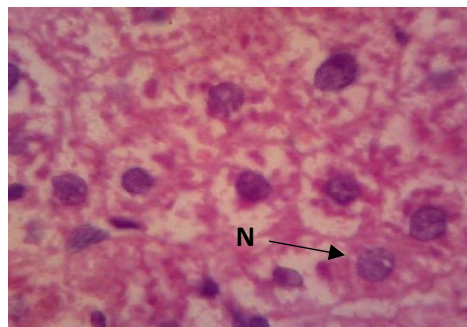
usus halus sehingga mengurangi penyerapan sari makanan dan sebagai akibatnya menghambat asupan gula dan laju peningkatan gula darah tidak terlalu tinggi (Velayutham *et al.* 2012).

Saponin menurunkan kadar glukosa darah dengan menghambat aktivitas enzim alfa glucosidase, yaitu enzim dalam pencernaan yang bertanggung jawab terhadap pengubahan karbohidrat menjadi glukosa (Makalalag *et al.* 2013).

Aktivitas SOD antara kelompok perlakuan dosis 400 mg/kg BB dengan kontrol positif yang diberi glibenklamid menunjukkan tidak ada perbedaan nyata ( $p > 0,05$ ) sehingga memiliki pengaruh yang hampir sama dengan glibenklamid sebagai kontrol positif. Menurut Obi *et al.* (2016), pada keadaan diabetes akan terjadi penurunan enzim antioksidan endogen karena adanya stres oksidatif oleh radikal bebas. Namun kadarnya dapat ditinggikan kembali dengan pemberian glibenklamid. Glibenklamid memiliki aktivitas sebagai antidiabetes dengan cara meningkatkan sekresi insulin sehingga glukosa akan lebih banyak masuk kedalam sel dan digunakan untuk proses metabolisme. Hal ini dapat meminimalkan sel membentuk glukosa melalui jalur autooksidasi, glikasi dan poliol sehingga menurunkan jumlah radikal bebas dan meningkatkan kadar SOD di dalam tubuh.

## **9. Hasil histopatologi organ hati**

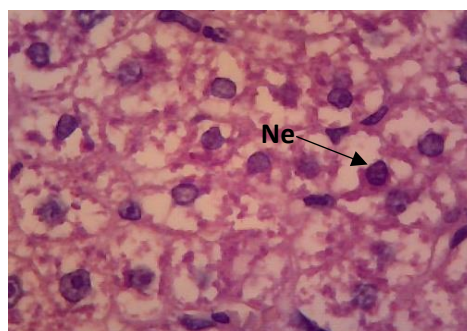
Hasil pengamatan dilakukan dengan membandingkan preparat histologi hati antara kelompok perlakuan dengan kelompok kontrol. Preparat histologis hati diamati di bawah mikroskop cahaya dalam lima lapang pandang yang berbeda, dengan perbesaran 100 kali. Setiap lapang pandang dihitung 20 sel secara acak sehingga dalam 1 preparat tersebut teramati 100 sel hati. Kemudian dihitung rerata bobot skor perubahan histopatologi hepar dari lima lapangan pandang dari masing-masing tikus dengan model Skoring Histopathologi ManjaRoenigk (Maulida *et al.* 2010). Pengamatan hasil histopatologi dapat dilihat pada Gambar 8.



Kontrol normal



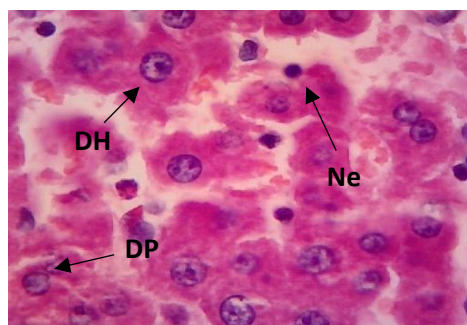
Kontrol negatif



Kontrol positif



Kelompok perlakuan I



Kelompok perlakuan II



Kelompok perlakuan III

**Gambar 8.** Gambaran histopatologi sel hati tikus, gambaran normal (N), gambaran degenerasi parenkimatosa (DP), gambaran degenerasi hidropik (DH) dan gambaran nekrosis (Ne). Pewarnaan hematoxylin eosin (HE), perbesaran 100x.

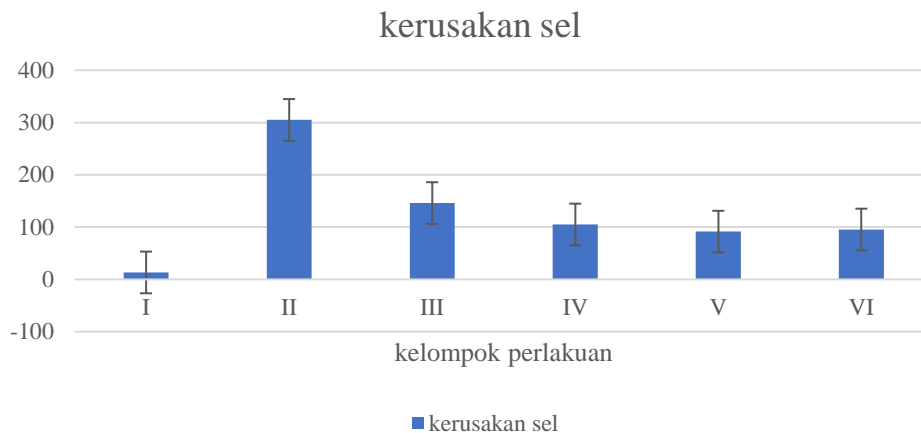
Pada hasil pengamatan histopatologi hati tikus ditemukan adanya perubahan pada parenkim hati, yaitu berupa degenerasi parenkimatososa, degenerasi hidropik, dan nekrosis. Berikut rata-rata jumlah skoring perubahan kerusakan sel hati tikus yang diinduksi STZ-NA setelah pemberian ekstrak etanol daun gedi merah dapat dilihat pada Tabel 9.

**Tabel 9. Hasil skoring gambaran histopatologi pada hati tikus**

| Kelompok   | Kode Hewan | Jumlah sel normal | Jumlah kerusakan |     |          | Total kerusakan | Presentase sel normal | Presentase kerusakan        |
|------------|------------|-------------------|------------------|-----|----------|-----------------|-----------------------|-----------------------------|
|            |            |                   | D.P              | D.H | Nekrosis |                 |                       |                             |
| <b>I</b>   | 1.1        | 95                | 2                | 3   | 12       | 17              | 95                    | 17                          |
|            | 1.2        | 97                | 2                | 3   | 4        | 9               | 97                    | 9                           |
|            | 1.3        | 96                | 2                | 0   | 12       | 14              | 96                    | 14                          |
| Rata-rata  |            |                   |                  |     |          |                 | 96 ± 1                | 13,33 ± 4,04 <sup>bc</sup>  |
| <b>II</b>  | 2.1        | 15                | 36               | 72  | 188      | 296             | 15                    | 288                         |
|            | 2.2        | 6                 | 18               | 117 | 184      | 319             | 6                     | 319                         |
|            | 2.3        | 5                 | 32               | 120 | 156      | 308             | 5                     | 308                         |
| Rata-rata  |            |                   |                  |     |          |                 | 8,66 ± 5,50           | 305 ± 15,71 <sup>ac</sup>   |
| <b>III</b> | 4.1        | 68                | 0                | 6   | 120      | 126             | 69                    | 126                         |
|            | 4.2        | 58                | 4                | 57  | 84       | 145             | 58                    | 145                         |
|            | 4.3        | 52                | 4                | 66  | 100      | 170             | 52                    | 167                         |
| Rata-rata  |            |                   |                  |     |          |                 | 59,66 ± 8,62          | 146 ± 20,51 <sup>ab</sup>   |
| <b>IV</b>  | 5.1        | 67                | 0                | 63  | 48       | 111             | 67                    | 98                          |
|            | 5.2        | 67                | 20               | 42  | 36       | 98              | 67                    | 122                         |
|            | 5.3        | 72                | 6                | 30  | 60       | 93              | 72                    | 96                          |
| Rata-rata  |            |                   |                  |     |          |                 | 68,66 ± 2,88          | 105 ± 14,46 <sup>ab</sup>   |
| <b>V</b>   | 6.1        | 52                | 0                | 141 | 4        | 145             | 52                    | 145                         |
|            | 6.2        | 75                | 4                | 54  | 20       | 78              | 75                    | 78                          |
|            | 6.3        | 81                | 12               | 39  | 0        | 51              | 81                    | 51                          |
| Rata-rata  |            |                   |                  |     |          |                 | 69,33 ± 15,30         | 91,33 ± 48,39 <sup>ab</sup> |
| <b>VI</b>  | 7.1        | 62                | 6                | 90  | 20       | 116             | 62                    | 116                         |
|            | 7.2        | 66                | 4                | 87  | 12       | 103             | 66                    | 103                         |
|            | 7.3        | 74                | 28               | 27  | 12       | 67              | 74                    | 67                          |
| Rata-rata  |            |                   |                  |     |          |                 | 67,33 ± 6,11          | 95,33 ± 25,38 <sup>ab</sup> |

Keterangan :

- I = Kontrol Normal
- II = Kontrol Negatif
- III = Kontrol positif (Glibenklamid 0,45 mg/kg BB tikus)
- IV = Dosis ekstrak daun gedi merah (100 mg/kg BB)
- V = Dosis ekstrak daun gedi merah (200 mg/kg BB)
- VI = Dosis ekstrak daun gedi merah (400 mg/kg BB)
- a = berbeda signifikan terhadap kelompok normal
- b = berbeda signifikan terhadap kelompok kontrol negatif
- c = berbeda signifikan terhadap kelompok kontrol positif



**Gambar 9. Grafik rata-rata skoring kerusakan pada hati tikus**

Berdasarkan Gambar 9 menunjukkan bahwa kelompok normal memiliki rata-rata skor kerusakan histopatologi hati yang paling rendah, sedangkan pada kelompok negatif menunjukkan sel hepatosit yang paling tinggi. Pada tabel 9 hasil skoring gambaran histopatolgi menunjukkan tidak ada perbedaan yang bermakna antara kelompok kontrol positif dengan kelompok perlakuan ( $p > 0,05$ ), tetapi terdapat perbedaan yang signifikan antara kelompok kontrol negatif dengan kelompok perlakuan ( $p < 0,05$ ). Sehingga dapat disimpulkan bahwa ekstrak etanol daun gedi merah berpengaruh terhadap perbaikan sel pada organ hati tikus. Hasil analisis data dapat dilihat pada Lampiran 21.

Pada kelompok kontrol negatif, yaitu kelompok tikus dengan pemberian STZ-NA tampak kerusakan jaringan yang tinggi. Hal ini dikarenakan hewan uji pada kelompok ini tidak diberikan antioksidan sehingga terjadi kerusakan sel hepar yang parah. Sifat negatif radikal bebas (ROS) dapat menyebabkan stres oksidatif yaitu keadaan ketidakseimbangan antara radikal bebas dengan antioksidan, radikal bebas dalam jumlah berlebih, sementara jumlah antioksidan tetap atau lebih sedikit, maka akan terjadi stres oksidatif yang menyebabkan kerusakan sel. Kerusakan sel merupakan gangguan atau perubahan yang dapat mengurangi viabilitas dan fungsi esensial sel.

Menurut Peter (2006), apabila senyawa racun seperti radikal bebas masuk terlalu besar sehingga bersifat toksik pada hati akan menimbulkan degenerasi jaringan hati kemudian terjadi nekrosis yang dapat merusak jaringan hati.



Degenerasi parenkimatososa yang merupakan bentuk degenerasi jaringan berupa pembengkakan dan kekeruhan sitoplasma dengan munculnya granula-granula dalam sitoplasma akibat endapan protein. Degenerasi yang bersifat reversibel ini hanya terjadi pada mitokondria dan retikulum endoplasma karena rangsang yang mengakibatkan gangguan oksidasi. Degenerasi hidropik pada dasarnya sama dengan degenerasi parenkimatososa, namun derajatnya lebih berat, sehingga tampak vakuola berisi air dalam sitoplasma yang tidak berisi lemak atau glikogen (Gunawan 2008).

Degenerasi hidrofis merupakan suatu keadaan sitoplasma sel mengandung air. Secara mikroskopis, pada sel-sel yang mengalami degenerasi hidrofis terlihat adanya ruangan-ruangan jernih di sitoplasma tetapi tidak sejernih kolagen maupun lemak (Carlton dan McGavine 1995). Degenerasi hidrofis disebabkan karena adanya gangguan metabolisme pada organ hati. Degenerasi hidrofis merupakan perubahan yang bersifat *reversible*, sehingga apabila paparan bahan toksik dihentikan, sel yang mengalami kerusakan akan kembali normal dan apabila paparan bahan toksik terus berlanjut maka akan menyebabkan sel mati (Cheville 1983).

Nekrosis merupakan kematian suatu sel atau kelompok yang masih merupakan bagian dari organisme hidup dengan penyebab yang bervariasi dan mekanisme berkelanjutan. Kematian sel umumnya paling jelas ditunjukkan pada perubahan inti sel. Inti sel yang mati akan menyusut, batasnya tidak teratur dan berwarna gelap yang disebut piknosis, intinya sendiri disebut piknotik, selain itu ada kemungkinan inti hancur dan meninggalkan pecahan-pecahan zat kromatin yang tersebar dalam sel yang disebut dengan karioreksis. Hal ini menyebabkan kehilangan kemampuan untuk diwarnai proses ini disebut kariolisis (Anderson 2008).

Degenerasi yang berlangsung terus-menerus akan menyebabkan kematian sel. Kematian sel merupakan kerusakan yang bersifat menetap (*irreversible*), sehingga hepatosit tidak dapat kembali ke bentuk normal. Kematian sel dapat terjadi melalui proses apoptosis dan nekrosis sel. Apoptosis merupakan proses kematian sel yang terencana atau terprogram yang dipicu oleh fragmen

deoxyribonucleic acid (DNA), sedangkan nekrosis sel dicirikan dengan adanya sel radang. Nekrosis merupakan kematian sel atau jaringan dimana inti sel menjadi lebih padat. Nekrosis dapat bersifat lokal atau difus, yang disebabkan oleh keadaan iskemia, anemia, kekurangan oksigen, bahan-bahan radikal bebas, gangguan sintesis DNA, dan peptide (Lu 1995).

Hasil rata-rata skoring gambaran sel hati pada kelompok perlakuan ekstrak etanol daun gedi merah menunjukkan adanya kerusakan sel hati berupa degenerasi parenkimatososa, degenerasi hidrofik dan nekrosis (Tabel 9). Hal ini menunjukkan bahwa kerusakan sel hati yang disebabkan karena pemberian STZ-NA belum mampu diperbaiki mendekati normal oleh pemberian ekstrak etanol daun gedi merah dengan dosis 100 mg/kg BB, 200 mg/kg BB dan 400 mg/kg BB. Hal itu dapat dilihat ada perbedaan yang signifikan pada setiap perlakuan dengan kontrol normal ( $p < 0,05$ ), karena ekstrak etanol daun gedi merah pada dosis tersebut belum mampu meredam sepenuhnya dampak negatif dari radikal bebas. Hal ini juga dapat disebabkan karena durasi pemberian ekstrak etanol daun gedi merah yang kurang lama. Namun secara rata-rata dan statistik kelompok perlakuan ekstrak etanol daun gedi merah dan kontrol negatif menunjukkan perbedaan yang signifikan ( $p < 0,05$ ) hal ini menunjukkan bahwa ekstrak etanol daun gedi merah mampu memberikan efek proteksi pada sel hati dari kerusakan sel akibat dari radikal bebas pada tikus diabetes.

Kemampuan ekstrak etanol daun gedi merah dalam memberikan efek protektor pada sel hati dikarenakan senyawa flavonoid yang terkandung pada daun gedi merah dapat bertindak sebagai antioksidan. Senyawa antioksidan tersebut memiliki mekanisme kerja mendonorkan satu elektronnya kepada radikal bebas derivat karbon tetraklorida sehingga proses tersebut dapat dihambat. Menurut Sumastuti dan Sulinmar (2002), flavonoid diketahui mempunyai aktivitas hepatoprotektor. Flavonoid mampu menghambat reaksi oksidasi melalui mekanisme *radical scavenging* dengan cara menyumbangkan satu elektron pada elektron yang tidak berpasangan dalam radikal bebas sehingga banyaknya radikal bebas menjadi berkurang. Radikal bebas akan menyebabkan gangguan integritas

membran hepatosit sehingga menyebabkan keluarnya berbagai enzim dari hepatosit sehingga hal ini menjadi indikator terjadinya kerusakan hati (Davis *et al.* 2003).

Berdasarkan hasil pada Tabel 9 dapat dilihat tidak adanya perbedaan bermakna antara kelompok kontrol positif yang diberi glibenklamid dengan kelompok perlakuan ( $p > 0,05$ ). Hal ini menunjukkan bahwa kelompok kontrol positif dapat memberikan efek perbaikan yang setara dengan kelompok perlakuan. Glibenklamid sebagai antidiabetik oral yang bertujuan menurunkan kadar glukosa dalam darah serta dapat memperbaiki kerusakan sel hati untuk meningkatkan penyerapan glukosa (Sharma 2011).

### 10. Hubungan antara Kadar SOD dan Histopatologi Hati

Koefisien korelasi sederhana menunjukkan seberapa besar hubungan yang terjadi antara dua variabel. Nilai Pearson Correlation ( $r$ ) berkisaran antara 1 sampai -1, nilai semakin mendekati 1 atau -1 maka hubungan antara dua variabel semakin kuat, sebaliknya nilai mendekati 0 berarti hubungan antara dua variabel semakin lemah. Nilai positif menandakan hubungan yang positif atau searah dan tanda negatif menandakan hubungan yang negatif atau berlawanan. Hasil uji korelasi antara kadar SOD dan kerusakan histopatologi sel hati dapat dilihat pada Tabel 10.

**Tabel 10. Hasil korelasi antara kadar SOD dan histopatologi hati**

| Kelompok perlakuan | Pearson Correlation ( $r$ ) | Signifikansi |
|--------------------|-----------------------------|--------------|
| K(+)               | -0.211                      | 0.865        |
| I                  | -0.904                      | 0.281        |
| II                 | -0.937                      | 0.227        |
| III                | -0.855                      | 0.347        |

Keterangan :

K(+) = Kontrol positif (Glibenklamid 0,45 mg/kg BB tikus)

I = Dosis ekstrak daun gedi merah (100 mg/kg BB)

II = Dosis ekstrak daun gedi merah (200 mg/kg BB)

III = Dosis ekstrak daun gedi merah (400 mg/kg BB)

Berdasarkan uji korelasi kelompok kontrol positif dan kelompok perlakuan dosis (100, 200 dan 400 mg/kg BB) terlihat bahwa nilai signifikan dari semua kelompok ( $p > 0,05$ ) maka  $H_0$  diterima, artinya nilai kadar SOD tidak mempunyai hubungan yang signifikan dengan nilai kerusakan histopatologi sel hati pada semua kelompok. Pada kelompok kontrol (glibenklamid) didapat nilai  $r$  sebesar -0,211 menunjukkan bahwa terdapat hubungan lemah antara kadar SOD dan kerusakan sel

hati, artinya jika kadar SOD meningkat maka kerusakan sel hati akan menurun tetapi masih dalam kategori lemah. Sedangkan pada kelompok perlakuan ekstrak etanol daun gedi merah didapat nilai r untuk dosis 100 mg/kg BB sebesar -0,904; dosis 200 mg/kg BB sebesar -0,937 dan dosis 400 mg/kg BB sebesar -0,855 hal ini menunjukkan bahwa terdapat hubungan yang kuat antara kadar SOD dan kerusakan sel hati, yang artinya jika kadar SOD meningkat maka kerusakan sel hati akan menurun.

Antioksidan endogen di dalam tubuh berfungsi untuk menangkal radikal dan stres oksidatif. Penurunan stres oksidatif dalam sel berarti akan menurunkan proses kerusakan maupun meningkatkan degenerasi sel  $\beta$  pankreas dan menurunkan kadar SOD yang merupakan hasil dari peroksidasi lipid yang diakibatkan oleh stres oksidatif. Menurut Dembinska-kiec *et al.* (2008) bahwa flavonoid bekerja sebagai antioksidan dengan cara meningkatkan aktivitas SOD. Flavonoid meredam reaktivitas radikal bebas, sehingga mengarahkan molekul tersebut menjadi lebih stabil. Flavonoid juga bekerja mendonorkan ion hidrogen atau elektron kepada anion superoksida sehingga melindungi lipoprotein, protein, dan DNA (Winarsi 2007).

## **BAB V**

### **KESIMPULAN DAN SARAN**

#### **A. Kesimpulan**

Berdasarkan hasil penelitian yang telah dilakukan dapat ditarik kesimpulan bahwa :

Pertama, ekstrak etanol daun gedi merah dosis 100, 200 dan 400 mg/kg BB dapat meningkatkan kadar SOD pada tikus diabetes.

Kedua, dosis ekstrak etanol daun gedi merah yang paling efektif dalam meningkatkan kadar SOD adalah dosis 400 mg/kg BB.

Ketiga, ekstrak etanol daun gedi merah dosis 100, 200 dan 400 mg/kg BB dapat memperbaiki gambaran histopatologi hati tikus diabetes.

#### **B. Saran**

Dalam penelitian ini masih banyak kekurangan, maka perlu dilakukan penelitian lebih lanjut mengenai:

Pertama, penelitian lebih lanjut dengan menggunakan fraksi-fraksi dari ekstrak etanol daun gedi merah.

Kedua, penelitian lebih lanjut tentang toksisitas akut dan kronik ekstrak etanol daun gedi merah.

## DAFTAR PUSTAKA

- Anderson MM, Requena JR, Crowley JR, Thorpe SR, Heinecke JW. 1999. The myeloperoxidase of human phagocytes generates *N*-carboxymethyl lysine on proteins: a mechanism for producing advanced glycation end products at sites of inflammation. *J Clin Invest* 1999;104(1):103-13.
- Anonim, 1986. *Sediaan Galenik*. Departemen Kesehatan Republik Indonesia. Jakarta.
- Anonim. 1993. *Pedoman Pengujian dan Pengembangan Fitofarmaka, Penapisan Farmakologi dan Pengujian Klinik*, Jakarta: Yayasan Pengembangan Obat Bahan Alam Phyto Medica. Hal 15-17, 195-200.
- Anonim, 1994, *Buku Ajar Mikrobiologi Kedokteran*, Fakultas Kedokteran, Universitas Gajah Mada, Yogyakarta.
- Assagaf, Fadhila dkk. 2013. *Uji Toksisitas Akut (Lethal Dose 20) Ekstrak Ethanol Daun Gedi Merah (Abelmoschus manihot L) Terhadap Tikus Putih Jantan Galur Wistar (Rattus norvegicus L)*. Manado: Unstrat Jurnal Ilmiah Farmasi.
- Bahmani M, Golshahi H, Saki K, Rafieian-Kopaei M, Delfan B, Mohammadi T. 2014. Medicinal plants and secondary metabolites for diabetes mellitus control. *Asian Pacific Journal Tropical Biomedicine*. 4(2): S687-S692
- Beckman Ja, Goldfine AB, Gordon MB, Creager MA. 2001. Ascorbate restores endothelium-dependent vasodilatation impaired by acute hyperglycemia in humans. *Circulation* ;103:1618-23.
- Budiman H, Rahmawati, Sanjaya F. 2010. Isolasi dan identifikasi alkaloid pada biji kopi robusta (*Coffea robusta Lindl. Ex De Will*) dengan cara kromatografi lapis tipis. CERATA Jurnal Ilmu Farmasi (*Journal of Pharmacy Science*) 1(1): 57-58.
- Cheville NF. 1999. *Introduction Veterinary Pathology*. 2nd ed. Iowa: Iowa State University Press.
- Corwin J. Elisabeth. 2009. *Buku Saku Patofisiologi*. Jakarta: EGC.
- Cooke MS, Evans MD, Dizdaroglu M, Lunce J. 2003. Oxidative DNA damage: mechanism, mutation and disease. *FASEB J*. 17:1195-1214.
- Dalimartha S. 2005. *Ramuan Tradisional untuk Pengobatan Diabetes Melitus*. Cetakan ke-10. Jakarta: Penebar Swadaya. hlm 3-15.
- Damjanov. 2000. *Buku Teks dan Atlas Berwarna Histopatologi*. Pendit UB. Penerjemah: Himawan M. Editor. Jakarta : Widya Medika.

- Darsana I.G.O Besung I.N.K, Mahatmi H. 2012. Potensi Daun Binahong (*Anredera Cordifolia (Tonore) Steenis*) dalam Menghambat Pertumbuhan Bakteri *Escherichia Coli* Secara In Vitro. *Indonesia Medicus Veterinus* 1:337-351.
- Das S & Sarma G. 2009. Antidiabetic Action of Ethanolic Extract of *Punica granatum* Linn. in Alloxan-induced Diabetic Albino Rats. *S. J. Pharm. Sci.* 2(1): 14-21.
- Davies KJ, Quintanilha AT, Brooks GA, et al. 1982. Free radicals and tissue damage produced by exercise. *Biochem Biophys Res Commun*: 107: 1198-205.
- Depkes RI. 1985. *Cara Pembuatan Simplisia*. Jakarta: Departemen Kesehatan Republik Indonesia. Hlm 4-6.
- Departemen Kesehatan. 1986. *Sediaan Galenik. Edisi III*. Departemen Kesehatan Republik Indonesia. Jakarta Hal 4-7.
- Departemen Kesehatan. 1995. *Farmakope Indonesia*. Edisi ke-4. Jakarta: Departemen Kesehatan Republik Indonesia.
- Departemen Kesehatan. 2005. *Pharmaceutical care untuk penyakit diabetes mellitus*. Jakarta: Direktorat Bina Farmasi Komunitas dan Klinik, Direktorat Jendral Bina Kefarmasian dan Alat Kesehatan, Departemen kesehatan RI. Hlm 15.
- Dewi, Devis Resita. 2013. *Studi pemberian ekstrak rumput laut coklat (Sragassum prismaticum) terhadap kadar Mda dan histologi pankreas pada tikus (Rattus norvegicus) Diabetes Mellitus tipe 1 hasil induksi mld-STZ (multiple lowdose-streptozotocin)*. *Kimia students journal*. Vol.2. no.1.
- Elsner M, Guldbake B, Tiedge M, Munday R, Lenzen S, 2000. *Relative importance of transport and alkylation for pancreatic beta-cell toxicity of streptozotocin*. *Diabetologia*. 43: 1528-1533.
- Fiqriyana, Maulidya A.2010. *Pengaruh Pemberian ekstrak Euchema Spinom Terhadap Kadar Glukosa dalam Darah dan Aktivitas Superoksida Dismutase (SOD) pada Tikus Terpapar Multiple Low Doses Streptozotocin (MLDSTZ)*. *Skripsi*, Malang :Fakultas Matematika dan Ilmu pengetahuan Alam Universitas Brawijaya.
- Fridovich I. 1981. *Superoxide Dismutases*. *Ann Rev Biochem*. 44:147-159.
- Goodman Dan Gilman. 2008. *Dasar Farmakologi Terapi Ed ke-10. Volume 2*. Terjemahan. Amalia Hanif, Jakarta: EGC
- Gross JL,. 2005. Diabetic nephropathy: Diagnosis, prevention, and treatment, *Diabetes Care* 28 :164-176.

- Gunawan, S.G., 2008. *Farmakologi dan Terapi* ed 5. Jakarta : Balai Penerbit FKUI.
- Halliwell B, Gutteridge JMC. 1999. *Free Radicals in Biology and Medicine*. Oxford University Press. New York.
- Halliwell B. 2006. *Reactive spesies and antioxidants: Redox biology is a fundamental theme of aerobic life*. Plant Physiol. 141:312-322.
- Harborne JB. 1987. *Metode Fitokimia Penentuan Cara Modern Menganalisis Tumbuhan*. Bandung: ITB. Hlm 51-18.
- Harmita Maksum. 2005. *Buku Ajar Analisis Hayati, Ed 2*. Jakarta: Departemen Farmasi FMIPA Universitas Indonesia.
- Hernani, Rahardjo M. 2005. *Tanaman Berkhasiat Antioksidan*. Jakarta: penebar Swadaya. Hal 9-10, 10-11 & 15.
- Jain, P.S., S.B. Bari, and S.J. Surana, 2009, Isolation of Stigmasterol and (-)-Sitosterol from Petroleum Ether of Woody Stem of *Abelmoschus manihot*, *Asian Journal of Biological Sciences* 2 (4): 112-117
- Jayanegara A; Sofyan A, 2008, Penentuan Aktivitas biologi Tanin beberapa Hijauan secara in vitro menggunakan 'Hohenheim Gas test' dengan Polietilenglikol secara Determinan, *jurnal Media Peternakan* 31: 44-52.
- Katzung BG. 2010. *Farmakologi Dasar dan Klinik*. Edisi ke-10. Nugroho AW, Rendy L, Dwijyanthi L, penerjemah; Nirmala WK, editor. Jakarta: ECG. Terjemahan dari: *Basic and Clinical Pharmacology*.
- Kayadu, Yustin Nova. 2013. *Karakteristik Arkeologi dan Analisis Nutrisi Tanaman Gedi (Abelmoschus manihot L. Medik) Asal Distrik Sentani dan Distrik kemtuk, Kabupaten Jayapura*. Skripsi Pertanian dan Teknologi Pertanian Manokwari: Universitas Negeri Papua. Hlm 5-6.
- Kemenkes, R.I., 2010, *Suplemen 1 Farmakope Herbal Indonesia*, Jakarta, Kementerian Kesehatan Republik Indonesia.
- Kevin C, Kregel, Hannah J, Zhang. 2006. An integrated view oxidative stress in aging: basic mechanism, functional effect, and pathological considerations. *Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol*. 292:R18-R36.
- Khlifi S, Hachmini Y, Khalil A, Safi N, Abbouyi A. 2005. In vitro antioxidant effect of *Globularia alypum* L. Hy drometanolic extract. *Indian J Pharmacol* 37(4). hlm 227-231.
- Khomsan A. 2009. *Rahasia Sehat dengan Makanan Berkhasiat*. Jakarta: Kompas Media Nusantara. 12.



- Kowluru RA, Tang J, Kern TS. 2001. Abnormalities of retinal metabolism in diabetes and experiment galactosemia. *Diabetes*;50:1938-42.
- Ledoux SP, Hall CR, Forbes PM, Patton NJ, & Wilson GL. 1988. Mechanism of nicotinamide and thymidine protection from alloxan and streptozotocin toxicity. *Diabetes* 37(8): 1015-9.
- Lenzen. 2008. The Mechanism of alloxan and streptozotocin-induced diabetes. *Diabetologia* 51:216-226.
- Liu, Y., Xianyin L., Xiaomei L., Yuying Z., Jingrong C. 2006. Interactions Between Thrombin with Flavonoids from *Abelmoschus manihot* (L.) Medicus by CZE. *Chromatographia* 2006 (64): 45.
- Malole MB, Pramono CSU. 1989. *Penggunaan hewan-hewan percobaan di Laboratorium*. Departemen Pendidikan dan Kebudayaan Direktorat Jendral Tinggi Pusat Antar Universitas Institut Pertanian Bogor. Bogor: IPB.
- Mamahit L, dan Sukanto. 2010. *Satu Senyawa Asam Organikdari Daun Gedi (Abelmoschus manihot L) Asal Sulawesi Utara*. Jurusan Teknologi Pertanian, Fakultas Pertanian UNSTRAT.
- Mansjoer A, Triyanti K, Savitri R, Wardhani WI, Setiowulan W, (Ed.). 2001. *Kapita Selekta Kedokteran*. Edisi III. Jilid pertama. Jakarta: Media Aesculapius FKUI. Hal 580-587.
- Martindale. *The Extra Pharmacopoeia*, 29<sup>th</sup> ed, (Pharmaceutical Press 1989), p. 649.
- Musa AM. 2009. *Preliminary Phytochemical, Analgesic and antiinflammatory studies of the Methanol Extract of Anisopus manni (N.E.Br) (Asclepiadaceae) in Rodents*. *African Journal of Pharmacy and Pharmacology* 3:374-378.
- Myeck MJ, Richard AH, Chmpe PC, Fisher BD. 2001. *Farmakologi Ulasan Bergambar*. Edisi ke 2. Jakarta: Widya medika. Hlm 260-261.
- Nishimura CY. 1998. Aldose reductase in glucose toxicity: A potential targets for the prevention of diabetic complications. *Pharmacological reviews*. 50(1):21-33.
- Niwa T, Katsuzaki T, Miyazaki S. 1997. Immunohistochemical detection of imidazolone, a novel advance glycation end product, in kidney and aortas of diabetic patients. *J Clin Invest*;99(6):1272-80.
- Noer S. 1996. *Buku Ajar Penyakit Dalam*. Jakarta: Gaya Baru.
- Nugroho AE. 2006. Review hewan percobaan diabetes mellitus : patologi dan mekanisme aksi diabetogenik, animal models of diabetes mellitus:

- pathology and mechanism of some diabetogenics. *Biodiversitas* 7:378-382.
- Nurhalimah H, Wijayanti N, Widyaningsih TD. 2011. Efek Antidiare Ekstrak daun Beluntas (*Pluchea Indica* L.) terhadap mencit jantan yang diinduksi Bakteri *Salmonella Thypimurium*. *Jurnal Pangan dan Agroindustri* 3(3):1
- Nurlaili E. 2010. Pengaruh Ekstrak Biji Klabet (*Trigonella foenum-graecum* L) terhadap Kadar Transaminase (GPT dan GOT) dan Gambaran Histologi pada Hepar Mencit (*Mus musculus*) yang Terpapar Streptozotocin. *Tesis*. Universitas Islam Negeri (UIN) Maulana Malik Ibrahim. Malang.
- Nuttal SL, Dunne F, Kendal MJ, Martin U. 1999. Age-independent oxidative stress in elderly patients with non-insulin dependent diabetes mellitus. *Q J Med*; 92:33-8.
- Obi BC *et al.* 2016. Comparative study of the antioxidant effect of metformin, glibenclamide, and repaglinide in alloxan-induced diabetic rats. *Journal of Diabetic Research*: 1-5.
- Oldfield MD, Bach LA, Forbes JM. 2001. Advance glycation end products cause epithelial-myofibroblast transdifferentiation via the receptor for advance glycation end products (RAGE). *J Clin Invest*; 108:1853-63.
- Panjaitan, V. 2011. *Persepsi Siswa Terhadap Pelaksanaan Pengajaran Remedial IPA Terpadu dan Hubungannya Dengan Hasil Belajar Siswa SMPN 1 Air Joman Kabupaten Asahan T.P. 2010/2011*. [Skripsi]. FMIPA, Unimed Medan.
- Pearce C.E. 2009. *Anatomi dan Fisiologi Untuk Paramedis*. Jakarta: PT. Gramedia Pustaka.
- Pine ATD, G Alam and F Attamin. 2010. Standardisasi Mutu Ekstrak Daun Gedi (*Abelmoschus manihot* L.) Medik) Dan Uji Efek Antioksidan dengan Metode DPPH. [diacu 2012 Maret 12] Tersedia dari <http://pasca.unhas.ac.id/jurnal/files/d1043b1ce802ee8dbcb6f1dbb5626d55.pdf>.
- Priyambodo S. 2003. *Pengendalian Hama tikus Terpadu. Ed ke-3*. Jakarta: Penebar Swadaya.
- Prousky JE. 2003. Pellagra may be a rare secondary complication of anorexia nervosa: a systematic review of the literature. *Altern Med Rev*. 8 (2): 180-185.
- Rahbani-Nobar ME, Rahimi-Pour A, Adi-Beig F, Mirhashemi SM. 1999. Total antioxidant capacity, superoxide dismutase and glutathione peroxidase in

- diabetic patients. *Medical journal of Islamic Academy of Sciences*; 12(4):109-14.
- Robinson T. 1995. Kandungan Organik Tumbuhan Tinggi. Edisi ke-6. Bandung: ITB. hlm 191- 196, 209.
- Sampurno, Ketut R, Rivai M. 2000. *Parameter Standart Umum Ekstrak Tumbuhan Obat*. Jakarta: Direktorat Jendral Pengawasan Obat dan Makanan.
- Sarker SD, Latif Z, Gray AI. 2006. *Natural Product Isolation*. Ed ke-2. Humana Press. Hlm 30-32, 340-342.
- Sharma A. 2011. Transdermal approach of antidiabetic drug glibenclamid: a review. *International Journal of Pharmaceutical Research and Development* 3: 25-32.
- Shoda H, Miyata S, Liu HF. 1997. Inhibitory effect of tenilsetain on the Maillard reaction. *Endocrinology*. 138(5): 1886-92.
- Smith dan Mangkoewidjaja. 1988. *Pemeliharaan Pembiakan Hewan Percobaan di Daerah Tropis*. Jakarta: UI Press.
- Suarsana, I.N., T. Wresdiyanti dan A. Suprayogi. 2013. Respon Stres Oksidatif dan emberian Isoflavon terhadap Aktivitas Enzim Superoksida Dismutase dan eroksida Lipid pada Hati Tikus. *JITV*. Vol 18(2): 146-152.
- Sudarmadji S, Haryono B, Suhardi. 1997. *Prosedur Analisa untuk Bahan Makanan dan Pertanian*. Yogyakarta: Liberty. Hal 99-100.
- Sudoyo AW, Setiyohadi B, Alwi I, Simadibrata M, Setiadi S, editor. 2006. *Buku Ajar Penyakit Dalam*. Jilid 3 Edisi IV. Jakarta: Pusat Penerbitan Departemen Ilmu Penyakit Dalam FKUI. Hal 1852-1893.
- Sudibyoy, M., 1998, Alam Sumber Kesehatan Manfaat dan Kegunaan, Balai Pustaka, Jakarta
- Sudirman T.A 2013. *Uji Aktivitas Ekstrak Daun Salam (Eugenia Polyanta) terhadap pertumbuhan Staphylococcus aureus Secara In Vitro* [Skripsi]. Makasar: Fakultas Kedokteran gigi, Universitas Hasanudin
- Sugiyanto. 1995. *Petunjuk Praktikum Farmasi*. Edisi IV. Yogyakarta: Laboratorium Farmakologi dan Taksonomi Fakultas Farmasi Universitas Gadjah Mada.
- Sugito. 2012. Aktivitas Antioksidan Biologis Sorgum dan Jewawut Serta Aplikasinya Pada Pencegahan Penyakit Degeneratif. *Jurnal Pembangunan Manusia*. 6;1.

- Sukandar EY, Andrajati R, Sigit JI, Adnyana IK, Setiadi AAP, Kusnandar. 2008 ISO Farmakoterapi. Jakarta: PT. ISFI Penerbitan. Hlm 26-36.
- Sumastuti dan M.Solinmar. 2002. Efek Sitotoksik Ekstrak Buah dan Daun Mahkota Dewa (*Phaleria macrocarpa* (Scheff.) Boerl). Terhadap Sel Hela.
- Sutarto, Toto dan Gani Utari. 2007. *Analisis Kandungan Tumbuhan Obat Ki Dedi (Abelmoschus manihot L)*. Bandung: Unpas.
- Szkudelski, T. 2001. The mechanism of alloxan and streptozotocin action in cells of the rat pancreas. *Physiol. Res.* 50: 536-546.
- Szkudelski, T. 2012. Streptozotocin-nicotinamide-induced diabetes in the rat. *Characteristics of the experimental model*, 237.
- Tavill, AS, Levithal, GN. 1999. Liver Disease and Diabetes Mellitus. *Clinical Diabetes*. Vol. 17:2.
- Tjay H dan Rahardja K. 2002. *Obat-obat Penting, Khasiat Penggunaan dan Efek-efek Sampingnya*. Edisi ke-5 Jakarta : PT Alex Media Komputindo hlm 690-713.
- Ueno Y, Kizaki M, Nakagiri R, Kamiya T, Sumi H, Osawa T. 2002. Dietary glutathione protects rats from diabetic nephropathy and neuropathy. *J Nutr*,132:897-900.
- Valko M, Leibfritz D, Moncol J, Cronin MTD, Mazur M, Telser J. 2007. Review: free radicals and antioxidant in normal physiological functions and human disease. *Inter J Biochem Cell Biol.* 39;44-84.
- Voigt, R, 1994, Buku Pelajaran Teknologi Farmasi edisi 5, Gadjah Mada University Press, Yogyakarta, hal 170.
- Wagner H, Bland S. 1996. *Plant Drug Analysis: A Thin Layer Chromatography Atlas*. 2<sup>nd</sup> Edition. Berlin Heidelberg: Springer.
- Widyowati R, Rahman A. 2010. Kandungan kimia dan aktivitas antimikroba ekstrak garcina celebica I terhadap *staphylococcus aureus*, *shigella dysenteriae*, dan *candida albicans*. *Majalah Farmasi Airlangga* 8(2):23.
- Widijanti A, Ratulangi BT. 2003. *Pemeriksaan laboratorium penderita diabetes melitus*. *Medika* 3:166-9.
- Winarsi H. 2007. *Antioksidan Alami dan Radikal Bebas*. Yogyakarta: Kanisius. Hal 18-20.
- Wu L, Yang X, Huang Z, Liu Z, Wu G. 2007. In vivo and in vitro antiviral activity of hyperoside extracted from *Abelmoschus manihot* (L) medic. *Acta Pharmacologica Sinica*. 28: 404-409.

Zuhud E, Rahayu WP, Wijaya CH, Sari PP. 2001. Aktivitas Antimikroba Ekstrak Kedawung (*Parkia roxburghli* G. Don) terhadap Bakteri Patogen. *Jurnal Teknologi dan industry Pangan* 12: Halaman 6-12.

L

A

M

P

I

R

A

N

## Lampiran 1. Surat determinasi tanaman



KEMENTERIAN RISET, TEKNOLOGI DAN PENDIDIKAN TINGGI  
UNIVERSITAS SEBELAS MARET  
FAKULTAS MATEMATIKA DAN ILMU PENGETAHUAN ALAM  
**LAB. PROGRAM STUDI BIOLOGI**  
Jl. Ir. Sutami 36A Kentingan Surakarta 57126 Telp. (0271) 663375 Fax (0271) 663375  
http://www.biology.mipa.uns.ac.id, E-mail biologi @ mipa.uns.ac.id

Nomor : 71/UN27.9.6.4/Lab/2018  
Hal : Hasil Determinasi Tumbuhan  
Lampiran : -

Nama Pemesan : Sopan Sopian  
NIM : 20144064A  
Alamat : Program Studi S1 Farmasi Fakultas Farmasi Universitas Setia Budi Surakarta

### HASIL DETERMINASI TUMBUHAN

Nama Sampel : *Abelmoschus manihot* (L.) Medik.  
Familia : Malvaceae

Hasil Determinasi menurut C.A. Backer & R.C. Bakhuizen van den Brink, Jr. (1963) :

1b-2b-3b-4b-12b-13b-14b-17b-18b-19b-20b-21b-22b-23b-24b-25b-26b-27a-28b-29b-30b-31a-32a-33a-34a-35a-36d-37b-38b-39b-41b-42b-44b-45b-46e-50b-51b-53b-54b-56b-57b-58b-59d-72b-73b-74b-631b-632b-633a-634b-635b-636b-637b-638a-639b-640b-652d-653b-655b-656a-657b-658a-659b-660a \_\_\_\_\_ 96. Malvaceae  
1b-3b-5b-13b-14b-15a-16a \_\_\_\_\_ 14. *Abelmoschus*  
1b-2a-3b \_\_\_\_\_ *Abelmoschus manihot* (L.) Medik.

### Deskripsi Tumbuhan :

Habitat : perdu, menahun, tumbuh tegak, tinggi 1.5-7.5 m. Akar : tunggang, bercabang-cabang, kuning muda hingga kuning keputihan. Batang : bulat, berkayu, bercabang-cabang, percabangan monopodial, permukaan batang muda sedikit berambut tetapi gundul pada batang dewasa. Daun : tunggal, tersebar, helaian daun bulat hingga bulat telur memanjang, panjang 10-60 cm, lebar 5-60 cm, pangkal berlekuk seperti jantung, tepi berbagi 5-7 taju, ujungnya membulat, berambut hingga gundul, permukaan atas hijau tua, permukaan bawah hijau muda, pertulangan menjari; taju daun berbentuk segitiga atau lanset memanjang atau bulat telur memanjang atau garis, ujungnya runcing hingga meruncing, tepi rata hingga bergerigi; tangkai daun bulat, panjang 2-60 cm, sedikit berambut hingga gundul, hijau; daun penumpu sepasang, terletak bebas di kanan kiri pangkal tangkai daun, berbentuk lanset, panjang 1-1.5 cm, hijau. Bunga : tunggal, berkelamin 2 (biseksual), berbentuk lonceng, diameter 12 cm, tumbuh di ketiak daun, tumbuh menggantung ke bawah; tangkai bunga bulat, hijau, panjang 1-5 cm, sedikit berambut hingga gundul; daun kelopak tambahan (*epicalyx*) seringkali 5, panjang 2-3 cm, lebar 0.2-1 cm, hijau, berambut; kelopak bunga berbentuk tabung, berbagi 5, tajunya bentuk lanset, berambut, warna hijau tua; daun mahkota bulat telur terbalik, panjang 3.5-8 cm, lebar 3-6 cm, tepi rata, berwarna kuning cerah dan bagian tengahnya ungu; benang sari bentuk tabung, panjang 1.5-2 cm, kepala sari hampir duduk, kuning; kepala putik berwarna ungu gelap. Buah : buah kapsul, bulat memanjang, panjang 4-5 cm, diameter 2.5-3 cm. Biji : kecil, banyak, berbentuk seperti ginjal, berambut.

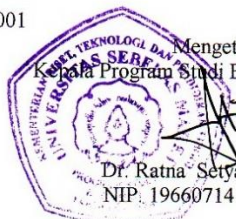
Surakarta, 26 Maret 2018

Kepala Lab. Program Studi Biologi

Dr. Tetri Widiyani, M.Si.  
NIP. 19711224 200003 2 001

Penanggungjawab  
Determinasi Tumbuhan

Suratman, S.Si., M.Si.  
NIP. 19800705 200212 1 002



Mengetahui  
Kepala Program Studi Biologi FMIPA UNS

Dr. Ratna Setyamingsih, M.Si.  
NIP. 19660714 199903 2 001

## Lampiran 2. Ethical clearance

11/30/2017

Form A2



**HEALTH RESEARCH ETHICS COMMITTEE**  
**KOMISI ETIK PENELITIAN KESEHATAN**  
**Dr. Moewardi General Hospital**  
**RSUD Dr. Moewardi**

**School of Medicine Sebelas Maret University**  
**Fakultas Kedokteran Universitas Sebelas Maret**



### ETHICAL CLEARANCE KELAIKAN ETIK

Nomor : 1.072 / XI / HREC /2017

*The Health Research Ethics Committee Dr. Moewardi General Hospital / School of Medicine Sebelas Maret*  
 Komisi Etik Penelitian Kesehatan RSUD Dr. Moewardi / Fakultas Kedokteran Universitas Sebelas Maret

*Maret University Of Surakarta, after reviewing the proposal design, herewith to certify*  
 Surakarta, setelah menilai rancangan penelitian yang diusulkan, dengan ini menyatakan

*That the research proposal with topic :*  
 Bahwa usulan penelitian dengan judul

**PENGARUH EKSTRAK ETANOL DAUN GEDI MERAH (Abelmoschus manihot L. Medik) TERHADAP KADAR SOD DAN HISTOPATOLOGI HEPAR TIKUS YANG DIINDUKSI STZ-NA**

*Principal investigator* : Sopan Sopian  
 Peneliti Utama : 20144064A

*Location of research* : Universitas Gadjah Mada  
 Lokasi Tempat Penelitian

*Is ethically approved*  
 Dinyatakan layak etik

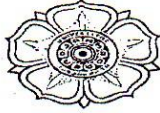
Issued on : 30 Nov 2017

Chairman  
 Ketua

Dr. Hari Wijoso, dr., Sp.FMM  
 NIP. 19621022 199503 1 001



### Lampiran 3. Surat keterangan bebas peminjaman



UNIVERSITAS GADJAH MADA  
 Pusat Studi Pangan dan Gizi  
 Jln. Teknik Utara, Berek, YOGYAKARTA 55281  
 Telp. 0274 589242, 6492282 Web : [www.cfns.ugm.ac.id](http://www.cfns.ugm.ac.id)  
 Email : [cfns@ugm.ac.id](mailto:cfns@ugm.ac.id)

## SURAT KETERANGAN BEBAS PEMINJAMAN

Menerangkan bahwa yang tersebut di bawah ini :

Nama : Sopan Sopian  
 Nomor Mahasiswa : 20144064A  
 Jurusan : S1 Farmasi  
 Fakultas : Farmasi  
 Universitas : Universitas Setia Budi  
 Alamat rumah :

Tidak mempunyai pinjaman peralatan dan bon bahan di laboratorium Pusat Studi Pangan dan Gizi (PSPG) Universitas Gadjah Mada.

Yogyakarta, 10 April 2018

Teknisi,  
 Laboratorium Mikrobiologi

M. Agus S.

Teknisi,  
 Laboratorium Kimia dan Biokimia

M. Nugroho

Teknisi,  
 Laboratorium Gizi

F. Yuli

Teknisi,  
 Laboratorium Rekayasa Pangan

M. Suciyo

Mengetahui,  
 Sekretaris,

Dr. Ir. Setyastuti Purwanti, SU

NIP. 195203021979032001

**Lampiran 4. Sertifikat pelatihan hewan coba**

  
 Pusat Studi Pangan dan Gizi  
 Universitas Gadjah Mada

**SERTIFIKAT**

Nomor : PSPG-UGM/04/PHC/XI/2017

DIBERIKAN KEPADA

**Sopan Sopian**

sebagai

**Peserta**

Pada “Pelatihan Dasar Penanganan Hewan Coba”  
 yang diselenggarakan oleh:  
 Pusat Studi Pangan dan Gizi  
 Universitas Gadjah Mada  
 Yogyakarta, 22 November 2017

Kepala Pusat Studi Pangan dan Gizi,  
  
 Prof. Dr. Ir. Umar Santoso, M.Sc.

Ketua Pelaksana,  
  
 Dr. Siti Helmyati, DCN., M.Kes

## Lampiran 5. Surat keterangan histopatologi



KEMENTERIAN RISET TEKNOLOGI DAN PENDIDIKAN TINGGI  
UNIVERSITAS SEBELAS MARET SURAKARTA  
FAKULTAS KEDOKTERAN  
BAGIAN PATOLOGI ANATOMI  
Jl. Ir. Sutami 36A. Surakarta. Telp. (0271) 632494, Fax. (0271) 632494

### SURAT KETERANGAN

Nomor : 26 /PA/2018

Yang bertanda tangan dibawah ini :

Nama : Prof. Dr. Ambar Mudigdo, dr. SpPA(K)

Jabatan : Kepala Laboratorium Patologi Anatomi

Dengan ini menerangkan bahwa :

Nama : Sopan Sopian

NIM : 20144064A

Judul Penelitian : “ Pengaruh Ekstrak Etanol Daun Gedi Merah (*Abelmoschus manihot* L.medik) terhadap Kadar SOD dan Gambaran Histopatologi Hati Tikus yang Diinduksi ST2 - NA “

telah menyelesaikan tugas penelitiannya di Bagian Patologi Anatomi Fakultas Kedokteran Universitas Sebelas Maret Surakarta dengan baik dan sesuai prosedur yang berlaku.

Demikian surat keterangan ini dibuat untuk dapat digunakan sebagaimana mestinya.

Kepala

Prof. Ambar Mudigdo, dr, Sp.PA(K)  
NIP.19490317 1977609 1 001



**Lampiran 6. Foto tanaman gedi merah**



**Foto Tanaman Daun Gedi merah**



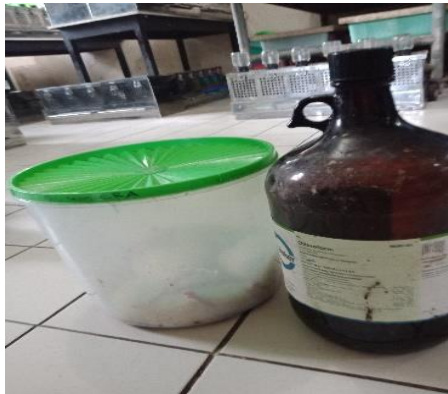
**Foto tanaman daun gedi merah kering**



**Foto serbuk daun gedi merah**



**Foto ekstrak daun gedi merah**

**Lampiran 7. Foto hewan percobaan, proses pembedahan hati tikus****Foto kandang tikus****Foto tikus percobaan****Foto botol kloroform****Foto pemberian ekstrak****Foto induksi STZ-NA****Foto tikus sebelum dibedah**



**Foto organ dalam formalin**



**Foto tikus setelah dibedah**



**Lampiran 8. Foto hasil histopatologi organ hati tikus**

Foto preparat hati



Foto mikrotom

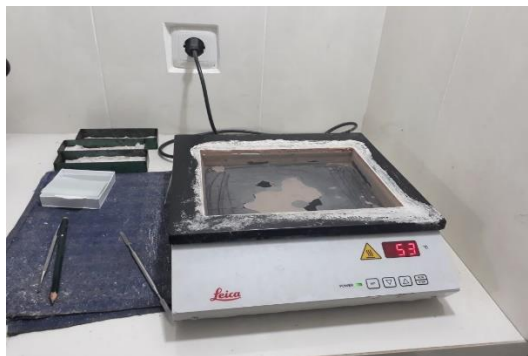


Foto waterbath



Foto oven



Foto tempat pewarnaan HE



Foto tempat Xylen

**Lampiran 9. Hasil perhitungan rendemen serbuk daun gedi merah**

| <b>Simplisia</b> | <b>Berat basah (kg)</b> | <b>Berat kering (kg)</b> | <b>Rendemen (%)</b> |
|------------------|-------------------------|--------------------------|---------------------|
| Daun gedi merah  | 9                       | 1,7                      | 18,88               |

Perhitungan rendemen :

$$\% \text{ rendemen kering} = \frac{\text{Berat kering}}{\text{Berat basah}} \times 100\%$$

$$= \frac{1,7}{9} \times 100\%$$

$$= 18,88\%$$



### Lampiran 10. Hasil penetapan kadar air daun gedi merah

| Berat awal (gram) | Volume akhir (ml) | Kadar air (%) |
|-------------------|-------------------|---------------|
| 20                | 1,5               | 7,5           |
| 20                | 1,4               | 7             |
| 20                | 1,4               | 7             |
| Rata-rata±SD      |                   | 7,167±0,289   |

Rumus perhitungan kadar air (%) :

$$\begin{aligned} \text{Kadar air sampel 1} &= \frac{\text{volume akhir}}{\text{volume awal}} \times 100\% \\ &= \frac{1,5}{20} \times 100\% \\ &= 7,5\% \end{aligned}$$

$$\begin{aligned} \text{Kadar air sampel 2} &= \frac{\text{volume akhir}}{\text{volume awal}} \times 100\% \\ &= \frac{1,4}{20} \times 100\% \\ &= 7\% \end{aligned}$$

$$\begin{aligned} \text{Kadar air sampel 3} &= \frac{\text{volume akhir}}{\text{volume awal}} \times 100\% \\ &= \frac{1,4}{20} \times 100\% \\ &= 7\% \end{aligned}$$

$$\begin{aligned} \text{Rata-rata kadar air serbuk daun gedi merah} &= \frac{(7,5\%+7\%+7\%)}{3} \\ &= 7,167\% \end{aligned}$$

Hasil kadar air serbuk daun gedi merah memenuhi persyaratan yang ditentukan yaitu kecil dari 10% (< 10%).

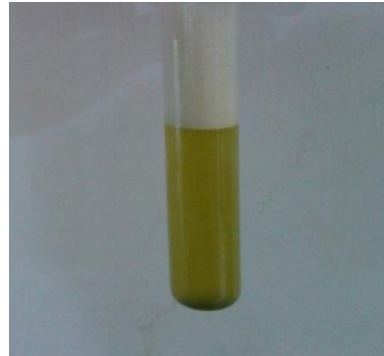
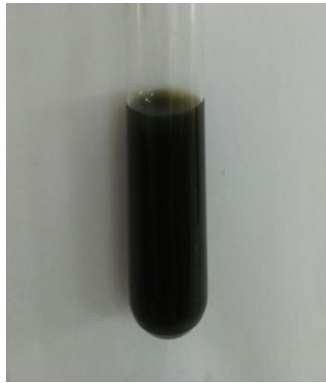
**Lampiran 11. Perhitungan rendemen ekstrak daun gedhi merah**

| <b>Berat serbuk (gram)</b> | <b>Berat ekstrak (gram)</b> | <b>Rendemen (%)</b> |
|----------------------------|-----------------------------|---------------------|
| 1500                       | 104,7646                    | 6,984               |

$$\begin{aligned}\text{Rendemen ekstrak} &= \frac{\text{berat ekstrak}}{\text{berat serbuk}} \times 100\% \\ &= \frac{104,7646}{1500} \times 100\% \\ &= 6,984 \%\end{aligned}$$

Hasil rendemen ekstrak daun gedhi merah yang diperoleh sebesar 6,984 %

**Lampiran 12. Hasil identifikasi kimia serbuk daun gedhi merah****Flavonoid****Alkaloid****Tanin****Saponin**

**Lampiran 13. Hasil identifikasi ekstrak etanol daun geddi merah****Flavonoid****Saponin****Tanin****Alkaloid**

## Lampiran 14. Perhitungan dosis

### 1. Induksi STZ-NA

- STZ 45mg dilarutkan didalam 100mmol/L dengan pH 4,5 yang merupakan pH yang stabil untuk STZ
- NA 110 mg dilarutkan dalam normal saline 0,9% kemudia diberikan secara intraperitoneal 15 menit sebelum pemberian STZ.

### 2. Glibenklamid

- Syarat volume maksimum larutan sediaan uji yang diberikan pada hewan uji tikus (200 g) secara per oral (p.o.) adalah 5,0 ml (Lampiran).
- Glibenklamid yang digunakan dalam penelitian ini adalah glibenklamid Generik
- Konversi dosis manusia (70 Kg) ke dosis untuk hewan uji “tikus” dikali 0,018 (Lampiran )
- Dosis Glibenklamis untuk tikus (200 g) =  $5\text{mg} \times 0,018$   
= 0,09mg/200gramBB tikus  
(0,45 mg/kg BB tikus)
- Pembuatan suspensi glibenklamid dosis 0,45 mg/kg BB tikus  
 $\frac{0,09\text{ mg}}{2\text{ ml}} \times 100\text{ ml} = 4,5\text{ mg}$   
Ditimbang 4,5 mg glibenklamid dilarutkan dengan CMC 0,5 % sampai larut, kemudian dicukupkan volume sampai 100 ml.

### 3. Larutan CMC

- Syarat volume maksimum larutan sediaan uji yang diberikan pada hewan uji tikus (200 g) secara per oral (p.o.) adalah 5,0 ml (Lampiran).
- Larutan stock CMC 0,5%  
 $\frac{0,5\text{ gram}}{100\text{ ml}} = \frac{500\text{ mg}}{100\text{ ml}} = 5\text{ mg/ml}$
- Volume pemberian untuk tikus yang beratnya 200 gram dengan larutan CMC 0,5 % adalah 2 mL. Menimbang CMC 500 mg dilarutkan dengan aquadest sampai larut kemudian dicukupkan volume sampai 100 ml.

### 4. Dosis ekstrak daun gedi merah 100 mg/kg bb tikus

- Syarat volume maksimum larutan sediaan uji yang diberikan pada hewan uji tikus (200 g) secara per oral (p.o.) adalah 5,0 ml (Lampiran).
- Dosis suspensi ekstrak etanolik daun gedi merah yang akan dibuat adalah 100 mg/kg bb tikus
- Pembuatan suspensi ekstrak etanolik daun gedi merah dosis 100 mg/kg
- Larutan stok 1%

$$= 1 \text{ g} / 100 \text{ ml}$$

$$= 1000 \text{ mg} / 100 \text{ ml}$$

$$= 10 \text{ mg} / \text{ml}$$

$$\frac{200 \text{ gram}}{1000 \text{ gram}} \times 100 \text{ mg} = 20 \text{ mg}$$

Volume yang diberikan :

$$\frac{20 \text{ mg}}{10 \text{ mg}} \times 1 \text{ ml} = 2 \text{ ml}$$

Ditimbang 1.000 mg ekstrak etanolik daun gedi merah dilarutkan dengan CMC 0,5 % sampai larut, kemudian dicukupkan volume sampai 100 ml.

$$\begin{aligned} \text{Dosis ekstrak ke manusia} &= \text{Dosis tikus} \times \text{faktor konversi tikus ke manusia} \\ &= (20 \text{ mg}/200 \text{ gram bb tikus}) \times 56 \\ &= 1.120 \text{ mg}/70 \text{ g bb manusia} \\ &= \mathbf{1,1 \text{ gram}/70 \text{ g bb manusia}} \end{aligned}$$

##### 5. Dosis ekstrak daun gedi merah 200 mg/kg bb tikus

- Syarat volume maksimum larutan sediaan uji yang diberikan pada hewan uji tikus (200 g) secara per oral (p.o.) adalah 5,0 ml
- Dosis suspensi ekstrak etanolik daun gedi merah yang akan dibuat adalah 200 mg/kg bb tikus
- Pembuatan suspensi ekstrak etanolik daun gedi merah dosis 200 mg/kg
- Larutan stok 2 %
  - = 2 g / 100 ml
  - = 2000 mg / 100 ml
  - = 20 mg / ml

$$\frac{200 \text{ gram}}{1000 \text{ gram}} \times 200 \text{ mg} = 40 \text{ mg}$$

Volume yang diberikan :

$$\frac{40 \text{ mg}}{20 \text{ mg}} \times 1 \text{ ml} = 2 \text{ ml}$$

Ditimbang 2.000 mg ekstrak etanolik daun gedi merah dilarutkan dengan CMC 0,5% sampai larut, kemudian dicukupkan volume sampai 100 ml.

$$\begin{aligned}
 \text{Dosis ekstrak ke manusia} &= \text{Dosis tikus} \times \text{faktor konversi tikus ke manusia} \\
 &= (40 \text{ mg}/200 \text{ gram bb tikus}) \times 56 \\
 &= 2240 \text{ mg}/70 \text{ kg bb manusia} \\
 &= \mathbf{2,2 \text{ gram}/70 \text{ kg bb manusia}}
 \end{aligned}$$

#### 6. Dosis ekstrak daun gedi merah 400 mg/kg bb tikus

- Syarat volume maksimum larutan sediaan uji yang diberikan pada hewan uji tikus (200 g) secara per oral (p.o.) adalah 5,0 ml (Lampiran).
- Dosis suspensi ekstrak etanolik daun gedi merah yang akan dibuat adalah 400 mg/kg bb tikus
- Pembuatan suspensi ekstrak etanolik daun gedi merah dosis 400 mg/kg
- Larutan stok 4 %
  - = 4 g / 100 ml
  - = 4000 mg / 100 ml
  - = 40 mg / ml

$$\frac{200 \text{ gram}}{1000 \text{ gram}} \times 400 \text{ mg} = 80 \text{ mg}$$

Volume yang diberikan :

$$\frac{80 \text{ mg}}{40 \text{ mg}} \times 1 \text{ ml} = 2 \text{ ml}$$

Ditimbang 4.000 mg ekstrak etanolik daun gedi merah dilarutkan dengan CMC 0,5% sampai larut, kemudian dicukupkan volume sampai 100 ml.

$$\begin{aligned}
 \text{Dosis ekstrak ke manusia} &= \text{Dosis tikus} \times \text{faktor konversi tikus ke manusia} \\
 &= (80 \text{ mg}/200 \text{ gram bb tikus}) \times 56 \\
 &= 4480 \text{ mg}/70 \text{ kg bb manusia} \\
 &= \mathbf{4,5 \text{ gram} /70 \text{ kg bb manusia}}
 \end{aligned}$$

### Lampiran 15. Hasil penimbangan hewan uji dan dosis pemberian

| Perlakuan   | Tikus T0<br>(gram) | Tikus T1<br>(gram) | Tikus T2<br>(gram) | Tikus T3<br>(gram) | Tikus T4<br>(gram) |
|---|--------------------|--------------------|--------------------|--------------------|--------------------|
| Kontrol normal                                      | 208                | 213                | 222                | 229                | 238                |
|   | 214                | 220                | 228                | 235                | 243                |
|   | 207                | 211                | 220                | 228                | 237                |
|   | 215                | 222                | 229                | 235                | 242                |
|   | 213                | 218                | 225                | 234                | 240                |
| Kontrol negatif<br>(CMC 0,5%)                       | 211                | 207                | 201                | 198                | 192                |
|   | 218                | 213                | 208                | 205                | 199                |
|   | 221                | 219                | 212                | 209                | 204                |
|   | 212                | 209                | 204                | 199                | 195                |
|   | 210                | 206                | 199                | 194                | 190                |
| Kontrol positif I<br>(Glibenklamid)                 | 210                | 204                | 198                | 202                | 211                |
|   | 208                | 207                | 200                | 207                | 210                |
|   | 213                | 210                | 205                | 210                | 219                |
|   | 221                | 218                | 214                | 221                | 225                |
|   | 224                | 220                | 216                | 223                | 228                |
| Ekstrak etanol daun<br>gedi merah (100 mg<br>kg/bb) | 221                | 216                | 212                | 213                | 215                |
|   | 214                | 210                | 206                | 209                | 209                |
|   | 222                | 219                | 214                | 215                | 219                |
|   | 218                | 213                | 209                | 210                | 213                |
|   | 213                | 212                | 207                | 207                | 210                |
| Ekstrak etanol daun<br>gedi merah (200 mg<br>kg/bb) | 210                | 208                | 202                | 206                | 210                |
|   | 222                | 218                | 212                | 218                | 222                |
|   | 223                | 221                | 217                | 222                | 225                |
|   | 218                | 213                | 209                | 213                | 218                |
|   | 215                | 210                | 204                | 209                | 214                |
| strak etanol daun<br>gedi merah (260 mg<br>kg/bb)   | 216                | 212                | 207                | 213                | 220                |
|   | 211                | 208                | 202                | 205                | 213                |
|   | 214                | 211                | 208                | 212                | 222                |
|   | 220                | 215                | 211                | 215                | 223                |
|   | 223                | 220                | 216                | 222                | 226                |

Rumus perhitungan dosis ekstrak etanol :

$$\text{Dosis pemberian} = \frac{\text{BB}}{1000} \times \text{Dosis ekstrak}$$

Berdasarkan hasil perhitungan menggunakan rumus tersebut maka diperoleh dosis pemberian pada tikus berdasarkan berat badannya seperti yang terlihat pada tabel di atas.



**Lampiran 16. Hasil pengukuran kadar SOD hati tikus**

| Kelompok   | Kode       | Absorbansi | Kadar | Rata-rata $\pm$ SD |
|------------|------------|------------|-------|--------------------|
| <b>I</b>   | <b>1.1</b> | 0,044      | 79,59 | 82,450 $\pm$ 6,224 |
|            | <b>1.2</b> | 0,039      | 89,80 |                    |
|            | <b>1.3</b> | 0,041      | 85,71 |                    |
|            | <b>1.4</b> | 0,047      | 73,47 |                    |
|            | <b>1.5</b> | 0,042      | 83,67 |                    |
| <b>II</b>  | <b>2.1</b> | 0,069      | 28,57 | 24,080 $\pm$ 3,925 |
|            | <b>2.2</b> | 0,071      | 24,49 |                    |
|            | <b>2.3</b> | 0,070      | 26,53 |                    |
|            | <b>2.4</b> | 0,074      | 18,37 |                    |
|            | <b>2.5</b> | 0,072      | 22,45 |                    |
| <b>III</b> | <b>3.1</b> | 0,050      | 67,37 | 69,80 $\pm$ 7,554  |
|            | <b>3.2</b> | 0,044      | 79,59 |                    |
|            | <b>3.3</b> | 0,051      | 65,31 |                    |
|            | <b>3.4</b> | 0,053      | 61,22 |                    |
|            | <b>3.5</b> | 0,046      | 75,51 |                    |
| <b>IV</b>  | <b>4.1</b> | 0,067      | 32,65 | 34,69 $\pm$ 3,227  |
|            | <b>4.2</b> | 0,066      | 34,69 |                    |
|            | <b>4.3</b> | 0,064      | 38,78 |                    |
|            | <b>4.4</b> | 0,068      | 30,61 |                    |
|            | <b>4.5</b> | 0,065      | 36,73 |                    |
| <b>V</b>   | <b>4.1</b> | 0,055      | 57,14 | 54,69 $\pm$ 5,283  |
|            | <b>4.2</b> | 0,057      | 53,06 |                    |
|            | <b>4.3</b> | 0,060      | 46,94 |                    |
|            | <b>4.4</b> | 0,056      | 55,10 |                    |
|            | <b>4.5</b> | 0,053      | 61,22 |                    |
| <b>VI</b>  | <b>6.1</b> | 0,051      | 65,31 | 71,43 $\pm$ 4,563  |
|            | <b>6.2</b> | 0,048      | 71,43 |                    |
|            | <b>6.3</b> | 0,047      | 73,47 |                    |
|            | <b>6.4</b> | 0,049      | 69,39 |                    |
|            | <b>6.5</b> | 0,045      | 77,55 |                    |

Rumus:

$$\text{Perhitungan \% SOD} = \frac{A \text{ blank 1} - (A \text{ sampel} - A \text{ blank 2})}{A \text{ blank 1}} \times 100\%$$

Contoh perhitungan adalah sebagai berikut:

Diketahui:

Standart:

1. 0,146
2. 0,034
3. 0,097

A blank 1 = 0,049 (di dapat dari standart 1 – standart 3)

A blank 2 = 0,034

A blank sampel = 0,046

$$\text{Perhitungan \% SOD} = \frac{0,049 - (0,046 - 0,034)}{0,049} \times 100\%$$

Hasil % SOD = 71,15 %

Prosedur pengukuran aktivitas SOD :

|                          | sampel | Blanko 1 | Blanko 2 | Blanko 3 |
|--------------------------|--------|----------|----------|----------|
| Larutan sampel           | 20 µl  | -        | 20 µl    | -        |
| ddH <sub>2</sub> O       | -      | 20 µl    | -        | 20 µl    |
| Larutan pereaksi WST     | 200 µl | 200 µl   | 200 µl   | 200 µl   |
| Larutan pengencer buffer | -      | -        | 20 µl    | 20 µl    |
| Larutan pereaksi enzim   | 20 µl  | 20 µl    | -        | -        |

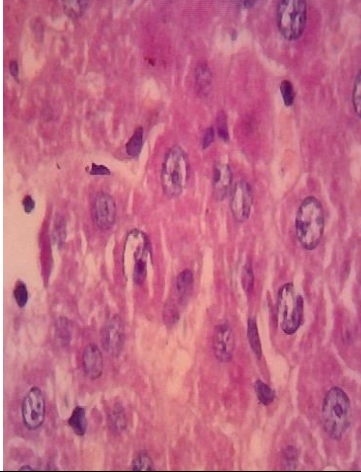
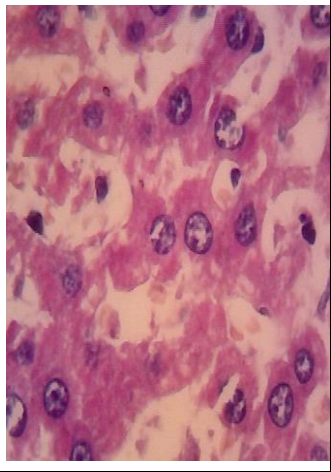
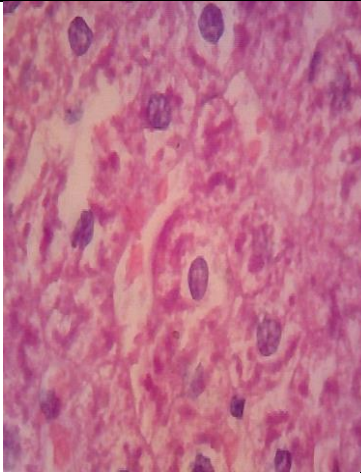
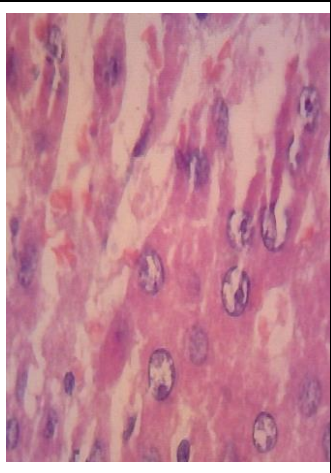
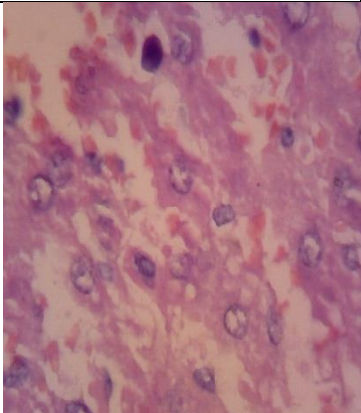
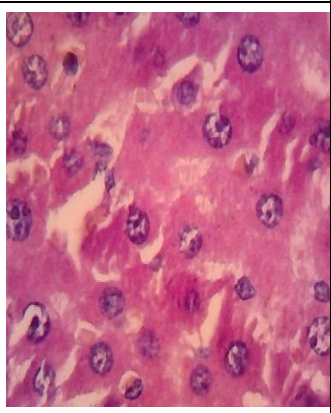
**Lampiran 17. Jumlah sel pada gambaran histopatologi organ hati**

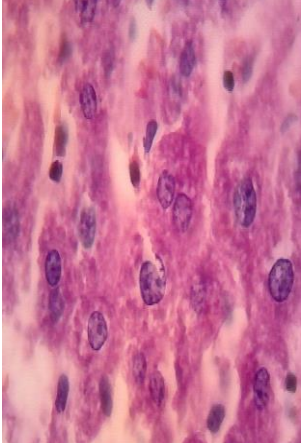
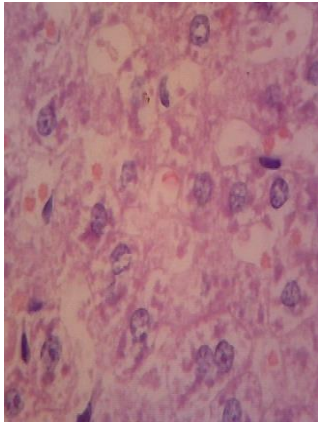
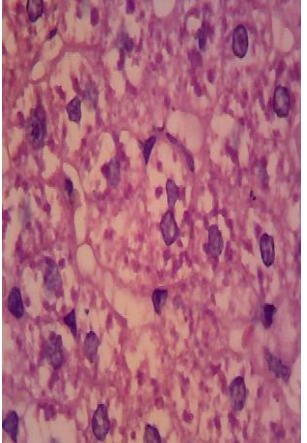
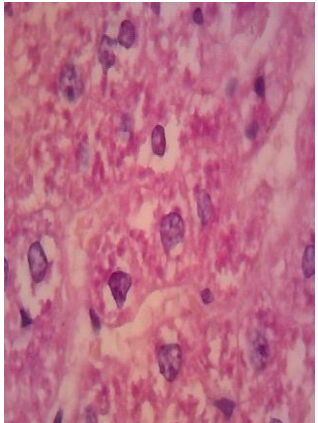
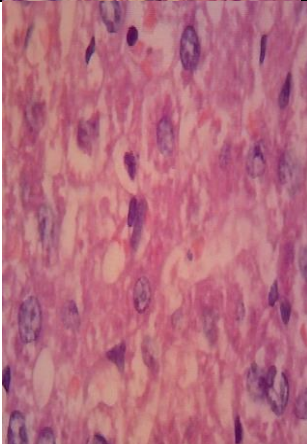
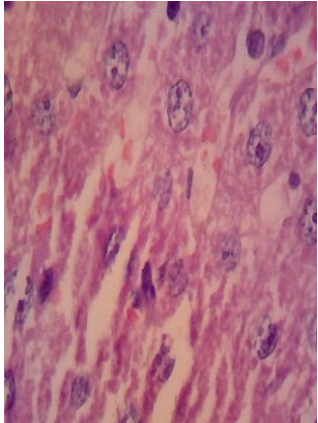
| kelompok | Kode Hewan | Jumlah sel normal | Jumlah kerusakan |     |          | Total kerusakan | Presentase sel normal | Presentase kerusakan |
|----------|------------|-------------------|------------------|-----|----------|-----------------|-----------------------|----------------------|
|          |            |                   | D.P              | D.H | Nekrosis |                 |                       |                      |
| I        | 1.1        | 95                | 1                | 1   | 3        | 51              | 95                    | 5                    |
|          | 1.2        | 97                | 1                | 1   | 1        | 38              | 97                    | 3                    |
|          | 1.3        | 96                | 1                | 0   | 3        | 24              | 96                    | 4                    |
|          | Rata-rata  |                   |                  |     |          |                 | 96 ± 1                | 4 ± 1                |
| II       | 2.1        | 15                | 18               | 24  | 47       | 85              | 15                    | 85                   |
|          | 2.2        | 6                 | 9                | 39  | 46       | 94              | 6                     | 94                   |
|          | 2.3        | 5                 | 16               | 40  | 39       | 96              | 5                     | 96                   |
|          | Rata-rata  |                   |                  |     |          |                 | 8,66±5,50             | 91,66±5,85           |
| III      | 4.1        | 68                | 0                | 2   | 30       | 32              | 68                    | 32                   |
|          | 4.2        | 58                | 2                | 19  | 21       | 42              | 58                    | 42                   |
|          | 4.3        | 52                | 2                | 22  | 25       | 48              | 52                    | 48                   |
|          | Rata-rata  |                   |                  |     |          |                 | 59,66±8,62            | 40,66±8,08           |
| IV       | 5.1        | 67                | 0                | 21  | 12       | 33              | 67                    | 33                   |
|          | 5.2        | 67                | 10               | 14  | 9        | 33              | 67                    | 3                    |
|          | 5.3        | 72                | 3                | 10  | 15       | 28              | 72                    | 28                   |
|          | Rata-rata  |                   |                  |     |          |                 | 68,66±2,88            | 31,33 ± 2,88         |
| V        | 6.1        | 52                | 0                | 47  | 1        | 48              | 52                    | 48                   |
|          | 6.2        | 75                | 2                | 18  | 5        | 25              | 75                    | 25                   |
|          | 6.3        | 81                | 6                | 13  | 0        | 19              | 81                    | 19                   |
|          | Rata-rata  |                   |                  |     |          |                 | 69,33±15,30           | 30,66±15,30          |
| VI       | 7.1        | 62                | 3                | 30  | 5        | 38              | 62                    | 38                   |
|          | 7.2        | 66                | 2                | 29  | 3        | 34              | 66                    | 34                   |
|          | 7.3        | 74                | 14               | 9   | 3        | 26              | 74                    | 26                   |
|          | Rata-rata  |                   |                  |     |          |                 | 67,33±6,11            | 32,66±6,11           |

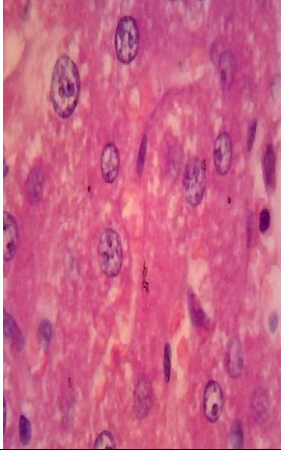
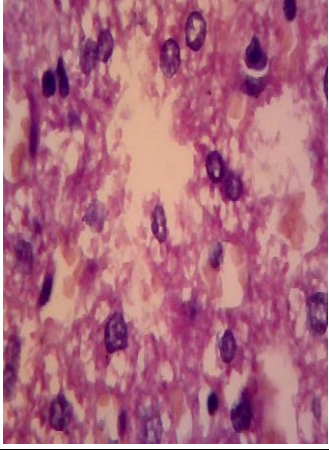
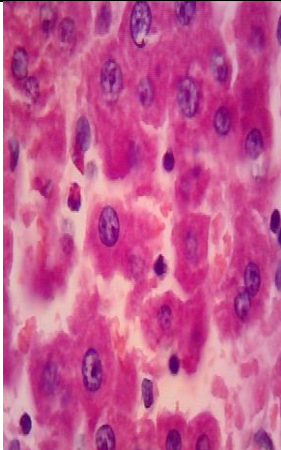
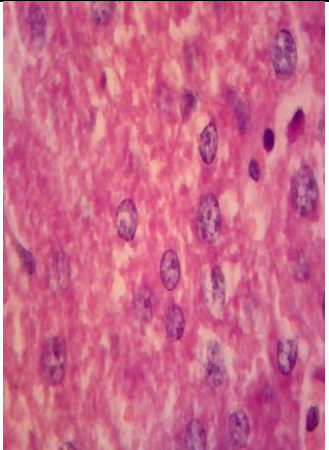
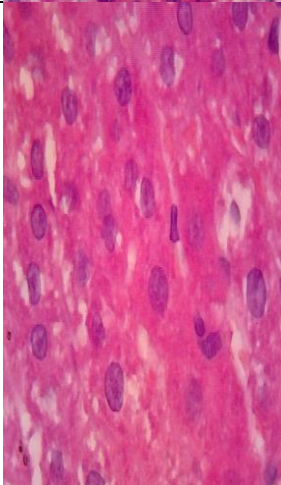
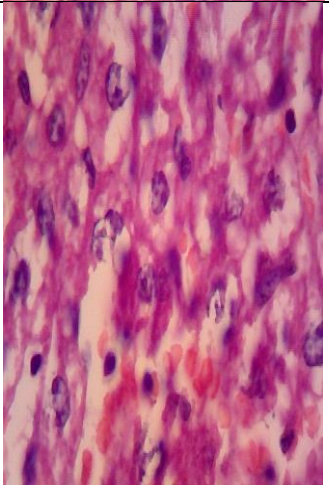
**Lampiran 18. Hasil skoring sel pada gambaran histopatologi organ hati**

| Kelompok | Kode Hewan | Jumlah sel normal | Jumlah kerusakan |     |          | Total kerusakan | Presentase sel normal | Presentase kerusakan |
|----------|------------|-------------------|------------------|-----|----------|-----------------|-----------------------|----------------------|
|          |            |                   | D.P              | D.H | Nekrosis |                 |                       |                      |
| I        | 1.1        | 95                | 2                | 3   | 12       | 17              | 95                    | 17                   |
|          | 1.2        | 97                | 2                | 3   | 4        | 9               | 97                    | 9                    |
|          | 1.3        | 96                | 2                | 0   | 12       | 14              | 96                    | 14                   |
|          | Rata-rata  |                   |                  |     |          |                 | 96 ± 1                | 13,33 ± 4,04         |
| II       | 2.1        | 15                | 36               | 72  | 188      | 296             | 15                    | 288                  |
|          | 2.2        | 6                 | 18               | 117 | 184      | 319             | 6                     | 319                  |
|          | 2.3        | 5                 | 32               | 120 | 156      | 308             | 5                     | 308                  |
|          | Rata-rata  |                   |                  |     |          |                 | 8,66 ± 5,50           | 305 ± 15,71          |
| III      | 4.1        | 68                | 0                | 6   | 120      | 126             | 69                    | 126                  |
|          | 4.2        | 58                | 4                | 57  | 84       | 145             | 58                    | 145                  |
|          | 4.3        | 52                | 4                | 66  | 100      | 170             | 52                    | 167                  |
|          | Rata-rata  |                   |                  |     |          |                 | 59,66 ± 8,62          | 146 ± 20,51          |
| IV       | 5.1        | 67                | 0                | 63  | 48       | 111             | 67                    | 98                   |
|          | 5.2        | 67                | 20               | 42  | 36       | 98              | 67                    | 122                  |
|          | 5.3        | 72                | 6                | 30  | 60       | 93              | 72                    | 96                   |
|          | Rata-rata  |                   |                  |     |          |                 | 68,66 ± 2,88          | 105 ± 14,46          |
| V        | 6.1        | 52                | 0                | 141 | 4        | 145             | 52                    | 145                  |
|          | 6.2        | 75                | 4                | 54  | 20       | 78              | 75                    | 78                   |
|          | 6.3        | 81                | 12               | 39  | 0        | 51              | 81                    | 51                   |
|          | Rata-rata  |                   |                  |     |          |                 | 69,33 ± 15,30         | 91,33 ± 48,39        |
| VI       | 7.1        | 62                | 6                | 90  | 20       | 116             | 62                    | 116                  |
|          | 7.2        | 66                | 4                | 87  | 12       | 103             | 66                    | 103                  |
|          | 7.3        | 74                | 28               | 27  | 12       | 67              | 74                    | 67                   |
|          | Rata-rata  |                   |                  |     |          |                 | 67,33 ± 6,11          | 95,33 ± 25,38        |

**Lampiran 19. Gambar Histopatologi hati tikus putih jantan**

| kelompok              | KODE       | Gambar Histopatologi Hati   | kelompok                   | Kode       | Gambar Histopatologi Hati   |
|-----------------------|------------|---|----------------------------|------------|---|
| <b>1<br/>(normal)</b> | <b>1.1</b> |    | <b>2<br/>(Kelompok DM)</b> | <b>2.1</b> |    |
|                       | <b>1.2</b> |   |                            | <b>2.2</b> |   |
|                       | <b>1.3</b> |  |                            | <b>2.3</b> |  |

| kelompok            | KODE | Gambar Histopatologi Hati   | kelompok                     | KODE | Gambar Histopatologi Hati   |
|---------------------|------|---|------------------------------|------|---|
| 3<br>(Glibenklamid) | 3.1  |    | 4<br>(ekstrak<br>100mg/KgBB) | 4.1  |    |
|                     | 3.2  |   |                              | 4.2  |   |
|                     | 3.3  |  |                              | 4.3  |  |

| kelompok                                | KODE | Gambar Histopatologi Hati   | kelompok                                | KODE | Gambar Histopatologi Hati   |
|---|------|---|---|------|---|
| <b>5</b><br>(ekstrak<br>200mg/KgB<br>B) | 5.1  |    | <b>6</b><br>(ekstrak<br>400mg/Kg<br>BB) | 6.1  |    |
|   | 5.2  |   |   | 6.2  |   |
|   | 5.3  |  |   | 6.3  |  |



## Lampiran 20. Hasil uji statistik kadar SOD

### Tests of Normality

| Perlakuan |                   | Kolmogorov-Smirnov <sup>a</sup> |    |       | Shapiro-Wilk |    |       |
|-----------|-------------------|---------------------------------|----|-------|--------------|----|-------|
|           |                   | Statistic                       | df | Sig.  | Statistic    | df | Sig.  |
| sod       | Normal            | .178                            | 5  | .200* | .981         | 5  | .941  |
|           | Diabetes          | .141                            | 5  | .200* | .979         | 5  | .928  |
|           | Gliben            | .226                            | 5  | .200* | .944         | 5  | .691  |
|           | ekstrak 100 mg/kg | .136                            | 5  | .200* | .987         | 5  | .968  |
|           | ekstrak 200 mg/kg | .189                            | 5  | .200* | .978         | 5  | .925  |
|           | ekstrak 400 mg/kg | .127                            | 5  | .200* | .999         | 5  | 1.000 |

a. Lilliefors Significance Correction

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

### Test of Homogeneity of Variances

Sod

| Levene Statistic | df1 | df2 | Sig. |
|------------------|-----|-----|------|
| 1.235            | 5   | 24  | .324 |

### ANOVA

Sod

|                | Sum of Squares | df | Mean Square | F      | Sig. |
|----------------|----------------|----|-------------|--------|------|
| Between Groups | 13012.902      | 5  | 2602.580    | 90.751 | .000 |
| Within Groups  | 688.279        | 24 | 28.678      |        |      |
| Total          | 13701.181      | 29 |             |        |      |



## Multiple Comparisons

Sod  
LSD

| (I) perlakuan     | (J) perlakuan     | Mean Difference (I-J) | Std. Error | Sig. | 95% Confidence Interval |             |
|-------------------|-------------------|-----------------------|------------|------|-------------------------|-------------|
|                   |                   |                       |            |      | Lower Bound             | Upper Bound |
| Normal            | diabetes          | 58.36600*             | 3.38693    | .000 | 51.3757                 | 65.3563     |
|                   | gliben            | 12.64800*             | 3.38693    | .001 | 5.6577                  | 19.6383     |
|                   | ekstrak 100 mg/kg | 47.75600*             | 3.38693    | .000 | 40.7657                 | 54.7463     |
|                   | ekstrak 200 mg/kg | 27.84600*             | 3.38693    | .000 | 20.8557                 | 34.8363     |
|                   | ekstrak 400 mg/kg | 11.01800*             | 3.38693    | .003 | 4.0277                  | 18.0083     |
| Diabetes          | normal            | -58.36600*            | 3.38693    | .000 | -65.3563                | -51.3757    |
|                   | gliben            | -45.71800*            | 3.38693    | .000 | -52.7083                | -38.7277    |
|                   | ekstrak 100 mg/kg | -10.61000*            | 3.38693    | .005 | -17.6003                | -3.6197     |
|                   | ekstrak 200 mg/kg | -30.52000*            | 3.38693    | .000 | -37.5103                | -23.5297    |
|                   | ekstrak 400 mg/kg | -47.34800*            | 3.38693    | .000 | -54.3383                | -40.3577    |
| Gliben            | normal            | -12.64800*            | 3.38693    | .001 | -19.6383                | -5.6577     |
|                   | diabetes          | 45.71800*             | 3.38693    | .000 | 38.7277                 | 52.7083     |
|                   | ekstrak 100 mg/kg | 35.10800*             | 3.38693    | .000 | 28.1177                 | 42.0983     |
|                   | ekstrak 200 mg/kg | 15.19800*             | 3.38693    | .000 | 8.2077                  | 22.1883     |
|                   | ekstrak 400 mg/kg | -1.63000              | 3.38693    | .635 | -8.6203                 | 5.3603      |
| ekstrak 100 mg/kg | normal            | -47.75600*            | 3.38693    | .000 | -54.7463                | -40.7657    |
|                   | diabetes          | 10.61000*             | 3.38693    | .005 | 3.6197                  | 17.6003     |
|                   | gliben            | -35.10800*            | 3.38693    | .000 | -42.0983                | -28.1177    |
|                   | ekstrak 200 mg/kg | -19.91000*            | 3.38693    | .000 | -26.9003                | -12.9197    |
|                   | ekstrak 400 mg/kg | -36.73800*            | 3.38693    | .000 | -43.7283                | -29.7477    |
| ekstrak 200 mg/kg | normal            | -27.84600*            | 3.38693    | .000 | -34.8363                | -20.8557    |
|                   | diabetes          | 30.52000*             | 3.38693    | .000 | 23.5297                 | 37.5103     |
|                   | gliben            | -15.19800*            | 3.38693    | .000 | -22.1883                | -8.2077     |
|                   | ekstrak 100 mg/kg | 19.91000*             | 3.38693    | .000 | 12.9197                 | 26.9003     |
|                   | ekstrak 400 mg/kg | -16.82800*            | 3.38693    | .000 | -23.8183                | -9.8377     |
| ekstrak 400 mg/kg | normal            | -11.01800*            | 3.38693    | .003 | -18.0083                | -4.0277     |
|                   | diabetes          | 47.34800*             | 3.38693    | .000 | 40.3577                 | 54.3383     |
|                   | gliben            | 1.63000               | 3.38693    | .635 | -5.3603                 | 8.6203      |
|                   | ekstrak 100 mg/kg | 36.73800*             | 3.38693    | .000 | 29.7477                 | 43.7283     |
|                   | ekstrak 200 mg/kg | 16.82800*             | 3.38693    | .000 | 9.8377                  | 23.8183     |

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

## Lampiran 21. Hasil uji statistik histopatologi hati

### Tests of Normality

| Perlakuan     |                           | Kolmogorov-Smirnov <sup>a</sup> |    |      | Shapiro-Wilk |    |      |
|---------------|---------------------------|---------------------------------|----|------|--------------|----|------|
|               |                           | Statistic                       | df | Sig. | Statistic    | df | Sig. |
| kerusakan sel | kontrol normal            | .232                            | 3  | .    | .980         | 3  | .726 |
|               | kontrol negative          | .242                            | 3  | .    | .973         | 3  | .683 |
|               | kontrol positif           | .186                            | 3  | .    | .998         | 3  | .919 |
|               | kontrol ekstrak 100 mg/kg | .361                            | 3  | .    | .807         | 3  | .132 |
|               | kontrol ekstrak 200 mg/kg | .275                            | 3  | .    | .943         | 3  | .540 |
|               | kontrol ekstrak 400 mg/kg | .285                            | 3  | .    | .932         | 3  | .495 |

a. Lilliefors Significance Correction

### Test of Homogeneity of Variances

kerusakan sel

| Levene Statistic | df1 | df2 | Sig. |
|------------------|-----|-----|------|
| 3.015            | 5   | 12  | .054 |

### ANOVA

kerusakan sel

|                | Sum of Squares | df | Mean Square | F      | Sig. |
|----------------|----------------|----|-------------|--------|------|
| Between Groups | 143112.278     | 5  | 28622.456   | 44.258 | .000 |
| Within Groups  | 7760.667       | 12 | 646.722     |        |      |
| Total          | 150872.944     | 17 |             |        |      |

## Multiple Comparisons

kerusakan sel  
LSD

| (I) perlakuan             | (J) perlakuan             | Mean Difference (I-J) | Std. Error | Sig. | 95% Confidence Interval |             |
|---------------------------|---------------------------|-----------------------|------------|------|-------------------------|-------------|
|                           |                           |                       |            |      | Lower Bound             | Upper Bound |
| kontrol normal            | kontrol negative          | -291.667*             | 20.764     | .000 | -336.91                 | -246.43     |
|                           | kontrol positif           | -132.667*             | 20.764     | .000 | -177.91                 | -87.43      |
|                           | kontrol ekstrak 100 mg/kg | -92.000*              | 20.764     | .001 | -137.24                 | -46.76      |
|                           | kontrol ekstrak 200 mg/kg | -78.000*              | 20.764     | .003 | -123.24                 | -32.76      |
|                           | kontrol ekstrak 400 mg/kg | -82.000*              | 20.764     | .002 | -127.24                 | -36.76      |
| kontrol negatif           | kontrol normal            | 291.667*              | 20.764     | .000 | 246.43                  | 336.91      |
|                           | kontrol positif           | 159.000*              | 20.764     | .000 | 113.76                  | 204.24      |
|                           | kontrol ekstrak 100 mg/kg | 199.667*              | 20.764     | .000 | 154.43                  | 244.91      |
|                           | kontrol ekstrak 200 mg/kg | 213.667*              | 20.764     | .000 | 168.43                  | 258.91      |
|                           | kontrol ekstrak 400 mg/kg | 209.667*              | 20.764     | .000 | 164.43                  | 254.91      |
| kontrol positif           | kontrol normal            | 132.667*              | 20.764     | .000 | 87.43                   | 177.91      |
|                           | kontrol negative          | -159.000*             | 20.764     | .000 | -204.24                 | -113.76     |
|                           | kontrol ekstrak 100 mg/kg | 40.667                | 20.764     | .074 | -4.57                   | 85.91       |
|                           | kontrol ekstrak 200 mg/kg | 54.667*               | 20.764     | .022 | 9.43                    | 99.91       |
|                           | kontrol ekstrak 400 mg/kg | 50.667*               | 20.764     | .031 | 5.43                    | 95.91       |
| kontrol ekstrak 100 mg/kg | kontrol normal            | 92.000*               | 20.764     | .001 | 46.76                   | 137.24      |
|                           | kontrol negative          | -199.667*             | 20.764     | .000 | -244.91                 | -154.43     |
|                           | kontrol positif           | -40.667               | 20.764     | .074 | -85.91                  | 4.57        |
|                           | kontrol ekstrak 200 mg/kg | 14.000                | 20.764     | .513 | -31.24                  | 59.24       |
|                           | kontrol ekstrak 400 mg/kg | 10.000                | 20.764     | .639 | -35.24                  | 55.24       |
| kontrol ekstrak 200 mg/kg | kontrol normal            | 78.000*               | 20.764     | .003 | 32.76                   | 123.24      |
|                           | kontrol negative          | -213.667*             | 20.764     | .000 | -258.91                 | -168.43     |
|                           | kontrol positif           | -54.667*              | 20.764     | .022 | -99.91                  | -9.43       |
|                           | kontrol ekstrak 100 mg/kg | -14.000               | 20.764     | .513 | -59.24                  | 31.24       |
|                           | kontrol ekstrak 400 mg/kg | -4.000                | 20.764     | .850 | -49.24                  | 41.24       |
| kontrol ekstrak 400 mg/kg | kontrol normal            | 82.000*               | 20.764     | .002 | 36.76                   | 127.24      |
|                           | kontrol negative          | -209.667*             | 20.764     | .000 | -254.91                 | -164.43     |
|                           | kontrol positif           | -50.667*              | 20.764     | .031 | -95.91                  | -5.43       |
|                           | kontrol ekstrak 100 mg/kg | -10.000               | 20.764     | .639 | -55.24                  | 35.24       |
|                           | kontrol ekstrak 200 mg/kg | 4.000                 | 20.764     | .850 | -41.24                  | 49.24       |

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

**Lampiran 22. Hasil uji statistik correlation antara kadar SOD dan histopatologi hati**

- Hasil korelasi kontrol pembanding (Glibenklamid)

**Correlations**

|               |                     | kadar SOD | kerusakan sel |
|---------------|---------------------|-----------|---------------|
| kadar SOD     | Pearson Correlation | 1         | -.211         |
|               | Sig. (2-tailed)     |           | .865          |
|               | N                   | 3         | 3             |
| kerusakan sel | Pearson Correlation | -.211     | 1             |
|               | Sig. (2-tailed)     | .865      |               |
|               | N                   | 3         | 3             |

- Hasil korelasi ekstrak dosis 100 mg/kg BB

**Correlations**

|               |                     | kadar SOD | kerusakan sel |
|---------------|---------------------|-----------|---------------|
| kadar SOD     | Pearson Correlation | 1         | -.904         |
|               | Sig. (2-tailed)     |           | .281          |
|               | N                   | 3         | 3             |
| kerusakan sel | Pearson Correlation | -.904     | 1             |
|               | Sig. (2-tailed)     | .281      |               |
|               | N                   | 3         | 3             |

- Hasil korelasi ekstrak dosis 200 mg/kg BB

**Correlations**

|               |                     | kadar SOD | kerusakan sel |
|---------------|---------------------|-----------|---------------|
| kadar SOD     | Pearson Correlation | 1         | -.937         |
|               | Sig. (2-tailed)     |           | .227          |
|               | N                   | 3         | 3             |
| kerusakan sel | Pearson Correlation | .937      | 1             |
|               | Sig. (2-tailed)     | .227      |               |
|               | N                   | 3         | 3             |

- Hasil korelasi ekstrak dosis 400 mg/kg BB

**Correlations**

|               |                     | kadar SOD | kerusakan sel |
|---------------|---------------------|-----------|---------------|
| kadar SOD     | Pearson Correlation | 1         | -.855         |
|               | Sig. (2-tailed)     |           | .347          |
|               | N                   | 3         | 3             |
| kerusakan sel | Pearson Correlation | -.855     | 1             |
|               | Sig. (2-tailed)     | .347      |               |
|               | N                   | 3         | 3             |