

**PENGARUH EKSTRAK ETANOL DAUN GEDI MERAH  
(*Abelmoschus manihot* L.Medik) TERHADAP MIKROALBUMINURIA  
DAN HISTOPATOLOGI GINJAL PADA TIKUS DIABETES NEFROPATI  
YANG DIINDUKSI STREPTOZOTOCIN-NIKOTINAMID**



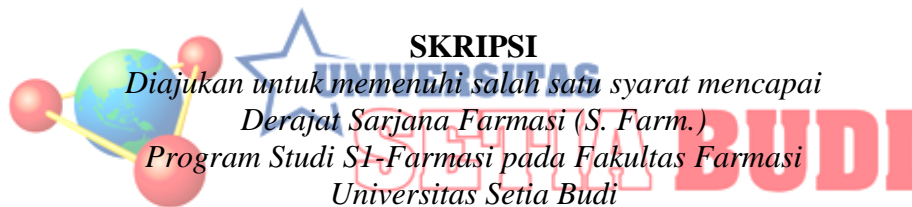
Oleh :

**Stefani Damai Yuniar  
20144254A**

**FAKULTAS FARMASI  
UNIVERSITAS SETIA BUDI  
SURAKARTA  
2018**

**PENGARUH EKSTRAK ETANOL DAUN GEDI MERAH  
(*Abelmoschus manihot* L.Medik) TERHADAP MIKROALBUMINURIA  
DAN HISTOPATOLOGI GINJAL PADA TIKUS DIABETES NEFROPATI  
YANG DIINDUKSI STREPTOZOTOCIN-NIKOTINAMID**

**HALAMAN JUDUL**



**Oleh :**

**Stefani Damai Yuniar  
20144254A**

**FAKULTAS FARMASI  
UNIVERSITAS SETIA BUDI  
SURAKARTA  
2018**

**PENGESAHAN SKRIPSI**

**PENGESAHAN SKRIPSI**

berjudul :

**PENGARUH EKSTRAK ETANOL DAUN GEDI MERAH  
(*Abelmoschus manihot* L.Medik) TERHADAP MIKROALBUMINURIA  
DAN HISTOPATOLOGI GINJAL PADA TIKUS DIABETES NEFROPATI  
YANG DIINDUKSI STREPTOZOTOCIN-NIKOTINAMID**

Oleh :

**Stefani Damai Yuniar  
20144254A**


**Dipertahankan di hadapan panitia penguji skripsi  
Fakultas Farmasi Universitas Setia Budi  
Pada tanggal : 18 April 2018**

Mengetahui,  
Fakultas Farmasi  
Universitas Setia Budi  
Dekan

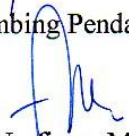


Prof. Dr. R. A. Oetari, SU., MM., M.Sc., Apt.

Pembimbing

  
Dr. Gunawan Pamudji, S.Si.,M.Si., Apt.

Pembimbing Pendamping

  
Ghani Nurfiana, M. Farm., Apt.

Penguji :

- 1.Dwi Ningsih, S.Si., M. Farm. Apt.
- 2.Dr.Wiwin Herdwiani, SF., M.Sc., Apt.
- 3.Fransiska Leviana, S. Farm., M.Sc., Apt.
4. Dr. Gunawan Pamudji, S.Si., M.Si., Apt.

1.....  
2.....  
3.....  
4.....  


## **PERNYATAAN**

## **PERNYATAAN**

Dengan ini saya menyatakan bahwa skripsi ini adalah hasil pekerjaan saya sendiri dan tidak terdapat karya yang pernah diajukan untuk memperoleh gelar kesajaraan di suatu Perguruan Tinggi dan sepanjang pengetahuan saya tidak terdapat karya atau pendaat 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, 18 April 2018



Stefani Damai Yuniar

## KATA PENGANTAR

Segala puji dan syukur penulis panjatkan ke Hadirat Allah Bapa di Sorga, karena atas kasih karunia dan anugrah-Nya, penulis dapat menyelesaikan skripsi yang berjudul **“PENGARUH EKSTRAK ETANOL DAUN GEDI MERAH (*Abelmoschus manihot* L. Medik) TERHADAP MIKROALBUMINURIA DAN HISTOPATOLOGI GINJAL PADA TIKUS DIABETES NEFROPATI YANG DIINDUKSI STREPTOZOTOCIN-NIKOTINAMID”**. Skripsi ini disusun sebagai salah satu syarat untuk mencapai derajat Sarjana Farmasi pada Fakultas Farmasi, Universitas Setia Budi Surakarta.

Penyusun skripsi ini tidak dapat lepas dari bantuan, bimbingan, serta dukungan dari banyak pihak. Dengan segala kerendahan hati penulis ingin mengucapkan terimakasih kepada pihak yang terlibat langsung maupun tidak, khususnya kepada :

1. Tuhan Yesus Kristus yang luar biasa, atas kelimpahan berkat, perlindungan, serta pertolongan-Nya sehingga saya bisa menyelesaikan skripsi ini.
2. Dr. Djoni Tarigan, MBA, selaku Rektor Universitas Setia Budi, Surakarta.
3. Prof. Dr. R.A. Oetari, SU., MM., M.Sc., Apt., selaku Dekan Fakultas Farmasi Universitas Setia Budi, Surakarta.
4. Dr. Gunawan Pamudji, M.Si., Apt., selaku Dosen pembimbing utama dan Ghani Nurfiana, M. Farm., Apt., selaku Dosen pembimbing pendamping yang telah bersedia meluangkan waktu, memberikan bimbingan, nasehat, ilmu, dan motivasi selama selama penelitian dan penulisan skripsi ini.
5. Tim penguji yang telah meluangkan waktu untuk menguji dan memberi masukan untuk menyempurnakan skripsi ini.
6. Segenap Dosen, Karyawan, dan Staf Fakultas Farmasi Universitas Setia Budi yang telah banyak membantu dami kelancaran dan selesainya skripsi ini.
7. Segenap karyawan Laboratorium Universitas Setia Budi Surakarta, Universitas Gadjah Mada Yogyakarta dan Universitas Sebelas Maret Surakarta yang telah memberikan fasilitas dan bantuan selama penelitian.

8. Segenap karyawan perpustakaan Universitas Setia Budi yang telah menyediakan fasilitas dan referensi buku-buku untuk menunjukkan dan membantu kelancaran dan selesainya skripsi ini.
9. Bapak, mama, Ricard dan nenekku tercinta serta seluruh keluarga besarku, yang selalu memberikan doa, cinta kasih, dukungan, dan semangat.
10. Keluarga besar PMK Katharos dan angkatan MUDA 2014 yang selalu mendukung dalam doa dan memberikan semangat. *Keep Spirit Of Excellent.*
11. Timku, Feronika, Yuliati, Ambu, Widya, Melani, Yesika, dan Atalia, yang selalu memberikan dukungan dalam doa dan semangat.
12. Tim skripsiku, Jofrin, Yuliati, Sopan, dan Daus, untuk bantuan, motivasi dan kerjasamanya.
13. Anak kontrakan hitz, Nanda, Apri dan Nia yang sudah sabar dan memberikan semangat.
14. Semua pihak yang telah membantu dalam penyusunan skripsi ini yang tidak dapat penulis sebutkan satu persatu.

Penulis menyadari bahwa masih terdapat banyak kekurangan dalam skripsi ini. Kritik dan saran yang membangun sangat penulis harapkan. Akhir kata penulis berharap semoga skripsi ini dapat bermanfaat bagi siapa saja yang mempelajarinya.

Surakarta, 18 April 2018

Stefani Damai Yuniar

## DAFTAR ISI

	Halaman
HALAMAN JUDUL.....	i
PENGESAHAN SKRIPSI .....	ii
PERNYATAAN.....	iii
KATA PENGANTAR .....	iv
DAFTAR ISI.....	vi
DAFTAR GAMBAR .....	x
DAFTAR TABEL.....	xii
DAFTAR LAMPIRAN.....	xiii
INTISARI.....	xiv
ABSTRACT.....	xv
BAB I PENDAHULUAN .....	1
A. Latar Belakang.....	1
B. Rumusan Masalah .....	4
C. Tujuan Penelitian.....	5
D. Kegunaan Penelitian.....	5
BAB II TINJAUAN PUSTAKA .....	6
A. Tanaman Gedi .....	6
1. Klasifikasi tanaman .....	6
2. Nama lain .....	6
3. Morfologi tanaman .....	6
4. Kandungan kimia tanaman .....	7
5. Kegunaan tanaman .....	7
B. Tinjauan Fitokimia .....	7
1. Flavonoid.....	7
2. Tanin.....	8
3. Alkaloid .....	8
4. Saponin.....	9

C. Simplisia .....	9
1. Pengertian simplisia .....	9
2. Pengeringan simplisia.....	10
D. Ekstraksi .....	10
1. Pengertian .....	10
2. Maserasi.....	10
3. Cairan penyari .....	11
E. Diabetes Melitus .....	11
1. Definisi DM.....	11
2. Klasifikasi DM .....	11
2.1 DM tipe I.....	11
2.2 DM tipe II. ....	12
2.3 DM Gestasional. ....	12
2.4 DM tipe lain. ....	12
3. Patofisiologi DM .....	12
4. Komplikasi DM.....	13
5. Pengelolaan DM .....	14
6. Terapi non farmakologi DM.....	14
6.1 Diet.....	14
6.2 Olah raga. ....	14
7. Terapi farmakologi DM.....	15
7.1 Golongan Sulfonilurea. ....	15
7.2 Golongan meglitinida.....	15
7.3 Golongan biguanid.....	15
7.4 Golongan thiazolidindion.....	15
7.5 Golongan inhibitor $\alpha$ -glukosidase.....	16
7.6 Golongan agonis glukagon-like peptide 1 (GLP-1).....	16
7.7 Golongan inhibitor dipeptidyl peptidase-4 (DPP-4).....	16
7.8 Golongan inhibitor sodium-glucose-Co-transporter 2 (SGLT2).....	16
7.9 Golongan amilinomimetik .....	17



F.	Pioglitazone .....	17
1.	Pemerian dan kelarutan .....	17
2.	Indikasi dan kontraindikasi .....	17
3.	Dosis dan aturan pakai .....	17
4.	Mekanisme kerja .....	17
5.	Efek samping .....	17
G.	Glibenklamid .....	17
1.	Pemerian dan kelarutan .....	17
2.	Indikasi dan kontraindikasi .....	18
3.	Dosis dan aturan pakai .....	18
4.	Mekanisme kerja .....	18
5.	Efek samping .....	18
H.	Diabetogenik.....	18
I.	Diabetes Nefropati.....	22
1.	Definisi Diabetes Nefropati.....	22
2.	Etiologi Diabetes Nefropati.....	22
3.	Patogifisiologi Diabetes Nefropati.....	23
4.	Tahap-tahap Diabetes Nefropati.....	24
4.1	Tahap I. ....	24
4.2	Tahap II. ....	24
4.3	Tahap III.....	24
4.4	Tahap IV. ....	24
4.5	Tahap V.....	25
J.	Mikroalbuminuria.....	25
K.	Histopatologi Organ Ginjal .....	27
1.	Pengertian Organ Ginjal .....	27
2.	Pengertian histopatologi .....	28
3.	Metode pembuatan preparat histopatologi .....	28
4.	Kerusakan Ginjal .....	28
4.1	Hipertropi.....	28
4.2	Sklerosis.....	29

4.3	Hemoragi.....	29
4.4	Inflamasi. ....	29
4.5	Nekrosis. ....	29
L.	Hewan Uji.....	29
1.	Sistematika hewan uji.....	30
2.	Karakteristik utama tikus.....	30
3.	Kandang dan perawatan tikus.....	30
M.	Landasan Teori .....	31
N.	Hipotesis .....	33
<b>BAB III</b>	<b>METODE PENELITIAN .....</b>	<b>34</b>
A.	Populasi dan Sampel.....	34
B.	Variabel Penelitian .....	34
1.	Identifikasi variabel utama .....	34
2.	Klasifikasi variabel utama .....	34
3.	Definisi operasional variabel utama .....	35
C.	Bahan dan Alat .....	36
1.	Bahan.....	36
1.1.	Bahan Sampel. ....	36
1.2.	Bahan Kimia. ....	36
2.	Alat .....	37
3.	Hewan Percobaan .....	37
D.	Jalannya Penelitian .....	37
1.	Determinasi tanaman gedi merah .....	37
2.	Pengumpulan, pengeringan dan pembuatan serbuk .....	37
3.	Penetapan kadar air daun gedi merah.....	38
4.	Pembuatan ekstrak etanol daun gedi merah .....	38
5.	Uji bebas alkohol.....	38
6.	Identifikasi kandungan senyawa .....	38
6.1	Identifikasi flavonoid menggunakan tabung reaksi. ....	38
6.2	Identifikasi tanin menggunakan tabung reaksi. ....	39
6.3	Identifikasi saponin menggunakan tabung reaksi. ....	39

6.4	Identifikasi alkaloid menggunakan tabung reaksi.....	39
6.5	Identifikasi flavonoid menggunakan KLT.....	39
6.6	Identifikasi tanin menggunakan KLT.....	39
6.7	Identifikasi saponin menggunakan KLT.....	40
7.	Penentuan dosis .....	40
7.1	Dosis STZ-NA.....	40
7.2	Penentuan dosis glibenklamid.....	40
7.3	Penentuan dosis pioglitazone.....	41
7.4	Penentuan dosis ekstrak etanol. Penentuan.....	41
8.	Pembuatan sediaan uji .....	41
8.1	STZ-NA.....	41
8.2	CMC Na 0,5%.....	41
8.3	Glibenklamid.....	41
8.4	Pioglitazone.....	41
9.	Pengelompokan dan perlakuan hewan uji .....	41
10.	Prosedur uji diabetes .....	42
11.	Pemeriksaan kadar albuminuria .....	43
12.	Prosedur mematikan dan membedah hewan uji .....	43
13.	Pembuatan preparat histopatologi .....	44
14.	Pemeriksaan histopatologi.....	45
15.	Prosedur memusnahkan hewan uji .....	45
E.	Analisa Statistik.....	46
F.	Alur Penelitian.....	47
<b>BAB IV</b>	<b>HASIL PENELITIAN DAN PEMBAHASAN.....</b>	<b>50</b>
A.	Hasil Determinasi Tanaman Gedi Merah.....	50
B.	Hasil Pembuatan Serbuk Daun Gedi Merah.....	51
C.	Hasil Penetapan Kadar Air Daun Gedi Merah .....	52
D.	Hasil Pembuatan Ekstrak Etanol Daun Gedi Merah .....	53
E.	Hasil Uji Bebas Alkohol Ekstrak Etanol Daun Gedi Merah .....	53
F.	Hasil Identifikasi Kandungan Kimia Daun Gedi Merah .....	54
G.	Hasil Pemeriksaan Kadar Mikroalbuminuria .....	60

H. Hasil pengamatan organ ginjal tikus dengan pewarnaan Hemaktosilin-Eosin .....	67
BAB V KESIMPULAN DAN SARAN .....	74
A. Kesimpulan.....	74
B. Saran .....	74
DAFTAR PUSTAKA .....	75
LAMPIRAN.....	83

## DAFTAR GAMBAR

Halaman

Gambar 1.	Diagram skematik yang mewakili model STZ.....	21
Gambar 2.	Mekanisme toksisitas sel-sel beta Langerhans pankreas oleh STZ.....	21
Gambar 3.	Mekanisme toksisitas STZ dalam menginduksi diabetes dan proteksi NA terhadap sel beta.....	23
Gambar 4.	Skema patogenesis nefropati diabetik sampai gagal ginjal stadium terminal. ....	27
Gambar 5.	Skema ekstraksi daun gedi merah dengan metode maserasi.....	50
Gambar 6.	Skema induksi, pemberian sediaan dan pengukuran mikroalbumuria.....	51
Gambar 7.	Skema histopatologi ginjal.....	51
Gambar 8.	Mekanisme pembentukan garam flavilium. ....	59
Gambar 9.	Reaksi alkaloid dengan reagen Dragendroff. ....	60
Gambar 10.	Reaksi tanin dan FeCl <sub>3</sub> . ....	61
Gambar 11.	Reaksi hidrolisis saponin dalam air.....	62
Gambar 12.	Grafik kadar mikroalbuminuria setelah diinduksi STZ-NA.....	64
Gambar 13.	Grafik hubungan antara kadar mikroalbuminuria dengan waktu perlakuan.....	65
Gambar 14.	Gambaran histopatologi ginjal normal.....	70
Gambar 15.	Gambaran histopatologi organ ginjal tikus putih jantan.....	71
Gambar 16.	Grafik hubungan antara rata-rata sel rusak dan sel normal dengan kelompok perlakuan.....	72

## DAFTAR TABEL

	Halaman
Tabel 1. Target Penatalaksanaan DM.....	15
Tabel 2. Hasil persentase bobot kering terhadap bobot basah daun gedi merah .....	55
Tabel 3. Hasil penetapan kadar air daun gedi merah.....	55
Tabel 4. Hasil rendemen ekstrak etanol daun gedi merah.....	56
Tabel 5. Hasil uji bebas alkohol ekstrak etanol daun gedi merah .....	57
Tabel 6. Hasil identifikasi kandungan kimia ekstrak etanol daun gedi merah menggunakan tabung.....	57
Tabel 7. Hasil identifikasi kandungan kimia ekstrak etanol daun gedi merah menggunakan KLT .....	58
Tabel 8. Hasil identifikasi flavonoid .....	59
Tabel 9. Hasil identifikasi alkaloid.....	60
Tabel 10. Hasil identifikasi tanin.....	61
Tabel 11. Hasil identifikasi saponin .....	62
Tabel 12. Data kadar mikroalbuminuria setelah diinduksi STZ-NA.....	63
Tabel 13. Data kadar mikroalbuminuria setelah diberikan sediaan uji .....	65
Tabel 14. Perhitungan persentase penurunan kadar mikroalbuminuria.....	66
Tabel 15. Perhitungan total skor histopatologi organ ginjal.....	72

## DAFTAR LAMPIRAN

Lampiran 1. Surat determinasi tanaman .....	87
Lampiran 2. Ethical clearance.....	88
Lampiran 3. Surat Praktik Penelitian mikroalbuminuria .....	89
Lampiran 4. Surat Praktik Histopatologi Ginjal .....	90
Lampiran 5. Foto tanaman gedi merah .....	91
Lampiran 6. Komposisi Reagen mikroalbuminuria.....	92
Lampiran 7. Foto hewan percobaan,proses pembedahan, ginjal tikus.....	93
Lampiran 8. Hasil presentase rendemen bobot kering terhadap bobot basah daun gedi merah .....	94
Lampiran 9. Hasil penetapan kadar air daun gedi merah.....	95
Lampiran 10. Perhitungan rendemen ekstrak daun gedi meah .....	96
Lampiran 11. Hasil identifikasi kandungan kimia ekstrak daun gedi merah.....	.....
Lampiran 12. Perhitungan dosis dan volume pemberian .....	99
Lampiran 13. Hasil penimbangan hewan uji dan dosis pemberian.....	102
Lampiran 14. Hasil pengukuran kadar albuminurin .....	104
Lampiran 15. Penentuan persenan penurunan kadar mikroalbuminuria.....	109
Lampiran 16. Hasil jumlah skoring sel pada gambaran histopatologi organ ginjal .....	110
Lampiran 17. Foto hasil histopatologi organ ginjal tikus .....	111
Lampirsn 18. Hasil Histopatologi ginjal tikus putih jantan .....	113
Lampiran 19. Hasil analisis statistik penurunan mikroalbuminuria.....	117
Lampiran 20. Analisa statistik histopatologi ginjal tikus.....	128

## INTISARI

**YUNIAR, SD., 2018. PENGARUH EKSTRAK ETANOL DAUN GEDI MERAH (*Abelmoschus manihot* L. Medik) TERHADAP MIKROALBUMINURIA DAN HISTOPATOLOGI GINJAL PADA TIKUS DIABETES NEFROPATI YANG DIINDUKSI STREPTOZOTOCIN-NIKOTINAMID, SKRIPSI, FAKULTAS FARMASI, UNIVERSITAS SETIA BUDI, SURAKARTA.**

Mikroalbuminuria merupakan penanda awal gangguan ginjal pada DM nefropati dan salah satu tanaman tradisional yang dapat digunakan untuk mengatasi DM adalah daun gedi merah (*Abelmoschus manihot* L. Medik). Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui pengaruh pemberian ekstrak etanol daun gedi merah dalam menurunkan mikroalbuminuria serta histopatologi organ ginjal pada tikus yang diinduksi streptozotocin-nikotinamid serta dosis yang paling optimal yang dapat diberikan.

Penelitian ini menggunakan 35 ekor tikus putih jantan galur wistar yang diinduksi STZ-NA secara ip dengan dosis 45 mg/Kg BB dan 110 mg/Kg BB, dibagi menjadi 7 kelompok. Tikus terindikasi DM selama 15 hari setelah diinduksi STZ-NA dan diberikan ekstrak selama 14 hari. Sediaan uji diberikan secara oral. Parameter yang diukur adalah kadar mikroalbuminuria dan histopatologi ginjal. Analisa data menggunakan metode ANOVA dilanjutkan uji LSD Post Hoc.

Hasil analisis statistik pada kelompok ekstrak mempunyai efek terhadap penurunan kadar mikroalbuminuria dan perbaikan histopatologi ginjal. Dosis efektif ekstrak daun gedi merah terhadap penurunan kadar mikroalbuminuria 400 mg/Kg BB tikus namun masih lebih baik pada kelompok glibenklamid dan pioglitazone. Dosis efektif ekstrak daun gedi merah terhadap perbaikan kerusakan histopatologi ginjal 200 and 400 mg/Kg BB mempunyai efek yang sama dengan kelompok pioglitazone dan kelompok glibenklamid tidak memiliki efek perbaikan pada histopatologi ginjal tikus.

---

Kata kunci : ekstrak etanol daun gedi merah, mikroalbuminuria, histopatologi ginjal, diabetes nefropati, STZ-NA



## ABSTRACT

**YUNIAR, SD., 2018. EFFECT OF ETHANOLIC EXTRACT RED GEDI LEAVES (*Abelmochus manihot* L. Medik) TO MIKROALBUMINURIA LEVELS AND HISTOPATHOLOGY OF KIDNEY ORGANS IN RATS WITH DIABETIC NEPHROPATHY WHICH IS INDUCED STREPTOZOTOCIN-NIKOTINAMID, SKRIPSI, PHARMACY FACULTY, SETIA BUDI UNIVERSITY, SURAKARTA.**

Microalbuminuria is a first marker of renal impairment in DM nephropathy and gedi merah leaves (*Abelmochus manihot*) is one of the traditional plants that can be used for DM. Thus, the purpose of this study was to find out effect of ethanol extract gedi merah to reduce microalbuminuria and renal histopathology diabetic rats-induced Streptozotocin-nicotinamide along with the optimal dosage were given.

This study used 35 male wistar rats induced with intraperitoneal injection of STZ-NA with dosage 45 mg/Kg BW and 110 mg/Kg BW, divided into 7 group. Rats diagnosed DM for 15 days were injected with STZ-NA and orally given with the extract for 14 days. The parameter were the mikroalbuminuria level and histopathology of kidney organs. Data analysis used ANOVA test method and continued with LSD Post Hoc test.

Statistic analysis result extract extract gedi merah leaves group had an effect to decrease microalbuminuria and renal histopathology. Optimal dosage extract gedi merah leaves to decrease microalbuminuria 400 mg/Kg BW rat but not better than glibenclamide and pioglitazone group. Optimal dosage extract gedi merah leaves to renal histopathology 200 and 400 mg/Kg BW rat which meant the red gedi leaves extract has a same effect with the pioglitazone group and glibenclamide group not had an effect to renal histopathology.

---

Keywords : ethanol extract of red gedi leaves, microalbumin, histopathology of kidney, diabetic nephropathy, STZ-NA

# **BAB I**

## **PENDAHULUAN**

### **A. Latar Belakang**

Diabetes melitus (DM) merupakan gangguan metabolisme kronis, ditandai tingginya kadar glukosa dalam darah (hiperglikemia) karena kekurangan insulin, resistensi insulin atau keduanya (Chaiyasut *et al.* 2011). Gejala-gejala yang ditimbulkan yaitu: poliuria (banyak berkemih), polidipsia (banyak minum), polifagia (banyak makan), gula dalam urin (glukosuria), turunnya berat badan dan rasa letih (Tjay & Rahardja 2002). Hiperglikemia yang berlangsung lama dapat menimbulkan komplikasi yaitu kelainan mikrovaskuler seperti nefropati, retinopati dan neuropati (DepKes 2005).

Penelitian pada tahun 1980 menunjukkan bahwa 108 juta orang diperkirakan hidup dengan DM, dan pada tahun 2014 diperkirakan 422 juta orang hidup dengan penyakit tersebut. Prevalensinya telah meningkat hampir dua kali lipat sejak tahun 1980, dari 4,7% menjadi 8,5% pada populasi orang dewasa. DM menyebabkan 1,5 juta kematian pada tahun 2012. Kondisi hiperglikemik yang tinggi menyebabkan tambahan 2,2 juta kematian, dengan meningkatkan resiko penyakit kardiovaskular, gagal ginjal dan lainnya (WHO 2016). Prevalensi DM tipe II mencapai 85 – 95% yang menimbulkan komplikasi yang kronis (WHO 2004). DM tipe II berhubungan dengan proses nefropati diabetik dimana terjadinya gagal ginjal stadium terminal dan disfungsi ginjal, dimana total ekskresi proteinuria lebih dari 500 mg/hari, sekitar 25%-35% kasus DM dan mempunyai kadar mikroalbuminuria (MA) 20 kali lebih tinggi dari normoalbuminuria (Ritz *et al.* 2001). Prevalensi nefropati diabetik akibat DM tipe 2 di Indonesia antara lain: di Yogyakarta sebesar 57%, di Surabaya sebesar 26,1%, di Ujung Pandang sebesar 33,3% dan di Jakarta sebesar 31,6% (Widiana *et al.* 2003; Setiawan *et al.* 2003; Adam *et al.* 2003; Soesilawati *et al.* 2003).

DM yang tidak terkontrol akan menyebabkan terjadinya berbagai komplikasi kronik, salah satu yaitu nefropati diabetik. Nefropati diabetik (ND) merupakan komplikasi penyakit DM yang termasuk dalam komplikasi

mikrovaskular, yaitu komplikasi yang terjadi pada pembuluh darah halus (kecil) di ginjal dan mengakibatkan kerusakan glomerulus yang berfungsi sebagai penyaring darah. Dalam keadaan normal, albumin tidak tersaring dan tidak melewati glomerulus karena ukuran protein yang besar tidak dapat melewati lubang-lubang glomerulus yang kecil. Dalam keadaan tidak normal, albumin dapat melewati glomerulus sehingga dapat ditemukan dalam urin yang disebut dengan mikroalbuminuria, dengan demikian untuk mengetahui komplikasi kerusakan glomerulus pada ginjal perlu dilakukan pengukuran kadar mikroalbuminurin (Ritz *et al.* 2000).

Penelitian ini juga meneliti perubahan jaringan pada ginjal, dengan menggunakan histopatologi organ ginjal dikarenakan pada penderita DM terjadi perubahan histopatologi organ ginjal yang ditandai dengan hiperfiltrasi membran basal glomeruli, skeloris, hemoragik, inflamasi, dan nekrosis (Shofia *et al.* 2013; Handani *et al.* 2015).

Terapi pasien DM tipe II biasanya menggunakan obat antidiabetes seperti sulfonilurea, meglitinida, biguanida thiazolidindion, inhibitor  $\alpha$ -glukosidase, amilinomimetik agonis glukagon-like peptide 1 (GLP-1), inhibitor dipeptidyl peptidase-4 (DPP-4), dan inhibitor sodium-glucose-Co-transporter 2 (SGLT2).

Sulfonilurea merupakan salah satu obat antidiabetes oral pilihan pertama pada pengatasan DM tipe II, contohnya glibenklamid. Glibenklamid merangsang sel beta Langerhans untuk mensekresikan insulin, mekanisme kerjanya yaitu dengan menghambat kanal K-ATP pada membran sel beta sehingga mencegah pengeluaran ion K. Namun, efek samping yang sering terjadi dari penggunaan obat glibenklamide yaitu hipoglikemia, gangguan ringan dan jarang, diantaranya gangguan gastrointestinal seperti mual, muntah, diare, dan konstipasi. Kontraindikasi dengan penderita yang memiliki gangguan fungsi, gagal ginjal, pada porfiria, tidak digunakan pada ibu menyusui, dan selama kehamilan (Dipiro *et al.* 2015; Katzung *et al.* 2015).

Thiazolidindion atau glitazone merupakan agen sensitisor insulin atau yang memperbaiki kerja insulin dengan meningkatkan sensitivitas insulin pada jaringan target seperti jaringan adiposa, hati, dan otot rangka. Dengan demikian, agen ini tidak memicu terjadinya hiperinsulinemia. Golongan thiazolidindion

bekerja meningkatkan kepekaan tubuh terhadap insulin dengan jalan berikatan dengan PPAR $\gamma$  (*peroxisome proliferator activated receptor-gamma*) di otot, jaringan lemak, dan hati untuk menurunkan resistensi insulin. Senyawa-senyawa TZD juga menurunkan kecepatan glikoneogenesis (DepKes 2005). Adapun efek samping yang ditimbulkan karena penggunaan obat ini adalah peningkatan berat badan, edema dan peningkatan volume plasma (Scherthner 2013).

Berdasarkan penelitian *in vivo* yang dilakukan oleh Adeline *et al.* (2015) menunjukkan bahwa ekstrak etanol daun gedi merah dapat menurunkan kadar gula darah tikus putih jantan galur Wistar (*Rattus norvegicus*) yang diinduksi aloksan. Dosis 3,75 mg/200 g BB tikus menggunakan ekstrak etanol 96% yang secara signifikan mempengaruhi kadar glukosa dengan kontrol positif insulin dan perlakuan selama 6 hari. Hasil penelitian menunjukkan bahwa ekstrak daun gedi merah dapat menurunkan kadar glukosa darah tikus putih jantan diabetes yang diinduksi dengan aloksan. Adapun zat aktif yang berperan memberikan efek penurunan kadar gula darah ada daun gedi adalah flavonoid.

Studi *in vivo* yang dilakukan oleh Tandi *et al.* (2016) menunjukkan bahwa ekstrak etanol 96% gedi merah dapat menurunkan kadar gula darah pada tikus putih yang diinduksi streptozotocin (STZ) 40 mg/kgBB secara intraperitoneal dan dosis yang efektif yaitu 150 mg/kgBB tikus dengan kontrol positif glibenklamid. Glibenklamid maupun ekstrak, keduanya sama-sama memberikan hasil yang signifikan dalam menurunkan kadar glukosa darah. Tidak hanya memberikan efek antidiabetes tetapi juga antidiabetes pada tikus DM yang diinduksi STZ. Cara kerjanya pada hari pertama diinduksi STZ, pada hari ke 7 diberikan ekstrak etanol daun gedi merah kemudian pada hari ke 14, 21 dan 28 diukur kadar gula darah. Hasil penelitian menunjukkan bahwa ekstrak daun gedi merah dapat menurunkan kadar glukosa darah tikus putih jantan diabetes yang diinduksi dengan STZ. Adapun hasil uji penapisan fitokimia yang berperan memberikan efek penurunan kadar gula darah ada daun gedi adalah alkaloid, flavonoid, saponin, tanin dan polifenol.

Berdasarkan penelitian Ghasemi *et al.* (2014) menyatakan bahwa tikus yang diinduksi STZ-Nikotinamid (NA) akan menyebabkan DM tipe II, efek NA

diketahui melawan efek sitotoksik STZ yang menyerang sel beta pankreas sehingga tidak terjadi kerusakan seperti DM tipe I. Induksi STZ-NA sudah diteliti untuk penelitian DM komplikasi termasuk DM nefropati di karenakan STZ menyebabkan efek toksik pada sel ginjal dan kerusakan fungsi ginjal. Efek NA pada ginjal yang telah diinduksi STZ yaitu mencegah kerusakan total fungsi ginjal.

Ekstrak daun gedi merah dapat digunakan sebagai penghambat pembentukan batu ginjal. Ekstrak dibuat dengan cara maserasi menggunakan pelarut etanol 96%, perlakuan diberikan ekstrak daun gedi merah diberi induksi etilen glikol 0,75% dan amonium klorida 2%, didapatkan hasil bahwa ekstrak etanol daun gedi merah memiliki aktivitas penghambatan pembentukan batu ginjal pada ketiga variasi dosis dan yang paling efektif adalah pada dosis 150 mg/kgBB tikus. Senyawa aktif yang ada yaitu flavanoid, alkaloid, steroid, saponin, dan tanin (Djamhuri 2016). Tanaman gedi juga dapat meningkatkan fungsi penyaringan glomerular, mengurangi proteinuria, dan hiperplasia mesangium yang dapat mengurangi kerusakan jaringan ginjal (Shao-Yu *et al.* 2006).

Selain itu, Assagaf *et al.* (2013) telah melakukan uji toksisitas akut terhadap ekstrak etanol 70% daun gedi merah setelah perlakuan dengan nilai LD<sub>50</sub> sebesar 6,25 g/KgBB disimpulkan sedikit toksik terhadap tikus putih jantan galur wistar.

DM nefropati merupakan penyebab paling besar gagal ginjal stadium akhir, diandai dengan peningkatan ukuran ginjal, ukuran glomerulus, perubahan fungsi ginjal akibat akumulasi ekstraseluler matriks glomerulus, peningkatan sekresi albumin urin, sklerosis pada glomerulus, dan fibrosis pada tubulus. Berdasarkan penelitian *in vivo* yang dilakukan oleh Sheela *et al.* (2013) menyatakan induksi STZ-NA menyebabkan degenerasi dan nekrosis pada sel epitel ginjal. Efek antioksidan akan memproteksi dari radikal bebas yang menyerang sel-sel ginjal.

Dari berbagai penelitian praklinis yang dilakukan untuk melihat aktivitas antidiabetes ekstrak etanol daun gedi merah, kebanyakan masih terbatas menguji

penurunan kadar gula darah. Berdasarkan hasil penelitian terdahulu tentang aktivitas antidiabetes tanaman gedi merah, maka peneliti tertarik untuk menguji pengaruh ekstrak etanol daun gedi terhadap kadar mikroalbumin dalam urin model tikus yang mengalami DM tipe II tikus yang telah diinduksi STZ-nikotinamid dan histopatologi ginjal dengan cara preparasi pewarnaan jaringan ginjal menggunakan *Haematoxylin* dan *Eosin* (HE).

### **B. Rumusan Masalah**

Berdasarkan latar belakang yang telah diuraikan maka timbul permasalahan sebagai berikut:

1. Apakah pemberian ekstrak etanol daun gedi merah dapat menurunkan kadar mikroalbuminuria dan memperbaiki struktur histopatologi jaringan ginjal pada model tikus yang mengalami DM nefropati yang telah diinduksi STZ-NA?
2. Berapakah dosis efektif ekstrak etanol daun gedi merah dapat menurunkan kadar mikroalbuminuria dan memperbaiki struktur histopatologi jaringan ginjal pada model tikus yang mengalami DM nefropati yang telah diinduksi STZ-NA?
3. Apakah pemberian glibenklamid dan pioglitazone terhadap penurunan kadar mikroalbuminuria dan memperbaiki stuktur histopatologi jaringan ginjal pada model tikus yang mengalami DM nefropati yang telah diinduksi STZ-NA?

### **C. Tujuan Penelitian**

Tujuan dari penelitian ini adalah sebagai berikut :

1. Mengetahui pemberian ekstrak etanol daun gedi merah dapat menurunkan kadar mikroalbuminuria dan memperbaiki struktur histopatologi jaringan ginjal pada model tikus yang mengalami DM nefropati yang telah diinduksi STZ-NA.
2. Mengetahui dosis efektif ekstrak etanol daun gedi merah dapat menurunkan kadar mikroalbuminuria dan memperbaiki struktur histopatologi jaringan

ginjal pada model tikus yang mengalami DM nefropati yang telah diinduksi STZ-NA.

3. Mengetahui pemberian glibenklamid dan pioglitazone terhadap penurunan kadar mikroalbuminuria dan memperbaiki stuktur histopatologi jaringan ginjal pada model tikus yang mengalami DM nefropati yang telah diinduksi STZ-NA.

#### **D. Kegunaan Penelitian**

Hasil penelitian ini diharapkan dapat memberikan informasi pada masyarakat mengenai manfaat ekstrak daun gedi merah dan menjadi suatu gagasan baru bagi kemajuan ilmu pengetahuan, khususnya dalam upaya pengembangan dan pemanfaatan tanaman tradisional tentang senyawa aktif yang terkandung dalam ekstrak etanol daun gedi merah terhadap penurunan kadar mikroalbuminurin dan memperbaiki histopatologi ginjal sehingga dapat digunakan sebagai terapi alternatif untuk penderita DM tipe II dengan komplikasi gangguan ginjal. Penelitian ini juga diharapkan dapat meningkatkan budidaya tanaman gedi merah sebagai obat alternatif dalam pengobatan DM dengan komplikasi gangguan ginjal serta dapat menjadi suatu masukan untuk berbagai pihak dalam memproduksi produk-produk herbal sehingga meningkatkan kesehatan masyarakat.

## **BAB II**

### **TINJAUAN PUSTAKA**

#### **A. Tanaman Gedi**

##### **1. Klasifikasi Tanaman**

Menurut *Integrated Taxonomic Information System* (2017), tanaman gedi merah dapat diklasifikasikan sebagai berikut :

Superdivisi	: Embryophyta
Divisi	: Traceophyta
Kelas	: Magnoliopsida
Subkelas	: Rosanae
Bangsa	: Malvales
Suku	: Malvaceae
Marga	: Abelmochus
Jenis	: <i>Abelmochus manihot</i> (L.) Medik

##### **2. Nama Lain**

Gedi mempunyai nama yang berbeda-beda pada masing-masing negara di antaranya: gedi, dedi, belender (Indonesia), gedi (Sulawesi), gedi (Minahasa), nating, iyondong, kuei, maree (Sulawesi Utara), degi (Ternate), ki dedi, edi (Jawa), singa depa (Sunda), *edible hibiscus* (Inggris), *lagikuway* (Filipina), *po fai* (Thailand) (Sutarto 2007; Plantamor 2016).

##### **3. Morfologi Tanaman**

Gedi adalah tanaman dengan tinggi sekitar 1,2-1,8 m serta memiliki batang berbulu halus berwarna merah. Daunnya berbentuk menjari sebanyak 5-7 jari daun dan lanset tajam atau runcing, memiliki panjang 5-12,5 cm tersusun secara majemuk, menyirip dan berwarna hijau. Tangkai daun kurang dari 2,5 cm dan berwarna merah. Buahnya berbentuk seperti kapsul keras ujung runcing dengan diameter 3,8 cm dan berwarna abu-abu. kelopak bunga beraroma lembut, panjang mahkota bunga 5-7,5 cm. Warna bunga kuning dan ditengah berwarna ungu. Biji memiliki ujung runcing, berbulu pendek kasar dan berwarna buram.



Akar tanaman ini memiliki warna coklat kekuning-kuningan dengan panjang 3-6 cm, bentuk bergelombang (Chumbhale *et al.* 2015).

#### **4. Kandungan Kimia Tanaman**

Ekstraksi etanol 96% daun gedi merah mengandung senyawa alkaloid, saponin, flavonoid, tannin, dan polifenol dan ekstraksi air daun gedi merah mengandung senyawa fenol, tanin dan flavonoid. Senyawa flavonoid kemudian diidentifikasi menggunakan spektrofotometer Uv-Vis daun gedi merah memiliki senyawa flavonoid golongan flavanon dan flavanonol (Suoth 2013; Tandi *et al.* 2016).

#### **5. Kegunaan Tanaman**

Daun gedi merupakan sayuran khas Sulawesi Utara yang biasa digunakan sebagai sayuran untuk membuat bubur manado (Aditama *et al.* 2016). Berdasarkan informasi masyarakat di daerah Kecamatan Pineleng, Kabupaten Minahasa bahwa daun gedi merah dapat dimanfaatkan sebagai penanganan herbal yang dapat menyembuhkan beberapa penyakit, seperti DM (Adeline *et al.* 2015). Daun gedi merah memiliki efek farmakologis di antaranya antihiperlikemik, antiosteoporosis, menghambatan pembentukan batu ginjal, memiliki kemampuan antinosisseptif, kardioprotektif, hepatoprotektif, dan efek protektif terhadap gastrimukosal (Adeline *et al.* 2015; Aditama *et al.* 2016; Djahhuri 2016; Tandi *et al.* 2017). Masyarakat memanfaatkan daun gedi yang direbus tanpa garam sebagai obat tradisional, antara lain untuk sakit ginjal, maag, dan kolesterol tinggi (Mamahit & Sukamto 2010).

### **B. Tinjauan Fitokimia**

#### **1. Flavonoid**

Flavonoid merupakan salah satu kelompok senyawa metabolit sekunder yang paling banyak ditemukan di dalam jaringan tanaman. Flavonoid termasuk dalam golongan senyawa fenolik dengan struktur kimia C<sub>6</sub>-C<sub>3</sub>-C<sub>6</sub>. Kerangka flavonoid terdiri atas satu cincin aromatik A, satu cincin aromatik B, dan cincin tengah berupa heterosiklik yang mengandung oksigen dan bentuk teroksidasi

cincin ini dijadikan dasar pembagian flavonoid ke dalam sub-sub kelompoknya (Redha 2010).

Kandungan flavonoid juga ditemukan pada tanaman gedi merah yang diekstraksi etanol 96% pada uji penampisan fitokimia (Djamhuri 2016). Flavonoid berfungsi sebagai zat antioksidan yang mampu menurunkan kadar glukosa darah. Flavonoid bersifat protektif terhadap kerusakan sel beta sebagai penghasil insulin serta dapat meningkatkan sensitifitas insulin dan dapat menekan apoptosis sel beta tanpa terpengaruh proliferasi dari sel beta pankreas dan mengikat radikal bebas. Flavonoid juga dapat menghambat fosfodiesterase sehingga meningkatkan cAMP pada sel beta pankreas sehingga menstimulasi pengeluaran protein kinase A (PKA) yang merangsang peningkatan sekresi insulin (Ajie 2015).

## **2. Tanin**

Tanin merupakan senyawa phenol yang larut dalam air dan memiliki berat molekul antara 500 dan 3000 Da. Tannin diklasifikasikan menjadi tannin yang terhidrolisis (*hydrolyzable tannin*) dan tannin yang terkondensasi (*condensed tannin*) (Ismarani 2012).

Kandungan tanin juga ditemukan pada daun gedi merah yang diekstrak menggunakan etanol 96% pada uji penampisan fitokimia (Djamhuri 2016). Mekanisme tanin dalam penurunan gula darah dengan memacu *uptake* glukosa dengan meningkatkan sensitifitas jaringan terhadap insulin dan mencegah adipogenesis (Muthusamy *et al.* 2008).

## **3. Alkaloid**

Alkaloid mengandung atom nitrogen yang bersifat basa dan merupakan bagian dari cincin heterosiklik. Alkaloid merupakan senyawa yang mempunyai satu atau lebih atom nitrogen biasanya dalam gabungan dan sebagian dari sistem siklik. Alkaloid dapat berfungsi sebagai zat antioksidan (Tengo *et al.* 2014).

Kandungan alkaloid juga ditemukan pada daun gedi merah yang diekstraksi etanol 96% pada uji KLT (Tandi *et al.* 2016). Ada dua mekanisme senyawa alkaloid dalam menurunkan kadar gula darah secara intra pankreatik dengan meregenerasikan sel beta pankreas yang rusak dan peningkatan sekresi

insulin oleh adanya efek rangsangan saraf simpatis (simpatometik), secara ekstra pankreatik dengan cara menghambat absorpsi glukosa di usus, meningkatkan transportasi glukosa dalam darah, merangsang sintesis glikogen, dan menghambat sintesis glukosa dengan menghambat enzim glukosa 6-fosfatase, fluktosa 1,6-bifosfatase, serta meningkatkan oksidasi glukosa melalui glukosa 6-fosfatdehidrogenase. Enzim-enzim ini yang berperan dalam glukoneogenesis, penghambatan kedua enzim ini akan menurunkan glukosa dari substrat lain selain karbohidrat (Arjadi & Susatyo 2007).

#### **4. Saponin**

Saponin yang merupakan salah satu metabolit sekunder adalah glikosida yang tersusun dari gula yang berikatan dengan aglikon. Aglikon (sapogenin) memiliki struktur yang terdiri dari rantai triterpenoid atau steroid dan bersifat non polar. Struktur saponin tersebut menyebabkan saponin bersifat seperti sabun atau deterjen sehingga saponin disebut sebagai surfaktan alami (nama saponin diambil dari “*sapo*” dalam bahasa Latin yang berarti sabun) yang memiliki sifat *anti-inflammatory* (Fahrunnida 2015).

Kandungan saponin juga ditemukan pada gedi merah yang telah dilakukan ekstraksi etanol 96% dengan melakukan uji penampisan fitokimia (Djamhuri 2016). Mekanisme senyawa saponin dalam penurunan gula darah dengan menghambat aktifitas enzim alfa glukosidase, yaitu enzim dalam pencernaan yang bertanggung jawab terhadap pengubahan karbohidrat menjadi glukosa (Makalalang *et al.* 2013).

### **C. Simplisia**

#### **1. Pengertian Simplisia**

Simplisia adalah bahan alam yang telah dikeringkan yang digunakan untuk pengobatan dan belum mengalami pengolahan, kecuali dinyatakan lain suhu pengeringan tidak lebih dari 60°C (BPOM 2014). Simplisia terdiri dari 3 macam yaitu simplisia nabati, simplisia hewani dan simplisia pelican atau mineral. Pada penelitian ini menggunakan simplisia nabati, simplisia yang berupa tanaman utuh, bagian tanaman atau eksudat tanaman (isi sel yang secara spontan keluar dari

tanaman atau dengan cara tertentu dikeluarkan dari selnya ataupun zat-zat nabati lainnya) yang dengan cara tertentu dipisahkan dari tanamannya dan belum berupa zat kimia murni (Rahayu *et al.* 2009).

## **2. Pengeringan Simplisia**

Pengeringan adalah suatu metode untuk mengeluarkan atau menghilangkan sebagian air dari suatu bahan dengan cara menguapkan air tersebut dengan menggunakan energi panas. Secara umum keuntungan dari pengeringan ini adalah bahan menjadi awet dengan volume bahan menjadi kecil sehingga memudahkan dalam pengangkutan. Tujuan dari pengeringan adalah mengurangi kadar air bahan sehingga tidak mudah ditumbuhi kapang dan bakteri dan kegiatan enzim yang dapat menyebabkan pembusukan akan terhenti, dengan demikian bahan yang dikeringkan dapat mempunyai waktu simpan yang lama (Riansyah *et al.* 2013). Berkaitan dengan proses pengeringan waktu dan suhu pengeringan yang digunakan tidak dapat ditentukan dengan pasti untuk setiap bahan pangan, tetapi tergantung pada jenis bahan yang dikeringkan, diantaranya untuk jenis bubuk bahan pangan menggunakan suhu 40 – 60°C selama 6 – 8 jam (Martunis 2012).

## **D. Ekstraksi**

### **1. Pengertian**

Ekstraksi merupakan proses pemisahan bahan dari campurannya dengan menggunakan pelarut yang sesuai. Proses ekstraksi dihentikan ketika tercapai kesetimbangan antara konsentrasi senyawa dalam pelarut dengan konsentrasi dalam sel tanaman (Mukhriani 2014).

### **2. Maserasi**

Metode maserasi dilakukan dengan memasukkan serbuk tanaman dan pelarut yang sesuai ke dalam wadah inert yang tertutup rapat pada suhu kamar disertai dengan pengadukan. Proses ekstraksi dihentikan ketika tercapai kesetimbangan antara konsentrasi senyawa dalam pelarut dengan konsentrasi dalam sel tanaman. Setelah proses ekstraksi, pelarut dipisahkan dari sampel

dengan penyaringan. Metode maserasi dapat menghindari rusaknya senyawa-senyawa yang bersifat termolabil (Mukhriani 2014).

### **3. Cairan Penyari**

Pemilihan pelarut merupakan salah satu faktor yang menentukan keberhasilan proses ekstraksi, pelarut akan menembus dinding sel dan masuk kedalam rongga sel yang mengandung zat aktif sehingga zat aktif akan larut. Salah satu pelarut yang umum digunakan yaitu etanol. Pelarut etanol memiliki polaritas yang tinggi, mempunyai titik didih yang rendah, cenderung aman, tidak beracun, dan tidak berbahaya. Pelarut etanol memiliki dua sisi yang terdiri dari gugus -OH yang bersifat polar dan gugus CH<sub>2</sub>-CH<sub>3</sub> yang bersifat non polar (Azis *et al.* 2014).

## **E. Diabetes Melitus**

### **1. Definisi DM**

Diabetes mellitus (DM) didefinisikan sebagai suatu penyakit atau gangguan metabolisme kronis dengan multi etiologi yang ditandai dengan tingginya kadar gula darah disertai dengan gangguan metabolisme karbohidrat, lipid dan protein sebagai akibat insufisiensi fungsi insulin. Insufisiensi fungsi insulin dapat disebabkan oleh gangguan atau defisiensi produksi insulin oleh sel-sel beta Langerhans kelenjar pankreas, atau disebabkan oleh kurang responsifnya sel-sel tubuh terhadap insulin. Gejala yang sering dirasakan penderita diabetes antara lain poliuria (sering buang air kecil), polidipsia (sering haus), dan polifagia (banyak makan/mudah lapar). Selain itu sering pula muncul keluhan penglihatan kabur, koordinasi gerak anggota tubuh terganggu, kesemutan pada tangan atau kaki, timbul gatal-gatal yang seringkali sangat mengganggu (pruritus), dan berat badan menurun tanpa sebab yang jelas (DepKes 2005).

Penegakan DM jika gula darah puasa 126 mg/ dL atau gula darah puasa tidak ada asupan kalori paling sedikit 8 jam atau 2 jam setelah makan 200 mg / dL atau A1C 6,5% atau glukosa plasma acak sebesar 200 mg / dL (ADA 2016).

### **2. Klasifikasi DM**

**2.1 DM tipe I.** DM tipe I disebut *insulin-dependen diabetes melitus* (IDDM) disebabkan oleh kerusakan autoimun seluler dari sel-sel beta pankreas sehingga tubuh perlu masukan insulin dari luar, biasa memiliki tubuh kurus, terjadi sejak kecil ataupun setelah dewasa (ADA 2016).

**2.2 DM tipe II.** DM tipe II disebut *non-insulin dependent diabetes melitus* (NIDDM). DM tipe II ini mengalami resistensi insulin dan gangguan sekresi insulin. Sebagian besar, penderita DM tipe II memiliki kelebihan berat badan atau obesitas. Kelebihan berat badan itu sendiri menyebabkan resistensi insulin (ADA 2016).

**2.3 DM Gestasional.** DM Gestasional adalah intoleransi glukosa yang didiagnosis pada kehamilan yang tidak terkait DM tipe I atau tipe II. DM gestasional meningkatkan resiko hiperglikemik untuk ibu, janin, dan neonatal pada usia kehamilan 24-28 minggu (ADA 2016). Beberapa akibat buruk yang dapat terjadi antara lain malformasi kongenital, peningkatan berat badan bayi ketika lahir, dan meningkatnya risiko mortalitas perinatal. Wanita yang pernah menderita DM gestasional akan lebih besar risikonya untuk menderita DM di masa yang akan datang (Depkes 2005).

**2.4 DM tipe lain.** DM tipe lain merupakan suatu keadaan hiperglikemi karena etiologi lain yang bersifat spesifik di antaranya: kerusakan genetik, baik pada sel beta maupun kerja insulin, penyakit-penyakit tertentu seperti penyakit pada kelenjar eksokrin pankreas, endokrinopati, iatrogenik, penyakit akibat zat kimia, infeksi virus dan autoimun, penyakit metabolik endokrin lain, dan sindrom genetik lain yang berkaitan dengan DM (Ndraha 2014).

### **3. Patofisiologi DM**

Glukosa merupakan karbohidrat terpenting yang kebanyakan diserap ke dalam aliran darah dan disintesis di hati. Glukosa adalah bahan bakar utama dalam jaringan tubuh serta berfungsi untuk menghasilkan energi. Kadar glukosa darah sangat erat kaitannya dengan penyakit DM. Peningkatan kadar glukosa darah sewaktu  $\geq 200$  mg/dL yang disertai dengan gejala poliuria, polidipsia, polifagia, dan penurunan berat badan yang tidak dapat dijelaskan sebabnya sudah cukup untuk menegakkan diagnosis DM (Amir *et al.* 2015).

Terdapat dua jenis hormon yang disekresi pankreas berperan dalam pengaturan kadar glukosa darah meliputi hormon yang menurunkan kadar glukosa darah yaitu insulin dan hormon yang dapat meningkatkan kadar gula darah, yaitu epinefrin, kortisol, *glucagon*, *adrenocorticotropic hormone* (ACTH), kortikosteroid, dan tiroid.

Sekresi insulin pada sel beta pankreas yang akan mensupresi *glukoneogenesis* hepar dan menekan *glikogenolisis*. Insulin dilepaskan untuk meningkatkan ambilan glukosa di otot dan jaringan perifer. Epinefrin bereaksi pada hati meningkatkan konversi glikogen menjadi glukosa dalam keadaan stress. Sedangkan kortisol memiliki efek meningkatkan metabolisme glukosa, sehingga asam amino, laktat, dan piruvat diubah di hati menjadi glukosa (*gluconeogenesis*) akhirnya menaikkan kadar gula darah. Glukagon meningkatkan kadar gula darah dengan cara mengkonversi glikogen di hati (bentuk karbohidrat yang tersimpan pada mamalia) menjadi glukosa, sehingga gula darah dapat menjadi naik. ACTH dan glukokortikoid pada korteks adrenal dapat meningkatkan pembentukan glukosa baru oleh hati, meningkatkan lipofisis dan katabolisme karbohidrat (Kuswandi *et al.* 2008)

#### **4. Komplikasi DM**

Kematian pada penderita DM terjadi tidak secara langsung akibat hiperglikemia, tetapi berhubungan dengan adanya komplikasi yang terjadi. Komplikasi pada penderita DM timbul karena kadar glukosa tidak terkontrol dan tidak tertangani dengan baik sehingga menyebabkan timbulnya komplikasi kronik, dapat terjadi pada pembuluh darah besar (makrovaskuler) dan pembuluh darah kecil (mikrovaskuler).

Komplikasi makrovaskular yang umum berkembang pada penderita DM adalah penyakit jantung koroner (*coronary heart disease* = CAD), penyakit pembuluh darah otak, dan penyakit pembuluh darah perifer (*peripheral vascular disease* = PVD). Pada komplikasi makrovaskuler terjadinya penyumbatan pada pembuluh darah besar seperti di jantung dan di otak yang sering mengakibatkan kematian serta penyumbatan pembuluh darah besar di ekstremitas bawah yang mengakibatkan ganggren di kaki sehingga banyak penderita DM yang harus kehilangan kaki karena harus diamputasi.

Komplikasi mikrovaskuler antara lain retinopati, nefropati, dan neuropati. Pada komplikasi mikrovaskuler terjadinya penyumbatan pada pembuluh darah kecil seperti di ginjal yang dapat menyebabkan penderita mengalami gangguan ginjal dan di mata dapat mengakibatkan penderita mengalami gangguan penglihatan bahkan kebutaan (Yuhelma *et al.* 2013).

## 5. Pengelolaan DM

Penatalaksanaan DM mempunyai tujuan akhir untuk menurunkan morbiditas dan mortalitas DM, yang secara spesifik ditujukan untuk mencapai 2 target utama, yaitu menjaga agar kadar glukosa plasma berada dalam kisaran normal dan mencegah atau meminimalkan kemungkinan terjadinya komplikasi diabetes (Depkes 2005).

ADA merekomendasikan beberapa parameter yang dapat digunakan untuk menilai keberhasilan penatalaksanaan DM yang dapat dilihat pada Tabel 1.

**Tabel 1. Target Penatalaksanaan DM**

Parameter	Kadar Ideal Yang Diharapkan
Kadar Glukosa Darah Puasa	80–120mg/dl
Kadar Glukosa Plasma Puasa	90–130mg/dl
Kadar Glukosa Darah Saat Tidur (Bedtime blood glucose)	100–140mg/dl
Kadar Glukosa Plasma Saat Tidur (Bedtime plasma glucose)	110–150mg/dl
Kadar Insulin	<7 %
Kadar HbA1c	<7mg/dl

**Sumber :DepKes ( 2005).**

## 6. Terapi Non Farmakologi DM

**6.1 Diet.** Diet berfungsi untuk menunda perkembangan dari pradiabetes menjadi DM tipe II dan bermanfaat pada proses pengobatan DM tipe II dengan cara pengurangan berat badan berlebih dari penderita DM dan memperbaiki indikator klinis seperti manajemen obesitas. Penurunan berat badan berkelanjutan hingga 5%, dapat mengontrol glikemik dan mengurangi kebutuhan obat-obatan penurun glukosa darah. Penurunan berat badan dapat dicapai dengan program gaya hidup dengan mengurangi energi 500-750 kkal/hari atau mengonsumsi energi 1.200-1.500 kkal/hari untuk wanita dan 1.500-1.800 kkal/hari untuk pria, disesuaikan dengan berat badan awal seseorang (ADA 2016).



**6.2 Olah raga.** Olah raga adalah suatu cara penggunaan energi dan merupakan bagian penting dari rencana pengelolaan DM. Olah raga terbukti meningkatkan kontrol glukoseptor, mengurangi faktor risiko kardiovaskular, berkontribusi terhadap penurunan berat badan, dan meningkatkan kesehatan. Intervensi latihan terstruktur sekurang-kurangnya 8 minggu dapat menurunkan A1C rata-rata 0,66% pada orang dengan DM tipe II (ADA 2016).

## **7. Terapi farmakologi DM**

**7.1 Golongan sulfonilurea.** Sulfonilurea melakukan tindakan hipoglikemik dengan merangsang sekresi insulin pankreas. Rangsangannya melalui interaksi dengan ATP sensitif K channel pada membran sel-sel beta Langerhans yang menimbulkan depolarisasi membran dan keadaan ini akan membuka kanal  $Ca^{2+}$ , sehingga ion  $Ca^{2+}$  akan masuk sel beta Langerhans, merangsang granula yang berisi insulin dan akan terjadi sekresi insulin dengan jumlah yang ekuivalen dengan peptida-C. Selain itu, sulfonilurea juga dapat mengurangi klirens insulin di hepar. Sulfonilurea dibagi menjadi dua kelompok: agen generasi pertama, yang meliputi klorpropamida, tolazamida, dan tolbutamida, dan agen generasi kedua, yang meliputi glipizide, glimepiride, dan glyburide (Katzung *et al.* 2012).

**7.2 Golongan meglitinida.** Golongan meglitinida ini merangsang insulin dengan menutup kanal K yang ATP independent di sel beta Langerhans pankreas. Repaglinid dan nateglinid merupakan obat golongan meglitinida (Katzung *et al.* 2012).

**7.3 Golongan biguanid.** Golongan biguanid yaitu metformin. Metformin mengaktifkan kinase protein aktif adenosin monofosfat di hati, menyebabkan pengambilan glukosa hati dan menghambat glukoneogenesis melalui efek kompleks pada enzim mitokondria (Toque 2017).

**7.4 Golongan thiazolidindion.** Golongan TZD memperbaiki aksi insulin. TZD adalah agonis PPAR dan memfasilitasi pengambilan glukosa meningkat di berbagai jaringan termasuk adiposa, otot, dan hati. Mekanisme kerja meliputi pengurangan akumulasi asam lemak bebas, pengurangan sitokin inflamasi, peningkatan kadar adiponektin, dan pelestarian integritas fungsi sel beta

Langerhans. Rosiglitazone dan pioglitazone adalah golongan obat TZD (Toque 2017).

**7.5 Golongan inhibitor  $\alpha$ -glukosidase.** Golongan obat *inhibitor  $\alpha$ -glukosidase* adalah akarbosa dan miglitol. Obat ini bekerja secara kompetitif menghambat kerja enzim glukosidase alfa di dalam saluran cerna. Enzim ini berfungsi menghambat proses metabolisme dan penyerapan karbohidrat pada dinding usus halus. Hal ini akan menyebabkan turunnya penyerapan glukosa sehingga dapat menurunkan kadar glukosa dalam darah yang meningkat setelah makan (BPOM 2010).

**7.6 Golongan agonis glukagon-like peptide 1 (GLP-1).** *Glucagon-like peptide-1* (GLP-1) merupakan suatu hormon peptida yang dihasilkan oleh sel L di mukosa usus. Agonis GLP-1 dapat bekerja pada sel-beta sehingga terjadi peningkatan pelepasan insulin, mempunyai efek menurunkan berat badan, menghambat pelepasan glukagon, dan menghambat nafsu makan. Efek penurunan berat badan agonis GLP-1 juga digunakan untuk indikasi menurunkan berat badan pada pasien DM dengan obesitas. Pada percobaan binatang, obat ini terbukti memperbaiki cadangan sel beta pankreas. Efek samping yang timbul pada pemberian obat ini antara lain rasa sebah dan muntah. Obat yang termasuk golongan ini adalah: Liraglutide, Exenatide, Albiglutide, dan Lixisenatide (Konsensus 2015).

**7.7 Golongan inhibitor dipeptidyl peptidase-4 (DPP-4).** Golongan inhibitor DPP-4 adalah kelas obat yang digunakan dengan diet dan olahraga untuk mengendalikan gula darah tinggi pada orang dewasa dengan DM tipe II. Obat-obatan dalam golongan inhibitor DPP-4 meliputi sitagliptin, saxagliptin, linagliptin, dan alogliptin. Golongan inhibitor DPP-4 tersedia sebagai produk tunggal dan dikombinasikan dengan obat diabetes lainnya seperti metformin (FDA 2015).

**7.8 Golongan inhibitor sodium-glucose-Co-transporter 2 (SGLT2).** Obat golongan penghambat SGLT-2 merupakan obat antidiabetes oral jenis baru yang menghambat penyerapan kembali glukosa di tubuli distal ginjal dengan cara menghambat kinerja transporter glukosa SGLT-2. Obat yang termasuk golongan

ini antara lain: Canagliflozin, Empagliflozin, Dapagliflozin, dan Ipragliflozin (Konsensus 2015).

**7.9 Golongan amilinomimetik.** Pramlintide merupakan golongan amilinomimetik yaitu antihyperglukemik injeksi yang menurunkan kadar glukosa *post-prandial* dengan menekan pelepasan glukagon dan memperlambat waktu pengosongan makanan di lambung (Katzung *et al.* 2012).

## F. Pioglitazone

### 1. Pemerian dan Kelarutan

Jarum tak berwarna dari dimetilformamida dan air. Kelarutan praktis tidak larut dalam air, tidak larut dalam eter, sedikit larut dalam etanol, sangat sedikit larut dalam aseton, dan asetonitril, sangat larut dalam dimetilformamida (O'Neil 2006; Physicians Desk Reference 2012).

### 2. Indikasi dan Kontraindikasi

Indikasi pioglitazone digunakan untuk penderita DM tipe II dan kontraindikasi dengan penyakit liver atau *congestive heart failure* (Konsensus 2015).

### 3. Dosis dan Aturan Pakai

Dosis awal yang biasa adalah 15-30 mg / hari dan maksimum 45 mg / hari (Katzung *et al.* 2012).

### 4. Mekanisme Kerja

Mengatur ekspresi gen dengan mengikat PPAR- $\gamma$  dan PPAR- $\alpha$ . Bekerja dengan cara meningkatkan sensitivitas insulin pada jaringan target, seperti menurunkan glukoneogenesis di hati (Tuyet & Chuyen 2007).

### 5. Efek Samping

Efek samping pioglitazone seperti retensi cairan, edema, anemia, penambahan berat badan, edema makula, patah tulang pada wanita, tidak dapat digunakan jika CHF dan penyakit hati (Katzung *et al.* 2012).

## G. Glibenklamid

### 1. Pemerian dan Kelarutan

Glibenklamid adalah serbuk hablur, putih atau hampir putih, tidak berbau atau hampir tidak berbau. Glibenklamid mempunyai sifat kelarutan yang praktis tidak larut di dalam air dan eter, sukar larut dalam etanol dan metanol, larut sebagian dalam kloroform (Depkes 1995).

## **2. Indikasi dan Kontraindikasi**

Indikasi glibenklamid digunakan untuk penderita DM tipe II dan kontraindikasi dengan penderita yang memiliki gangguan fungsi, gagal ginjal, pada porfiria dan tidak digunakan pada ibu menyusui dan selama kehamilan (DepKes 2005).

## **3. Dosis dan Aturan Pakai**

Dosis awal 5 mg satu kali sehari segera setelah makan pagi, dosis lanjut usia 2.5 mg, dan dosis maksimum 15 mg sehari (Dipiro 2008).

## **4. Mekanisme Kerja**

Glibenklamid bekerja dengan cara menstimulasi sel beta pankreas untuk mengeluarkan insulin. Mekanisme kerja glibenklamid yaitu glibenklamid akan beraksi dengan reseptor sulfonilurea, berupa ATP sensitive K channel yang menstimulasi depolarisasi kanal Ca dari sel beta pankeas dan merangsang sekresi insulin (Gumantara & Oktarlina 2016).

## **5. Efek Samping**

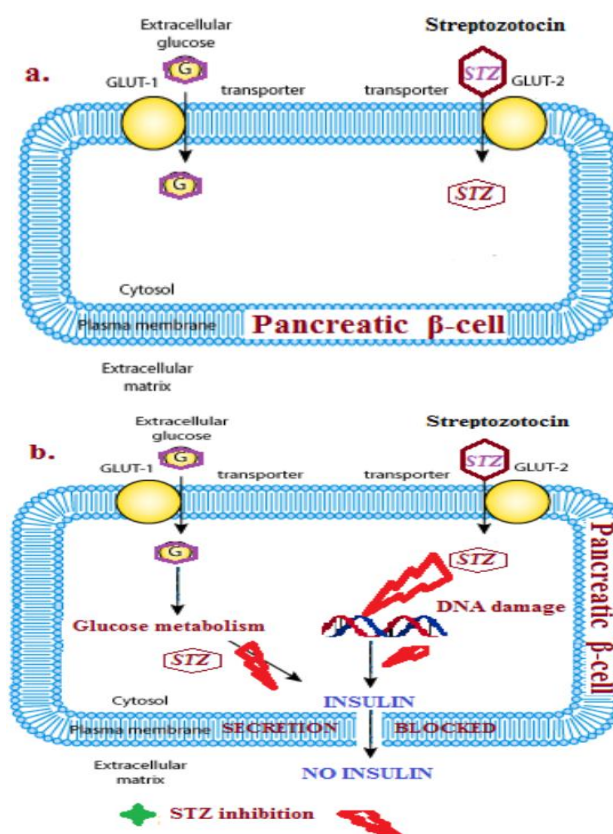
Efek samping glibenklamid seperti hipoglikemia, gangguan ringan dan jarang, diantaranya gangguan gastrointestinal seperti mual, muntah, diare dan konstipasi. Gangguan pada susunan saraf pusat, gejala hematologi seperti leukopenia, trombositopenia, agranulositosis dan anemia aplastik, dan cenderung meningkatkan berat badan sehingga merugikan untuk pasien obesitas (Depkes 2005).

## **H. Diabetogenik**

STZ (2-deoksi-2-[3-metil-3-nitrosoourea]1-D-glukopiran), dengan rumus molekul C<sub>8</sub>H<sub>15</sub>N<sub>3</sub>O<sub>7</sub>. Berbentuk bubuk kristal kuning atau putih pucat. STZ memiliki berat molekul 265 g / mol. STZ disintesis oleh mikroba *Streptomyces achromogenes* (bakteri gram positif) dengan sifat antibakterinya berspektrum

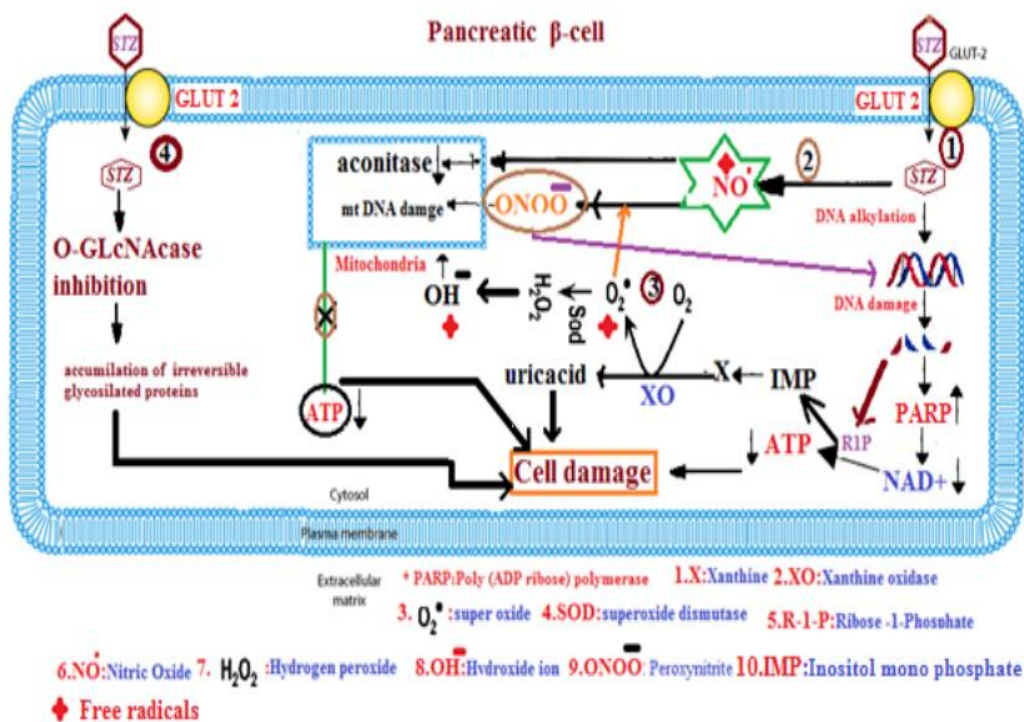
luas. STZ banyak digunakan untuk menginduksi DM pada model hewan tikus dengan menghambat sel beta. STZ memiliki empat sifat biologis penting yaitu fungsi antibiotiknya, sel beta *-cytotoxic*, *oncolytic*, serta efek onkogenik (Gound *et al.* 2015).

STZ merupakan kelompok nitrourea yang bersifat hidrofilik karena memiliki gugus glukosa. Gugus glukosa dari STZ memungkinkan pengambilan selektif glukosa ke sel beta melalui transporter glukosa (GLUT-2) seperti Gambar 1a (Busieni *et al.* 2015). GLUT-2 bekerja memperantarai sel beta dalam mengambil glukosa dalam darah, sehingga STZ akan ikut diambil melalui proses pengambilan glukosa tersebut (Szkudelski 2001). STZ tidak hanya menyebabkan kerusakan pada sel-sel hepatosit di hati tetapi pada sel-sel tubular ginjal, kerusakan jaringan jantung, jaringan adiposa, meningkatkan stress oksidatif, peradangan dan disfungsi endotel dengan konsentrasi kerusakan lebih tinggi di hati, ginjal, usus, dan pancreas. STZ setelah masuk ke dalam sel akan menghambat metabolisme glukosa dan sekresi sel-sel beta pada pankreas seperti Gambar 2b (Gound *et al.* 2015).



Gambar 1. Diagram skematik yang mewakili, a) Model STZ dan pengambilan glukosa Sel beta pankreas melalui transporter selektif. b) Penghambatan metabolisme glukosa Dan penghambatan sekresi insulin oleh STZ pada sel beta pankreas. Tanda merah mewakili Inaktivasi langkah-langkah metabolisme produksi insulin oleh STZ (Gound *et al.* 2015).

Mekanisme toksisitas sel-sel beta Langerhans pankreas oleh STZ meliputi: karbamoylation dan alkilasi komponen seluler; pelepasan oksida nitrat (NO); generasi radikal bebas dan stres oksidatif; dan penghambatan O-GlcNAcas seperti ditunjukkan pada Gambar 2.



Gambar 2. Mekanisme toksisitas sel-sel beta Langerhans pankreas oleh STZ (Gound *et al.* 2015).

Karbamoylation dan alkilasi komponen seluler, STZ adalah agen alkilasi yang sangat genotoksik, yang dapat menyebabkan kerusakan sel termasuk fragmentasi DNA dan pada akhirnya akan menyebabkan kematian sel. Setelah STZ masuk di dalam sel akan menyebabkan kerusakan sel, membentuk molekul isosianat dan molekul *methyldiazohydroxide*. Isosianat bisa mengalami intramolekuler karbamolisasi dan *methyldiazohydroxide* membentuk ion karbonium yang sangat reaktif (CH<sub>3</sub><sup>+</sup>). Mengaktifkan poly-ADP-ribose polymerase (PARP) dan menurunkan nikotinamida adenin dinukleotida (NAD<sup>+</sup>). Penurunan NAD<sup>+</sup> pada sel pankreas menyebabkan pengurangan ATP seluler,

sehingga menghambat sintesis insulin dan menginduksi DM, jika terjadi kondisi penurunan  $\text{NAD}^+$  yang sangat kritis akan mengarah ke penghentian fungsi seluler dan akhirnya kematian sel beta (Gound *et al.* 2015).

STZ melepaskan NO dibuktikan dengan meningkatnya aktivitas *guanyl cyclase* dan pembentukannya CGMP, yang merupakan ciri khas NO. Radikal NO menginaktivasi enzim mitokondria aconitase, merusak oksidasi substrat dan produksi ATP (Gound *et al.* 2015).

STZ akan menyebabkan hiperglikemia dikaitkan dengan peningkatan oksigen reaktif (ROS). *Glutathione peroksidase* dan *aktivitas superoksida dismutase* (SOD) menurun pada homogenat jaringan pankreas, hati dan ginjal (Gound *et al.* 2015).

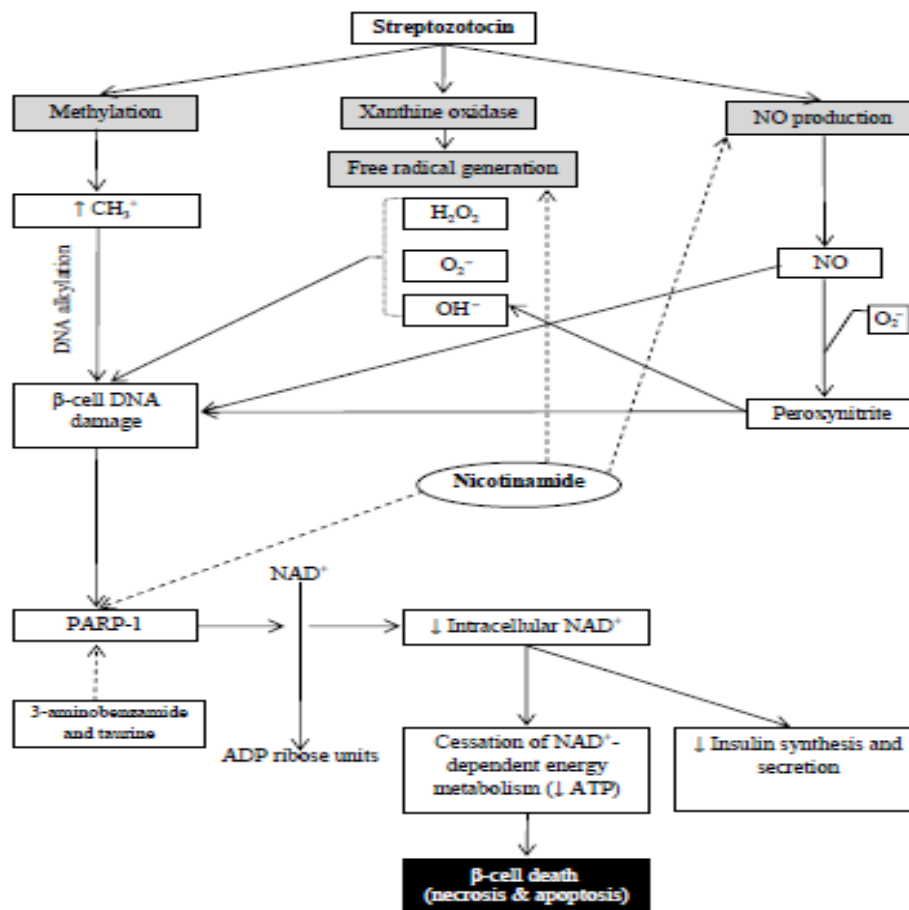
STZ secara khusus membunuh sel islet dengan menghambat *O-GlcNAcase*. Penghambatan *O-GlcNAcase* menghasilkan *hiper-O-GlcNAcylation* yang menyebabkan akumulasi protein berbahaya dan aktivasi jalur stres menuju apoptosis (Gound *et al.* 2015).

Menurut Szkudelski (2001), injeksi STZ secara intravena dengan dosis 40-60 mg/kg berat badan secara intraperitoneal untuk menginduksi DM tipe II.

Nikotiamid (piridin-3-karboksamida) adalah turunan vitamin B3 (niasin) vitamin yang larut dalam air. NA merupakan inhibitor PARP dan sintesis biokimia nikotinamida adenin dinukleotida (NAD). NA meningkatkan regenerasi sel  $\beta$  dan pertumbuhan sel islet dan menghambat apoptosis. NA digunakan untuk memproteksi sel-sel beta yang terkena sitotoksik seperti STZ seperti Gambar 3 (Ghasemi *et al.* 2014).

Untuk penggunaannya, NA dilarutkan dahulu dalam normal salin (NaCl 0,9%) yang mirip dengan cairan tubuh dan diberikan secara intraperitoneal 15 menit sebelum pemberian STZ. Sama halnya dengan dosis STZ, dosis NA yang diberikan tergantung dengan waktu perlakuan yang diinginkan. Jika waktu yang ditentukan untuk menghasilkan keadaan DM tipe 2 dengan dosis STZ sebesar 50 mg adalah 3 hari, maka dosis NA yang digunakan untuk melindungi pankreas sebesar 110 mg secara intra peritoneal. Semakin besar dosis NA, semakin tinggi

efek perlindungan yang diterima sel beta Langerhans terhadap toksisitas STZ (Szkudelski 2012; Ghasemi *et al.* 2014).



Gambar 3. Mekanisme toksisitas STZ dalam menginduksi diabetes dan proteksi NA terhadap sel beta (Ghasemi *et al.* 2014).

Keterangan: PARP (*poly ADP-ribose polymerase*); NO (*nitric oxide*);  $\text{H}_2\text{O}_2$  (*hydrogen peroxide*);  $\text{O}_2^-$  (*superoxide anion*); -----> Inhibitor; —————> Eksitasi.

## I. Diabetes Nefropati

### 1. Definisi Diabetes Nefropati

Nefropati diabetik adalah kelainan degeneratif vaskuler ginjal memiliki hubungan dengan gangguan metabolisme karbohidrat atau intoleransi gula pada DM, ditandai dengan albuminuria  $>300$  mg/24 jam atau  $>200$  mcg/menit pada minimal dua kali pemeriksaan dalam kurun waktu 3 sampai 6 bulan (Rivandi & Yonata 2015).



## 2. Etiologi Diabetes Nefropati

Kurang ter kendalinya kadar gula darah, kelainan hemodinamik (peningkatan aliran darah ginjal dan laju filtrasi glomerulus, peningkatan tekanan intraglomerulus, hipertensi, sindrom resistensi insulin, perubahan permeabilitas pembuluh darah, asupan protein berlebih dan gangguan metabolik (kelainan metabolisme polyol, pembentukan *advance glycation end product*, dan peningkatan produksi sitokin (Rivandi & Yonata 2015).

## 3. Patofisiologi Diabetes Nefropati

Hiperfiltrasi awal dari mekanisme patogenik dalam laju kerusakan ginjal. Hiperfiltrasi yang terjadi pada nefron lambat laun akan menyebabkan sklerosis dari nefron. Mekanisme terjadinya peningkatan laju filtrasi glomerulus pada nefropati diabetik kemungkinan disebabkan oleh dilatasi arteriol aferen oleh efek yang tergantung glukosa, yang diperantarai hormon vasoaktif, IGF-1, *nitric oxide*, prostaglandin dan glukagon. Efek langsung dari hiperglikemia adalah rangsangan hipertrofi sel, sintesis matriks ekstraseluler, serta produksi TGF- $\beta$  yang diperantarai oleh aktivasi protein kinase-C (PKC) yang termasuk dalam serine-threonin kinase yang memiliki fungsi pada vaskular seperti kontraktilitas, aliran darah, proliferasi sel, dan permeabilitas kapiler.

Pada awalnya, glukosa akan mengikat residu amino serta non-enzimatik menjadi basa Schiff glikasi, lalu terjadi penyusunan ulang untuk mencapai bentuk yang lebih stabil tetapi masih reversibel dan disebut sebagai produk amadori. Jika proses ini berlanjut terus, akan terbentuk *Advanced Glycation End-Product* (AGEs) yang ireversibel. AGEs diperkirakan menjadi perantara bagi beberapa kegiatan seluler seperti ekspresi adesi molekul yang berperan dalam penarikan sel-sel mononuklear, juga pada terjadinya hipertrofi sel, sintesa matriks ekstraseluler serta inhibisi sintesis *nitric oxide*. Proses ini akan terus berlanjut sampai terjadi ekspansi mesangium dan pembentukan nodul serta fibrosis tubulointerstisial sesuai dengan tahap I-V.

Dari kadar glukosa yang tinggi menyebabkan terjadinya glikosilasi protein membran basalis, sehingga terjadi penebalan selaput membran basalis, dan terjadi pula penumpukkan zat serupa glikoprotein membran basalis pada mesangium

sehingga lambat laun kapiler-kapiler glomerulus terdesak, dan aliran darah terganggu yang dapat menyebabkan glomerulosklerosis dan hipertrofi nefron yang akan menimbulkan nefropati diabetik. Nefropati diabetik menimbulkan berbagai perubahan pada pembuluh-pembuluh kapiler dan arteri, penebalan selaput endotelial, trombosis, adalah karakteristik dari mikroangiopati diabetik dan mulai timbul setelah periode satu atau dua tahun menderita DM. Hipoksia dan iskemia jaringan-jaringan tubuh dapat timbul akibat dari mikroangiopati khususnya terjadi pada retina dan ginjal. Manifestasi mikroangiopati pada ginjal adalah nefropati diabetik, dimana akan terjadi gangguan faal ginjal yang kemudian menjadi kegagalan faal ginjal menahun pada penderita yang telah lama mengidap DM (Rivandi & Yonata 2015).

#### **4. Tahap-Tahap Diabetes Nefropati**

**4.1 Tahap I.** Pada tahap ini LGF meningkat sampai dengan 40% di atas normal yang disertai pembesaran ukuran ginjal. Albuminuria belum nyata dan tekanan darah biasanya normal. Tahap ini masih reversibel dan berlangsung 0-5 tahun sejak awal diagnosis DM tipe II ditegakkan. Pengendalian glukosa darah yang ketat, biasanya kelainan fungsi maupun struktur ginjal akan normal kembali.

**4.2 Tahap II.** Terjadi setelah 5-10 tahun diagnosis DM, perubahan struktur ginjal berlanjut, dan LGF masih tetap meningkat. Albuminuria hanya akan meningkat setelah latihan jasmani, keadaan stres atau kendali metabolik yang memburuk. Keadaan ini dapat berlangsung lama. Hanya sedikit yang akan berlanjut ke tahap berikutnya. Progresivitas biasanya terkait dengan memburuknya kendali metabolik. Tahap ini disebut sebagai tahap sepi (silent stage).

**4.3 Tahap III.** Merupakan tahap awal nefropati saat mikroalbuminuria telah nyata. Tahap ini biasanya terjadi 10-15 tahun diagnosis DM tegak. Secara histopatologis, juga telah jelas penebalan membran basalis glomerulus. LGF masih tetap ada dan mulai meningkat. Keadaan ini dapat bertahan bertahun-tahun dan progresivitas masih mungkin dicegah dengan kendali glukosa dan tekanan darah yang kuat.

**4.4 Tahap IV.** Merupakan tahapan saat dimana nefropatik diabetes bermanifestasi secara klinis dengan proteinuria yang nyata dengan pemeriksaan biasa, tekanan darah sering meningkat tajam dan LGF menurun di bawah normal. Ini terjadi setelah 15-20 tahun DM tegak. Penyulit diabetes lainnya sudah pula dapat dijumpai seperti retinopati, neuropati, gangguan profil lemak dan gangguan vascular umum. Progresivitas ke arah gagal ginjal hanya dapat diperlambat dengan pengendalian glukosa darah, lemak darah dan tekanan darah.

**4.5 Tahap V.** Tahap akhir gagal ginjal, saat LGF sudah sedemikian rendah sehingga penderita menunjukkan tanda-tanda sindrom uremik, dan memerlukan tindakan khusus yaitu terapi pengganti, dialisis maupun cangkok ginjal (Rivandi & Yonata 2015).

## **J. Mikroalbuminuria**

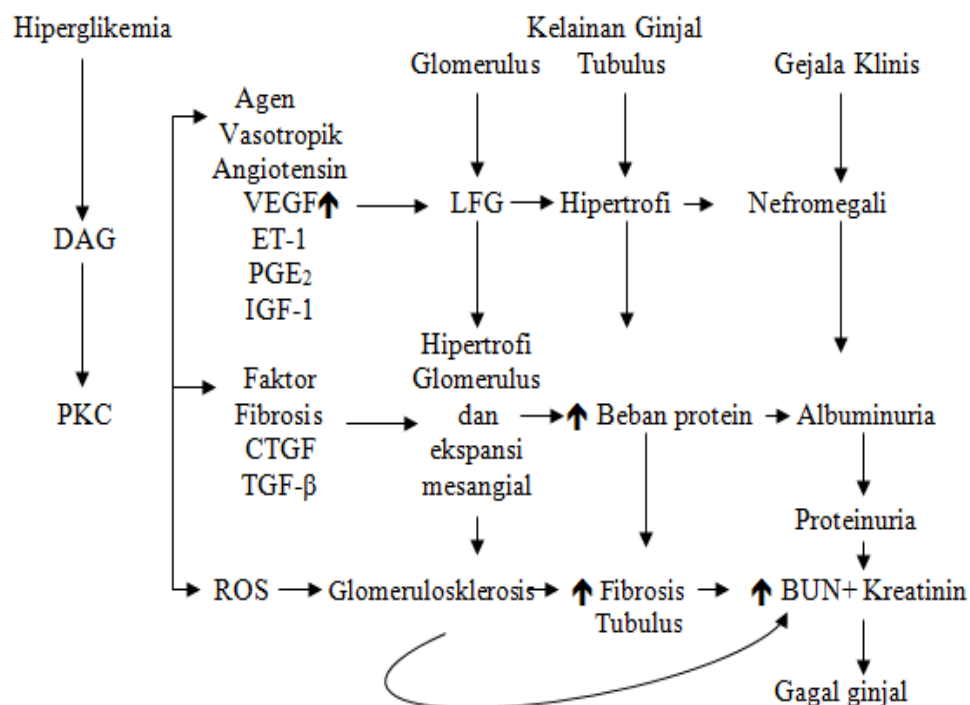
Mikroalbuminuria didefinisikan lebih dari 300 mg albumin / hari atau lebih dari 20 µg albumin / menit atau lebih dari 30 sampai 299 µg kreatinin / mg dalam urin. Merupakan penanda awal dari nefropati diabetik dan merupakan gambaran adanya disfungsi endotel, gangguan membran basal glomerulus (Rikarni *et al.* 2007).

Protein terutama albumin yang keluar lewat urine melebihi kadar normal, menjadi tanda adanya gangguan pada sistem filter (penyaringan) di ginjal tepatnya di glomerulus yang mengakibatkan banyak protein yang keluar, akibatnya kadar albumin dalam darah menjadi turun (hipoalbuminemia). Mikroalbuminuria merupakan salah satu penanda keterlibatan ginjal sebagai organ target pada penderita obesitas (Adam *et al.* 2013).

Perubahan struktural dan fungsional pada ginjal akibat DM disebabkan karena tingginya kadar glukosa dalam darah (hiperglikemia). Hiperglikemia menyebabkan terjadinya peningkatan ekspresi GLUT-1 pada sel mesangial dan glomerulus ginjal sehingga terjadi peningkatan ambilan glukosa. Beberapa jalur yang telah teridentifikasi menjadi aktif akibat peningkatan ambilan glukosa antara lain: AGEs (*Advance Glicosylated End-products*) jalur polyol, *Renin Angiotensin System* (RAS), dan stress oksidatif yang akan mengaktifkan jalur PKC (Protein

Kinase C) (Sulistyoningrum 2014).

Mekanisme patogenesis nefropati diabetik sampai gagal ginjal dapat dilihat pada Gambar 4.



Gambar 4. Skema patogenesis nefropati diabetik sampai gagal ginjal stadium terminal (Sulistyoningrum 2014).

**Keterangan:** DAG: *Diacyl Gliserol*, PKC: *Protein Kinase C*, VEGF: *Vascular Endothelial Growth Factor*, ET-1: *Endothelin-1*, PGE2: *Prostaglandin E2*, IGF-1: *Insulin Growth Factor-1*, LFG: *Laju Filtrasi Glomerulus*, CTGF: *Connective Tissue Growth Factor*, TGF- $\beta$ : *Transforming Growth Factor- $\beta$* , ROS: *Reactive Oxygen Specie*, BUN: *Blood Urea Nitrogen*.

Kondisi hiperglikemia akan mengaktifkan Protein Kinase C (PKC) melalui diasilgliserol. Protein Kinase C selanjutnya menstimulasi aktivitas kerja angiotensin sehingga laju filtrasi glomerulus (LFG) terganggu. *Insulin growth factor-1* (IGF-1), VEGF dan *endhotelin-1* (ET-1) memicu hipertrofi tubulus ginjal. Protein Kinase C dapat menstimulasi TNF- $\alpha$  dan NF $\kappa$ B serta meningkatkan aktivitas fibrotik yaitu CTGF dan TGF- $\beta$ . Kedua faktor fibrosis tersebut akan meningkatkan proliferasi jaringan ikat dan menyebabkan hipertrofi glomerulus dan ekspansi mesangial. Penurunan fungsi enzim antioksidan juga diperparah PKC yang menstimulasi pengeluaran sitokin inflamasi yang dapat menyebabkan glomerulosklerosis. Kerusakan glomerulus dan tubulus mengakibatkan ekskresi

protein yang berlebihan (albuminuria dan proteinuria) serta peningkatan ureum dan kreatinin dalam darah yang pada akhirnya berujung pada gagal ginjal (Sulistyoningrum 2014).

Hiperglikemia pada DM juga dapat memicu peningkatan *reactive oxygen species* (ROS). Stress oksidatif merupakan keadaan penurunan fungsi enzim-enzim antioksidan karena produksi ROS yang berlebihan. Kadar ROS yang berlebihan menstimulasi pengeluaran sitokin pro inflamasi. Sitokin pro inflamasi tersebut adalah interleukin IL-1, IL-6, IL-8, *tumor necrosis factor- $\alpha$*  (TNF- $\alpha$ ), *nuclear factor kappa B* (NF $\kappa$ B), *monocyte chemoattractant protein-1* (MCP-1), *cellular adhesion molecules* (CAMs), *nitric oxide* (NO), peroksinitrit (ONOO<sup>-</sup>), *connective tissue growth factor* (CTGF), dan *transforming growth factor- $\beta$*  (TGF- $\beta$ ) yang mengakibatkan kerusakan struktural dan fungsional ginjal (Sulistyoningrum 2014).

Pemeriksaan tes mikroalbuminuria dapat dilakukan dengan tiga cara, yaitu *standar office multi-test stick for protein, albumin to creatinine ratio* (laki-laki : > 2,0 mg/mmol, perempuan : > 2,8 mg/mmol), urin tampung 24 jam (normal < 30 mg/hari, mikroalbuminuria : 30-300 mg/hari, dan kelebihan proteinuria : > 300 mg/hari) (Klassen 2003).

## **K. Histopatologi Organ Ginjal**

### **1. Pengertian Organ Ginjal**

Ginjal memiliki bentuk seperti kacang dengan jutaan nefron, terletak retroperitoneal di kedua sisi kolumna vertebralis, di depan dua kosta terakhir dan tiga otot-otot besar (m. transversus abdominis, m. kuadratus lumborum dan m. psoas mayor). Ginjal kanan terletak lebih rendah dari kiri karena besarnya lebus hepar. Ginjal berfungsi sebagai pengatur keseimbangan tubuh, elektrolit, dan asam basa dengan cara filtrasi darah, reabsorpsi selektif air, elektrolit dan non elektrolit, serta mengekskresikan kelebihan sebagai urin (Price & Wilson 2005).

Struktur mikroskopis ginjal normal, yang terbagi atas korteks di bagian luar berwarna coklat dan medulla di bagian dalam berwarna coklat gelap. Korteks mengandung jutaan alat penyaring yang disebut nefron yang terdiri dari tubulus kontortus dan glomerulus. Medula terdiri atas sejumlah piramid ginjal dengan basis menghadap korteks dan bagian apeks yang menonjol ke medial. Piramida berguna untuk mengumpulkan hasil ekskresi yang kemudian disalurkan ke tubulus kolektivus menuju pelvis ginjal (Tortora 2011).

## **2. Pengertian Histopatologi**

Histopatologi adalah cabang biologi yang mempelajari kondisi dan fungsi jaringan dalam hubungannya dengan penyakit. Analisis histopatologi dilakukan dengan membandingkan kondisi jaringan sehat terhadap jaringan sampel sehingga dapat diketahui apakah suatu penyakit yang diduga benar-benar menyerang atau tidak. Dengan kata lain, histopatologi adalah ilmu yang bersifat deskriptif dan interpretatif. Tujuan mempelajari histopatologi organ ginjal yaitu agar memahami dan mampu menginterpretasi kerusakan jaringan melalui preparat histopatologi (Rizki *et al.* 2015).

## **3. Metode Pembuatan Preparat Histopatologi**

Cara pembuatan preparat histopatologi jaringan hewan, menyiapkan jaringan segar dalam pengamatan mikroskopis, fiksasi, dehidrasi, *clearing*, *embedding*, pemotongan jaringan (*cutting*), dan pewarnaan atau *staining*. Metode pembuatan preparat menggunakan pewarnaan haematoksisilin eosin (HE). Haematoksisilin berwarna biru, bekerja sebagai pelarut basa yang berfungsi memberikan warna pada inti sel atau unsur basofilik jaringan, xylene yang berfungsi untuk membersihkan paraffin. Eosin yang berwarna merah bersifat asam tujuannya untuk mewarnai sitoplasma, dan rehidrasi dengan alkohol 96% - 70% sebagai media penghantar untuk proses pewarnaan dengan HE. Apabila proses ini tidak dilakukan maka akan mempersulit pada saat pengamatan di bawah mikroskop (Rizki *et al.* 2015).

## **4. Kerusakan Ginjal**

**4.1 Hipertropi.** Hipertropi Selular dan adhesi antara glomerulus dengan kapsula Bowman. Awal terjadinya DM, karena kadar glukosa darah yang tinggi maka terjadi peningkatan tarikan dan tekanan mesangial karena proliferasi sel sehingga mesangium glomerulus mengembang. Selanjutnya terjadi hipertropi selular yang menstimulasi pelebaran sel glomerulus (Handani *et al.* 2015). Pembengkakan glomerulus terjadi karena adanya proliferasi endotel dan infiltrasi sel-sel leukosit karena kompleks imun yang mengendap akibat respons peradangan. Pembengkakan glomerulus terjadi perubahan-perubahan berupa proliferasi kapsula Bowman sehingga mengakibatkan terjadinya adhesi antara glomerulus dengan kapsula Bowman dan penyempitan ruang Bowman (Sulistyoningrum 2014).

**4.2 Sklerosis.** DM menyebabkan dinding-dinding arteri dan arteriol dalam ginjal dan jaringan lainnya mengalami kerusakan. Sklerosis menyebabkan penebalan dan penyempitan dalam dinding pembuluh darah yang mengalir terus dari lumen (Handani *et al.* 2015).

**4.3 Hemoragi.** Ada penebalan dan penyempitan dalam dinding pembuluh darah menyebabkan oksigen yang sampai ke jaringan tidak cukup sehingga menyebabkan luka pada jaringan (hemoragi) pada semua jaringan, termasuk ginjal (Handani *et al.* 2015).

**4.4 Inflamasi.** Inflamasi (reaksi peradangan) merupakan mekanisme penting untuk mempertahankan dari bahaya yang mengganggu keseimbangan juga memperbaiki struktur serta gangguan fungsi jaringan yang ditimbulkan bahaya tersebut (Handani *et al.* 2015).

**4.5 Nekrosis.** DM menyebabkan keluarnya ion kalsium dari mitokondria mengakibatkan gangguan homeostasis yang merupakan awal dari matinya sel. Nekrosis diawali dengan perubahan morfologi inti sel yaitu piknosis. Tahap berikutnya inti pecah (karioreksis) dan inti menghilang (kariolisis) (Handani *et al.* 2015).

## L. Hewan Uji

Pemilihan hewan coba yang sesuai sangat penting agar dapat tercapai tujuan penelitian. Dalam penelitian ini digunakan adalah tikus karena tikus memiliki kemiripan yang sangat dekat dengan manusia, terutama pada saluran cerna.

### 1. Sistematika Hewan Uji

Kedudukan tikus dalam sistematika sebagai berikut :

Filum	: Chordata
Sub filum	: Vertebrata
Kelas	: Mammalia
Bangsa	: Rodentia
Suku	: Muridae
Marga	: Ratus
Jenis	: <i>Rattus Novergricus</i> (Krinke 2000).

### 2. Karakteristik Utama Tikus

Tikus putih merupakan hewan yang relatif resisten terhadap infeksi, sangat cerdas, tenang dan mudah ditangani. Tikus putih tidak begitu bersifat fotofobik, kecenderungan untuk berkumpul dengan sesamanya tidak begitu besar. Suhu tubuh normal 37.5°C, laju respirasi normal 210 tiap menit. Tikus jantan memiliki kecepatan metabolisme obat lebih cepat, kondisi tubuh yang lebih stabil dibandingkan dengan tikus betina yang secara berkala dalam tubuhnya mengalami perubahan kondisi seperti kehamilan, menyusui, dan menstruasi (Sugiyanto 1995).

### 3. Kandang dan Perawatan Tikus

Ruangan yang digunakan untuk percobaan hendaknya memenuhi persyaratan suhu, kelembaban, cahaya dan kebisingan yang sesuai dengan kebutuhan hidup hewan uji, yaitu suhu ruangan diatur menjadi 22°C ± 3°C,



dengan kelembaban relatif 30–70%, dan penerangan 12 jam terang 12 jam gelap. Ruangan harus selalu dijaga kebersihannya. Hewan diberi pakan yang sesuai standar laboratorium dan makanan tikus bervariasi dalam susunannya, sebagai contoh komposisinya meliputi: protein 20-25%, karbohidrat 45-50%, serat 5%. Juga harus mengandung vitamin A, vitamin D, alfa tokoferol, asam linoleat, thiamin, riboflavin, panthothenat, biotin, mineral, fosfor, magnesium, potasium, tembaga, iodin, besi dan timah. Setiap hari seekor tikus dewasa membutuhkan makanan antara 12-20 g, serta minum air antara 20-45 ml, serta mineral, besi sebesar 35 mg/kg (BPOM 2014; Smith & Mangkoewidjojo 1987).

Hewan dipelihara dalam kandang yang terbuat dari material yang kedap air, kuat dan mudah dibersihkan, ruang pemeliharaan bebas dari kebisingan. Luas area kandang tikus yaitu dengan luas kandang 148,4 cm<sup>2</sup> dan tinggi 17,8 cm (BPOM 2014).

### **M. Landasan Teori**

Kondisi hiperglikemik pada penderita diabetes melitus dapat menimbulkan berbagai komplikasi. Salah satu komplikasi diabetes melitus yang cukup berat adalah terjadinya nefropati. Prevalensi dari DM tipe 2 yang berkembang menjadi nefropati diabetik sebesar 20-30% (Markum & Galastri 2004).

DM nefropati merupakan komplikasi penyakit diabetes mellitus yang termasuk dalam komplikasi mikrovaskular, yaitu komplikasi yang terjadi pada pembuluh darah halus (kecil). Hal ini dikarenakan terjadi kerusakan pada pembuluh darah halus di ginjal. Kerusakan pembuluh darah menimbulkan kerusakan glomerulus yang berfungsi sebagai penyaring darah yang dapat berakhir sebagai gagal ginjal (Ritz *et al.* 2000). Komplikasi ini dikaitkan dengan adanya protein pada urin dan gangguan fungsi ginjal yang progresif. Peran proteinuria khususnya mikroalbuminuria sebagai petanda awal nefropati diabetik. Diagnosis stadium klinis nefropati diabetik secara klasik adalah ditemukannya proteinuria > 0,5 g/hari (Muslim 2014). Mikroalbuminuria yang melebihi batas normal merupakan penanda dari nefropati diabetik, menjadi gambaran adanya

disfungsi endotel, gangguan membran basal glomerulus dan gangguan endotel pembuluh darah secara sistemik (Rikarni 2007).

DM nefropati juga dapat menimbulkan beberapa kelainan pada struktur histologis ginjal. Karakteristik histologis DM nefropati adalah perubahan struktur pada glomerulus. Glomerulus pada keadaan nefropati diabetik mengalami penambahan volume (hipertrofi) yang disebabkan karena adanya penumpukan matriks ekstraseluler, penebalan membrana basalis glomerulus, dan glomerulosklerosis. Gambaran awal dari perubahan struktur ginjal diabetik adalah hipertrofi glomerular dan renal (Sulistyoningrum 2014).

Penelitian yang dilakukan oleh Sheela *et al.* (2013) bahwa tikus DM yang diinduksi dosis STZ-NA yang selektif dapat merusak sel beta yang memproduksi insulin di pankreas yang mengakibatkan hiperglikemi, merupakan alat penting untuk mengembangkan model hewan komplikasi diabetes telah terbukti dalam peningkatan albuminuria.

Penelitian yang dilakukan oleh Ghasemi *et al.* (2014), melaporkan bahwa induksi STZ-NA pada model tikus diabetes tipe 2 telah dilaporkan menjadi model yang baik untuk digunakan dalam penelitian pada diabetes komplikasi seperti nefropati, neuropati, retinopati dan tingkat keparahan diabetes pada tikus percobaan ini sangat tergantung pada dosis STZ-NA yang diberikan.

Pada penelitian ini akan dilakukan uji aktivitas penurunan mikroalbuminuria dan regenerasi sel ginjal daun gedi merah pada kondisi patofisiologi DM nefropati, setelah diinduksi dengan STZ dosis 45 mg/kg BB dan NA dosis 110 mg/kg BB secara IP. Kondisi DM kadar gula darah puasa > 126 mg/dL atau kadar gula darah 2 jam setelah makan > 200 mg/dL dan kondisi DM nefropati dapat dilihat dari adanya protein dalam urin >300 mg/24 jam (ADA 2016; Rivandi & Yonata 2015). STZ akan menghambat metabolisme glukosa dan sekresi sel-sel beta pada pankreas, tidak hanya menyebabkan kerusakan pada sel-sel hepatosit di hati tetapi pada sel-sel tubular ginjal (Goud *et al.* 2015). Induksi NA diberikan dahulu kemudian diinduksi dengan STZ bertujuan untuk memproteksi sel-sel beta agar tidak mengalami kematian secara total (nekrosis

dan apoptosis) dan mengurangi penurunan sintesis dan sekresi insulin (Szkudelski 2001; Ghasemi *et al.* 2014).

Pengobatan alternatif dari bahan alam yang digunakan pada penderita DM nefropati yaitu dengan ekstrak daun gedi merah yang memiliki kemampuan untuk menurunkan kadar glukosa darah. Daun gedi merah mengandung senyawa golongan flavonoid, tanin, saponin, alkaloid sebagai senyawa aktif (Suoth 2013). Pada penelitian Pine *et al.* (2011) melaporkan bahwa daun gedi yang diekstrak dengan etanol 96% memiliki total flavonoid sebesar 41,56%. Flavonoid adalah kelompok terbesar dari fenolik dengan kapasitas antioksidan yang kuat dan meningkatkan sekresi insulin (Aberoumand & Deokule 2008; Dewi *et al.* 2013). Aktivitas biologi flavonoid sebagai antioksidan dilaporkan dapat menghambat peroksidasi lipid, menangkal radikal bebas dan ROS serta mengkelat logam (Ammar *et al.* 2009; Liu & Zhu 2007).

Peneliti menggunakan tiga variasi dosis ekstrak etanol daun gedi merah yaitu dosis 100 mg/kg BB tikus, 200 mg/kg BB tikus dan 400 mg/kg BB tikus yang diberikan secara oral dan diharapkan dapat menurunkan kadar mikroalbuminuria dan mengurangi kerusakan ginjal pada tikus yang mengalami DM nefropati setelah induksi STZ-NA.

## N. Hipotesis

Berdasarkan uraian di atas dapat disusun suatu hipotesis dalam penelitian ini bahwa:

1. Ekstrak etanol daun gedi merah dapat menurunkan kadar mikroalbuminuria dan memperbaiki struktur histopatologi jaringan ginjal pada model tikus yang mengalami DM nefropati yang telah diinduksi STZ-NA.
2. Pemberian dosis efektif ekstrak etanol daun gedi merah dapat menurunkan kadar mikroalbuminuria dan memperbaiki struktur histopatologi jaringan ginjal pada model tikus yang mengalami DM nefropati yang telah diinduksi STZ-NA.
3. Pemberian glibenklamid dan pioglitazone dapat menurunkan kadar mikroalbuminuria dan memperbaiki stuktur histopatologi jaringan ginjal

pada model tikus yang mengalami DM nefropati yang telah diinduksi STZ-NA.

## **BAB III**

### **METODE PENELITIAN**

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

Populasi adalah semua individu yang menjadi sumber pengambilan sampel. Populasi yang digunakan dalam penelitian ini adalah tanaman gedi merah (*Abelmoschus manihot* L. Medik) yang diperoleh dari Bitung, Kabupaten Minahasa Utara, Provinsi Sulawesi Utara.

Sampel adalah representasi populasi yang dijadikan sumber informasi bagi semua data yang diperlukan untuk menjawab permasalahan penelitian. Jadi sampel merupakan bagian populasi. Sampel yang digunakan dalam penelitian ini adalah daun gedi merah (*Abelmoschus manihot* L. Medik) yang diperoleh dari Bitung, Kabupaten Minahasa Utara, Provinsi Sulawesi Utara yang dalam diambil secara acak, dalam keadaan bersih, kering, dan tidak busuk.

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

##### **1. Identifikasi Variabel Utama**

Variabel utama pertama pada penelitian ini adalah aktivitas ekstrak etanol daun gedi merah (*Abelmoschus manihot* L. Medik) terhadap penurunan kadar mikroalbuminuria.

Variabel utama kedua pada penelitian ini adalah aktivitas dari ekstrak etanol daun gedi merah (*Abelmoschus manihot* L. Medik) dalam perbaikan histopatologi ginjal.

Variabel utama ketiga pada penelitian ini adalah tikus putih jantan galur Wistar yang mengalami diabetes nefropati.

Variabel utama keempat dalam penelitian ini adalah peneliti, kondisi laboratorium, kondisi fisik hewan uji yang meliputi berat badan, usia, jenis kelamin dan galur.

##### **2. Klasifikasi Variabel Utama**

Variabel utama dapat diklasifikasikan ke dalam berbagai variabel yakni variabel bebas, variabel tergantung, dan variabel kendali.

Variabel bebas adalah variabel yang sengaja diubah-ubah untuk mempelajari pengaruhnya terhadap variabel tergantung. Variabel bebas pada penelitian ini adalah ekstrak etanol daun gedi merah (*Abelmoschus manihot* L. Medik) yang diberikan pada tikus dengan berbagai variasi dosis.

Variabel tergantung merupakan titik pusat persoalan yang menjadi kriteria penelitian. Variabel tergantung dalam penelitian ini adalah penurunan kadar mikroalbuminurin dan perbaikan histopatologi pada organ ginjal tikus jantan setelah diinduksi STZ-NA.

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 dalam penelitian ini adalah kondisi hewan uji yang meliputi berat badan, lingkungan lingkungan hidup, jenis kelamin, usia, galur, kondisi laboratorium dan peneliti sendiri.

### **3. Definisi Operasional Variabel Utama**

Pertama, daun gedi merah adalah daun yang diperoleh dari tanaman gedi yang berasal dari Bitung, Kabupaten Minahasa Utara, Provinsi Sulawesi Utara.

Kedua, serbuk daun gedi merah adalah serbuk yang diperoleh dari hasil pengeringan, penggilingan dan pengayakan daun gedi merah.

Ketiga, ekstrak etanol daun gedi merah adalah ekstrak yang dihasilkan dari penyarian dengan metode maserasi menggunakan pelarut etanol 96% kemudian dipekatkan di atas *rotary evaporator* pada suhu 50°C.

Keempat, hewan percobaan adalah tikus jantan albino galur Wistar dalam kondisi sehat. Tikus yang akan digunakan berumur 2 bulan dan umumnya memiliki berat badan 200-220 g.

Kelima, metode uji diabetes STZ-NA adalah metode yang digunakan dengan upaya merusak sebagian organ pankreas tikus dan ginjal. Induksi STZ-NA adalah STZ 45 mg/kg BB yang diinjeksikan secara intra peritoneal pada tikus sesudah injeksi NA 110 mg/kg BB dengan interval waktu 15 menit sehingga mengalami DM nefropati selama 15 hari.

Keenam, diabetes nefropati adalah komplikasi mikrovaskular pada DM tipe II yang berlangsung lama dan menyebabkan kerusakan pada ginjal, ditandai dengan albuminuria >150 mg/24 jam.

Ketujuh, kadar gula adalah jumlah glukosa dalam plasma atau serum darah yang dinyakan dalam satuan mg/dl, pada kondisi diabetes melitus sebesar >200 mg/dl.

Kedelapan, mikroalbuminurin adalah dimana adanya protein dalam urine lebih dari 150 mg albumin / hari atau lebih dari 20 µg albumin / menit atau lebih dari 30 sampai 299 µg kreatinin / mg dengan pengambilan urin tampung 24 jam pada tikus diabetes nefropati yang diamati sebelum dan sudah diberikan ekstrak daun gedi merah.

Kedelapan, histopatologi ginjal organ tikus adalah diamati dengan teknik *Hematoxylin Eosin* (HE) melalui pengamatan mikroskop untuk melihat gambaran ginjal tikus dengan diabetes nefropati sebelum dan sesudah diberikan ekstrak daun gedi merah.

Kesembilan, dosis efektif adalah dosis dari ekstrak etanol daun gedi merah yang memiliki aktivitas menurunkan kadar mikroalbuminurin dan menurunkan persentase nekrosis sel ginjal yang setara dengan kontrol positif.

Kesepuluh, glibenklamid adalah golongan sulfonilurea yang digunakan sebagai obat DM yang di berikan dengan dosis 5 mg/70Kg BB secara oral.

Kesebelas, pioglitazone adalah golongan thiazolidindion yang digunakan sebagai obat DM yang diberikan dengan dosis 15 mg/70Kg BB secara oral.

## C. Bahan dan Alat

### 1. Bahan

**1.1. Bahan sampel.** Bahan sampel yang digunakan dalam penelitian ini adalah daun gedi merah (*Abelmoschus manihot* L.Medik) yang diperoleh dari Manado, Sulawesi Utara.

**1.2. Bahan kimia.** Bahan kimia yang digunakan dalam penelitian ini adalah streptozotosin 45 mg/kg BB dilarutkan dalam buffer sitrat (0,1 M; pH 4,5), nikotinamid 110 mg/kg BB, glibenklamid, pioglitazon, CMC-Na, etanol 96%,

NaCl 0,9% dan aquadest. Bahan untuk mengukur kadar mikroalbuminurin adalah reagen pirogalol. Bahan untuk pengamatan histopatologi adalah formalin PA, larutan warna *Haematoxylin Eosin*, formaldehid, etanol, xylen dan alkohol dari Merck.

## **2. Alat**

Alat untuk pembuatan sampel terdiri dari timbangan digital, kabinet, ayakan mesh 40, bejana maserasi, kertas saring, kain flanel, evaporator, botol dan alat glass. Alat yang digunakan untuk perlakuan hewan uji adalah timbangan, spuit oral, dan kandang tikus. Alat yang digunakan untuk mengukur kadar mikroalbuminurin adalah spektrofotometri. Alat yang digunakan untuk preparat histopatologi adalah rangkaian alat bedah (scalpel, pinset, pisau, gunting, jarum, dan meja lilin), mikrotom putar (*rotary microtome*), object glass dan deck glass, mikroskop cahaya Olimphus CH20.

## **3. Hewan Percobaan**

Hewan percobaan yang digunakan dalam penelitian ini adalah tikus putih galur Wistar jantan berumur 2 bulan dengan berat badan antara 200-220 gram sebanyak 35 ekor yang diperoleh dari Laboratorium Penelitian Antar Universitas (PAU), Universitas Gadjah Mada, Yogyakarta.

## **D. Jalannya Penelitian**

### **1. Determinasi Tanaman Gedi Merah**

Tahap pertama penelitian ini adalah menetapkan kebenaran tanaman yang berkaitan dengan ciri-ciri makroskopis dan mikroskopisnya. Hal ini dilakukan dengan mencocokkan ciri-ciri morfologis tanaman pada pustaka yang dibuktikan dengan identifikasi yang dilakukan di Universitas Sebelas Maret Surakarta.

### **2. Pengumpulan, Pengeringan dan Pembuatan Serbuk**

Sampel penelitian yang digunakan adalah daun gedi merah yang diperoleh dari Bitung, Kabupaten Minahasa Utara, Provinsi Sulawesi Utara. Sampel daun gedi merah yang diperoleh disortasi basah kemudian ditimbang simplisia basahnya lalu dicuci. Sampel kemudian dikeringkan menggunakan kabinet dengan suhu 40-50°C, kemudian dilakukan sortasi kering dan di serbuk dengan



menggunakan mesin serbuk serta diayak dengan menggunakan pengayak mesh 40 sampai didapatkan serbuk daun gedi merah yang diinginkan (Handayani & Sriherfyna 2016, Taroreh 2015).

### **3. Penetapan Kadar Air Daun Gedi Merah**

Penetapan kadar air daun gedi merah dilakukan dengan cara menimbang serbuk daun gedi merah sebanyak 20 gram, dimasukkan dalam labu destilasi dan ditambahkan pelarut xylene sampai serbuk terendam, kemudian memasang alat *Sterling-Bidwell*, dipanaskan dengan api kecil, setelah mendidih apinya dibesarkan. Pemanasan dihentikan bila pada tetesan sudah tidak ada air yang menetes dan diukur kadar airnya dengan menggunakan alat *Sterling-Bidwell* dengan melihat volume pada skala alat tersebut selanjutnya dihitung kadar air dalam satuan persen dengan rumus (Yenrina 2015) :

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

### **4. Pembuatan Ekstrak Etanol Daun Gedi Merah**

Serbuk daun gedi merah (*Abelmoschus manihot* L. Medik) diambil satu bagian dimasukkan ke dalam sebuah bejana maserasi, dituangi dengan 7,5 bagian cairan penyari yaitu etanol 96%, tutup biarkan selama 5 hari terlindung dari cahaya sambil sering diaduk, saring menggunakan kain flanel, peras, tambahkan cairan penyari dengan 2,5 bagian lalu disaring kembali memakai kain flanel, hingga diperoleh filtrat. Sebagian filtrat dipekatkan dengan *rotary evaporator* pada suhu maksimal 50°C hingga bebas etanol, sedangkan sebagian digunakan untuk penelitian selanjutnya (Pine 2011; Depkes 1980; Handayani & Sriherfyna 2016).

### **5. 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).

### **6. Identifikasi Kandungan Senyawa**

**6.1 Identifikasi flavonoid menggunakan tabung reaksi.** Ekstrak daun gedi merah 2 gram ditambahkan air panas sebanyak 10 ml kemudian dipanaskan selama 5 menit. Identifikasi dilakukan dengan cara filtrat sebanyak 5 ml ditambahkan sedikit serbuk Mg, 1 ml HCL pekat, dan 1 ml amil alkohol kemudian dikocok. Apabila terjadi warna merah/kuning/jingga pada lapisan amilalkohol menunjukan adanya flavonoid (Suoth 2013).

**6.2 Identifikasi tanin menggunakan tabung reaksi.** Ekstrak daun gedi merah 2 gram ditambahkan air panas sebanyak 20 ml kemudian dipanaskan selama 15 menit, setelah dingin disaring. Identifikasi dilakukan dengan cara filtrat sebanyak 5 ml dimasukkan ke dalam tabung reaksi kemudian ditambahkan pereaksi larutan besi (III) klorida 1%. Jika ekstrak positif mengandung tanin maka akan terbentuk warna hijau kehitaman setelah direaksikan dengan larutan besi (III) klorida (Depkes 1995).

**6.3 Identifikasi saponin menggunakan tabung reaksi.** Ekstrak daun gedi merah 0,5 gram dimasukkan ke dalam tabung reaksi kemudian ditambah air panas sebanyak 10 ml dan dikocok kuat-kuat selama 10 detik. Kemudian filtrat didiamkan selama 10 menit lalu ditambahkan 1 tetes HCl 2N. Jika ekstrak positif mengandung saponin ditandai dengan buih yang terbentuk setinggi 1-10 cm dan buih tidak hilang (Robinson 1995).

**6.4 Identifikasi alkaloid menggunakan tabung reaksi.** Pemeriksaan alkaloid dilakukan dengan cara serbuk dan ekstrak simplisia sebanyak 500 mg dilarutkan dalam 100 ml air panas, kemudian didinginkan dan disaring. Filtrat sebanyak 5 ml dimasukkan dalam tabung reaksi ditambahkan dengan 1,5 ml HCl 2% kemudian dilanjutkan dengan penambahan 2 sampai 4 tetes reagen Dragendroff. Alkaloid positif terjadi kekeruhan atau endapan coklat (Harborne 1987).

**6.5 Identifikasi flavonoid menggunakan KLT.** Untuk mengetahui adanya flavonoid maka dilakukan identifikasi dengan menggunakan kromatografi lapis tipis, fase diam silika gel F<sub>254</sub> dan fase geraknya klorofom : etil asetat (6:4). Dideteksi di bawah sinar UV 254 memberikan pemadaman fluoresensi (biru gelap) dan di bawah sinar UV 366 berwarna biru, kuning atau ungu. Baku pembanding digunakan quersetin menghasilkan noda yang berwarna kuning.

Pereaksi semprot yang digunakan uap amoniak akan menghasilkan warna biru kehijauan, hijau kekuningan, lembayung, atau kuning kecoklatan, yang menunjukkan adanya flavonoid (Hayati & Halim 2010; Aditama *et al.* 2016).

**6.6 Identifikasi tanin menggunakan KLT.** Untuk mengetahui adanya tanin maka dilakukan identifikasi dengan menggunakan kromatografi lapis tipis, fase diam silika gel F<sub>254</sub> dan fase geraknya asam asetat galsial : air : HCl pekat (forestal) (30:10:3). Dideteksi di bawah sinar UV 254 memberikan pepadaman fluoresensi (biru gelap) dan di bawah sinar UV 366 berwarna lembayung, kehijauan, ungu kemerahan. Pereaksi semprot yang digunakan FeCl<sub>3</sub> dan selanjutnya dilakukan pemanasan dengan oven 105°C selama 7-10 menit, menghasilkan warna lembayung, biru kehijauan (Hayati & Halim 2010; Stahl 1985; Harbone 1987).

**6.7 Identifikasi saponin menggunakan KLT.** Untuk mengetahui adanya senyawa saponin maka dilakukan identifikasi dengan menggunakan kromatografi lapis tipis, fase diam silika gel F<sub>254</sub> dan fase geraknya kloroform : metanol : air (20 : 60 : 10). Dideteksi di bawah sinar UV 254 memberikan pepadaman fluoresensi (biru gelap) dan di bawah sinar UV 366 berwarna biru atau biru violet. Pereaksi semprot anisaldehyd-H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> dan selanjutnya dilakukan pemanasan dengan oven 105°C selama 7-10 menit, dengan hasil berwarna ungu gelap atau coklat merah bata (Hayati & Halim 2010; Stahl 1985; Wagner *et al.* 1996).

**6.8 Identifikasi alkaloid menggunakan KLT.** Untuk mengetahui adanya senyawa alkaloid maka dilakukan identifikasi dengan menggunakan kromatografi lapis tipis, fase diam silika gel F<sub>254</sub> dan fase geraknya kloroform : metanol (9,5 : 0,5). Selanjutnya dengan pereaksi semprot Dragendorff menghasilkan warna coklat atau orange (Hayati & Halim 2010; Stahl 1985, Wagner *et al.* 1996).

## 7. Penentuan Dosis

**7.1 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

dipuaskan selama 18 jam. NA diberikan 15 menit sebelum pemberian STZ. Induksi STZ-NA diberikan secara intraperitoneal.

**7.2 Penentuan 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) (Fitriani 2014).

**7.3 Penentuan dosis pioglitazone.** Dosis pioglitazone diambil berdasarkan penggunaannya pada manusia, yaitu 15 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 0,27 mg/200 gram BB tikus (1,35 mg/kg BB tikus) (Katzung *et al.* 2012).

**7.4 Penentuan dosis ekstrak etanol.** Dosis yang akan diberikan kepada tikus dalam penelitian ini menggunakan tiga seri konsentrasi dosis yaitu maka dosis yang diberikan kepada tikus dalam penelitian ini yaitu dosis I (50 mg/Kg BB tikus), dosis II (100 mg/Kg BB tikus), dan dosis III (200 mg/Kg BB tikus) banyaknya ekstrak daun gedi merah yang digunakan dihitung berdasarkan berat badan dari masing-masing tikus (Tandi *et al.* 2016).

## **8. Pembuatan Sediaan Uji**

**8.1 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).

**8.2 CMC Na 0,5%.** CMC Na 0,5% digunakan sebagai kontrol negatif. CMC Na 0,5% dibuat dengan cara melarutkan 0,5 g CMC Na 0,5% dengan aquadest hangat sedikit demi sedikit, kemudian dimasukkan ke dalam mortir dan digerus sampai halus. Setelah itu, aquadest ditambahkan hingga 100 ml dan diaduk.

**8.3 Glibenklamid.** Cara pembuatannya tablet glibenklamid sebanyak 5 mg, kemudian disuspensikan ke dalam 1 ml CMC Na dan dilakukan secara peroral.

**8.4 Pioglitazone.** Cara pembuatannya dimulai dengan menimbang serbuk pioglitazone sebanyak 0,27 mg/200g BB tikus, kemudian disuspensikan ke dalam larutan 1 ml CMC Na.

## 9. Pengelompokan dan Perlakuan Hewan Uji

Tikus ditimbang dan diberi tanda. Sebelum perlakuan, selama satu minggu tikus diadaptasi terlebih dahulu untuk menyesuaikan diri dengan lingkungan.

Hewan uji yang digunakan adalah tikus putih jantan dengan berat rata-rata 200-220 gram. Tikus yang digunakan dalam penelitian ini sebanyak 35 ekor yang secara acak dibagi dalam 7 kelompok. Setelah itu tikus dipuasakan selama 7 hari untuk mengukur kadar glukosa awal ( $T_0$ ) (Unitly 2012). Kemudian, masing-masing tikus diberikan NA 110 mg/kg BB setelah 15 menit kemudian diberikan STZ 45 mg/kg BB secara intraperitoneal kecuali pada 5 ekor tikus sebagai kontrol normal dan setelah 5, 15 hari diperiksa kadar mikroalbuminuria (Novia 2016). Tikus yang kadar glukosanya naik  $>126$  mg/dL dan terdapat mikroalbuminuria 30 – 299 mg/24 jam dikelompokkan, masing-masing terdiri dari 5 ekor tikus, dengan perlakuan yang diberikan yaitu:

- 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 : Kontrol positif, tikus diberikan pioglitazone dosis 0,27mg/kg BB
- Kelompok 5 : Tikus diberikan ekstrak etanol daun gedi merah dengan dosis 100 mg/Kg BB tikus selama 14 hari secara peroral.
- Kelompok 6 : Tikus diberikan ekstrak etanol daun gedi merah dengan dosis 200 mg/Kg BB tikus selama 14 hari secara peroral.
- Kelompok 7 : Tikus diberikan ekstrak etanol daun gedi merah dengan dosis 400 mg/Kg BB tikus selama 14 hari secara peroral.

Kemudian, diberikan larutan uji secara oral setiap hari pada pagi hari selama 14 hari. Pada hari ke-22 diukur mikroalbuminuria (Murnah & Indranila 2014). Pada hari ke-31 semua tikus dikorbankan dengan cara didislokasi lehernya, setelah itu diambil organ ginjal untuk dilakukan uji histopatologinya.

## 10. Prosedur Uji Diabetes

Pada hari pertama sebelum tikus diberikan perlakuan, dilakukan pengambilan darah untuk pengukuran kadar glukosa awal ( $T_0$ ) dan setelah diinduksi STZ-NA ( $T_1$ ) tikus dengan kadar gula darah puasa  $> 126$  mg/dL dinyatakan mengalami diabetes melitus (Fitriani 2014).

### **11. Pemeriksaan Kadar Mikroalbuminuria**

Penetapan kadar mikroalbuminuria dilakukan dengan metode *Colorimetric*. Pirogalol merah dikombinasikan dengan asam molibdat membentuk warna merah kompleks pada panjang gelombang 600 nm. Ketika kompleks ini dikombinasikan dengan protein dalam kondisi asam terjadi pergeseran diabsorbansi reagen. Absorbansi berbanding lurus dengan konsentrasi protein dalam sampel (Arora *et al.* 2010). Albuminuria dihitung dengan menggunakan rumus berikut :

$$\text{Albumin (mg/dL)} = \frac{\Delta A \text{ Sampel}}{\Delta A \text{ Standar}} \times \text{konsentrasi standar (mg/dL)}.$$

Sampel urin dikumpulkan selama 24 jam. 1000  $\mu$ l reagen (pirogalol) ditambahkan 20  $\mu$ l sampel urine, 20  $\mu$ l protein standar dan 20  $\mu$ l air murni, semua tabung reaksi dicampur dan diinkubasi pada 37°C selama 5-10 menit. Absorbansi dicatat pada panjang gelombang 600 nm.

### **12. Prosedur Mematikan dan Membedah Hewan Uji**

Membunuh hewan uji dengan cara fisik dilakukan dengan dislokasi leher. Proses dislokasi dilakukan dengan cara ekor tikus dipegang dan kemudian ditempatkan pada permukaan yang bisa dijangkaunya, biarkan tikus meregangkan badannya. Saat tikus meregangkan badannya, pada tengkuk ditempatkan suatu penahan, misalnya pensil atau batang logam yang dipegang dengan tangan kiri. Ekornya ditarik dengan tangan kanan dengan keras, sehingga lehernya akan terdislokasi dan tikus akan terbunuh (Stevani 2016).

Posisikan tikus pada papan bedah menggunakan pins. Bedah mulai dari bagian perut ataupun uterus menggunakan gunting bengkok. Ambil dan pisahkan masing-masing organ menggunakan gunting lurus (organ yang diambil: ginjal). Bersihkan organ dari lemak-lemak yang masih menempel. Cucilah organ dengan NaCl 0,9% berulang-ulang. Masukkan organ dalam pot berisi formalin 4-10% dan buffer formalin (UGM 2017).

### 13. Pembuatan Preparat Histopatologi

Pertama, pembuatan preparat histopatologi dilakukan dengan cara organ ginjal difiksasi dengan menggunakan larutan buffer formalin 10% minimal 48 jam agar mencegah terjadi kerusakan pada jaringan, mengawetkan komponen histologis.

Kedua, tahap dehidrasi yaitu proses mengeluarkan air dari jaringan. Jaringan direndam dengan menggunakan etanol secara bertingkat berturut-turut alkohol 70%, 80%, 95% I, dan 95% II masing-masing selama 1,5 jam, kemudian alkohol absolut I selama 1,5 jam dan alkohol absolut II selama 1,5 jam.

Ketiga, dilakukan proses penjernihan (*clearing*) bertujuan untuk mengeluarkan alkohol dari jaringan, dikarenakan alkohol dan parafin tidak dapat menyatu, sehingga larutan yang akan dimasukkan kedalam jaringan dapat berikatan dengan parafin. Pada tahap ini menggunakan larutan xylene, untuk menghilangkan alkohol (dealkoholisasi). Dimulai dengan memasukkan jaringan ginjal ke dalam xylol I selama 30 menit, kemudian xylol II selama 1,5 jam dan selanjutnya xylol III selama 1,5 jam.

Keempat, dilakukan proses infiltrasi parafin. Organ dimasukkan ke dalam parafin panas, untuk membuat jaringan menjadi lebih keras dan lebih mudah dipotong dengan mikrotom. Proses pertama yang dilakukan adalah dengan memasukan jaringan ke dalam parafin I, parafin II dan parafin III masing-masing selama 1 jam pada suhu 45°C dalam inkubator selama semalam.

Kelima, dilakukan proses selanjutnya yakni tahap *embedding* atau penanaman jaringan dalam parafin, dengan memasukan jaringan ke dalam blok parafin. Pemotongan dengan mikrotom menghasilkan lapisan dengan ketebalan 3 - 4 mikrometer, lapisan jaringan diletakkan di atas kaca objek diinkubasi pada suhu 37°C selama 20 menit.

Keenam, tahap pewarnaan hematoxylin eosin. Tahap ini diawali dengan deparafinisasi dengan xylol yang bertujuan untuk menghilangkan parafin pada jaringan. Dimulai dengan memasukkan jaringan ke xylol I, II, III, IV masing-masing selama 5 menit.

Ketujuh, dilakukan proses rehidrasi yang bertujuan mengembalikan cairan ke dalam jaringan dengan menggunakan larutan etanol. Tahap pertama yaitu

dengan memasukkan jaringan ke dalam alkohol absolut selama 5 menit, selanjutnya jaringan dimasukkan ke dalam alkohol 95%, 70% secara bergantian masing-masing selama 5 menit.

Kedelapan, dilakukan tahap *staining*, dimana jaringan dimasukkan ke dalam larutan pewarna. Jaringan dimasukkan ke dalam pewarna hematoxylin selama 5-10 menit, kemudian diamati apakah jaringannya sudah berwarna ungu. Selanjutnya, jaringan yang sudah diwarnai tadi dicuci di bawah air mengalir. Setelah itu, pewarnaan dilanjutkan dengan memasukkan sediaan ke dalam pewarna eosin selama 1-2 menit dicuci di bawah air mengalir.

Kesembilan, dilakukan rehidrasi, tujuannya untuk menarik air dari jaringan agar awet dan tidak cepat rusak. Jaringan dicelupkan 4 kali secara berurutan ke dalam larutan etanol 70%, 80% dan 90% masing-masing selama 30 detik. Selanjutnya direndam dengan etanol absolut dicelupkan sebanyak 4 kali, masing-masing selama 1 menit.

Kesepuluh dilakukan proses penjernihan atau *clearing*, dengan memasukan jaringan ke dalam larutan xylen I dan dilakukan *mounting*, yaitu penutupan sediaan dengan menggunakan gelatin sebagai perekat dan ditutup dengan deg glass (Lerebulan 2014).

#### **14. Pemeriksaan Histopatologi**

Pengamatan histopatologi jaringan ginjal dapat dilakukan pasca pemberian ekstrak daun gedi merah dilakukan dengan cara membandingkan kelompok perlakuan dengan kelompok normal, kelompok negatif dan kelompok pembanding.

Skoring untuk ginjal: skor 0 tidak ada perubahan, skor 1 ada degenerasi hidrofik, skor 2 ada perdarahan, skor 3 ada peradangan, dan skor 4 adanya nekrosis sel.

#### **15. Prosedur Memusnahkan Hewan Uji**

Masukkan semua sisa organ tikus yang tidak terpakai ke dalam kantong plastik. Serahkan kantong plastik berisi sisa organ ke Kandang Tikus Bagian Farmakologi dan Toksikologi Universitas Gajah Mada untuk dilakukan insinerasi. Sampah lain berupa plastik, kertas, dll yang tidak berhubungan dengan organ



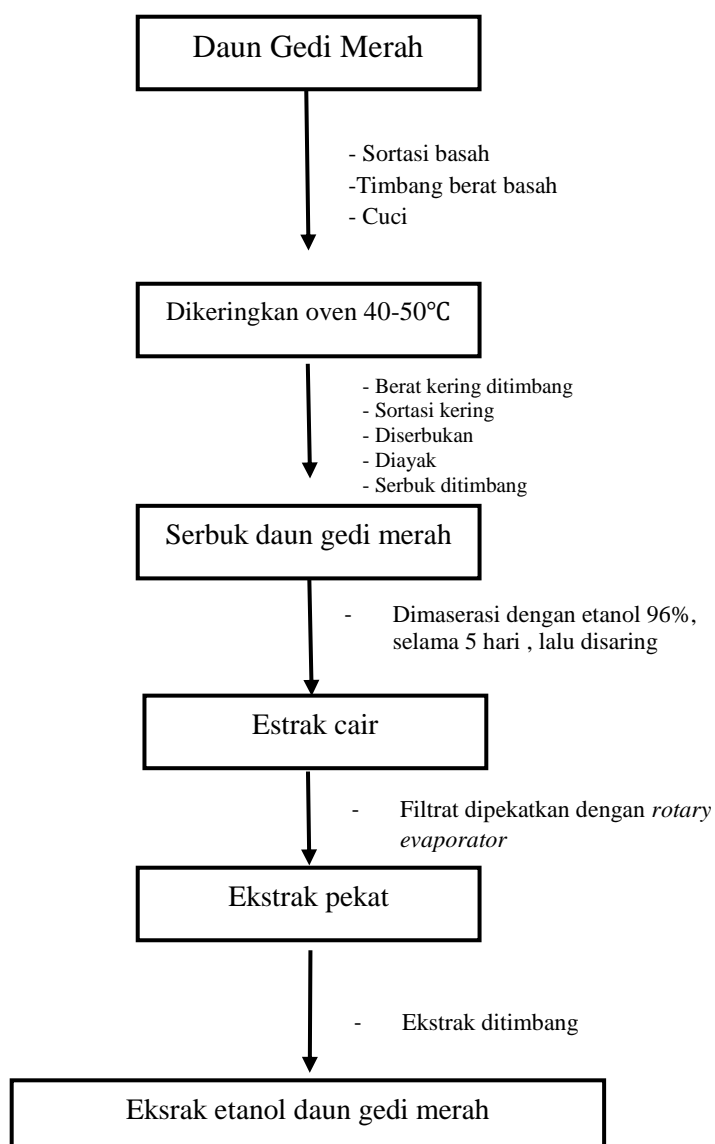
dibuang dalam kantong plastik tersendiri. Bersihkan area kerja sisa pembedahan dengan sabun dan jika perlu semprot dengan alkohol (UGM 2017).

### **E. Analisa Statistik**

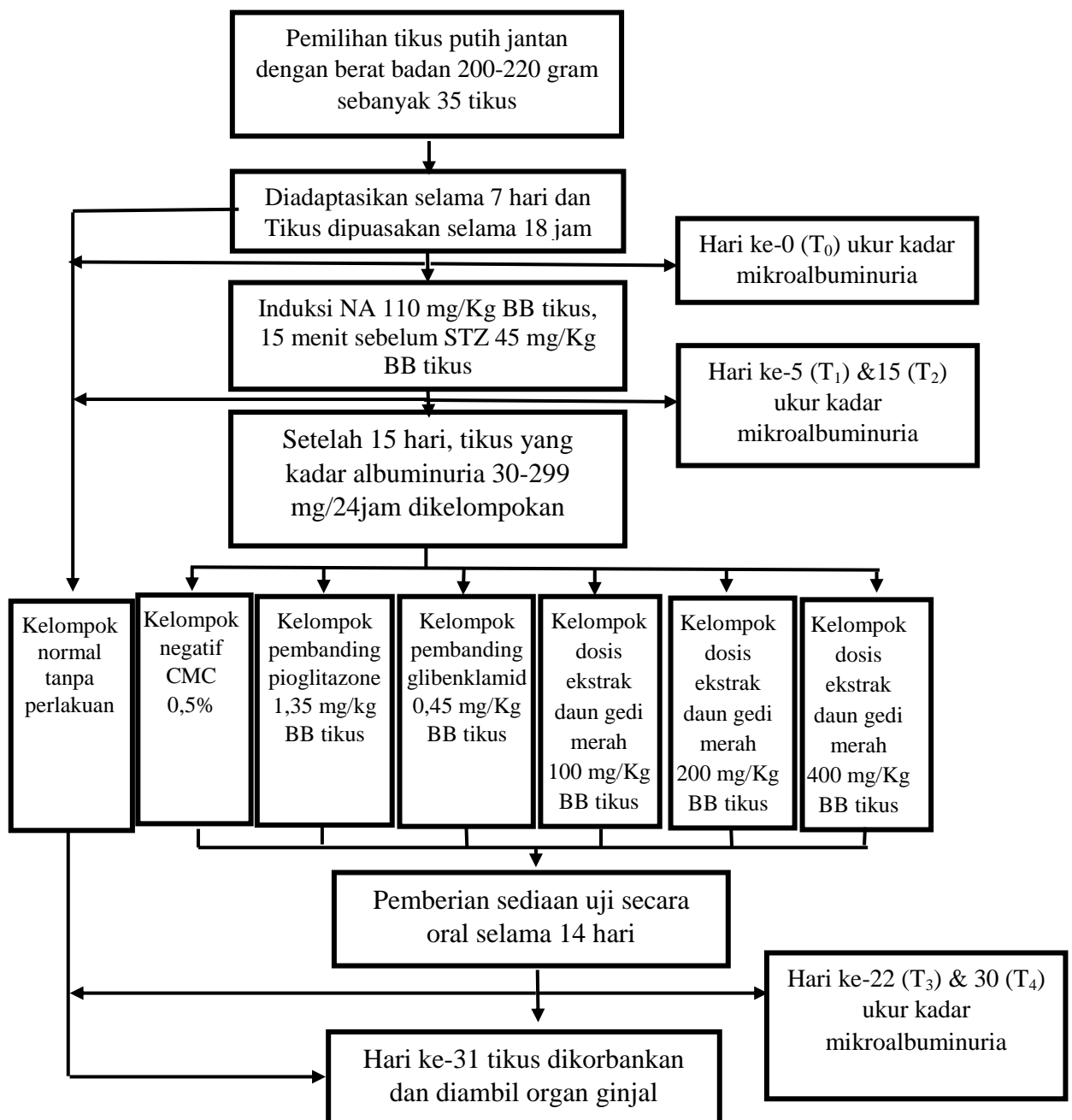
Data kuantitatif hasil penelitian dinyatakan sebagai rata-rata (mean)  $\pm$  SD (standar deviasi). Dilakukan analisa statistik dengan menggunakan uji distribusi normal (Shapiro-Wilk) yang bertujuan untuk mengetahui apakah data tersebut terdistribusi normal atau tidak. Apabila  $p > 0,05$  maka distribusi normal dan apabila  $p < 0,05$  maka distribusi tidak normal.

Selanjutnya diuji non-parametik dengan analisis data menggunakan Kruskal-Wallis jika  $\text{Sig} > 0,05$  maka  $H_0$  diterima dan jika  $< 0,05$  maka  $H_0$  ditolak. Jika data terdistribusi normal  $p > 0,05$ . Uji dilanjutkan dengan post hoc untuk melihat apakah terdapat perbedaan diantara masing-masing kelompok perlakuan.

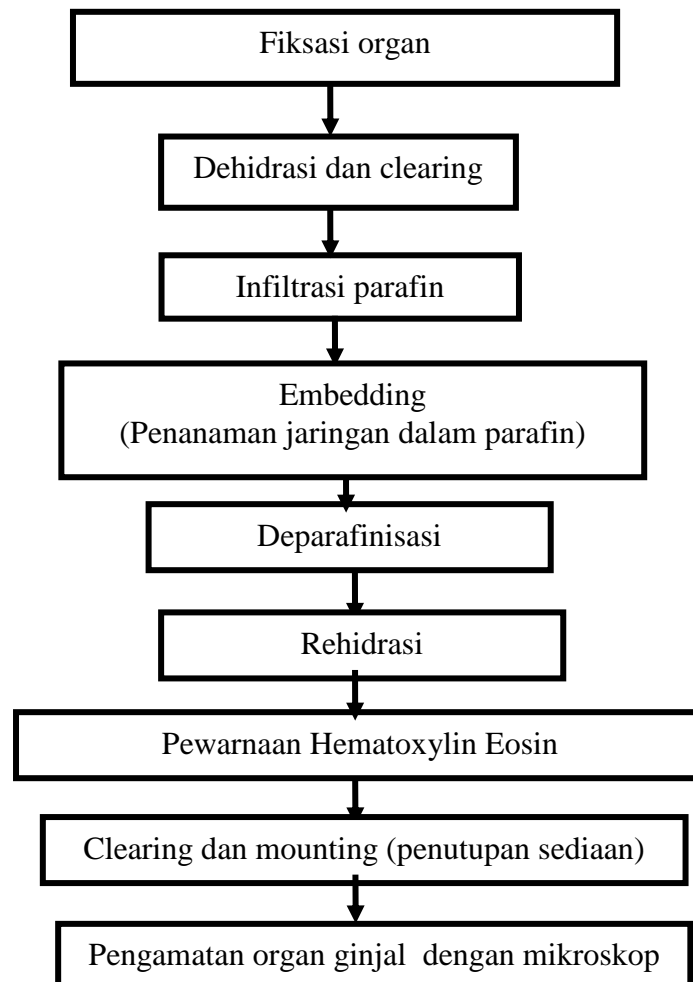
## F. Alur Penelitian



Gambar 5. Skema ekstraksi daun gedi merah dengan metode maserasi.



Gambar 6. Skema induksi, pemberian sediaan dan pengukuran mikroalbumuria.



Gambar 7. Skema histopatologi ginjal.



## BAB IV HASIL PENELITIAN DAN PEMBAHASAN

### A. Hasil Determinasi Tanaman Gedi Merah

Tanaman yang digunakan dalam penelitian ini adalah daun gedi merah yang telah diidentifikasi di Laboratorium Patologi Anatomi, Fakultas Kedokteran, Universitas Sebelas Maret.

Identifikasi bertujuan untuk mencocokkan ciri morfologis antara tanaman yang diteliti dan mengetahui kebenaran tanaman yang digunakan. Berdasarkan hasil identifikasi tersebut dapat dipastikan bahwa tanaman yang digunakan dalam penelitian ini adalah tanaman gedi merah (*Abelmoschus manihot* L. Medik), hasil identifikasi dapat dilihat pada Lampiran 1.

Berdasarkan hasil determinasi dari surat no : 71/UN27.9.6.4/Lab/2018 dinyatakan bahwa tumbuhan yang diteliti adalah benar-benar tanaman gedi merah (*Abelmoschus manihot* L. Medik). Hasil determinasi tanaman gedi merah yang dilakukan berdasarkan C.A. Backer & R.C. Bakhuizen van den Brink, Jr. (1963) menunjukkan kunci determinasi sebagai berikut :

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.

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  
mudasedikit 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.

## **B. Hasil Pembuatan Serbuk Daun Gedi Merah**

Tanaman gedi merah dalam penelitian ini diperoleh dari Bitung, Kabupaten Minahasa Utara, Provinsi Sulawesi Utara. Daun gedi merah yang berwarna hijau dibersihkan dari kotoran dengan cara dicuci dengan air bersih kemudian dikeringkan dengan oven pada suhu 50°C sampai diperoleh daun gedi merah kering. Pengeringan dimaksudkan untuk mengurangi kadar air sehingga mencegah timbulnya jamur yang dapat menyebabkan terjadinya perubahan kimia dan dapat menurunkan mutu maupun khasiat daun gedi merah. Daun gedi merah yang telah dikeringkan dihaluskan dan dibuat serbuk dengan menggunakan mesin penggiling kemudian diayak dengan pengayak mesh 40 untuk memperoleh serbuk yang halus.

Penentuan persentase bobot kering terhadap bobot basah dilakukan dengan cara menimbang daun gedi merah yang masih basah, kemudian hasilnya

dibandingkan dengan bobot daun gedi merah yang masih kering. Hasil persentase bobot kering terhadap bobot basah daun gedi merah dapat dilihat pada Tabel 2.

**Tabel 2. Hasil persentase bobot kering terhadap bobot basah daun gedi merah**

Bobot basah (kg)	Bobot kering (kg)	Rendemen (%)
9	1,7	18,88

Daun gedi merah sebanyak 9 kg dikeringkan dan didapatkan persentase rendemen bobot kering terhadap bobot basah adalah 18,88%. Hasil perhitungan bobot kering terhadap bobot basah daun gedi merah dapat dilihat pada Lampiran 8.

### C. Hasil Penetapan Kadar Air Daun Gedi Merah

Penetapan kadar air pada serbuk dilakukan menggunakan alat *Sterling Bidwell* dengan cara destilasi, dimaksudkan agar mutu dan khasiat serbuk tetap terjaga dan untuk mengetahui kelayakan sampel dalam pengujian. Cairan pembawa yang digunakan adalah xylen, karena memiliki berat jenis lebih kecil dari pada air dan titik didih lebih besar dari pada air serta tidak bercampur dengan air. Pengerjaannya dilakukan 3 kali sehingga didapatkan hasil rata-rata kadar air sebesar 7,167%. Hasil penetapan kadar air serbuk daun gedi merah dapat dilihat pada Tabel 3.

**Tabel 3. Hasil penetapan kadar air daun gedi merah**

No.	Berat serbuk (g)	Volume air (ml)	Kadar (%)
1	20	1,5	7,5
2	20	1,4	7
3	20	1,4	7
<b>Rata-rata ± SD</b>			7,167±2,89

Kadar air serbuk daun gedi merah untuk memenuhi persyaratan kadar air simplisia yaitu kurang dari 10% (Saskiawan & Hasanah 2015). Penetapan kadar air dari simplisia dilakukan karena air merupakan media pertumbuhan tumbuhnya jamur, kapang dan mikroorganisme lain yang dapat merusak simplisia (Gunawan & Mulyani 2004). Hasil perhitungan kadar air serbuk daun gedi merah dapat dilihat pada Lampiran 9.

### D. Hasil Pembuatan Ekstrak Etanol Daun Gedi Merah



Serbuk daun gedi merah ditimbang 1500 gram, kemudian ditambahkan pelarut etanol 95% sebanyak 11250 ml dengan perbandingan 1:7,5 kemudian dimaserasi selama 5 hari dengan melakukan pengocokan setiap 12 jam. Daun gedi merah yang telah dimaserasi disaring menggunakan kain flanel, dilanjutkan dengan kertas saring. Ampas atau residu yang tersisa kemudian digojog kembali dengan etanol 96% sebanyak 3750 ml. Hasilnya kemudian disaring dengan menggunakan kain flanel dan dilanjutkan dengan kertas saring. Setelah itu, dilakukan penguapan dengan menggunakan alat *rotary evaporator* sampai terbentuk ekstrak kental. Ekstrak tersebut kemudian ditimbang untuk selanjutnya dihitung rendemen ekstrak daun gedi merah. Hasil perhitungan ekstrak etanol dan rendemen daun gedi merah dapat dilihat pada Tabel 4.

**Tabel 4. Hasil rendemen ekstrak etanol daun gedi merah**

Berat serbuk (g)	Berat ekstrak (g)	Rendemen (%)
1500	104,7646	6,984

Dapat dilihat pada tabel 4, ekstrak kental yang didapat dari 1500 gram serbuk daun gedi merah sebesar 104,7646 gram dan diperoleh rendemen 6,984%. Hasil rendemen pembuatan ekstrak etanol daun gedi merah dapat dilihat pada Lampiran 10.

#### **E. Hasil Uji Bebas Alkohol Ekstrak Etanol Daun Gedi Merah**

Ekstrak etanol daun gedi merah yang diperoleh diuji bebas alkohol. Ekstrak ditambah larutan asam asetat dan larutan asam sulfat pekat kemudian dipanaskan hingga tidak tercium bau ester khas alkohol. Berdasarkan hasil uji bebas alkohol, ekstrak etanol daun gedi merah tidak mengandung alkohol.

Metabolisme alkohol dapat membentuk *reactive oxygen species* (ROS) sehingga menyebabkan konsumsi antioksidan yang secara berlebihan, penurunan kadar glutation, peningkatan katalase, dan berbagai proses lain yang membawa dampak stres oksidatif. Metabolisme alkohol juga menghasilkan senyawa berupa asetaldehid yang toksik. Toksisitas asetaldehid didasarkan pada kemampuannya dalam mengikat protein sehingga membentuk kompleks *Aldehyd-Protein Adduct* (APA). Protein yang dapat diikat asetaldehid bermacam-macam, mulai dari

protein struktural seperti mikrotubulin, hingga protein darah seperti albumin. Pembentukan APA pada penelitian *in vitro* terbukti menyebabkan berbagai efek yang merugikan pada berbagai bagian otak karena menyebabkan kerusakan protein yang diikatnya (Halim 2006).

Alkohol dapat mengubah struktur dan fungsi ginjal serta merusak kemampuannya untuk mengatur volume, komposisi cairan dan elektrolit dalam tubuh. Perubahan mikroskopis pada ginjal termasuk perubahan struktur glomerulus, pembengkakan atau pembesaran ginjal dan meningkatnya jumlah sel-sel lemak, protein dan air, kerusakan sel, seperti infiltrasi sel radang, vakuolisasi lumen tubulus, pendarahan, terutama di tubulus ginjal merupakan tempat terjadinya proses reabsorpsi dan ekskresi dari zat-zat toksik tersebut (Dewi 2013).

Uji bebas alkohol dilakukan di Laboratorium Universitas Setia Budi. Hasil uji bebas alkohol ekstrak etanol daun gedi merah dapat dilihat pada Tabel 5.

**Tabel 5. Hasil uji bebas alkohol ekstrak etanol daun gedi merah**

Prosedur	Hasil	Keterangan
Ekstrak + H <sub>3</sub> COOH + H <sub>2</sub> SO <sub>4</sub> condipanaskan	Tidak tercium bau ester khas dari alkohol	-

#### F. Hasil Identifikasi Kandungan Kimia Daun Gedi Merah

Ekstrak etanol daun gedi merah dilakukan uji kualitatif menggunakan reaksi warna dan KLT (kromatografi lapis tipis) untuk mengetahui kandungan flavonoid, alkaloid, saponin dan tanin. Hasil identifikasi kandungan kimia ekstrak etanol daun gedi merah dapat dilihat pada Tabel 6 dan 7. Hasil identifikasi senyawa dapat dilihat pada Lampiran 11.

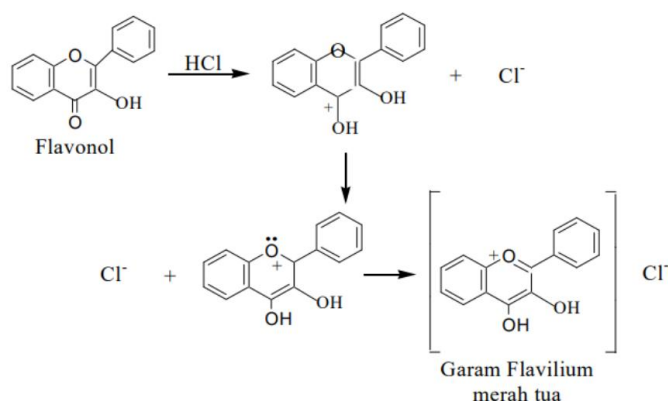
**Tabel 6. Hasil identifikasi kandungan kimia ekstrak etanol daun gedi merah menggunakan tabung**

Kandungan Kimia	Pustaka	Hasil	Kesimpulan
Flavonoid	Warna jingga pada lapisan amil alkohol (Setyowati <i>et al.</i> 2014)	Warna jingga pada lapisan amil alkohol	+
Alkaloid	Terbentuk kekeruhan atau endapan warna cokelat (Setyowati <i>et al.</i> 2014)	Tidak terbentuk kekeruhan atau endapan warna cokelat	-
Tanin	Terbentuk warna hijau kehitaman (Setyowati <i>et al.</i> 2014)	Terbentuk warna hijau kehitaman	+
Saponin	Buih tinggi 1-10 cm (Setyowati <i>et al.</i> 2014)	Buih tinggi 2 cm	+

**Tabel 7. Hasil identifikasi kandungan kimia ekstrak etanol daun gedi merah menggunakan KLT**

Kandungan Kimia	Pustaka	Hasil	Kesimpulan
Flavonoid	warna kuning (Hayati & Halim 2010)	warna kuning	+
Alkaloid	Warna orange, coklat, kuning kecoklatan (Hayati & Halim 2010; Wagner 1996)	Warna hijau kebiruan	-
Tanin	Warna biru kehijauan, biru kehitaman (Hayati & Halim 2010; Harbone 1987)	Warna biru kehijauan	+
Saponin	Warna coklat merah bata, biru, ungu (Hayati & Halim 2010; Wagner 1996)	Warna coklat	+


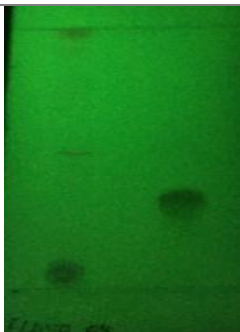
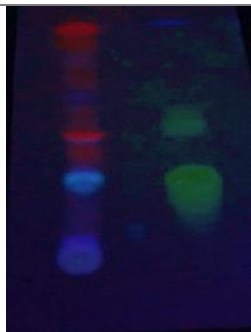
**1.1 Identifikasi flavonoid.** Flavonoid termasuk kelompok benzo- $\gamma$ -piron dengan struktur umum difenilpropan (C6-C3-C6) terdiri dari 2 (dua) cincin aromatis yang dihubungkan oleh 3 (tiga) atom karbon membentuk heterosiklik teroksigenasi (Pranowo 2015). Pada identifikasi flavonoid menggunakan uji Wilstater menunjukkan warna jingga pada lapisan amil alkohol yang berarti positif adanya flavonoid. Magnesium dan asam klorida bereaksi membentuk gelembung-gelembung yang merupakan gas  $H_2$ , sedangkan logam Mg dan HCL pekat berfungsi mereduksi inti benzopiron yang terdapat pada struktur flavonoid sehingga terbentuk garam flavilium yang berwarna merah atau jingga (Setyowati *et al.* 2014; Marlina *et al.* 2005). Tandi *et al.* (2016) telah melakukan identifikasi terhadap daun gedi merah menggunakan spektrofotometer Uv-Vis yang termasuk ke dalam golongan flavanon dan flavanonol. Pine *et al.* (2011) menunjukkan bahwa daun tanaman gedi memiliki senyawa flavonoid glikosida yang berpotensi sebagai sumber antioksidan.



**Gambar 8. Mekanisme pembentukan garam flavilium (Setyowati *et al.* 2014).**

Pelarut pengembang yang digunakan pada uji KLT flavonoid adalah kloroform : etil asetat (6:4). Setelah disemprot dengan amonia berwarna kuning di bawah cahaya tampak menegaskan adanya kandungan flavonoid pada ekstrak etanol daun gedi merah (Hayati & Halim 2010).

**Tabel 8. Hasil identifikasi flavonoid**

Senyawa	Setelah disemprot					
	Cahaya tampak		UV 254		UV 366	
Flavonoid						
	a	b	a	b	a	b

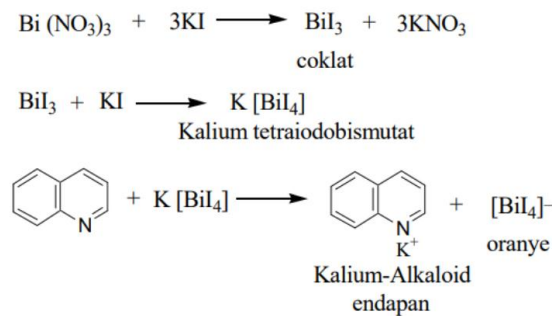
**Keterangan :**

a : ekstrak etanol gedi merah

b : Quersetin

**1.2. Identifikasi alkaloid.** Hasil positif alkaloid pada uji Dragendroff ditandai dengan terbentuknya endapan coklat muda sampai kuning. Endapan tersebut adalah kalium-alkaloid. Pada pembuatan pereaksi Dragendroff, bismut nitrat dilarutkan dalam HCl agar tidak terjadi reaksi hidrolisis karena garam-garam bismut mudah terhidrolisis membentuk ion bismutil ( $\text{BiO}^+$ ). Agar ion  $\text{Bi}^{3+}$  tetap berada dalam larutan ditambahkan asam sehingga kesetimbangan akan bergeser kearah kiri. Selanjutnya ion  $\text{Bi}^{3+}$  dari bismut nitrat bereaksi dengan kalium iodida membentuk endapan hitam Bismut (III) iodida yang kemudian melarut dalam kalium iodida berlebih membentuk kalium tetraiodobismutat. Pada uji alkaloid dengan pereaksi dragendroff, nitrogen digunakan membentuk ikatan kovalen koordinat dengan  $\text{K}^+$  yang merupakan ion logam (Setyowati *et al.* 2014; Marlina 2005). Alkaloid mempunyai kemampuan regenerasi dimana ekstrak alkaloid terbukti secara nyata mempunyai kemampuan regenerasi sel- $\beta$  pankreas yang rusak dan dapat merangsang saraf simpatik (simptomimetik) yang berefek pada peningkatan sekresi insulin. Mekanisme ekstra pankreatik yaitu dengan cara




meningkatkan transportasi glukosa di dalam darah, menghambat absorpsi glukosa di usus, merangsang sintesis glikogen dan menghambat sintesis glukosa dengan menghambat enzim glukosa 6-fosfatase, fruktosa 1,6-bifosfatase yang merupakan enzim yang berperan dalam glukoneogenesis, serta meningkatkan oksidasi glukosa melalui glukosa 6-fosfat dehidrogenase (Larantukan 2014). Pada penelitian ini tanaman gedi merah yang didapatkan dari kota Bitung, Sulawesi Utara diketahui tidak terdapat kandungan alkaloid berbeda dengan tanaman gedi merah yang didapatkan dari kota Palu Sulawesi Tengah memiliki kandungan alkaloid, tempat pengambilan tanaman dapat mempengaruhi kandungan senyawa dari tanaman tersebut (Tandi *et al.* 2016).



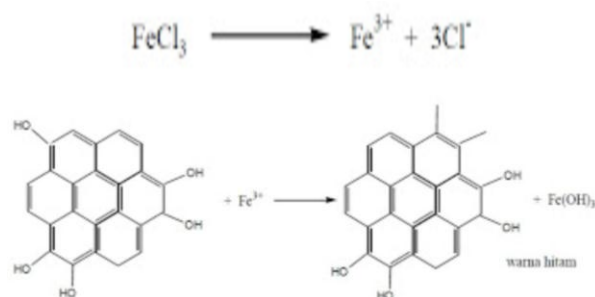
**Gambar 9.** Reaksi alkaloid dengan reagen dragendroff (Setyowati *et al.* 2014).

Pelarut pengembang yang digunakan pada uji KLT alkaloid adalah kloroform : metanol (9,5:0,5). Setelah disemprot dengan Dragendroff berwarna hijau kebiruan di bawah cahaya tampak menegaskan tidak adanya kandungan alkaloid pada ekstrak etanol daun gedi merah (Hayati & Halim 2010; Wegner 1996).

**Tabel 9.** Hasil identifikasi alkaloid

Senyawa	Setelah disemprot		
	Cahaya tampak	UV 254	UV 366
Alkaloid			

**1.3 Identifikasi tanin.** Hasil identifikasi diketahui bahwa terdapat kandungan tanin dengan memberikan warna hijau kehitaman. Penambahan ekstrak dengan  $\text{FeCl}_3$  dalam air menimbulkan warna hijau, merah, ungu atau hitam yang kuat. Terbentuknya warna hijau kehitaman pada ekstrak setelah ditambahkan  $\text{FeCl}_3$  karena tanin akan bereaksi dengan ion  $\text{Fe}^{3+}$  membentuk senyawa kompleks (Setyowati *et al.* 2014). Tanin dapat memacu metabolisme glukosa dan lemak, juga berfungsi sebagai astringent atau pengkhelat yang dapat mengerutkan membran epitel usus halus sehingga mengurangi penyerapan sari makanan dan sebagai akibatnya menghambat asupan glukosa dan laju peningkatan glukosa darah tidak terlalu tinggi (Tandi *et al.* 2016).



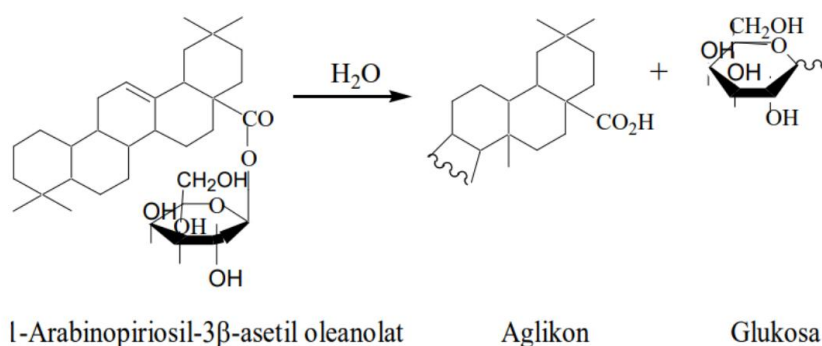
**Gambar 10.** Reaksi tanin dan  $\text{FeCl}_3$  (Setyowati *et al.* 2014).

Pelarut pengembang yang digunakan pada uji KLT tanin adalah asam asetat glasial : air : HCl pekat (30:10:3). Setelah disemprot dengan  $\text{FeCl}_3$ , berwarna hijau kebiruan di bawah cahaya tampak menegaskan adanya kandungan tanin pada ekstrak etanol daun gedi merah (Hayati & Halim 2010; Harbone 1987).

**Tabel 10.** Hasil identifikasi tanin

Senyawa	Setelah disemprot		
	Cahaya tampak	UV 254	UV 366
Tanin			

**1.4. Identifikasi saponin.** Hasil identifikasi diketahui bahwa terdapat kandungan saponin menggunakan uji Forth dibuktikan dengan terbentuknya busa dan dapat bertahan tidak kurang dari 10 menit serta tidak hilang setelah penambahan HCl. Timbulnya busa pada uji Forth menunjukkan adanya glikosida yang mempunyai kemampuan membentuk buih dalam air yang terhidrolisis menjadi glukosa dan senyawa lain yang bereaksi (Setyowati *et al.* 2014). Saponin dapat menghambat pengosongan lambung dengan memperpanjang waktu absorpsi (Tandi *et al.* 2016).



**Gambar 11.** Reaksi hidrolisis saponin dalam air (Setyowati *et al.* 2014).

Pelarut pengembang yang digunakan pada uji KLT saponin adalah kloroform:metanol:air (20:60:10). Setelah disemprot dengan anisaldehyd berwarna coklat menegaskan adanya kandungan saponin pada ekstrak etanol daun gedi merah (Hayati & Halim 2010; Wagner *et al.* 1996).

**Tabel 11.** Hasil identifikasi saponin

Senyawa	Setelah disemprot		
	Cahaya tampak	UV 254	UV 366
Saponin			

## G. Hasil Pemeriksaan Kadar Mikroalbuminuria

Pengukuran kadar mikroalbuminuria dilakukan pada  $T_0$  yaitu sebelum diinduksi STZ-NA untuk mengetahui kadar albuminuria awal pada hewan uji, pengukuran kadar mikroalbumin ini digunakan sebagai pembanding untuk melihat apakah berhasil atau tidaknya induksi STZ-NA secara intraperitoneal pada semua kelompok kecuali kelompok kontrol normal. Induksi NA diberikan 15 menit setelah induksi STZ.

Pengukuran kadar mikroalbuminuria dilakukan lagi pada hari ke-5 diukur sebagai  $T_1$  setelah induksi STZ-NA dimaksudkan untuk membuat keadaan DM tipe II menurut Ghasemi *et al.* (2014) pada dosis NA 110 mg STZ 45 mg i.p. ditunggu selama 3 hari atau lebih dapat menaikkan kadar gula darah sampai  $>250\text{mg/dl}$ . Pengukuran diperpanjang sampai hari ke-15 diukur kembali kadar mikroalbuminuria sebagai  $T_2$  untuk memastikan bahwa hewan uji telah mengalami DM nefropati dengan kadar mikroalbuminuria yang menunjukkan rentang 30-300 mg/dL.

Hewan terindikasi DM nefropati yang dinyatakan sebagai hari ke-15 dan diberi perlakuan sampai hari ke-29. Data kadar mikroalbuminuria setelah diberikan STZ NA dapat dilihat pada Tabel 12. Hasil pengukuran kadar mikroalbuminurin dapat dilihat pada Lampiran 14.

**Tabel 12. Data kadar mikroalbuminuria setelah diinduksi STZ-NA**

Kelompok	Kadar mikroalbuminuria (Rata-rata $\pm$ SD)		
	Hari Ke-0 ( $T_0$ )	Hari Ke-5 ( $T_1$ )	Hari Ke-15 ( $T_2$ )
<b>I</b>	33,93 $\pm$ 2,05	41,01 $\pm$ 2,00 <sup>b,c,d</sup>	44,19 $\pm$ 2,18 <sup>b,c,d</sup>
<b>II</b>	25,02 $\pm$ 6,20	237,69 $\pm$ 4,25 <sup>a,c,d</sup>	286,35 $\pm$ 2,84 <sup>a,c,d</sup>
<b>III</b>	24,83 $\pm$ 5,17	226,570 $\pm$ 2,86 <sup>a,b</sup>	276,57 $\pm$ 2,68 <sup>a,b</sup>
<b>IV</b>	23,32 $\pm$ 5,17	223,394 $\pm$ 2,48 <sup>a,b</sup>	274,54 $\pm$ 2,79 <sup>a,b</sup>
<b>V</b>	22,56 $\pm$ 4,10	231,047 $\pm$ 4,48 <sup>a</sup>	280,51 $\pm$ 4,05 <sup>a</sup>
<b>VI</b>	23,32 $\pm$ 1,97	232,202 $\pm$ 6,01 <sup>a</sup>	281,90 $\pm$ 5,73 <sup>a</sup>
<b>VII</b>	26,92 $\pm$ 2,89	232,780 $\pm$ 6,26 <sup>a</sup>	282,16 $\pm$ 4,93 <sup>a</sup>

Keterangan :

I = kelompok Normal

II = kelompok DM

III = kelompok Glibenklamid

IV = kelompok Pioglitazone

V = kelompok ekstrak etanol daun gedi merah dosis 100 mg/Kg BB tikus

VI = kelompok ekstrak etanol daun gedi merah dosis 200 mg/Kg BB tikus

VII = kelompok ekstrak etanol daun gedi merah dosis 400 mg/Kg BB tikus

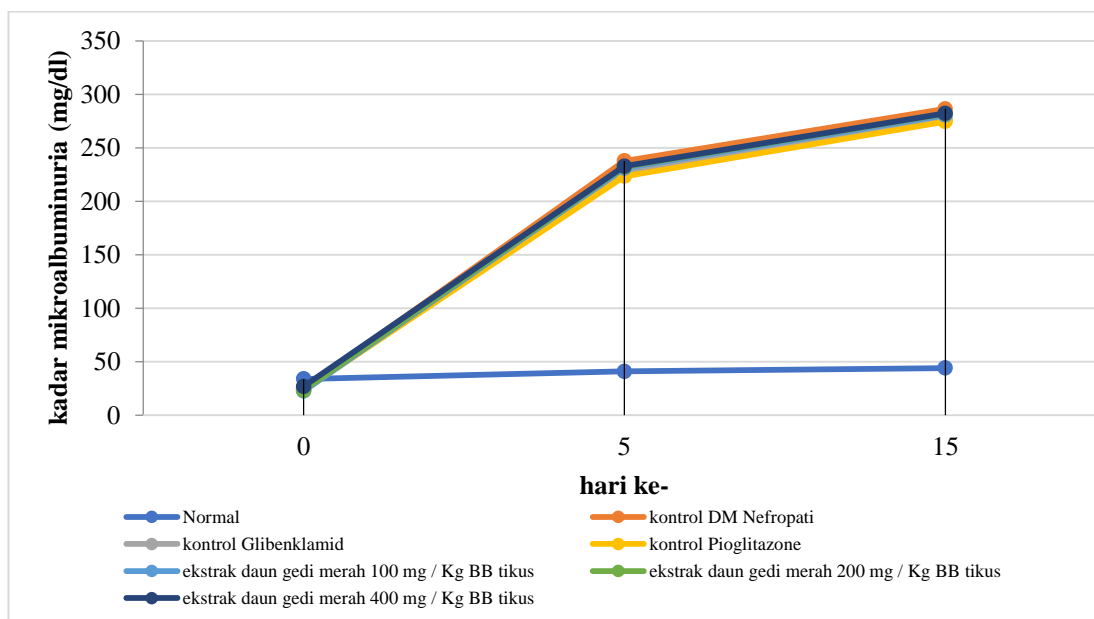
a = berbeda signifikan dengan kontrol normal

b = berbeda signifikan dengan kontrol DM

c = berbeda signifikan dengan Glibenklamid

d = berbeda signifikan dengan Pioglitazone





**Gambar 12. Grafik kadar mikroalbuminuria setelah diinduksi STZ-NA.**

Pada gambar di atas terlihat rata-rata kadar mikroalbuminuria meningkat pada hari ke-5 sampai hari ke-15 pada kelompok DM, glibenklamid, pioglitazone, ekstrak daun gedi merah dosis 100, 200 dan 400 mg/KgBB tikus. Berdasarkan hasil uji *Shapiro-Wilk* data terdistribusi normal ( $p > 0,05$ ). Data yang diperoleh dari uji *Levene test* dinyatakan homogen ( $p > 0,05$ ). Data yang diperoleh dari hasil uji *One Way Anova* terdapat perbedaan nyata dalam penurunan kadar mikroalbuminuria pada tiap-tiap kelompok. Selanjutnya untuk mengetahui perbedaan antara tiap-tiap kelompok dilakukan uji *Post Hoc* menggunakan *Tukey*. Hasil uji statistik *Post Hoc* menggunakan *Tukey* menunjukkan terdapat perbedaan yang signifikan ( $p < 0,05$ ) antara kelompok normal dan kelompok lainnya. Peningkatan albuminuria ini merupakan salah satu indikasi terjadinya kerusakan ginjal. Sampel urin yang digunakan pada pemeriksaan ini adalah urin 24 jam. Data kadar mikroalbuminuria setelah diberikan sediaan uji dapat dilihat pada Tabel 13. Hasil analisa statistik penurunan mikroalbuminuria dapat dilihat pada lampiran 19.

Tabel 13. Data kadar mikroalbuminuria setelah diberikan sediaan uji

Kelompok	Kadar mikroalbuminuria (Rata-rata± SD)		
	Hari Ke-15 (T <sub>2</sub> )	Hari Ke-22 (T <sub>3</sub> )	Hari Ke-29 (T <sub>4</sub> )
I	4419±2,18	44,22±2,09 <sup>b,c,d</sup>	46,02±2,56 <sup>b,c,d</sup>
II	286,35±2,84	294,65±2,22 <sup>a,c,d</sup>	298,46±2,08 <sup>a, a,c,d</sup>
III	276,57±2,68	128,45±2,12 <sup>a,b</sup>	56,86±1,95 <sup>a,b</sup>
IV	274,54±2,79	131,09±2,01 <sup>a,b</sup>	56,32±2,14 <sup>a,b</sup>
V	280,51±4,05	152,61±4,36 <sup>a,b,c,d</sup>	150,77±3,12 <sup>a,b,c,d</sup>
VI	281,90±5,73	143,50±3,04 <sup>a,b,c,d</sup>	114,65±2,62 <sup>a,b,c,d</sup>
VII	282,16±4,93	139,67±1,78 <sup>a,b,c,d</sup>	93,51±2,08 <sup>a,b,c,d</sup>

Keterangan :

I = kelompok Normal

II = kelompok DM

III = kelompok Glibenklamid

IV =kelompok Pioglitazone

V = kelompok ekstrak etanol daun gedi merah dosis 100 mg/Kg BB tikus

VI = kelompok ekstrak etanol daun gedi merah dosis 200 mg/Kg BB tikus

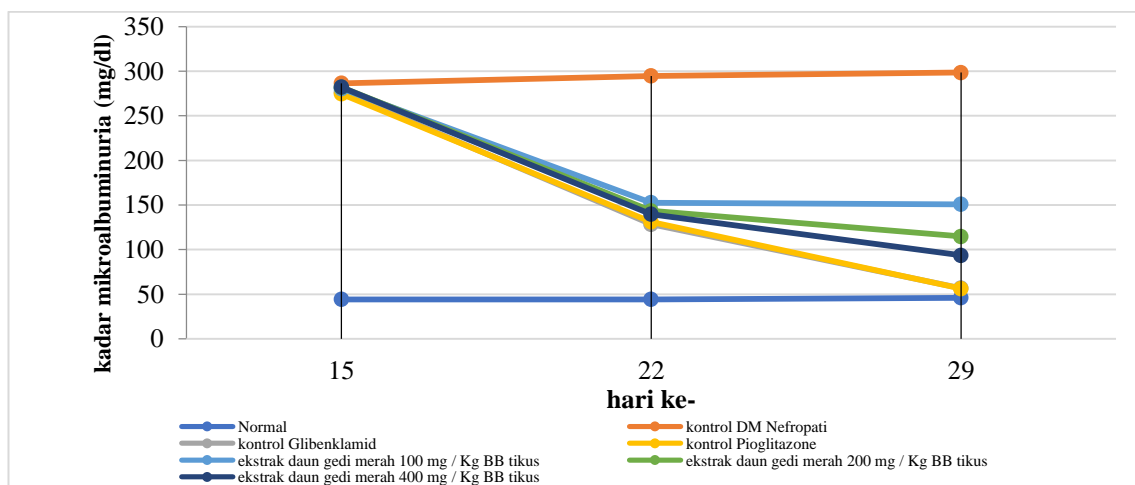
VII = kelompok ekstrak etanol daun gedi merah dosis 400 mg/Kg BB tikus

a = berbeda signifikan dengan kontrol normal

b = berbeda signifikan dengan kontrol DM

c = berbeda signifikan dengan Glibenklamid

d = berbeda signifikan dengan Pioglitazone



Gambar 13. Grafik hubungan antara kadar mikroalbuminuria dengan waktu perlakuan.

Berdasarkan tabel pengukuran hasil rata-rata pengujian kadar mikroalbuminuria pada hari ke-29 diatas, terlihat kelompok normal memberikan hasil rata-rata kadar normal dari mikroalbuminuria pada kondisi tikus yang sehat. Kisaran normal kadar mikroalbuminuria lebih dari 150 mg/24 jam. Kelompok normal memiliki kadar mikroalbuminuria yang normal sehingga dapat digunakan

sebagai pembanding terhadap kelompok DM, pembanding obat dan kelompok ekstrak daun gedi merah dosis 100, 200, 400 mg/Kg BB tikus.

Pada kelompok pembanding (glibenklamid dan pioglitazone) yang telah diketahui zat aktif serta khasiatnya untuk mengobati DM tipe II. Hal ini dapat dilihat dari tabel diatas yang menunjukkan terjadi penurunan kadar mikroalbuminuria paling bagus pembanding glibenklamid 56,86 mg/dl dan pembanding pioglitazone 56,32 mg/dl, dibanding kelompok lainnya. Sedangkan pada variasi ketiga dosis daun gedi merah terlihat dosis I (100 mg/Kg BB tikus) kadar mikroalbuminuria sebesar 150,77 mg/dl, pada dosis II (200 mg/Kg BB tikus) kadar mikroalbuminuria sebesar 114,65 mg/dl dan pada dosis III (400 mg/KgBB tikus) kadar mikroalbuminuria sebesar 93,51 mg/dl.

Hasil pengukuran kadar rata-rata mikroalbuminuria berdasarkan hasil analisa data menggunakan *One Way Anova* menunjukkan bahwa kadar mikroalbuminuria pada kelompok ekstrak 100, 200 dan 400 mg/kg BB tikus berbeda signifikan ( $p < 0,05$ ) terhadap kelompok DM. Namun aktifitas penurunan terhadap kadar mikroalbuminuria belum setara dengan aktifitas glibenklamid dan pioglitazone. Hal ini menunjukkan bahwa ekstrak etanol daun gedi merah mampu menurunkan kadar mikroalbuminuria dikarenakan kandungan dari daun gedi merah yang berpotensi sebagai antioksidan. Mekanisme ini dikarenakan adanya kandungan antioksidan yang cukup sehingga zat aktif yang terkandung dalam daun gedi merah mengikat radikal bebas pada diabetes, sehingga efek yang dihasilkan akan maksimal. Tabel Perhitungan persentase penurunan kadar mikroalbuminuria dapat dilihat pada Tabel 14. Hasil Penentuan persenan penurunan kadar mikroalbuminuria dapat dilihat pada Lampiran 15.

**Tabel 14. Perhitungan persentase penurunan kadar mikroalbuminuria**

Kelompok	Presentase penurunan kadar mikroalbuminuria	
	Penurunan hari Ke 22	Penurunan hari ke 29
I	-45,34	-70,762712
II	-26,80	-28,574787
III	48,64	84,1231288
IV	46,13	63,5135
V	37,62	38,504559
VI	42,47	56,2767496
VII	45,23	67,6527737

Keterangan :

- I = kelompok Normal
- II = kelompok DM
- III = kelompok Glibenklamid
- IV =kelompok Pioglitazone
- V = kelompok ekstrak etanol daun gedi merah dosis 100 mg/Kg BB tikus
- VI = kelompok ekstrak etanol daun gedi merah dosis 200 mg/Kg BB tikus
- VII = kelompok ekstrak etanol daun gedi merah dosis 400 mg/Kg BB tikus
- Hari ke-22 =persentase penurunan hari ke 15 terhadap hari ke 22
- Hari ke-29 = persentase penurunan hari ke 15 terhadap hari ke 29

Pada hari ke-22 (setelah 7 hari diberikan perlakuan) dan pada hari ke 29 (setelah 14 hari diberikan perlakuan) ada penurunan pada kelompok glibenklamid, pioglitazone dan kelompok ekstrak etanol gedi merah 100, 200, 400 mg/Kg BB tikus dilihat dari tabel persenan penurunan kadar mikroalbuminuria pada penurunan hari ke-22 dan penurunan hari ke-22 kelompok III, IV, V, VI, VII tidak adanya tanda minus artinya adanya penurunan kadar mikroalbuminuria pada kelompok tersebut.

Dosis pemberian yang diujikan pada kelompok ekstrak etanol tersebut terdiri dari tiga dosis, yaitu 100, 200, dan 400 mg/Kg BB tikus. Secara signifikan memberikan efektifitas dari ekstrak etanol daun gedi merah adalah dosis 400 mg/Kg BB tikus namun masih lebih baik kelompok glibenklamid dan pioglitazone karena mendekati kelompok normal.

Streptozotocin (STZ) atau 2-deoksi-2-[3-(metil-3-nitrosoureido)- *D*-glukopiranos], STZ masuk ke sel beta Langerhans melalui transporter glukosa GLUT 2. Alkilasi DNA oleh STZ melalui gugus nitrosourea mengakibatkan kerusakan pada sel beta pankreas. STZ merupakan donor NO (*nitric oxide*) dan meningkatkan oksigen reaktif yang mempunyai peran terhadap kerusakan sel beta pankreas. STZ menghambat siklus Krebs dan menurunkan konsumsi oksigen di mitokondria sehingga produksi ATP menurun. Penurunan ATP akan memacu peningkatan substrat enzim xantin oksidase. Enzim tersebut berperan sebagai katalis reaksi pembentukan anion superoksida aktif yang kemudian akan terbentuk hidrogen peroksida dan radikal superoksida. NO dan oksigen reaktif tersebut adalah penyebab utama kerusakan sel beta pankreas. Kerusakan DNA akibat STZ dapat mengaktifasi poli ADP-ribolisasi yang kemudian mengakibatkan

penekanan NAD<sup>+</sup> seluler, penurunan jumlah ATP, akhirnya terjadi penghambatan sekresi, dan sintesis insulin. Nicotinamide (NA) dapat digunakan pada saat induksi STZ untuk mencegah kerusakan pankreas lebih parah sehingga DM tidak disebabkan oleh defisiensi insulin absolut (DM tipe I) tetapi karena adanya kerusakan parsial pada pankreas (DM tipe II) (Pratiwi & Murbawan 2015).

Kondisi hiperglikemia menyebabkan peningkatan DAG (Diacylglycerol), yang selanjutnya mengaktivasi protein kinase-C, utamanya pada isoform  $\beta$  dan  $\delta$ . Aktivasi PKC menyebabkan beberapa akibat patogenik melalui pengaruhnya terhadap *endothelial nitric oxide synthetase* (eNOS), *endotelin-1* (ET-1), *vascular endothelial growth factor* (VEGF), *transforming growth factor- $\beta$*  (TGF-  $\beta$ ), *plasminogen activator inhibitor-1* (PAI-1), aktivasi NF- $\kappa$ B dan NAD(P)H oksidase, penelitian ini mengimplikasikan kausal meningkat albumin terglykasi dalam pengembangan kelainan kontribusi untuk nefropati diabetes (Murnah & Indranila 2014). Kadar AGEs dalam darah meningkat dalam perkembangan komplikasi mikrovaskuler pada *renal mesangial cell growth* yang terjadi selama diabetes nefropati. Ikatan AGEs dengan reseptor AGEs (RAGE) memicu timbulnya *reactive oxygen species* (ROS), aktivasi NF- $\kappa$ B terhadap sel target, endothelium, sel mesangial dan makrofag dengan respons peningkatan permeabilitas vaskuler, sehingga terjadi *transvascular albumin leakage* yang menimbulkan mikroalbuminuria (Murnah & Indranila 2014).

Komplikasi yang terjadi pada DM tipe II dapat menyebabkan penyakit ginjal ditandai dengan adanya mikroalbuminuria (30 mg/hari) yang disebut DM nefropati (Rivandi & Yonata 2015). Albuminuria persisten pada kisaran 30-299 mg/24 jam (mikroalbuminuria) merupakan pertanda dini dari DM nefropati (Wibisono *et al.* 2012). Mikroalbuminuria merupakan suatu fase klinis awal dari perjalanan nefropati diabetik, pada membran basalis glomerulus, kerusakan struktur akan mengakibatkan penurunan muatan negatif akibatnya molekul besar yang bermuatan negatif akan tertimbun dalam membran dan mengakibatkan kerusakan glomerulus, yang menyebabkan molekul albumin masuk ke dalam ultrafiltrasi dan dikeluarkan melalui urin (Rikarni 2007).

Pada daun gedi merah terdapat senyawa flavonoid yaitu kelompok flavon atau 3-OH tersubsitisi serta kerabatnya seperti glikosida rutin, isokuersetin,

glikosida kaemperon, glikosida ramnetin, kanabestin dan kuersimeritin (Mandey 2013). Penelitian lain Chumbhale (2013), tentang kandungan fenolik yang terdapat dalam daun gedi merah (*Abelmoschus manihot* L. Medik) melaporkan adanya kandungan flavonoid yaitu flavon, flavonol, isoflavon, antosianin, dan proantosiani. Penurunan kadar albuminuria akibat pemberian ekstrak daun gedi merah disebabkan karena ekstrak daun gedi merah mengandung zat aktif tersebut yang dapat menurunkan kadar albuminuria.

Flavonoid menghambat fosfodiesterase sehingga meningkatkan cAMP pada sel beta pankreas sehingga menstimulasi pengeluaran protein kinase A (PKA) yang merangsang peningkatan sekresi insulin, bersifat protektif terhadap kerusakan sel beta dengan penangkap dan pengikat radikal bebas dari ion-ion logam hidroksil dan superoksida, dengan melindungi lipid membran terhadap reaksi oksidasi yang merusak, dapat menekan apoptosis sel beta (Ajie 2015; Robinson 2005). Flavonoid juga dapat meminimalkan komplikasi mikrovaskuler dengan penurunan kadar mikroalbuminuria sebagai antioksidan menghambat laju pembentukan AGEs dan senyawa dikarbonil, mengurangi ekspresi VEGF, mencegah progresifitas DM nefropati melalui efek ROS *scavenging* pada mitokondria sel mesangial, flavonol bekerja memblokir aktifitas NF-Kb dan menurunkan peroksida lipid sehingga dapat meminimalkan komplikasi mikrovaskuler dengan melihat penurunan kadar mikroalbuminuria (Murnah & Indranila 2014; Handani *et. al* 2015; Aras *et al.* 2010).

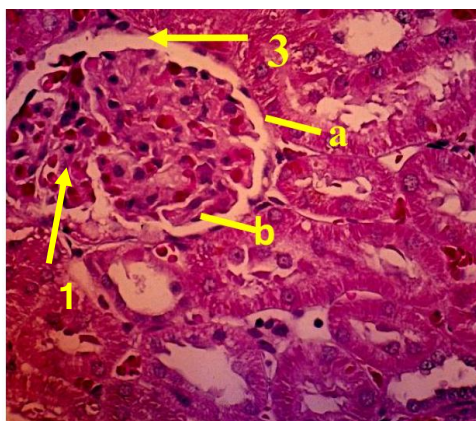
Senyawa tanin juga pengikat radikal bebas (ROS) dan mengaktifkan enzim antioksidan. Kerja tanin menurunkan kadar mikroalbuminuria juga tidak secara langsung dengan meningkatkan penyerapan glukosa melalui pensinyalan insulin, seperti PI3K (*Phosphoinositide 3-Kinase*), aktivasi p38 MAPK (*Mitogen-Activated Protein Kinase*), dan translokasi GLUT-4 (Kumari & Jain 2012).

Senyawa saponin juga dapat menurunkan mikroalbuminuria tetapi tidak secara langsung dengan aksi hipoglikemik melalui mengikat radikal bebas, meregenerasikan kerja insulin memberi signal insulin, melepaskan insulin dari pulau sel beta, menghambat aktivitas disakarida, aktivasi sintesis glikogen, Inhibisi glukoneogenesis, penghambatan aktivitas  $\alpha$ -glukosidase, penghambatan

ekspresi mRNA dari glikogen fosforilasa dan glukosa 6-fosfatase, dan meningkatkan ekspresi GLUT<sub>4</sub> (Barky *et al.* 2017).

#### H. Hasil Pengamatan Organ Ginjal Tikus dengan Pewarnaan Hemaktosilin-Eosin

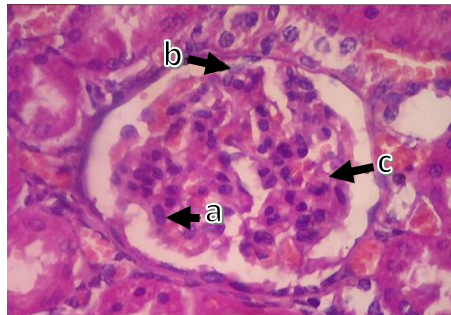
Histopatologi organ dilakukan untuk melihat perubahan glomerulus ginjal, degenerasi dan nekrosis pada organ ginjal. Masing-masing hewan perlakuan diambil tiga sampel yang dilihat dari 100 sel organ ginjal untuk tiap sampel, dengan perbesaran 400 kali pada preparat diberikan minyak imersi untuk memperjelas pengamatan. Skoring untuk ginjal: skor 0 tidak ada perubahan, skor 1 ada degenerasi hidrofik, skor 2 ada perdarahan, skor 3 ada peradangan, dan skor 4 adanya nekrosis sel.



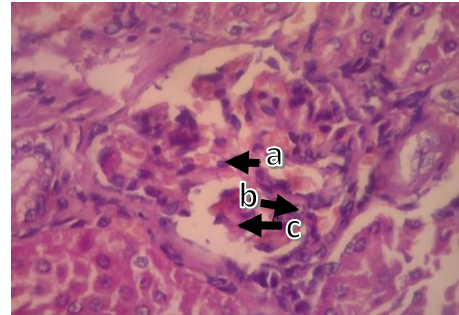
**Gambar 14. Gambaran histopatologi ginjal normal (Slomianka 2009). Keterangan :**  
1. Glomerulus 2. Kapsula Bowman a. lapis parietal b. lapis visceral 3. Ruang Bowman. Pewarnaan HE, pembesaran 400x.

Pada kondisi normal korpuskulus ginjal berdiameter sekitar 200-250  $\mu\text{m}$  dan terdiri atas seberkas kapiler, yaitu glomerulus, dikelilingi oleh kapsula epitel ber dinding ganda yang disebut kapsula Bowman. Ruangan dalam kapsula Bowman disebut ruang Bowman (ruang urinarius) yang menampung cairan yang disaring melalui dinding kapiler dan lapisan viseral. Glomerulus berhubungan dengan kapsula Bowman di bagian dalam melalui lapisan viseral yang tersusun oleh modifikasi sel-sel epitel yang disebut podosit. Komponen jaringan ikat pada arterioler aferen tidak masuk ke dalam kapsula Bowman, dan secara normal sel-sel jaringan ikat digantikan oleh tipe sel khusus, yaitu sel-sel mesangial (Gartner &

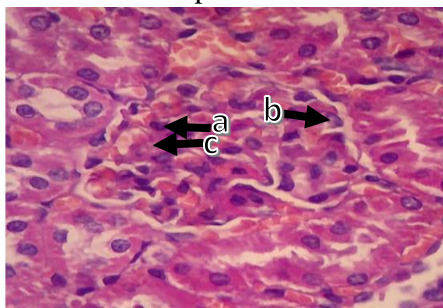
Hiatt 2007). Hasil pengamatan dan persentase organ ginjal dapat dilihat pada tabel dan gambar di bawah ini :



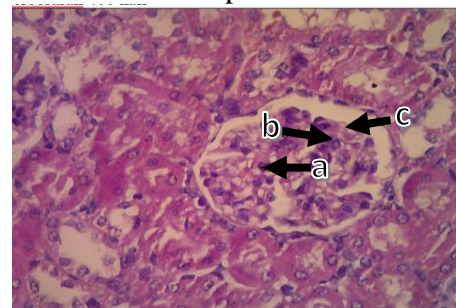
Kelompok normal



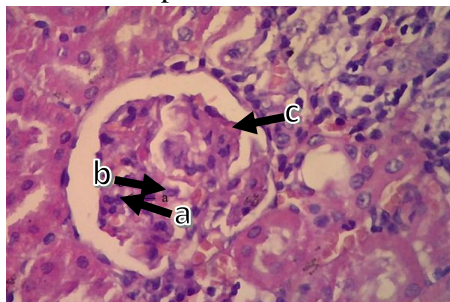
Kelompok DM



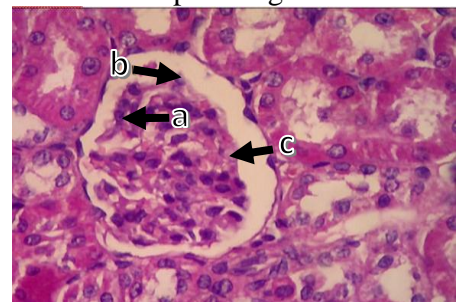
Kelompok Glibenklamid



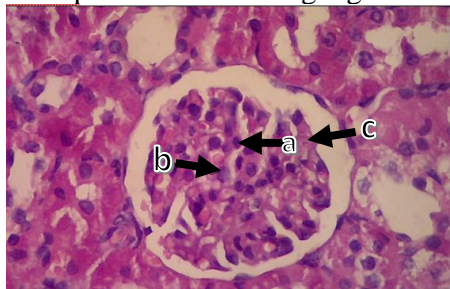
Kelompok Pioglitazone



Kelompok ekstrak 100 mg/KgBB tikus



Kelompok ekstrak 200 mg/KgBB tikus



Kelompok ekstrak 400 mg/KgBB tikus

**Gambar 15.** Gambaran histopatologi organ ginjal dengan pewarnaan HE perbesaran 400x dengan irisan melintang. Keterangan : a: sel normal, b: degenerasi, c: nekrosis.

Selain gambaran profil histopatologi ginjal dengan pewarnaan *Hemaktosilin-Eosin*, pada penelitian ini juga dilakukan pembacaan kerusakan



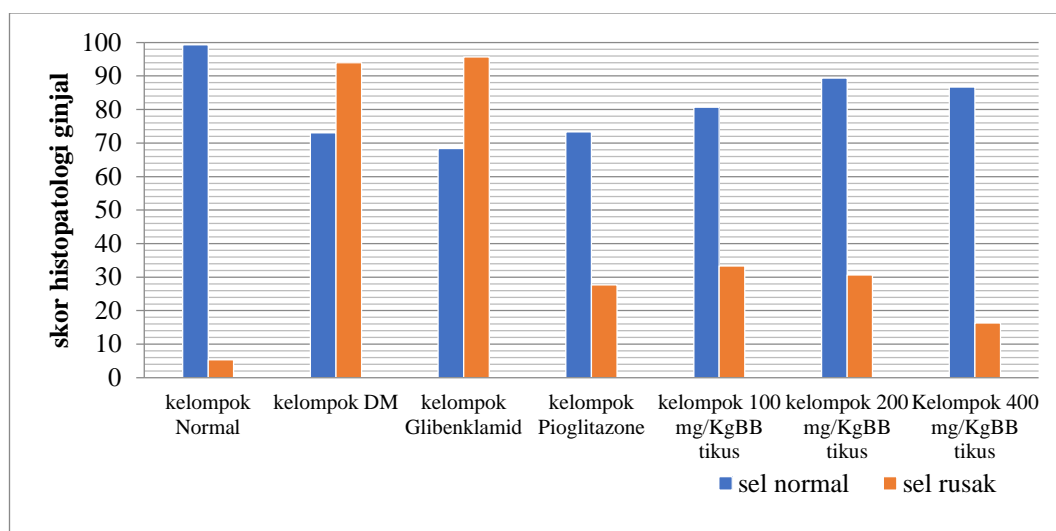
ginjal dengan melihat degenerasi sel dan nekrosis, kemudian diskoringkan untuk mengetahui tingkat kerusakan setiap kelompok perlakuan. Jika setelah pemberian ekstrak didapatkan degenerasi dan nekrosis yang kecil, maka hal ini mengidentifikasi adanya efek degenerasi sel yang dihasilkan oleh sediaan uji tersebut. Hasil perhitungan total skor histopatologi organ ginjal dapat dilihat pada Tabel 15. Hasil perhitungan total skor histopatologi organ ginjal dapat dilihat pada Lampiran 16.

**Tabel 15. Perhitungan total skoring histopatologi organ ginjal**

Keompok perlakuan	Rata-rata Kerusakan Ginjal		SKG±SD	Rata-Rata jumlah sel normal±SD
	Degenerasi	Nekrosis		
I	5,33	0,00	5,33±3,21 <sup>b</sup>	94,33±3,79
II	4,67	89,33	94±9,16 <sup>a</sup>	73,00±3,00
III	10,33	85,33	95,67±27,06	68,33±10,06
IV	14,33	13,33	27,67±19,50	73,33±20,23
V	14,67	18,67	33,33±3,51 <sup>a</sup>	80,67±1,53
VI	4,00	26,67	30,67±9,07 <sup>b</sup>	89,33±2,89
VII	12,00	4,00	16,33±33 <sup>b</sup>	86,67±3,51

Keterangan :

- I = kelompok Normal
- II = kelompok DM
- III = kelompok Glibenklamid
- IV =kelompok Pioglitazone
- V = kelompok ekstrak etanol daun gedi merah dosis 100 mg/Kg BB tikus
- VI = kelompok ekstrak etanol daun gedi merah dosis 200 mg/Kg BB tikus
- VII = kelompok ekstrak etanol daun gedi merah dosis 400 mg/Kg BB tikus
- SKG = Skoring kerusakan ginjal
- a = berbeda signifikan dengan kontrol normal
- b = berbeda signifikan dengan kontrol DM
- c = berbeda signifikan dengan Glibenklamid
- d = berbeda signifikan dengan Pioglitazone



**Gambar 16. Grafik hubungan antara rata-rata sel rusak dan sel normal dengan kelompok perlakuan.**

Pada kelompok normal, memiliki nilai rata-rata skoring 5,33 dengan jumlah sel degenerasi 5,33 dan jumlah sel nekrosis tidak ada. Profil histopatologi

ginjal memberikan gambaran glomerulus yang baik, kapsula Bowman normal, ruang kapsula Bowman normal dan gambaran mikroskopis tampak juga terjadi degenerasi sel, yang paling sering penimbunan air atau lemak menyebabkan kerusakan pada sitoplasma tetapi tidak sampai merusak inti sel sehingga kerusakan tersebut dapat pulih kembali menjadi normal bila penyebab kerusakan dihilangkan (Price & Wilson 2005).

Pada kelompok DM, memiliki nilai rata-rata skoring 94 dengan jumlah sel degenerasi 4,67 dan jumlah sel nekrosis 89,33. Perubahan struktur mikroskopis ginjal pada DM yaitu degenerasi, nekrosis dan hipertropi glomerulus. Degenerasi lemak merupakan akumulasi lemak dalam sitoplasma sel yang biasanya terjadi dalam sel-sel parenkimatososa dan degenerasi hidrofik merupakan jejas sel yang reversible dengan penimbunan intraseluler yang lebih parah jika disertai adanya albumin, biasanya banyak terjadi pada sel-sel epitel yang ditandai dengan adanya pembengkakan sel, adanya ruang-ruang kosong (vakuola), sel membesar dan merapat. Pembengkakan glomerulus terjadi karena adanya proliferasi endotel dan infiltrasi sel-sel leukosit karena kompleks imun yang mengendap akibat respons peradangan. Pembengkakan glomerulus terjadi perubahan-perubahan berupa proliferasi kapsula Bowman sehingga mengakibatkan terjadinya adhesi antara glomerulus dengan kapsula Bowman dan penyempitan ruang Bowman. Nekrosis merupakan kematian sel jaringan akibat jejas saat masih hidup. Secara mikroskopik terjadi perubahan intinya yaitu hilangnya gambaran kromatin, inti menjadi keriput, tidak vasikuler lagi, inti tampak lebih padat, warnanya gelap hitam (piknosis), inti terbagi atas fragmen-fragmen, robek (karioreksis), inti tidak lagi mengambil warna banyak karena itu pucat tidak nyata (kariolisis). Terjadi hipertropi selular yang menstimulasi pelebaran sel glomerulus (Rao *et al.* 2011).

Pada kelompok glibenklamid, memiliki nilai rata-rata skoring 95,67 dengan jumlah sel degenerasi 10,33 dan jumlah sel nekrosis 85,33. Profil histopatologi ginjal memberikan gambaran glomerulus yang membesar, kapsula Bowman yang menempel dengan glomerulus, ruang kapsula Bowman yang menyempit dan sel-sel ginjal yang banyak terdapat kerusakan baik degenerasi maupun nekrosis. Penggunaan obat-obat hipoglikemik oral golongan sulfonilurea

harus hati-hati pada pasien usia lanjut, wanita hamil, pasien dengan gangguan fungsi hati, dan atau gangguan fungsi ginjal. Sedangkan pioglitazone memperbaiki sensitivitas insulin di antara lain jaringan lemak, otot, dan hepar. Pioglitazone merupakan agonis PPAR-gamma sehingga meningkatkan sensitivitas adiposit bagi insulin efek protektif terhadap sel beta ini kemungkinan dapat menghindarkan komplikasi mikrovaskuler DM jangka panjang (retinopati, nefropati, dan neuropati) (Depkes 2005; Tjay & Rahardja 2002). Pada kelompok pioglitazone hipertropi glomerulus, terlihat adanya degenerasi sel dan nekrosis dengan nilai rata-rata skoring 27,67 dengan jumlah sel degenerasi 14,33 dan jumlah sel nekrosis 13,33 yang lebih baik dibanding glibenklamid dan gambaran histopatologi mendekati kelompok normal. Pada kelompok dosis I (100 mg/kgBB tikus) nilai rata-rata skoring 33,33. Pada kelompok dosis II (200 mg/kgBB tikus) nilai rata-rata skoring 30,67 dan pada kelompok dosis III (400 mg/kgBB tikus) nilai rata-rata skoring 16,33 juga terdapat perbaikan histopatologi ginjal yang lebih baik dibanding glibenklamid dan mendekati kelompok normal, kecuali kelompok ekstrak dosis 400 mg/Kg BB tikus lebih baik dibandingkan pioglitazone dan mendekati kelompok normal.

Berdasarkan tabel, kelompok uji yang memberikan kerusakan rata-rata terkecil sampai terbesar berturut-turut adalah sebagai berikut : kelompok normal, kelompok ekstrak 400 mg/Kg BB tikus, kelompok pioglitazone, kelompok ekstrak 200 mg/Kg BB, kelompok ekstrak 100 mg/Kg BB tikus, kelompok DM, dan kelompok glibenklamid. Dari hasil skoring kerusakan ginjal kelompok dosis 400 mg/Kg BB tikus memberikan aktifitas terbaik dalam meregenerasikan sel ginjal hingga mendekati normal. Adapun kelompok tersebut didapati lebih baik efektifitasnya dari pioglitazone dan glibenklamid.

Berdasarkan hasil uji *Shapiro-Wilk* data terdistribusi normal ( $p > 0,05$ ). Data yang diperoleh dari uji *Levene test* dinyatakan homogen ( $p > 0,05$ ). Data yang diperoleh dari hasil uji *One Way Anova* didapatkan signifikansi ( $p > 0,05$ ). Selanjutnya untuk mengetahui perbedaan antara tiap-tiap kelompok dilakukan uji *Post Hoc* menggunakan *Temhene*. Analisa statistik skoring histopatologi ginjal dapat dilihat pada Lampiran 20.

DM merupakan gangguan metabolisme kronis, ditandai tingginya kadar glukosa dalam darah (hiperglikemia) karena kekurangan insulin atau kombinasi dengan terjadinya resistensi insulin. Hiperglikemia kronis diabetes berhubungan dengan kerusakan jangka panjang pada ginjal yang disebut DM nefropati. STZ sebagai penginduksi DM menyebabkan pada sel-sel tubular ginjal, jaringan adiposa, meningkatkan stress oksidatif, peradangan, dan disfungsi endotel diginjal. (Gound *et al.* 2015). Ginjal yang terkena bahan nefrotoksik akan melakukan perbaikan utama pada 1 sampai 2 minggu fase penyembuhan dan perbaikan dapat terus berlangsung hingga 12 bulan atau sampai fungsi ginjal normal kembali (Soeksmanto 2006).

Aktivitas penurunan mikroalbuminuria dari tiap kelompok perlakuan dikaitkan dengan aktivitas penurunan kerusakan diginjal. Kelompok perlakuan pioglitazone maupun ekstrak etanol daun gedi merah dapat meregenerasikan dan atau memperbaiki kerusakan diginjal yang dibuktikan dengan penurunan kadar mikroalbuminuria.

Mekanisme metabolisme flavonoid memiliki proses tersendiri dalam tubuh kita. Ketika masuk ke lambung, struktur dari oligomer flavonoid akan terpecah menjadi unit monomerik yang lebih kecil. Monomer flavonol akan mengalami metabolisme yang lebih luas dengan biotransformasi yang diawali dalam eritrosit dan dibawa oleh enzim-enzim yang berasal dari hepar dan ginjal. Kemudian sesampainya pada usus halus, unit monomerik ini akan diabsorpsi dalam bentuk *O-methylated glucuronoides*, *O-methylated* dan *aglycone* yang selanjutnya akan memasuki vena porta. Dalam vena porta selanjutnya flavonoid akan dimetabolisme lagi dan diubah menjadi bentuk *O-methylated*, *sulphates*, dan *glucuronoides*. *O-methylated* akan masuk ke dalam sel dan berfungsi melawan kematian apoptosis sel yang diinduksi oleh hidrogen peroksida. Kemampuan *O-methylated* dalam memproteksi sel berhubungan dengan kemampuannya mendonorkan atom hidrogen. Fakta inilah yang menghubungkan fungsi flavonoid dalam memproteksi kematian sel akibat induksi oksidan melalui mekanisme independen antioksidan (Uribe & Bektash 2008). Menurut Panche *et al.* (2016) flavon merupakan salah satu flavonoid paling kuat untuk melindungi tubuh

terhadap reaksi oksidatif. Flavonol dari senyawa flavonoid memiliki aktivitas antioksidan daun gedi merah terhadap fungsi fisiologi ginjal dapat dikatakan sebagai nefroprotektif. Senyawa flavonoid mampu bekerja secara langsung maupun tidak langsung, yaitu dengan cara meningkatkan kemampuan ekspresi antioksidan endogen seperti SOD (*Super-oksida Dismutase*), katalase, glutathione peroksidase dan antioksidan endogen lain. Flavonoid juga berperan menghambat lipoginase, tirosinase dan aktivitas inflamasi yang secara tidak langsung juga menghambat pembentukan nitrit oksida akibat sitokin proinflamasi (Testa *et al.* 2016).

## **BAB V**

### **KESIMPULAN DAN SARAN**

#### **A. Kesimpulan**

Berdasarkan hasil penelitian yang telah dilakukan dapat disimpulkan bahwa :

Pertama, pemberian ekstrak etanol daun gedi merah dapat menurunkan kadar mikroalbuminuria dan memperbaiki struktur histopatologi jaringan ginjal pada model tikus yang mengalami DM nefropati yang telah diinduksi STZ-NA.

Kedua, dosis ekstrak efektif ekstrak etanol daun gedi merah terhadap penurunan kadar mikroalbuminuria dan perbaikan struktur histopatologi jaringan ginjal pada model tikus yang mengalami DM nefropati yang telah diinduksi STZ-NA adalah dosis 400 mg/Kg BB tikus.

Ketiga, pemberian glibenklamid terhadap penurunan kadar mikroalbuminuria dengan dosis 0,45 mg/Kg BB memiliki nilai efektifitas paling besar dan pemberian pioglitazone terhadap penurunan kadar mikroalbuminuria dengan dosis 0,27 mg/Kg BB memiliki nilai efektifitas paling besar setelah kelompok glibenklamid. Kelompok glibenklamid tidak memperbaiki struktur histopatologi ginjal dan kelompok pioglitazone dapat memperbaiki struktur histopatologi ginjal.

#### **B. Saran**

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

Pertama, perlu dilakukan penelitian lebih lanjut dengan metode pewarnaan dan parameter yang berbeda terkait efek antidiabetes ekstrak etanol daun gedi merah terhadap histopatologi ginjal.

Kedua, perlu dilakukan penelitian lebih lanjut untuk mengenai pengujian terhadap fraksi-fraksi ekstrak etanol daun gedi merah terhadap penurunan mikroalbuminuria.

## DAFTAR PUSTAKA

- Aberoumand A, Deokule SS. 2008. Comparison of phenolic compounds of some edible plants of Iran and India. *Pakistan Journal of Nutrition* 7 :582-585.
- Adam RN, Palar S, Moeis E. 2013. Hubungan obesitas dengan peningkatan kadar albuminurin pada mahasiswa fakultas kedokteran unstrat program studi kedokteran umum. Bagian Ilmu Penyakit Dalam RSUP Prof. Dr. R. D. Kandou Manado. hlm 2.
- Adeline, Jane F, Wuisan, Awaloei H. 2015. Uji efek ekstrak gedi merah (*Abelmoschus Manihot* L. Medik) terhadap kadar gula darah tikus putih jantan galur wistar (*Rattus Novergicus*) yang diinduksi aloksan. *Jurnal e-Biomedik (eBm)* 3:490.
- Aditama AP, Mangestuti Agil, Hening Laswati. 2016. Aktivitas antiosteoporosis ekstrak etanol 96 % daun *abelmoschus manihot* L. Medik secara *in vitro* menggunakan sel preosteoblas MC3T3-E1. *Traditional Medicine Journal* 21: 116.
- Ajie RB. 2015. White dragon fruit (*Hylocereus undatus*) potential as diabetes mellitus treatment. *J Majority* 4:71.
- American Diabetes Association (ADA). 2016. Standards of Medical Care in Diabetesd .2016. Supplement 1.USA: *American Diabetes Association*. 39: s13-s18, s25-s28, s60, s72.
- Ammar, R.B., Bhourri, W., Sghaier, M.B., Boubaker, J., Skandrani, I., Neffati, A., Bouhlel, I., Kilani, S., Marriotte, A.M, Ghedira, L.C., Franca, M.G.D. dan Ghedira. 2009. Antioxidant and free radical-scaveging properties of three flavonoids isolated from the leaves of *Rhamnus alaternus* L. (*Rhamnaceae*): A structureactivity relationship study. *Food Chemistry* 116: 258264.
- Amir Suci M J, Herlina W, Damajanty P. 2015. Kadar glukosa darah sewaktu pada pasien diabetes melitus tipe 2 di puskesmas bahu Kota Manado. Manado : *Jurnal e-Biomedik (eBm)* 3:33.
- Aras B *et al.* 2010. Protective effect of pyrrolidine dithiocarbamate on kidney tissue in streptozotocin-induced diabetic rats. *Turkish Journal of Urology* 36(2) :167-175.
- Arora MK, Reddy K, Balakumar P. 2010. The low dose combination of fenofibrate and rosiglitazone halts the progression of diabetes-induced experimental nephropathy. *European journal of pharmacology* 636: 137144.
- Arjadi F, Susatyo P. 2007. Regenerasi sel pulau langerhans pada tikus putih (*Ratus Norvegicus*) diabetes yang diberi rebusan daging mahkota dewa

- (*phaleria macrocarp*(scheff.)Boerl.). Puwokerto : *Fakultas kesehatan universitas jendral soedirman*. hlm 122-123.
- Assagaf F, Wullur A, Yudistira A. 2013. Uji toksisitas akut (lethal dose 50) ekstrak etanol daun gedi merah (*Abelmoschus Manihot* L.) terhadap tikus putih jantan galur wistar (*Rattus Norvegicus* L.). *Pharmacon Jurnal Ilmiah Farmasi* 2:23.
- Azis T, Sendry F, Aris DM. 2014. Pengaruh jenis pelarut terhadap persen yield alkaloid dari daun salam india (*murraya koenigii*). Pelembang : Teknik Kimia 20 : 4.
- Barky ARE, Hussein SA, Alm-Eldeen A, Hafez YA, Mohamed TM. 2017. Saponins and their potential role in diabetes mellitus. *Diabetes Managemen* 7 (2) : 155-156.
- BPOM. 2010. Infopom antidiabetika oral. Jakarta : *Editorial*, hlm :3-4.
- BPOM. 2014. *Peraturan kepala badan pengawas obat dan makanan republik indonesia nomor 12 tahun 2014 tentang persyaratan mutu obat tradisional*. hlm 3.
- Chaiyasut C *et al.* 2011. Effect of phenolic compounds of fermented thai indigenous plants on oxidative stress in strepzotosin-induced diabetic rats. *Researc Article*. Thailand. hlm 1.
- Chumbhale DS, Chaudhari SR, Upasani CD. 2013. Pharmacognostic standardization of leaves of *Abelmoschus manihot* (Linn.) Medik. *International Journal of Pharmaceutical Research and Development* 4 : 123-130.
- Chumbhale DS, Sanjay RC, Chandrashekhar DU. 2015. In vitro antioxidant activity of *Abelmoschus manihot* (L.) Medik. root. *International Journal of Current Research in Biosciences and Plant Biology* 2: 21-26.
- Djambhuri TR, Yuliet, KK. 2016. Aktivitas penghambatan pembentukan batu ginjal (*Antinefrolithiasis*) ekstrak etanol daun gedi merah (*abelmoschus moschtus* medik) pada tikus putih jantan. *Galenika*. hlm 31.
- Depertemen Kesehatan. 2005. *Pharmaceutical Care untuk Penyakit Diabetes Mellitus*. Jakarta: Direktorat Bina Farmasi Komunitas dan Klinik, Direktorat Jendral Bina Kefarmasian dan Alat Kesehatan, Depkes RI. hlm 44, 37.
- Depertemen Kesehatan Republik Indonesia. 1995. *Farmakope Indonesi, Edisi IV*. Dirjen BPOM.
- Depertemen Kesehatan Republik Indonesia. Sedian Galenika. Ed ke-3. Jakarta : Depertemen Kesehatan Republik Indonesia. hlm 6-7.



- Dewi AK, Suarni NMR, Suaniti NM. 2013. Gambaran mikroskopis ginjal tikus putih (*Rattus sp.*) Jantan dewasa setelah pemberian etanol kronis. *Jurnal Biologi* 2: 35.
- Dipiro, J, T.,*et al.* 2008, *Pharmacotherapy Handbook, Seven edition, Mc Graw Hill.* hlm 1220, 1221.
- Fahrnunida, Rarastoeti P. 2015. Kandungan saponin buah, daun dan tangkai daun belimbing wuluh (*Averrhoa bilimbi* L.). Pendidikan Biologi, Pendidikan Geografi, Pendidikan Sains, PKLH – FKIP UNS. *Seminar Nasional Konservasi dan Pemanfaatan Sumber Daya Alam 2015.* hlm 220.
- Fitriani, NE, Akhmad SA, Lestariana W. 2014. Efek kuersetin terhadap kadar glukosa darah puasa pada tikus diabetes melitus tipe 2 yang diinduksi dengan streptozotocin-nicotinamide. *JKKI* 6 : 107.
- Gartner, Hiatt. 2007. *Color textbook of histology, 3<sup>rd</sup> ed.* Philadelphia, WB. Saunders.
- Ghasemi A, Khalifi S, Jedi S. 2014. Streptozotocin-nicotinamide-induced rat model of type 2 diabetes. *Acta Physiologica Hungarica* 101 : 408–420.
- Gound B J, Dwarakanath V, swamy C. 2015. Streptozotocin a diabetogenic agent in animal models. *IJPPR* 254-265.
- Halim H, Fakhrurrazy, Yuliasuti, Sari DCR, Susilowati R. 2006. Pemberian alkohol peroral secara kronis menurunkan kepadatan sel granula cerebellum pada tikus putih(*Rattus norvegicus*) jantan dewasa. *Jurnal Anatomi Indonesia* 1 : 23.
- Handani AR. 2015. Pengaruh pemberian kacang panjang (*Vigna unguiculata*) terhadap struktur mikroskopis ginjal mencit (*Mus musculus*) yang diinduksi aloksan. *Jurnal Medika Veterinaria.* 9: 18.
- Handayani H, Sriherfyna FH. 2016. Ekstraksi antioksidan daun sirih metode ultrasonik bath (kajian risio bahan : pelarut dan lama ekstraksi). *Jurnal pangan dan argoindustri* 4:262-272.
- Hayati EK, Halimah N. 2010. Phytochemical test and brine shrimp lethality test agains artemia salina leach of anting-anting (*Acalipha indica* Linn.) plant extract. *Aichemy*, 1: 53-103.
- Harborne. 1987. *Metode fitokimia, penentuan cara modern menganalisis tumbuhan.* Penerbit ITB. Bandung.
- ITIS Report. 2017. *Abelmoschus manihot* (L.) Medik. Taxonomi Serial No. 21771.[http://ww.itis.gov/servlet/singleRpt/singleRpt?search\\_topic=TSN&search\\_value=21771](http://ww.itis.gov/servlet/singleRpt/singleRpt?search_topic=TSN&search_value=21771). (12 Agustus. 2017).
- Ismarani. 2012. Potensi senyawa tannin dalam menunjang produksi ramah lingkungan. *Jurnal Agribisnis dan Pengembangan Wilayah* 3 :46-47.

- Katzung BG, Master SB, Trevo AT. 2012. *Basic and clinical pharmacology 12<sup>th</sup> edition*. hlm 754, 755-756, 756.
- Klassen J T, BSc, MD, FRCPC. 2003. Microalbuminuria: so what's a little protein. *The Canadian Journal of CME*. hlm 71.
- Krinke G J. 2002. The laboratory rat. San Diego, CA: *Academi press*. hlm 150-152.
- Kumari M, Jain S. 2012. Tannins : An antinutrient with positive effect to manage diabetes. *Research Journal of Recent Science* 1 : 1.
- Kuswadi A, Ratna S, Dewi G. 2008. Pengaruh relaksasi terhadap penurunan kadar gula darah pada pasien diabetes melitus tipe 2 di sebuah rumah sakit di tasikmalaya. *Jurnal Keperawatan Indonesia*. 12:112-113.
- KONSENSUS. 2015. *Pengelolaan Dan Pencegahan Diabetes Melitus Tipe 2 Di Indonesia 2015*. PB. PERKENI. hlm 39.
- Liu B, Zhu Y. 2007. Extraction of flavonoids from flavonoid-rich parts in tartary buckwheat and identification of the main flavonoids. *Journal of Food Engineering* 78: 584-587.
- Makalalag IW, Wullur A, Wiyana W. 2013. Uji ekstrak daun binahong (*anredera cordifolia* (ten.) *steenis*) terhadap kadar gula darah pada tikus putih jantan galur wilstar (*Rattus norvegicus*) yang diinduksi sukrosa. *Jurnal Ilmiah Farmasi-Unsrat*. 2: 28-34.
- Mamahit, LP, Soekamto NH. 2010. Satu senyawa asam organik yang diisolasi dari daun geddi (*Abelmoschus manihot* L. Medik) asal sulawesi utara. *Chem. Prog* 3 : 42.
- Mandey JS. 2013. Genetic characterization, nutritional and phytochemicals potential of geddi leaves (*Abelmoschus manihot* L. Medik) growing in the North Sulawesi Of Indonesia as a candidate of poultry feed. Research Report. Animal Husbandry Faculty, Sam Ratulangi University, Manado.
- Markum HMS, Galastri M. 2004. Diabetic Nephropathy Among Type 2 Diabetes Mellitus Patients in Dr. Cipto Mangunkusumo Hospital. *Medical Journal of Indonesia* 13 : 161.
- Marliana SD, Suryanti, Suyono. 2005. Skrining fitokimia dan analisis kromatografi lapis tipis komponen kimia buah labu siam (*Sechium edule Jacq. Swartz.*) dalam ekstrak etanol. *Biofarmasi* 3(1) :29-31.
- Martunis. 2012. Pengaruh suhu dan lama pengeringan terhadap kuantitas dan kualitas pati kentang varietas granola. Banda Aceh: *Jurnal Teknologi dan Industri Pertanian Indonesia* 4:26.
- Mukhriani. 2014. ekstraksi, pemisahan senyawa, dan identifikasi senyawa aktif. FMakassar: *Jurnal Kesehatan* 7:361-363.

- Murnah, Indranila KS. 2014. Pengaruh ekstrak etanol mengkudu (*Morinda Citrifolia* L) terhadap diabetik nefropati pada tikus sprague dawley yang diinduksi streptozotocin (STZ). *JNH* 2:4.
- Muthusamy *et al.* 2008. Tannis present in cichorium intybus enhance glucose uptake and inhibit adipogenesis in 3T3-L1 adipocytes through PTP1B inhibition. *abstrak.pubmed*.
- Ndraha S. 2014. Diabetes melitus tipe 2 dan tatalaksana terkini. *Medicinus* 27:14.
- Nurdiniyah *et al.* 2015. Pengaruh pemberian ekstrak kulit batang jaloh terhadap gambaran mikroskopis ginjal tikus putih (*Rattus norvegicus*) yang diinfeksi *Trypanosoma evansi*. *Jurnal Medika Veterinaria* 9 (2) :91.
- O'Neil. 2006. Pioglitazone. The merck index - an encyclopedia of chemicals, drugs, and biologicals. *Whitehouse Station* (NJ). hlm :1284.
- Panche AN, Diwan AD, Chandra SR. 2016. Flavonoids: an overview. *Journal of Nutritional Science* 5 : 2,3, 14.
- Physicians Desk Reference. 2012. Pioglitazone. 66th ed. Montvale (NJ): PDR Network. hlm 2805.
- Pine ATD, Alam G, Attamin F. 2011. Standardisasi mutu ekstrak daun gedi (*Abelmoschus manihot* (L.) Medik) dan uji efek antioksidan dengan metode DPPH. hlm 14.
- Plantamour (Situs Dunia Tumbuhan). 2017. Informasi Spesies. Daun Gedi *Abelmoschus manihot* L. <http://www.plantamour.com/index.php?/plant=2>.
- Pratiwi A, Murbawan EA. 2015. Pengaruh pemberian formula enteral berbahan dasar labu kuning (*Curcubita moschata*) terhadap albumin serum pada tikus diabetes melitus. *Journal of Nutrition Collage* 4 (2) :454.
- Price, Wilson. 2005. *Konsep klinis proses-proses penyakit Edisi 6*. Vol.2. Jakarta :EGC.
- Rahayu WR, Hartanti D, Hidayat N. 2009. Pengaruh metode pengeringan terhadap kadar antosian pada kelopak bunga rosela (*Hibiscus sabdariffa* L.). *Pharmacy* 6:21.
- Rao PT, Rao KS, Usha CL. 2011. Stochastic modeling of blood glucose level in type-2 diabetes mellitus. *Asian J Math. Stat* 4 (1) :56-65.
- Redha. 2010. Flavonoid: struktur, sifat antioksidatif dan peranannya dalam sistem biologis. *Jurnal Belian* 9:197.
- Riansyah A, Agus Supriadi, Rodiana Nopianti. 2001. Pengaruh perbedaan suhu dan waktu pengeringan terhadap karakteristik ikan asin sepat siam (*trichogaster pectoralis*) dengan menggunakan oven. *Sumatra Selatan. Fishtech*. hlm 53-54.

- Rikarni, Lillah, Yoesri. 2013. Hubungan kadar fibrinogen plasma dan mikroalbuminuria pada penderita diabetes mellitus tipe 2. Padang: *journal of clinical pathology and medical laboratory* hlm 11.
- Ritz E, Keller C, Kristian H, Bergis. 2000. Nephropathy of type 2 diabetes mellitus. *Nephrol dial transplant* 9: 38-44.
- Rivandi J, Yonata A. 2015. Hubungan diabetes melitus dengan kejadian gagal ginjal kronik. *Majority* 4 (9) : 28-29.
- Rizki M, Tia Rostiana SM, Bastian D. Uji histopatologi organ ren, insang, ginjal, intestinum dan hepar ikan mas (*Cyprinus caprio*). Universitas Padjadjaran. Bandung hlm 2-4.
- Setyowati WAE, Ariani SRD, Ashadi, Mulyani B, Rahmawati CP. 2014. Skrining fitokimia dan identifikasi komponen utama ekstrak metanol kulit durian (*Durio zibethinus Murr.*) varietas petruk. *Seminar Nasional Kimia Dan Pendidikan Kimia VI* :275-277.
- Schernthaner G, Currie C, Schernthaner GH. 2013. Do we still need pioglitazone for the treatment of type 2 diabetes?. *Care Diabetes Journals* 36:S157.
- Shao-Yu, Z., Nai-Ning, S., Wen-Yuan, G., Wei, J., Hong-Quan, D., Pei-Gen, X., 2006, Progress in the treatment of chronic glomerulonephritis with traditional Chinese medicine, *Asian Journal of Pharmacodynamic and Pharmacokinetics* 6: 317 – 325.
- Shofia V, Aulanni'am, Mahdi C. 2013. Studi pemberian ekstrak rumput laut coklat (*sargassum prismaticum*) terhadap kadar malondialdehid dan gambaran histologi jaringan ginjal pada tikus (*rattus norvegicus*) diabetes melitus tipe 1. *Kimia.Student Journal* 1:120.
- Soeksmanto A. 2016. Pengaruh ekstrak butanol buah tua mahkota dewa (*Phaleria macrocarpa*) terhadap jaringan ginjal mencit (*Mus musculus*). *Biodiversitas* 7 (3) :279.
- Stahl E. 1985. *Analisis Obat Secara Kromatografi dan Mikroskopi*. Penerjemah: Padmawinata, K. dan I. Sudiro, Bandung: ITB. hlm : 1-17.
- Stevani H. 2016. *Modul Bahan Ajar Cetak Farmasi Praktikum Farmakologi. Kemenkes Kesehatan Republik Indonesia* hlm 45.
- Sulistyoningrum E. 2014. Perubahan seluler dan molekuler pada nefropati diabetik. *Mandala of Health* 7:514-519.
- Sutarto, Toto, Gani. 2007. Analisis Kandungan tumbuhan obat Ki Dedi (*Abelmochus manihot*). Bandung : Unpas.
- Suoth E, Kaempe H, Tampi A. 2013. Evaluasi kandungan total polifenol dan isolasi senyawa flavonoid pada daun gedi merah (*Abelmoschus manihot*

- L.). *Jurusan Farmasi F-MIPA Universitas Kristen Indonesia Tomohon*. hlm : 89.
- Szkudelski T. 2001. The mechanism of alloxan and streptozotocin action in b cells of the rat pancreas. *Physiol. Res.* 50: 536-546.
- Tandi J, Moh. Roem, Yuliet. 2017. Efek nefroprotektif kombinasi ekstrak daun geddi merah dan daun kumis kucing pada tikus induksi etilen glikol. *J. Trop. Pharm. Chem.* 4 : 30.
- Tengo NA, Nurhayati Bialangi, Nita Suleman. Isolasi dan karakterisasi senyawa alkaloid dari daun alpukat (*Persea Americana Mill*). Jurusan Pendidikan Kimia Fakultas MIPA Universitas Negeri Gorontalo. hlm 2.
- Testa R, Bonfigli AR, Genovese S, Nigris VD, Ceriello A. 2016. The Possible Role of Flavonoids in the Prevention of diabetic complications. *Nutrients* 8: 5-6.
- Tjay TH, Rahardja K. 2002. *Obat-obat penting, khasiat penggunaan dan efek-efek sampingnya. Edisi ke-5*. Jakarta : PT Alex Media Komputindo hlm 693-713.
- Taroreh M, Raharjo S, Hastuti P, Murdiati A. 2015. Ekstraksi daun geddi (*Abelmoschus Manihot L*) secara sekuensial dan aktivitas antioksidannya. *AGRITECH* 35 : 282).
- Tuyet T, Chuyen NV. 2007. Antihyperglykemic activity of an aqueous extract from flower buds of *Cleistocalyx operculatus* (Roxb.) Merr and Perry. *Biosci Biotechnol Biochem* 71: 69-76.
- Tortora GJ, Derrickson. 2011. Principles Of Anatomy and Physiology. 13<sup>th</sup> Edition. Hoboken : *John Wiley & Sons Inc* 1: 322.
- Toque Haroldo A. 2017. Clinical Review of Antidiabetic Drug: Implications for Type 2 Diabetes Melitus Management. USA: *Frontiers in Endocrinology*. hlm 4, 7-9.
- Unitly Adrien JA. 2012. Keadaan puasa terhadap kadar glukosa darah tikus *Rattus Norvegicus*. *JESBIO* 1:30.
- Universitas Gajah Mada. 2017. *Prosedur Tetap Pemeliharaan Hewan Uji Dan Sanitasi Kandang*. Cancer Chemoprevention Research Center Fakultas Farmasi UGM. hlm 3-4.
- Uribe CK, Bektash RM. 2008. Cocoa flavanol : measurement, bioavailability and bioactivity. *Asia Pac J Clin Nutr* 17 (S1) :280-283.
- Wagner H, Bladt S, Zgajinski EM. 1996. *Plant Drug Analysis*. Springer-Verlag Berlin Hiedelberg. New York. Hlm: 23-26.

- WHO. 2016. Global Report on Diabetes - World Health Organization.  
[http://apps.who.int/iris/bitstream/10665/204871/1/9789241565257\\_eng.pdf](http://apps.who.int/iris/bitstream/10665/204871/1/9789241565257_eng.pdf)  
f. hlm 6.
- Wibisono *et al.* 2012. Profil albuminuria dan kadar SVCAM-1 pada penderita diabetes melitus tipe 2. *J peny* 13 (1) :28.
- Yenrina R. 2015. *Metode Analisis Bahan Pangan dan Komponen Bioaktif*. Padang : Andalas University Press. hlm 9.

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](mailto:biologi@mipa.uns.ac.id)

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

Nama Pemesan : Stefani Damai Yuniar  
NIM : 20144254A  
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

1b-3b-5b-13b-14b-15a-16a

1b-2a-3b

96. Malvaceae

14. *Abelmoschus*

*Abelmoschus manihot* (L.) Medik.

#### Deskripsi Tumbuhan :

Habitus : 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 Widiyanti, 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 Setyaningsih, M.Si.  
NIP. 19660714 199903 2 001



## Lampiran 2. Ethical clearance

11/24/2017

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 : 1.077 / 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  
 MIKROALBUMINURIA DAN HISTOPATOLOGI GINJAL PADA TIKUS DIABETES NEFROPATI YANG DIINDUKSI  
 STREPTOZOTOCIN-NIKOTINAMID**

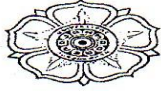
*Principal investigator* : STEFANI DAMAI YUNIAR  
 Peneliti Utama : 20144254A

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

*Is ethically approved*  
 Dinyatakan layak etik

Issued on : 24 Nov 2017  
 Chairman  
 Ketua  
 Dr. Hari Wujoso, dr., Sp.F.MM  
 NIP. 19621022 199503 1 001

### Lampiran 3. Surat praktik penelitian mikroalbuminuria



**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 : Stefani Damai Juniar  
 Nomor Mahasiswa : 2049254A  
 Jurusan : S1 Farmasi  
 Fakultas : Farmasi  
 Universitas : Universitas Setia Budi  
 Alamat rumah :

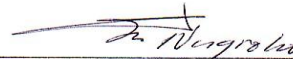
Tidak mempunyai pinjaman peralatan dan bon bahan di laboratorium Pusat Studi Pangan dan Gizi (PSPG) Universitas Gadjah Mada.

Yogyakarta, 10 April 2018

Teknisi,  
 Laboratorium Mikrobiologi

  
 M. Agus

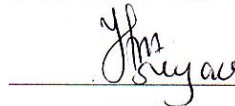
Teknisi,  
 Laboratorium Kimia dan Biokimia

  
 M. Nugroho

Teknisi,  
 Laboratorium Gizi

  
 F. Fani

Teknisi,  
 Laboratorium Rekayasa Pangan

  
 J. Sugaw

Mengetahui,  
 Sekretaris,



Dr. Ir. Setyastuti Purwanti, SU  
 NIP. 195203021979032001

**Lampiran 4. Surat praktik histopatologi ginjal**

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 : 27 /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 : Stevani Damai Yuniar

NIM : 20144254A

Judul Penelitian : “ Pengaruh Ekstrak Etanol Daun Gedi Merah (Abelmoschus manihot  
L.medik) terhadap Mikroalbuminuria dan Histopatologi  
Streptozotocin-Nikotinamid “

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 5. Foto tanaman gedi merah**



**foto tanaman daun gedi merah**



**Foto tanaman daun gedi merah kering**



**foto serbuk daun gedi merah**



**foto esktrak daun gedi merah**

**Lampiran 6. Komposisi reagen mikroalbuminuria**

<b>Nama</b>	<b>Komposisi</b>	<b>Jumlah Reagen</b>
<b>Reagen</b>	Pyrogallol Red	50 $\mu\text{mol/L}$
	Sodium Molybdate	40 $\mu\text{mol/L}$
<b>Standar</b>	Albumin	0,2 g



**Lampiran 7. Foto hewan percobaan, proses pembedahan, ginjal tikus**



**foto kandang tikus**



**foto tikus percobaan**



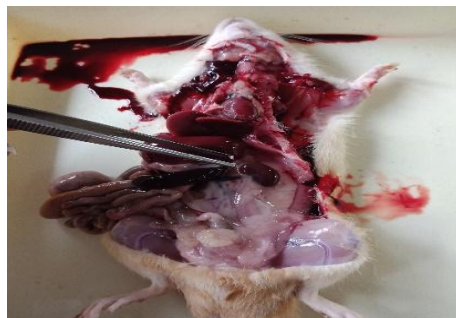
**foto penyutikan ip**



**foto suntik oral**



**foto tempat penampungan urine**



**foto pembedahan tikus**



**foto botol kloroform**



**foto organ dalam formalin**

**Lampiran 8. Hasil presentase rendemen bobot kering terhadap bobot basah daun geddi merah**

<b>Bobot basah (g)</b>	<b>Bobot kering (g)</b>	<b>Rendemen</b>
<b>9000</b>	<b>1700</b>	<b>18,88%</b>

**Perhitungan rendemen :**

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

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

$$= 18,88\%$$

### Lampiran 9. Hasil penetapan kadar air daun gedhi merah

Berat awal (gram)	Volume akhir (ml)	Kadar air (%)
20	1,5	7,5
20	1,4	7
20	1,4	7
<b>Rata-rata±SD</b>		<b>7,167±0,29</b>

#### Rumus perhitungan kadar air (%) :

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

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

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

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



**Lampiran 10. Perhitungan rendemen ekstrak daun gedhi meah**

<b>Berat serbuk (gram)</b>	<b>Berat ekstrak (gram)</b>	<b>Rendemen (%)</b>
<b>1500</b>	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 11. Hasil identifikasi kandungan kimia ekstrak daun gedi merah

### 1. Flavonoid



Serbuk + 2 mL metanol + serbuk Mg 0,1 gram + HCl 5 tetes

→ Warna kuning pada lapisan amil alkohol (+)

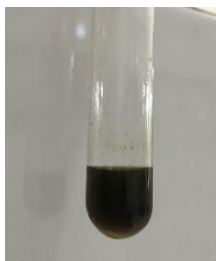
### 2. Alkaloid



Serbuk + Reagen Dragendroff 2 tetes

→ endapan dan kekeruhan berwarna coklat (-)

### 3. Tanin



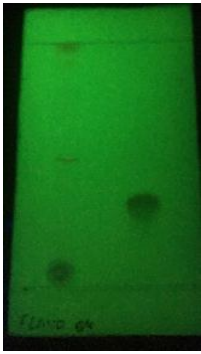
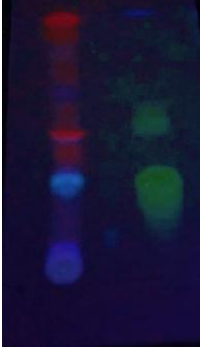

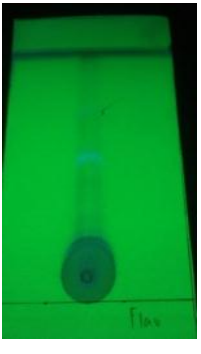
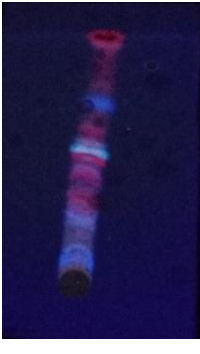

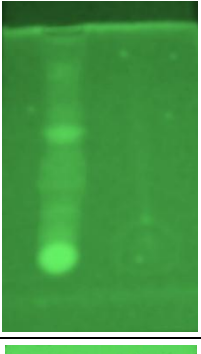
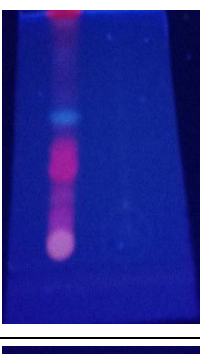

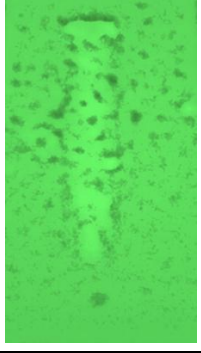


Serbuk + 20 mL air panas, disaring +  $\text{FeCl}_3$  5 tetes

→ warna hijau kehitaman (+)

### 4. Saponin



Serbuk + HCl 2N 1 → tetes buih yang mantap selama tidak kurang dari 10 menit setinggi 2 cm(+)

Senyawa	Setelah disemprot			Hasil
	UV 254	UV 366	Cahaya Tampak	
<b>Flavonoid</b>				<p>Hasil identifikasi diketahui bahwa terdapat kandungan flavonoid dengan memberikan warna kuning pada cahaya tampak.</p> <p>keterangan :  a : ekstrak daun gedih merah  b : quersetin</p>
<b>Alkaloid</b>				<p>Hasil identifikasi diketahui bahwa tidak terdapat kandungan alkaloid dengan tidak memberikan warna coklat atau orange.</p>
<b>Tanin</b>				<p>Hasil identifikasi diketahui bahwa terdapat kandungan tanin dengan memberikan warna biru kehijauan pada cahaya tampak.</p>
<b>Saponin</b>				<p>Hasil identifikasi diketahui bahwa terdapat kandungan saponin dengan memberikan warna coklat-merah bata pada cahaya tampak.</p>

## Lampiran 12. Perhitungan dosis dan volume pemberian

- Streptozotocin-Nikotinamid

Diperkirakan berat badan tikus 200-220 gram dengan dosis STZ 45 mg/Kg BB, keperluan STZ per tikus :

$$\frac{45}{1000} \times 220 \text{ gram} = 9,9 \text{ mg/tikus}$$

Kebutuhan STZ untuk 30 tikus = 9,9 mg x 30 tikus = 297 mg.

Kebutuhan dapar sitrat adalah 2 ml = 2 ml x 30 tikus = 60 ml.

Jadi, pembuatan larutannya adalah 297 mg STZ dilarutkan kedalam 60 ml Dapar sitrat.

Kebutuhan larutan STZ masing-masing tikus didasarkan pada berat badan masing-masing tikus.

$$\frac{\text{berat badan (gram)}}{220 \text{ gram}} \times 2 \text{ ml} = \text{volume yang diberikan (ml)}$$

- NA 110 mg/Kg BB dilarutkan dalam normal saline 0,9% kemudian diberikan secara intraperitoneal 15 menit sebelum pemberian STZ.

Diperkirakan berat badan tikus 200-220 gram dengan dosis Na 110 mg/Kg BB, keperluan Na per tikus :

$$\frac{110}{1000} \times 220 \text{ gram} = 24,2 \text{ mg}$$

Kebutuhan Na untuk 30 tikus = 24,2 mg x 30 tikus = 726 mg.

Kebutuhan dapar sitrat adalah 2 ml = 2 ml x 30 tikus = 60 ml

Jadi, pembuatan larutannya adalah 726 mg STZ dilarutkan kedalam 60 ml Dapar sitrat.

Kebutuhan larutan Na masing-masing tikus didasarkan pada berat badan masing-masing tikus.

$$\frac{\text{berat badan (gram)}}{220 \text{ gram}} \times 2 \text{ ml} = \text{volume yang diberikan (ml)}$$

- Glibenklamid 5 mg/70 kgBB Manusia

- Syarat volume maksimum larutan sediaan uji yang diberikan pada hewan uji tikus (200 g) secara per oral (p.o.) adalah 5,0 ml.

- glibenklamid yang digunakan dalam penelitian ini adalah tablet glibenklamid dengan kekuatan 5 mg. Tablet glibenklamid dengan kekuatan 5 mg di haluskan dan dilarutkan dalam 100 ml larutan Na CMC 0,5%.

- Konversi dosis manusia (70 Kg) ke dosis untuk hewan uji “tikus” dikali 0,018.

Dosis glibenklamid untuk tikus (200 g) = 5 mg x 0,018

= 0,09 mg/200 gram BB tikus

(0,45 mg/kg BB tikus)

$$\frac{220 \text{ gram}}{200 \text{ gram}} \times 0,09 \text{ mg} = 0,1 \text{ mg}$$

$$\frac{0,1 \text{ mg}}{5 \text{ mg}} \times 100 \text{ ml} = 2 \text{ ml}$$

- Jadi, dalam 2 ml terdapat 0,1 mg glibenklamid dan setara dengan 0,09 mg/200 gram BB tikus.
- Pioglitazone 15 mg/70 KgBB Manusia
  - Syarat volume maksimum larutan sediaan uji yang diberikan pada hewan uji tikus (200 g) secara per oral (p.o.) adalah 5,0 ml.
  - Pioglitazone yang digunakan dalam penelitian ini adalah tablet pioglitazone dengan kekuatan 15 mg. Tabet pioglitazone dengan kekuatan 15 mg di haluskan dan dilarutkan dalam 100 ml larutan Na CMC 0,5%.
  - Konversi dosis manusia (70 Kg) ke dosis untuk hewan uji “tikus” dikali 0,018.

$$\begin{aligned} \text{Dosis pioglitazone untuk tikus (200 g)} &= 15 \text{ mg} \times 0,018 \\ &= 0,27 \text{ mg/200 gram BB tikus} \\ &\quad (1,35 \text{ mg/kg BB tikus}) \end{aligned}$$

$$\frac{220 \text{ gram}}{200 \text{ gram}} \times 0,27 \text{ mg} = 0,297 \text{ mg}$$

$$\frac{0,297 \text{ mg}}{15 \text{ mg}} \times 100 \text{ ml} = 1,9 \text{ ml}$$

- Jadi, dalam 1,9 ml terdapat 0,297 mg pioglitazone dan setara dengan 0,09 mg/200 gram BB tikus.
- Na CMC 0,5 %
  - Syarat volume maksimum larutan sediaan uji yang diberikan pada hewan uji tikus (200 g) secara per oral (p.o.) adalah 5,0 ml.
  - Larutan stock Na CMC 0,5%
 
$$\frac{0,5 \text{ gram}}{100 \text{ ml}} = \frac{500 \text{ mg}}{100 \text{ ml}} = 5 \text{ mg/ml}$$
  - Menimbang Na CMC 500 mg dilarutkan dengan aquadest sampai larut kemudian dicukupkan volume sampai 100 mL.
- Ekstrak etanolik 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.
  - 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

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

$$\frac{20 \text{ mg}}{2 \text{ ml}} \times 100 \text{ ml} = 1000 \text{ mg}$$

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

$$\frac{\text{berat badan (gram)}}{200 \text{ gram}} \times 2 \text{ ml} = \text{volume yang diberikan (ml)}$$

- Ekstrak etanolik 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

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

$$\frac{40 \text{ mg}}{2 \text{ ml}} \times 100 \text{ ml} = 2000 \text{ mg}$$

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

$$\frac{\text{berat badan (gram)}}{200 \text{ gram}} \times 2 \text{ ml} = \text{volume yang diberikan (ml)}$$

- Ekstrak etanolik 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.
  - 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

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

$$\frac{80 \text{ mg}}{2 \text{ ml}} \times 100 \text{ ml} = 4000 \text{ mg}$$

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

$$\frac{\text{berat badan (gram)}}{200 \text{ gram}} \times 2 \text{ ml} = \text{volume yang diberikan (ml)}$$

**Lampiran 13. Hasil penimbangan berat badan hewan uji dan dosis pemberian**

<b>Perlakuan</b>	<b>Tikus T0 (gram)</b>	<b>Tikus T1 (gram)</b>	<b>Tikus T2 (gram)</b>	<b>Tikus T3 (gram)</b>	<b>Tikus T4 (gram)</b>
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 (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 (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
Kontrol positif II (Pioglitazone)	211	208	203	208	216
	223	221	215	221	226
	221	218	212	218	222
	213	210	203	210	215
	210	205	199	204	213
Ekstrak etanol daun gedi merah (100 mg 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 gedi merah (200 mg 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
Ekstrak etanol daun gedi merah (260 mg 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 14. Hasil pengukuran kadar mikroalbuminuria

### A. Pengukuran kadar albuminurin pada hari ke-0 (T0)

Kelompok	Kode	Standar	Absorbansi	Kadar	Rata-rata $\pm$ SD
I	1.1	0,211	0,034	32,23	33,93 $\pm$ 2,05
	1.2		0,037	35,07	
	1.3		0,035	33,18	
	1.4		0,034	32,23	
	1.5		0,039	36,97	
II	2.1	0,211	0,035	33,18	25,02 $\pm$ 6,20
	2.2		0,030	28,44	
	2.3		0,021	19,91	
	2.4		0,027	25,59	
	2.5		0,019	18,01	
III	3.1	0,211	0,025	23,70	24,83 $\pm$ 5,17
	3.2		0,029	27,49	
	3.3		0,023	21,80	
	3.4		0,020	18,96	
	3.5		0,034	32,23	
IV	4.1	0,211	0,024	22,75	23,32 $\pm$ 5,17
	4.2		0,020	18,96	
	4.3		0,019	18,01	
	4.4		0,028	26,54	
	4.5		0,032	30,33	
V	5.1	0,211	0,029	27,49	22,56 $\pm$ 4,10
	5.2		0,019	18,01	
	5.3		0,027	25,59	
	5.4		0,020	18,96	
	5.5		0,024	22,75	
VI	6.1	0,211	0,027	25,59	23,32 $\pm$ 1,97
	6.2		0,023	21,80	
	6.3		0,026	24,64	
	6.4		0,022	20,85	
	6.5		0,025	23,70	
VII	7.1	0,211	0,032	30,33	26,92 $\pm$ 2,89
	7.2		0,029	27,49	
	7.3		0,027	25,59	
	7.4		0,030	28,44	
	7.5		0,024	22,75	

**B. Pengukuran kadar mikroalbuminuria pada hari ke 5 (T<sub>1</sub>)**

Kelompok	Kode	Standar	Absorbansi	Kadar	Rata-rata $\pm$ SD
I	1.1	0,277	0,055	39,71	41,01 $\pm$ 2,00
	1.2		0,058	41,88	
	1.3		0,056	40,43	
	1.4		0,054	38,99	
	1.5		0,061	44,04	
II	2.1	0,277	0,333	240,43	237,69 $\pm$ 4,25
	2.2		0,337	243,32	
	2.3		0,328	236,82	
	2.4		0,326	235,38	
	2.5		0,322	232,49	
III	3.1	0,277	0,312	225,27	226,570 $\pm$ 2,86
	3.2		0,310	223,83	
	3.3		0,311	224,55	
	3.4		0,319	230,32	
	3.5		0,317	228,88	
IV	4.1	0,277	0,314	226,71	223,94 $\pm$ 2,48
	4.2		0,308	222,38	
	4.3		0,306	220,94	
	4.4		0,312	225,27	
	4.5		0,307	221,66	
V	5.1	0,277	0,328	236,82	231,047 $\pm$ 4,48
	5.2		0,324	233,94	
	5.3		0,319	230,32	
	5.4		0,317	228,88	
	5.5		0,312	225,27	
VI	6.1	0,277	0,320	231,05	232,202 $\pm$ 6,01
	6.2		0,332	239,71	
	6.3		0,323	233,21	
	6.4		0,309	223,10	
	6.5		0,324	233,94	
VII	7.1	0,277	0,320	231,05	232,780 $\pm$ 6,26
	7.2		0,322	232,49	
	7.3		0,337	243,32	
	7.4		0,314	226,71	
	7.5		0,319	230,32	

**C. Pengukuran kadar mikroalbuminuria pada hari ke 15 (T<sub>2</sub>)**

Kelompok	Kode	Standar	Absorbansi	Kadar	Rata-rata $\pm$ SD
I	1.1	0,315	0,067	42,54	44,19 $\pm$ 2,18
	1.2		0,071	45,08	
	1.3		0,068	43,17	
	1.4		0,067	42,54	
	1.5		0,075	47,62	
II	2.1	0,315	0,454	288,25	286,35 $\pm$ 2,84
	2.2		0,457	290,16	
	2.3		0,450	285,71	
	2.4		0,448	284,44	
	2.5		0,446	283,17	
III	3.1	0,315	0,435	276,19	276,57 $\pm$ 2,68
	3.2		0,431	273,65	
	3.3		0,433	274,92	
	3.4		0,442	280,63	
	3.5		0,437	277,46	
IV	4.1	0,315	0,438	278,10	274,54 $\pm$ 2,79
	4.2		0,431	273,65	
	4.3		0,428	271,75	
	4.4		0,436	276,83	
	4.5		0,429	272,38	
V	5.1	0,315	0,450	285,71	280,51 $\pm$ 4,05
	5.2		0,445	282,54	
	5.3		0,442	280,63	
	5.4		0,439	278,73	
	5.5		0,433	274,92	
VI	6.1	0,315	0,444	281,90	281,90 $\pm$ 5,73
	6.2		0,455	288,89	
	6.3		0,447	283,81	
	6.4		0,430	273,02	
	6.5		0,444	281,90	
VII	7.1	0,315	0,442	280,63	282,16 $\pm$ 4,93
	7.2		0,445	282,54	
	7.3		0,457	290,16	
	7.4		0,436	276,83	
	7.5		0,442	280,63	

**D. Pengukuran kadar mikroalbuminuria pada hari ke 22 (T<sub>3</sub>)**

<b>Kelompok</b>	<b>Kode</b>	<b>Standar</b>	<b>Absorbansi</b>	<b>Kadar</b>	<b>Rata-rata ±SD</b>
<b>I</b>	<b>1.1</b>	0,303	0,065	42,90	44,22±2,09
	<b>1.2</b>		0,068	44,88	
	<b>1.3</b>		0,066	43,56	
	<b>1.4</b>		0,064	42,24	
	<b>1.5</b>		0,072	47,52	
<b>II</b>	<b>2.1</b>	0,303	0,449	296,37	294,65±2,22
	<b>2.2</b>		0,450	297,03	
	<b>2.3</b>		0,447	295,05	
	<b>2.4</b>		0,444	293,07	
	<b>2.5</b>		0,442	291,75	
<b>III</b>	<b>3.1</b>	0,303	0,197	130,03	128,45±2,12
	<b>3.2</b>		0,195	128,71	
	<b>3.3</b>		0,198	130,69	
	<b>3.4</b>		0,190	125,41	
	<b>3.5</b>		0,193	127,39	
<b>IV</b>	<b>4.1</b>	0,303	0,202	133,33	131,09±2,01
	<b>4.2</b>		0,199	131,35	
	<b>4.3</b>		0,195	128,71	
	<b>4.4</b>		0,201	132,67	
	<b>4.5</b>		0,196	129,37	
<b>V</b>	<b>5.1</b>	0,303	0,236	155,78	152,61±4,36
	<b>5.2</b>		0,240	158,42	
	<b>5.3</b>		0,229	151,16	
	<b>5.4</b>		0,224	147,85	
	<b>5.5</b>		0,227	149,83	
<b>VI</b>	<b>6.1</b>	0,303	0,218	143,89	143,50±3,04
	<b>6.2</b>		0,215	141,91	
	<b>6.3</b>		0,220	145,21	
	<b>6.4</b>		0,211	139,27	
	<b>6.5</b>		0,223	147,19	
<b>VII</b>	<b>7.1</b>	0,303	0,211	139,27	139,67±1,78
	<b>7.2</b>		0,210	138,61	
	<b>7.3</b>		0,216	142,57	
	<b>7.4</b>		0,209	137,95	
	<b>7.5</b>		0,212	139,93	

**E. Pengukuran kadar mikroalbuminuria pada hari ke 29 (T<sub>4</sub>)**

Kelompok	Kode	Standar	Absorbansi	Kadar	Rata-rata $\pm$ SD
I	1.1	0,299	0,066	44,15	46,02 $\pm$ 2,56
	1.2		0,070	46,82	
	1.3		0,067	44,82	
	1.4		0,066	44,15	
	1.5		0,075	50,17	
II	2.1	0,299	0,448	299,67	298,46 $\pm$ 2,08
	2.2		0,449	300,33	
	2.3		0,447	299,00	
	2.4		0,446	298,33	
	2.5		0,441	294,98	
III	3.1	0,299	0,083	55,52	56,86 $\pm$ 1,95
	3.2		0,081	54,18	
	3.3		0,087	58,19	
	3.4		0,088	58,86	
	3.5		0,086	57,53	
IV	4.1	0,299	0,088	58,86	56,32 $\pm$ 2,14
	4.2		0,086	57,53	
	4.3		0,080	53,51	
	4.4		0,085	56,86	
	4.5		0,082	54,85	
V	5.1	0,299	0,228	152,51	150,77 $\pm$ 3,12
	5.2		0,232	155,18	
	5.3		0,223	149,16	
	5.4		0,220	147,16	
	5.5		0,224	149,83	
VI	6.1	0,299	0,175	117,06	114,65 $\pm$ 2,62
	6.2		0,169	113,04	
	6.3		0,167	111,71	
	6.4		0,170	113,71	
	6.5		0,176	117,73	
VII	7.1	0,299	0,139	92,98	93,51 $\pm$ 2,08
	7.2		0,137	91,64	
	7.3		0,145	96,99	
	7.4		0,138	92,31	
	7.5		0,140	93,65	

### Lampiran 15. Penentuan persentase penurunan kadar mikroalbuminuria

kelompok	Kadar mikroalbuminuria (mg/dl)				
	hari ke-0 (T <sub>0</sub> )	hari ke-5 (T <sub>1</sub> )	hari ke-15 (T <sub>2</sub> )	hari ke-22 (T <sub>3</sub> )	hari ke-29 (T <sub>4</sub> )
I	33,93±2,05	41,04±2,00	44,19±2,18	44,22±2,09	46,02±2,56
II	25,02±6,20	237,69±4,25	286,35±2,84	294,65±2,22	298,46±2,08
III	24,83±5,17	226,57±2,86	174,54±2,79	128,45±2,12	56,86±1,95
IV	23,32±5,17	223,39±2,48	272,54±2,79	131,09±2,01	56,32±2,08
V	22,56±4,10	231,05±4,48	280,51±4,05	152,61±4,36	150,77±3,12
VI	23,32±1,97	232,20±6,01	281,90±7,73	143,50±3,05	114,65±2,62
VII	26,92±2,89	232,78±6,26	282,16±4,93	139,67±1,78	93,51±2,08

#### Rumus perhitungan persentase penurunan kadar mikroalbuminuria :

$$\text{Rumus perhitungan} = \frac{(\text{kadar mikroalbuminuria T}_2\text{-kadar hari ke-n})}{(\text{Kadar mikroalbuminuria T}_2\text{-kadar mikroalbuminuria T}_0)} \times 100\%$$

Dari rumus diatas, diperoleh hasil perhitungan persentase penurunan kadar mikroalbuminuria sebagai berikut :

Kelompok	Persentase penurunan kadar mikroalbuminuria	
	T <sub>2</sub> -T <sub>3</sub>	T <sub>2</sub> -T <sub>4</sub>
I	-89,81	-93,88
II	158,43	157,10
III	202,92	229,00
IV	201,12	228,56
V	203,55	204,20
VI	207,68	217,91
VII	205,74	222,10

### Lampiran 16. Hasil jumlah skoring sel pada gambaran histopatologi organ ginjal

kelompok	Kode hewan	Jumlah sel normal	Jumlah kerusakan		Jumlah skoring		Jumlah kerusakan	Presentase sel normal
			Degenerasi	Nekrosis	Degenerasi	Nekrosis		
I	1.1	90	9	0	9	0	9	90
	1.2	97	3	0	3	0	3	97
	1.3	96	4	0	4	0	4	96
Jumlah					<b>16</b>	<b>0</b>	<b>16</b>	<b>283</b>
Rata-rata±SD					<b>5,33±3,21</b>	<b>0</b>	<b>5,33±3,21</b>	<b>94,33±3,79</b>
II	2.1	76	4	20	4	80	84	76
	2.2	70	8	22	8	88	96	70
	2.3	73	2	25	2	100	102	73
Jumlah					<b>14</b>	<b>268</b>	<b>282</b>	<b>219</b>
Rata-rata±SD					<b>4,67±3,05</b>	<b>89,33±10,06</b>	<b>94±9,16</b>	<b>73±3</b>
III	3.1	79	6	15	6	60	66	79
	3.2	59	15	26	15	104	119	59
	3.3	67	10	23	10	92	102	67
Jumlah					<b>31</b>	<b>256</b>	<b>287</b>	<b>205</b>
Rata-rata±SD					<b>10,33±4,51</b>	<b>85,33±22,74</b>	<b>95,67±27,06</b>	<b>68,33±10,06</b>
IV	4.1	84	15	1	15	4	19	84
	4.2	86	14	0	14	0	14	86
	4.3	50	14	36	14	36	50	50
Jumlah					<b>43</b>	<b>40</b>	<b>83</b>	<b>220</b>
Rata-rata±SD					<b>14,33±0,58</b>	<b>13,33±19,73</b>	<b>27,67±19,50</b>	<b>73,33±20,23</b>
V	5.1	82	13	5	13	20	33	82
	5.2	79	18	3	18	12	30	79
	5.3	81	13	6	13	24	37	81
Jumlah					<b>44</b>	<b>56</b>	<b>100</b>	<b>242</b>
Rata-rata±SD					<b>14,67±2,88</b>	<b>18,67±6,11</b>	<b>33,33±3,51</b>	<b>80,67±1,53</b>
VI	6.1	86	5	9	5	36	41	86
	6.2	91	4	5	4	20	24	91
	6.3	91	3	6	3	24	27	91
Jumlah					<b>12</b>	<b>80</b>	<b>92</b>	<b>268</b>
Rata-rata±SD					<b>4±1</b>	<b>26,67±8,33</b>	<b>30,67±9,07</b>	<b>89,33±2,89</b>
VII	7.1	83	17	0	17	0	17	83
	7.2	87	13	0	13	0	13	87
	7.3	90	7	3	7	12	19	90
Jumlah					<b>37</b>	<b>12</b>	<b>49</b>	<b>260</b>
Rata-rata±SD					<b>12,33±5,03</b>	<b>4±6,93</b>	<b>16,33±3,05</b>	<b>86,67±3,51</b>

**Lampiran 17. Foto hasil histopatologi organ ginjal tikus**

Foto organ ginjal



Foto mikrotom

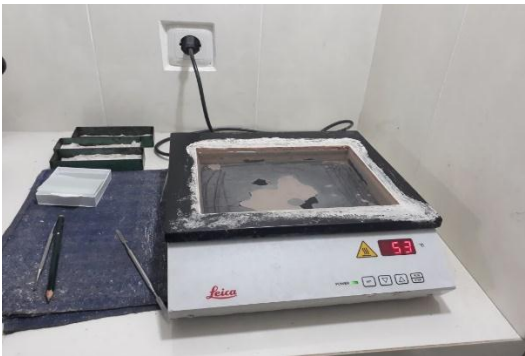


Foto waterbath



Foto oven



Foto tempat pewarnaan HE

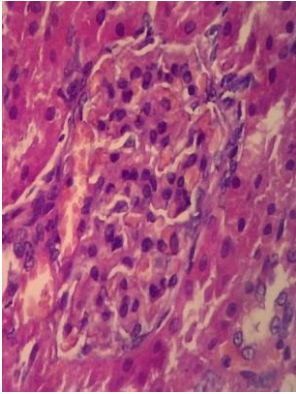
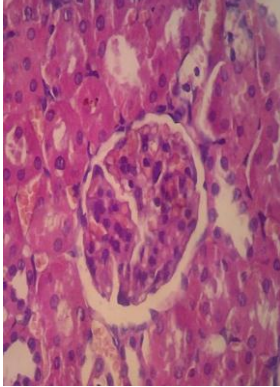
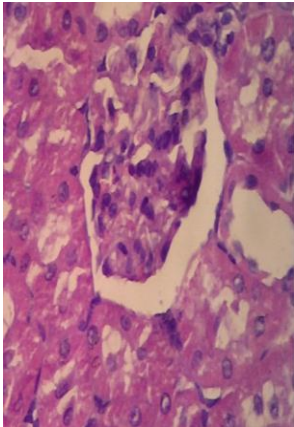
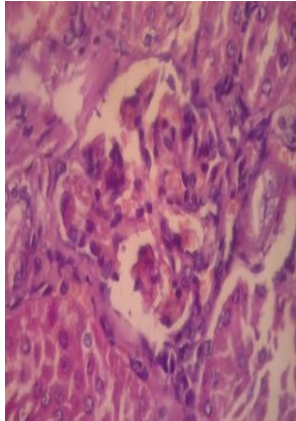
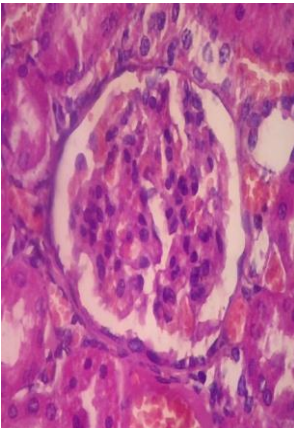
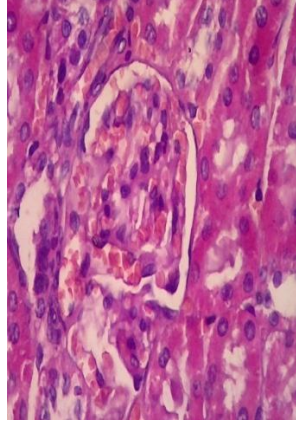


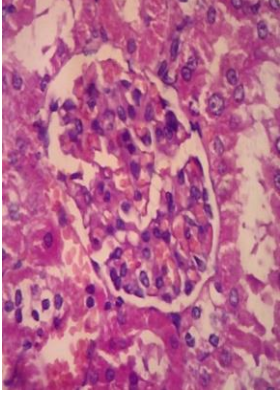
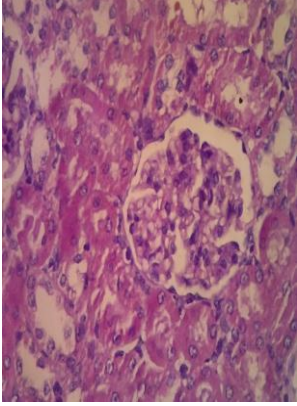
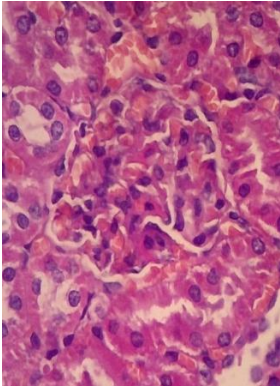
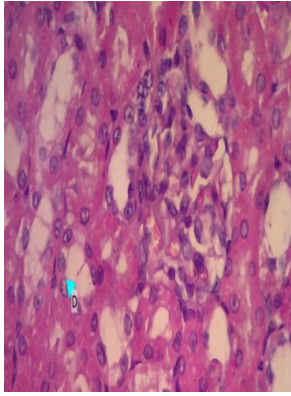
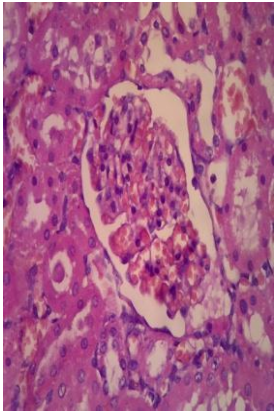
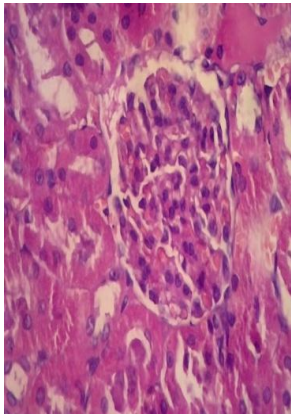
Foto tempat Xylen



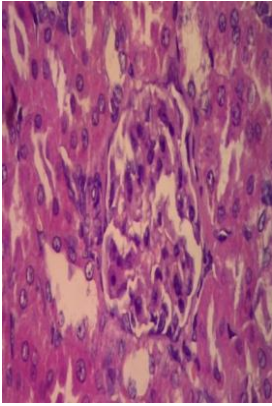
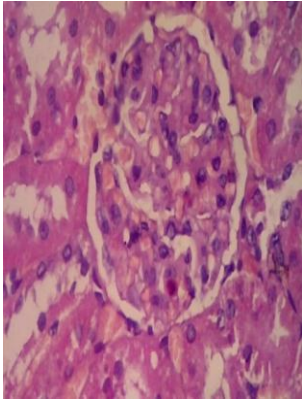
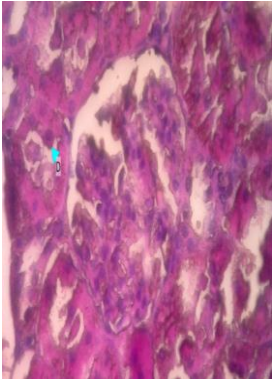
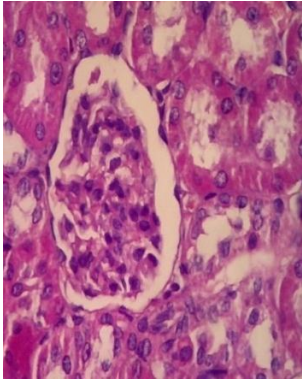
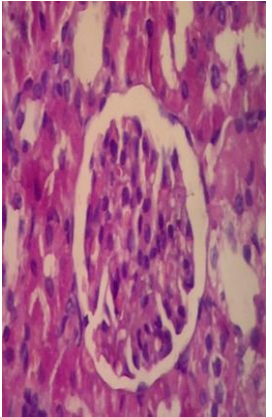
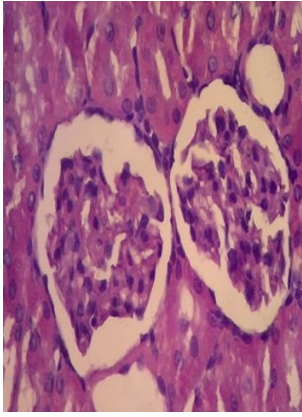


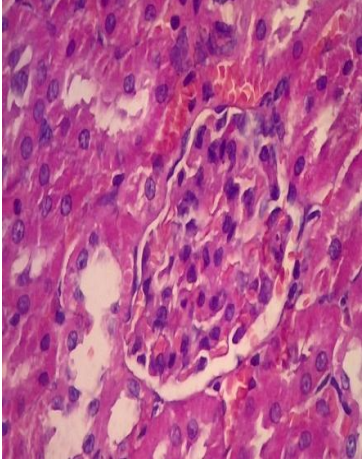
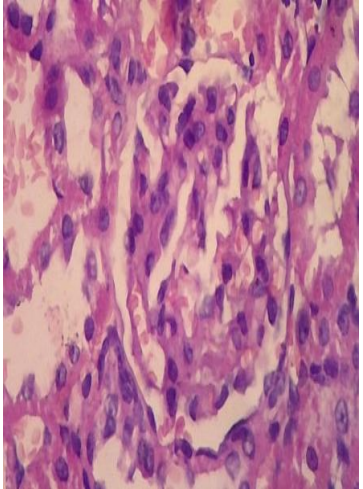
**Lampirsn 18. Hasil Histopatologi ginjal tikus putih jantan**

kelompok	KODE	Gambar Histopatologi Ginjal	kelompok	Kode	Gambar Histopatologi Ginjal
1 (normal)	1.1		2 (Kelompok DM)	2.1	
	1.2			2.2	
	1.3			2.3	

kelompok	KODE	Gambar Histopatologi Ginjal	kelompok	KODE	Gambar Histopatologi Ginjal
3 (Glibenklamid)	3.1		4 (Pioglitazone)	4.1	
	3.2			4.2	
	3.3			4.3	



kelompok	KODE	Gambar Histopatologi Ginjal	kelompok	KODE	Gambar Histopatologi Ginjal
5 (ekstrak 100mg/KgB B)	5.1		6 (ekstrak 200mg/Kg BB)	6.1	
	5.2			6.2	
	5.3			6.3	

kelompok	KODE	Gambar Histopatologi Ginjal
<b>7</b> <b>(ekstrak</b> <b>400mg/KgBB)</b>	<b>7.1</b>	
	<b>7.2</b>	

## Lampiran 19. Hasil analisis statistik penurunan mikroalbuminuria

Hari ke 0 (T0)

### Tests of Normality

Perlakuan		Kolmogorov-Smirnov <sup>a</sup>			Shapiro-Wilk		
		Statistic	df	Sig.	Statistic	df	Sig.
mikroalbumin	Normal	.244	5	.200*	.871	5	.272
	kelompok DM	.195	5	.200*	.958	5	.795
	Glibenklamid	.187	5	.200*	.973	5	.896
	Pioglitazone	.200	5	.200*	.938	5	.649
	ekstrak 100 mg/KgBB	.210	5	.200*	.929	5	.591
	ekstrak 200 mg/KgBB	.180	5	.200*	.952	5	.754
	ekstrak 300 mg/KgBB	.178	5	.200*	.981	5	.940

a. Lilliefors Significance Correction

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

### Test of Homogeneity of Variances

mikroalbumin

Levene Statistic	df1	df2	Sig.
2.054	6	28	.091

### ANOVA

mikroalbumin

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	458.689	6	76.448	4.276	.004
Within Groups	500.588	28	17.878		
Total	959.277	34			

### mikroalbumin

perlakuan	N	Subset for alpha = 0.05		
		1	2	
Tukey HSD <sup>a</sup>	ekstrak 100 mg/KgBB	5	22.5600	
	ekstrak 200 mg/KgBB	5	23.3160	
	pioglitazone	5	23.3180	
	Glibenklamid	5	24.8360	
	kelompok DM	5	25.0260	
	ekstrak 300 mg/KgBB	5	26.9200	26.9200
	normal	5		33.9360
	Sig.		.665	.157

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 5.000.

## Multiple Comparisons

Dependent Variable: mikroalbumin

	(I) perlakuan	(J) perlakuan	Mean Difference (I-J)	Std. Error	Sig.	95% Confidence Interval	
						Lower Bound	Upper Bound
Tukey HSD	normal	kelompok DM	8.91000*	2.67418	.035	.4271	17.3929
		Glibenklamid	9.10000*	2.67418	.029	.6171	17.5829
		pioglitazone	10.61800*	2.67418	.007	2.1351	19.1009
		ekstrak 100 mg/KgBB	11.37600*	2.67418	.004	2.8931	19.8589
		ekstrak 200 mg/KgBB	10.62000*	2.67418	.007	2.1371	19.1029
		ekstrak 300 mg/KgBB	7.01600	2.67418	.157	-1.4669	15.4989
	kelompok DM	normal	-8.91000*	2.67418	.035	-17.3929	-4.271
		Glibenklamid	.19000	2.67418	1.000	-8.2929	8.6729
		pioglitazone	1.70800	2.67418	.995	-6.7749	10.1909
		ekstrak 100 mg/KgBB	2.46600	2.67418	.966	-6.0169	10.9489
		ekstrak 200 mg/KgBB	1.71000	2.67418	.995	-6.7729	10.1929
		ekstrak 300 mg/KgBB	-1.89400	2.67418	.991	-10.3769	6.5889
	Glibenklamid	normal	-9.10000*	2.67418	.029	-17.5829	-6.171
		kelompok DM	-.19000	2.67418	1.000	-8.6729	8.2929
		pioglitazone	1.51800	2.67418	.997	-6.9649	10.0009
		ekstrak 100 mg/KgBB	2.27600	2.67418	.977	-6.2069	10.7589
		ekstrak 200 mg/KgBB	1.52000	2.67418	.997	-6.9629	10.0029
		ekstrak 300 mg/KgBB	-2.08400	2.67418	.985	-10.5669	6.3989
	pioglitazone	normal	-10.61800*	2.67418	.007	-19.1009	-2.1351
		kelompok DM	-1.70800	2.67418	.995	-10.1909	6.7749
		Glibenklamid	-1.51800	2.67418	.997	-10.0009	6.9649
		ekstrak 100 mg/KgBB	.75800	2.67418	1.000	-7.7249	9.2409
		ekstrak 200 mg/KgBB	.00200	2.67418	1.000	-8.4809	8.4849
		ekstrak 300 mg/KgBB	-3.60200	2.67418	.824	-12.0849	4.8809
	ekstrak 100 mg/KgBB	normal	-11.37600*	2.67418	.004	-19.8589	-2.8931
		kelompok DM	-2.46600	2.67418	.966	-10.9489	6.0169
		Glibenklamid	-2.27600	2.67418	.977	-10.7589	6.2069
		pioglitazone	-.75800	2.67418	1.000	-9.2409	7.7249
		ekstrak 200 mg/KgBB	-.75600	2.67418	1.000	-9.2389	7.7269
		ekstrak 300 mg/KgBB	-4.36000	2.67418	.665	-12.8429	4.1229
	ekstrak 200 mg/KgBB	normal	-10.62000*	2.67418	.007	-19.1029	-2.1371
		kelompok DM	-1.71000	2.67418	.995	-10.1929	6.7729
		Glibenklamid	-1.52000	2.67418	.997	-10.0029	6.9629
		pioglitazone	-.00200	2.67418	1.000	-8.4849	8.4809
		ekstrak 100 mg/KgBB	.75600	2.67418	1.000	-7.7269	9.2389
		ekstrak 300 mg/KgBB	-3.60400	2.67418	.824	-12.0869	4.8789
	ekstrak 300 mg/KgBB	normal	-7.01600	2.67418	.157	-15.4989	1.4669
		kelompok DM	1.89400	2.67418	.991	-6.5889	10.3769
		Glibenklamid	2.08400	2.67418	.985	-6.3989	10.5669
		pioglitazone	3.60200	2.67418	.824	-4.8809	12.0849
		ekstrak 100 mg/KgBB	4.36000	2.67418	.665	-4.1229	12.8429
		ekstrak 200 mg/KgBB	3.60400	2.67418	.824	-4.8789	12.0869
LSD	normal	kelompok DM	8.91000*	2.67418	.002	3.4322	14.3878
		Glibenklamid	9.10000*	2.67418	.002	3.6222	14.5778
		pioglitazone	10.61800*	2.67418	.000	5.1402	16.0958
		ekstrak 100 mg/KgBB	11.37600*	2.67418	.000	5.8982	16.8538
		ekstrak 200 mg/KgBB	10.62000*	2.67418	.000	5.1422	16.0978
		ekstrak 300 mg/KgBB	7.01600*	2.67418	.014	1.5382	12.4938
	kelompok DM	normal	-8.91000*	2.67418	.002	-14.3878	-3.4322
		Glibenklamid	.19000	2.67418	.944	-5.2878	5.6678
		pioglitazone	1.70800	2.67418	.528	-3.7698	7.1858
		ekstrak 100 mg/KgBB	2.46600	2.67418	.364	-3.0118	7.9438
		ekstrak 200 mg/KgBB	1.71000	2.67418	.528	-3.7678	7.1878
		ekstrak 300 mg/KgBB	-1.89400	2.67418	.485	-7.3718	3.5838
	Glibenklamid	normal	-9.10000*	2.67418	.002	-14.5778	-3.6222
		kelompok DM	-.19000	2.67418	.944	-5.6678	5.2878
		pioglitazone	1.51800	2.67418	.575	-3.9598	6.9958
		ekstrak 100 mg/KgBB	2.27600	2.67418	.402	-3.2018	7.7538

	ekstrak 200 mg/KgBB	1.52000	2.67418	.574	-3.9578	6.9978
	ekstrak 300 mg/KgBB	-2.08400	2.67418	.442	-7.5618	3.3938
pioglitazone	normal	-10.61800*	2.67418	.000	-16.0958	-5.1402
	kelompok DM	-1.70800	2.67418	.528	-7.1858	3.7698
	Glibenklamid	-1.51800	2.67418	.575	-6.9958	3.9598
	ekstrak 100 mg/KgBB	.75800	2.67418	.779	-4.7198	6.2358
	ekstrak 200 mg/KgBB	.00200	2.67418	.999	-5.4758	5.4798
	ekstrak 300 mg/KgBB	-3.60200	2.67418	.189	-9.0798	1.8758
ekstrak 100 mg/KgBB	normal	-11.37600*	2.67418	.000	-16.8538	-5.8982
	kelompok DM	-2.46600	2.67418	.364	-7.9438	3.0118
	Glibenklamid	-2.27600	2.67418	.402	-7.7538	3.2018
	pioglitazone	-.75800	2.67418	.779	-6.2358	4.7198
	ekstrak 200 mg/KgBB	-.75600	2.67418	.779	-6.2338	4.7218
	ekstrak 300 mg/KgBB	-4.36000	2.67418	.114	-9.8378	1.1178
ekstrak 200 mg/KgBB	normal	-10.62000*	2.67418	.000	-16.0978	-5.1422
	kelompok DM	-1.71000	2.67418	.528	-7.1878	3.7678
	Glibenklamid	-1.52000	2.67418	.574	-6.9978	3.9578
	pioglitazone	-.00200	2.67418	.999	-5.4798	5.4758
	ekstrak 100 mg/KgBB	.75600	2.67418	.779	-4.7218	6.2338
	ekstrak 300 mg/KgBB	-3.60400	2.67418	.189	-9.0818	1.8738
ekstrak 300 mg/KgBB	normal	-7.01600*	2.67418	.014	-12.4938	-1.5382
	kelompok DM	1.89400	2.67418	.485	-3.5838	7.3718
	Glibenklamid	2.08400	2.67418	.442	-3.3938	7.5618
	pioglitazone	3.60200	2.67418	.189	-1.8758	9.0798
	ekstrak 100 mg/KgBB	4.36000	2.67418	.114	-1.1178	9.8378
	ekstrak 200 mg/KgBB	3.60400	2.67418	.189	-1.8738	9.0818

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

## Hari ke 5 (T1)

### Tests of Normality

perlakuan		Kolmogorov-Smirnov <sup>a</sup>			Shapiro-Wilk		
		Statistic	df	Sig.	Statistic	df	Sig.
mikroalbumin T1	normal	.214	5	.200	.938	5	.654
	DM	.181	5	.200	.979	5	.931
	Pioglitazone	.275	5	.200	.879	5	.304
	Glibenklamid	.258	5	.200	.901	5	.418
	ekstrak 100mg/KgBB	.164	5	.200	.986	5	.964
	ekstrak 200mg/KgBB	.224	5	.200	.953	5	.757
	ekstrak 300mg/KgBB	.318	5	.109	.851	5	.199

a. Lilliefors Significance Correction

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

### Test of Homogeneity of Variances

mikroalbumin T1

Levene Statistic	df1	df2	Sig.
.837	6	28	.552

### ANOVA

mikroalbumin T1

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	154697.596	6	25782.933	1368.387	.000
Within Groups	527.571	28	18.842		
Total	155225.168	34			



## Multiple Comparisons

Dependent Variable: mikroalbumin T1

(I) perlakuan	(J) perlakuan	Mean Difference (I-J)	Std. Error	Sig.	95% Confidence Interval		
					Lower Bound	Upper Bound	
Tukey HSD	normal	DM	-196.67800 <sup>*</sup>	2.74531	.000	-205.3865	-187.9695
		Pioglitazone	-185.56000 <sup>*</sup>	2.74531	.000	-194.2685	-176.8515
		Glibenklamid	-182.38200 <sup>*</sup>	2.74531	.000	-191.0905	-173.6735
		ekstrak 100mg/KgBB	-190.03600 <sup>*</sup>	2.74531	.000	-198.7445	-181.3275
		ekstrak 200mg/KgBB	-191.19200 <sup>*</sup>	2.74531	.000	-199.9005	-182.4835
		ekstrak 300mg/KgBB	-191.76800 <sup>*</sup>	2.74531	.000	-200.4765	-183.0595
	DM	normal	196.67800 <sup>*</sup>	2.74531	.000	187.9695	205.3865
		Pioglitazone	11.11800 <sup>*</sup>	2.74531	.006	2.4095	19.8265
		Glibenklamid	14.29600 <sup>*</sup>	2.74531	.000	5.5875	23.0045
		ekstrak 100mg/KgBB	6.64200	2.74531	.228	-2.0665	15.3505
		ekstrak 200mg/KgBB	5.48600	2.74531	.438	-3.2225	14.1945
		ekstrak 300mg/KgBB	4.91000	2.74531	.566	-3.7985	13.6185
	Pioglitazone	normal	185.56000 <sup>*</sup>	2.74531	.000	176.8515	194.2685
		DM	-11.11800 <sup>*</sup>	2.74531	.006	-19.8265	-2.4095
		Glibenklamid	3.17800	2.74531	.904	-5.5305	11.8865
		ekstrak 100mg/KgBB	-4.47600	2.74531	.665	-13.1845	4.2325
		ekstrak 200mg/KgBB	-5.63200	2.74531	.407	-14.3405	3.0765
		ekstrak 300mg/KgBB	-6.20800	2.74531	.297	-14.9165	2.5005
	Glibenklamid	normal	182.38200 <sup>*</sup>	2.74531	.000	173.6735	191.0905
		DM	-14.29600 <sup>*</sup>	2.74531	.000	-23.0045	-5.5875
		Pioglitazone	-3.17800	2.74531	.904	-11.8865	5.5305
		ekstrak 100mg/KgBB	-7.65400	2.74531	.114	-16.3625	1.0545
		ekstrak 200mg/KgBB	-8.81000 <sup>*</sup>	2.74531	.046	-17.5185	-.1015
		ekstrak 300mg/KgBB	-9.38600 <sup>*</sup>	2.74531	.028	-18.0945	-.6775
ekstrak 100mg/KgBB	normal	190.03600 <sup>*</sup>	2.74531	.000	181.3275	198.7445	
	DM	-6.64200	2.74531	.228	-15.3505	2.0665	
	Pioglitazone	4.47600	2.74531	.665	-4.2325	13.1845	
	Glibenklamid	7.65400	2.74531	.114	-1.0545	16.3625	
	ekstrak 200mg/KgBB	-1.15600	2.74531	.999	-9.8645	7.5525	
	ekstrak 300mg/KgBB	-1.73200	2.74531	.995	-10.4405	6.9765	
ekstrak 200mg/KgBB	normal	191.19200 <sup>*</sup>	2.74531	.000	182.4835	199.9005	
	DM	-5.48600	2.74531	.438	-14.1945	3.2225	
	Pioglitazone	5.63200	2.74531	.407	-3.0765	14.3405	
	Glibenklamid	8.81000 <sup>*</sup>	2.74531	.046	.1015	17.5185	
	ekstrak 100mg/KgBB	1.15600	2.74531	.999	-7.5525	9.8645	
	ekstrak 300mg/KgBB	-.57600	2.74531	1.000	-9.2845	8.1325	
ekstrak 300mg/KgBB	normal	191.76800 <sup>*</sup>	2.74531	.000	183.0595	200.4765	
	DM	-4.91000	2.74531	.566	-13.6185	3.7985	
	Pioglitazone	6.20800	2.74531	.297	-2.5005	14.9165	
	Glibenklamid	9.38600 <sup>*</sup>	2.74531	.028	.6775	18.0945	
	ekstrak 100mg/KgBB	1.73200	2.74531	.995	-6.9765	10.4405	
	ekstrak 200mg/KgBB	.57600	2.74531	1.000	-8.1325	9.2845	
LSD	normal	DM	-196.67800 <sup>*</sup>	2.74531	.000	-202.3015	-191.0545
		Pioglitazone	-185.56000 <sup>*</sup>	2.74531	.000	-191.1835	-179.9365
		Glibenklamid	-182.38200 <sup>*</sup>	2.74531	.000	-188.0055	-176.7585
		ekstrak 100mg/KgBB	-190.03600 <sup>*</sup>	2.74531	.000	-195.6595	-184.4125
		ekstrak 200mg/KgBB	-191.19200 <sup>*</sup>	2.74531	.000	-196.8155	-185.5685
		ekstrak 300mg/KgBB	-191.76800 <sup>*</sup>	2.74531	.000	-197.3915	-186.1445
	DM	normal	196.67800 <sup>*</sup>	2.74531	.000	191.0545	202.3015
		Pioglitazone	11.11800 <sup>*</sup>	2.74531	.000	5.4945	16.7415
		Glibenklamid	14.29600 <sup>*</sup>	2.74531	.000	8.6725	19.9195
		ekstrak 100mg/KgBB	6.64200 <sup>*</sup>	2.74531	.022	1.0185	12.2655
		ekstrak 200mg/KgBB	5.48600	2.74531	.055	-.1375	11.1095

	ekstrak 300mg/KgBB	4.91000 <sup>*</sup>	2.74531	.085	-.7135	10.5335
Pioglitazone	normal	185.56000 <sup>*</sup>	2.74531	.000	179.9365	191.1835
	DM	-11.11800 <sup>*</sup>	2.74531	.000	-16.7415	-5.4945
	Glibenklamid	3.17800	2.74531	.257	-2.4455	8.8015
	ekstrak 100mg/KgBB	-4.47600	2.74531	.114	-10.0995	1.1475
	ekstrak 200mg/KgBB	-5.63200 <sup>*</sup>	2.74531	.050	-11.2555	-.0085
	ekstrak 300mg/KgBB	-6.20800 <sup>*</sup>	2.74531	.032	-11.8315	-.5845
Glibenklamid	normal	182.38200 <sup>*</sup>	2.74531	.000	176.7585	188.0055
	DM	-14.29600 <sup>*</sup>	2.74531	.000	-19.9195	-8.6725
	Pioglitazone	-3.17800	2.74531	.257	-8.8015	2.4455
	ekstrak 100mg/KgBB	-7.65400 <sup>*</sup>	2.74531	.009	-13.2775	-2.0305
	ekstrak 200mg/KgBB	-8.81000 <sup>*</sup>	2.74531	.003	-14.4335	-3.1865
	ekstrak 300mg/KgBB	-9.38600 <sup>*</sup>	2.74531	.002	-15.0095	-3.7625
ekstrak 100mg/KgBB	normal	190.03600 <sup>*</sup>	2.74531	.000	184.4125	195.6595
	DM	-6.64200 <sup>*</sup>	2.74531	.022	-12.2655	-1.0185
	Pioglitazone	4.47600	2.74531	.114	-1.1475	10.0995
	Glibenklamid	7.65400 <sup>*</sup>	2.74531	.009	2.0305	13.2775
	ekstrak 200mg/KgBB	-1.15600	2.74531	.677	-6.7795	4.4675
	ekstrak 300mg/KgBB	-1.73200	2.74531	.533	-7.3555	3.8915
ekstrak 200mg/KgBB	normal	191.19200 <sup>*</sup>	2.74531	.000	185.5685	196.8155
	DM	-5.48600	2.74531	.055	-11.1095	.1375
	Pioglitazone	5.63200 <sup>*</sup>	2.74531	.050	.0085	11.2555
	Glibenklamid	8.81000 <sup>*</sup>	2.74531	.003	3.1865	14.4335
	ekstrak 100mg/KgBB	1.15600	2.74531	.677	-4.4675	6.7795
	ekstrak 300mg/KgBB	-.57600	2.74531	.835	-6.1995	5.0475
ekstrak 300mg/KgBB	normal	191.76800 <sup>*</sup>	2.74531	.000	186.1445	197.3915
	DM	-4.91000	2.74531	.085	-10.5335	.7135
	Pioglitazone	6.20800 <sup>*</sup>	2.74531	.032	.5845	11.8315
	Glibenklamid	9.38600 <sup>*</sup>	2.74531	.002	3.7625	15.0095
	ekstrak 100mg/KgBB	1.73200	2.74531	.533	-3.8915	7.3555
	ekstrak 200mg/KgBB	.57600	2.74531	.835	-5.0475	6.1995

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

#### mikroalbumin T1

perlakuan	N	Subset for alpha = 0.05			
		1	2	3	4
Tukey HSD <sup>a</sup>	5	41.0100			
	5		223.3920		
	5		226.5700	226.5700	
	5		231.0460	231.0460	231.0460
	5			232.2020	232.2020
	5			232.7780	232.7780
	5				237.6880
Sig.		1.000	.114	.297	.228

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 5.000.

## Hari ke 15 (T2)

perlakuan		Kolmogorov-Smirnov <sup>a</sup>			Shapiro-Wilk		
		Statistic	df	Sig.	Statistic	df	Sig.
mikroalbumin T2	normal	.280	5	.200*	.836	5	.154
	DM	.189	5	.200*	.959	5	.801
	Glibenklamid	.170	5	.200*	.962	5	.823
	Pioglitazone	.225	5	.200*	.900	5	.408
	ekstrak 100mg/KgBB	.130	5	.200*	.998	5	.999
	ekstrak 200mg/KgBB	.300	5	.162	.923	5	.547
	ekstrak 400mg/KgBB	.269	5	.200*	.893	5	.375

a. Lilliefors Significance Correction

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

### Test of Homogeneity of Variances

mikroalbumin T2

Levene Statistic	df1	df2	Sig.
.440	6	28	.846

### ANOVA

mikroalbumin T2

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	239444.347	6	39907.391	2756.604	.000
Within Groups	405.356	28	14.477		
Total	239849.704	34			

### Multiple Comparisons

Dependent Variable: mikroalbumin T2

(I) perlakuan	(J) perlakuan	Mean Difference (I-J)	Std. Error	Sig.	95% Confidence Interval		
					Lower Bound	Upper Bound	
Tukey HSD	normal	DM	-242.15600*	2.40641	.000	-249.7894	-234.5226
		Glibenklamid	-232.38000*	2.40641	.000	-240.0134	-224.7466
		Pioglitazone	-230.35200*	2.40641	.000	-237.9854	-222.7186
		ekstrak 100mg/KgBB	-236.31600*	2.40641	.000	-243.9494	-228.6826
		ekstrak 200mg/KgBB	-237.71400*	2.40641	.000	-245.3474	-230.0806
		ekstrak 400mg/KgBB	-237.96800*	2.40641	.000	-245.6014	-230.3346
	DM	normal	242.15600*	2.40641	.000	234.5226	249.7894
		Glibenklamid	9.77600*	2.40641	.006	2.1426	17.4094
		Pioglitazone	11.80400*	2.40641	.001	4.1706	19.4374
		ekstrak 100mg/KgBB	5.84000	2.40641	.225	-1.7934	13.4734
		ekstrak 200mg/KgBB	4.44200	2.40641	.530	-3.1914	12.0754
		ekstrak 400mg/KgBB	4.18800	2.40641	.596	-3.4454	11.8214
Glibenklamid	normal	232.38000*	2.40641	.000	224.7466	240.0134	
	DM	-9.77600*	2.40641	.006	-17.4094	-2.1426	
	Pioglitazone	2.02800	2.40641	.978	-5.6054	9.6614	
	ekstrak 100mg/KgBB	-3.93600	2.40641	.662	-11.5694	3.6974	
	ekstrak 200mg/KgBB	-5.33400	2.40641	.319	-12.9674	2.2994	
	ekstrak 400mg/KgBB	-5.58800	2.40641	.269	-13.2214	2.0454	
Pioglitazone	normal	230.35200*	2.40641	.000	222.7186	237.9854	
	DM	-11.80400*	2.40641	.001	-19.4374	-4.1706	
	Glibenklamid	-2.02800	2.40641	.978	-9.6614	5.6054	
	ekstrak 100mg/KgBB	-5.96400	2.40641	.205	-13.5974	1.6694	
	ekstrak 200mg/KgBB	-7.36200	2.40641	.064	-14.9954	.2714	
	ekstrak 400mg/KgBB	-7.61600	2.40641	.051	-15.2494	.0174	
ekstrak 100mg/KgBB	normal	236.31600*	2.40641	.000	228.6826	243.9494	
	DM	-5.84000	2.40641	.225	-13.4734	1.7934	
	Glibenklamid	3.93600	2.40641	.662	-3.6974	11.5694	

		Pioglitazone	5.96400	2.40641	.205	-1.6694	13.5974
		ekstrak 200mg/KgBB	-1.39800	2.40641	.997	-9.0314	6.2354
		ekstrak 400mg/KgBB	-1.65200	2.40641	.992	-9.2854	5.9814
	ekstrak 200mg/KgBB	normal	237.71400*	2.40641	.000	230.0806	245.3474
		DM	-4.44200	2.40641	.530	-12.0754	3.1914
		Glibenklamid	5.33400	2.40641	.319	-2.2994	12.9674
		Pioglitazone	7.36200	2.40641	.064	-2.714	14.9954
		ekstrak 100mg/KgBB	1.39800	2.40641	.997	-6.2354	9.0314
		ekstrak 400mg/KgBB	-.25400	2.40641	1.000	-7.8874	7.3794
	ekstrak 400mg/KgBB	normal	237.96800*	2.40641	.000	230.3346	245.6014
		DM	-4.18800	2.40641	.596	-11.8214	3.4454
		Glibenklamid	5.58800	2.40641	.269	-2.0454	13.2214
		Pioglitazone	7.61600	2.40641	.051	-0.174	15.2494
		ekstrak 100mg/KgBB	1.65200	2.40641	.992	-5.9814	9.2854
		ekstrak 200mg/KgBB	.25400	2.40641	1.000	-7.3794	7.8874
LSD	normal	DM	-242.15600*	2.40641	.000	-247.0853	-237.2267
		Glibenklamid	-232.38000*	2.40641	.000	-237.3093	-227.4507
		Pioglitazone	-230.35200*	2.40641	.000	-235.2813	-225.4227
		ekstrak 100mg/KgBB	-236.31600*	2.40641	.000	-241.2453	-231.3867
		ekstrak 200mg/KgBB	-237.71400*	2.40641	.000	-242.6433	-232.7847
		ekstrak 400mg/KgBB	-237.96800*	2.40641	.000	-242.8973	-233.0387
	DM	normal	242.15600*	2.40641	.000	237.2267	247.0853
		Glibenklamid	9.77600*	2.40641	.000	4.8467	14.7053
		Pioglitazone	11.80400*	2.40641	.000	6.8747	16.7333
		ekstrak 100mg/KgBB	5.84000*	2.40641	.022	.9107	10.7693
		ekstrak 200mg/KgBB	4.44200	2.40641	.076	-4.8873	9.3713
		ekstrak 400mg/KgBB	4.18800	2.40641	.093	-7.413	9.1173
	Glibenklamid	normal	232.38000*	2.40641	.000	227.4507	237.3093
		DM	-9.77600*	2.40641	.000	-14.7053	-4.8467
		Pioglitazone	2.02800	2.40641	.407	-2.9013	6.9573
		ekstrak 100mg/KgBB	-3.93600	2.40641	.113	-8.8653	.9933
		ekstrak 200mg/KgBB	-5.33400*	2.40641	.035	-10.2633	-4.047
		ekstrak 400mg/KgBB	-5.58800*	2.40641	.028	-10.5173	-6.587
	Pioglitazone	normal	230.35200*	2.40641	.000	225.4227	235.2813
		DM	-11.80400*	2.40641	.000	-16.7333	-6.8747
		Glibenklamid	-2.02800	2.40641	.407	-6.9573	2.9013
		ekstrak 100mg/KgBB	-5.96400*	2.40641	.019	-10.8933	-1.0347
		ekstrak 200mg/KgBB	-7.36200*	2.40641	.005	-12.2913	-2.4327
		ekstrak 400mg/KgBB	-7.61600*	2.40641	.004	-12.5453	-2.6867
	ekstrak 100mg/KgBB	normal	236.31600*	2.40641	.000	231.3867	241.2453
		DM	-5.84000*	2.40641	.022	-10.7693	-9.107
		Glibenklamid	3.93600	2.40641	.113	-9.933	8.8653
		Pioglitazone	5.96400*	2.40641	.019	1.0347	10.8933
		ekstrak 200mg/KgBB	-1.39800	2.40641	.566	-6.3273	3.5313
		ekstrak 400mg/KgBB	-1.65200	2.40641	.498	-6.5813	3.2773
	ekstrak 200mg/KgBB	normal	237.71400*	2.40641	.000	232.7847	242.6433
		DM	-4.44200	2.40641	.076	-9.3713	.4873
		Glibenklamid	5.33400*	2.40641	.035	.4047	10.2633
		Pioglitazone	7.36200*	2.40641	.005	2.4327	12.2913
		ekstrak 100mg/KgBB	1.39800	2.40641	.566	-3.5313	6.3273
		ekstrak 400mg/KgBB	-.25400	2.40641	.917	-5.1833	4.6753
	ekstrak 400mg/KgBB	normal	237.96800*	2.40641	.000	233.0387	242.8973
		DM	-4.18800	2.40641	.093	-9.1173	.7413
		Glibenklamid	5.58800*	2.40641	.028	.6587	10.5173
		Pioglitazone	7.61600*	2.40641	.004	2.6867	12.5453
		ekstrak 100mg/KgBB	1.65200	2.40641	.498	-3.2773	6.5813
		ekstrak 200mg/KgBB	.25400	2.40641	.917	-4.6753	5.1833

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

## mikroalbumin T2

perlakuan	N	Subset for alpha = 0.05		
		1	2	3
Tukey HSD <sup>a</sup>				
normal	5	44.1900		
Pioglitazone	5		274.5420	
Glibenklamid	5		276.5700	
ekstrak 100mg/KgBB	5		280.5060	280.5060
ekstrak 200mg/KgBB	5		281.9040	281.9040
ekstrak 400mg/KgBB	5		282.1580	282.1580
DM	5			286.3460
Sig.		1.000	.051	.225

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 5.000.

## ke 22 (T3)

## Tests of Normality

perlakuan	Kolmogorov-Smirnov <sup>a</sup>
	Statistic
normal	.224
DM	.180
Glibenklamid	.173
pioglitazone	.203
ekstrak 100mg/KgBB	.230
ekstrak 200mg/KgBB	.152
ekstrak 400mg/KgBB	.241

a. Lilliefors Significance Correction

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

## Test of Homogeneity of Variances

mikroalbumin T3

Levene Statistic	df1	df2	Sig.
2.014	6	28	.097

## ANOVA

mikroalbumin T3

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	165283.217	6	27547.203	3907.597	.000
Within Groups	197.390	28	7.050		
Total	165480.607	34			

		df	Sig.	Shapiro-Wilk		
				Statistic	df	Sig.
mikroalbumin T3		5	.200*	.912	5	.482
		5	.200*	.942	5	.677
		5	.200*	.958	5	.794
		5	.200*	.923	5	.549
		5	.200*	.938	5	.655
		5	.200*	.990	5	.978
		5	.200*	.903	5	.427

## Multiple Comparisons

Dependent Variable: mikroalbumin T3

	(I) perlakuan	(J) perlakuan	Mean Difference (I-J)	Std. Error	Sig.	95% Confidence Interval	
						Lower Bound	Upper Bound
Tukey HSD	normal	DM	-250.43400*	1.67924	.000	-255.7608	-245.1072
		Glibenklamid	-84.22600*	1.67924	.000	-89.5528	-78.8992
		pioglitazone	-86.86600*	1.67924	.000	-92.1928	-81.5392
		ekstrak 100mg/KgBB	-108.38800*	1.67924	.000	-113.7148	-103.0612
		ekstrak 200mg/KgBB	-99.27400*	1.67924	.000	-104.6008	-93.9472
		ekstrak 400mg/KgBB	-95.44600*	1.67924	.000	-100.7728	-90.1192
	DM	normal	250.43400*	1.67924	.000	245.1072	255.7608
		Glibenklamid	166.20800*	1.67924	.000	160.8812	171.5348
		pioglitazone	163.56800*	1.67924	.000	158.2412	168.8948
		ekstrak 100mg/KgBB	142.04600*	1.67924	.000	136.7192	147.3728
		ekstrak 200mg/KgBB	151.16000*	1.67924	.000	145.8332	156.4868
		ekstrak 400mg/KgBB	154.98800*	1.67924	.000	149.6612	160.3148
	Glibenklamid	normal	84.22600*	1.67924	.000	78.8992	89.5528
		DM	-166.20800*	1.67924	.000	-171.5348	-160.8812
		pioglitazone	-2.64000	1.67924	.700	-7.9668	2.6868
		ekstrak 100mg/KgBB	-24.16200*	1.67924	.000	-29.4888	-18.8352
		ekstrak 200mg/KgBB	-15.04800*	1.67924	.000	-20.3748	-9.7212
		ekstrak 400mg/KgBB	-11.22000*	1.67924	.000	-16.5468	-5.8932
	pioglitazone	normal	86.86600*	1.67924	.000	81.5392	92.1928
		DM	-163.56800*	1.67924	.000	-168.8948	-158.2412
		Glibenklamid	2.64000	1.67924	.700	-2.6868	7.9668
		ekstrak 100mg/KgBB	-21.52200*	1.67924	.000	-26.8488	-16.1952
		ekstrak 200mg/KgBB	-12.40800*	1.67924	.000	-17.7348	-7.0812
		ekstrak 400mg/KgBB	-8.58000*	1.67924	.000	-13.9068	-3.2532
ekstrak 100mg/KgBB	normal	108.38800*	1.67924	.000	103.0612	113.7148	
	DM	-142.04600*	1.67924	.000	-147.3728	-136.7192	
	Glibenklamid	24.16200*	1.67924	.000	18.8352	29.4888	
	pioglitazone	21.52200*	1.67924	.000	16.1952	26.8488	
	ekstrak 200mg/KgBB	9.11400*	1.67924	.000	3.7872	14.4408	
	ekstrak 400mg/KgBB	12.94200*	1.67924	.000	7.6152	18.2688	
ekstrak 200mg/KgBB	normal	99.27400*	1.67924	.000	93.9472	104.6008	
	DM	-151.16000*	1.67924	.000	-156.4868	-145.8332	
	Glibenklamid	15.04800*	1.67924	.000	9.7212	20.3748	
	pioglitazone	12.40800*	1.67924	.000	7.0812	17.7348	
	ekstrak 100mg/KgBB	-9.11400*	1.67924	.000	-14.4408	-3.7872	
	ekstrak 400mg/KgBB	3.82800	1.67924	.288	-1.4988	9.1548	
ekstrak 400mg/KgBB	normal	95.44600*	1.67924	.000	90.1192	100.7728	
	DM	-154.98800*	1.67924	.000	-160.3148	-149.6612	
	Glibenklamid	11.22000*	1.67924	.000	5.8932	16.5468	
	pioglitazone	8.58000*	1.67924	.000	3.2532	13.9068	
	ekstrak 100mg/KgBB	-12.94200*	1.67924	.000	-18.2688	-7.6152	
	ekstrak 200mg/KgBB	-3.82800	1.67924	.288	-9.1548	1.4988	
LSD	normal	DM	-250.43400*	1.67924	.000	-253.8738	-246.9942
		Glibenklamid	-84.22600*	1.67924	.000	-87.6658	-80.7862
		pioglitazone	-86.86600*	1.67924	.000	-90.3058	-83.4262
		ekstrak 100mg/KgBB	-108.38800*	1.67924	.000	-111.8278	-104.9482
		ekstrak 200mg/KgBB	-99.27400*	1.67924	.000	-102.7138	-95.8342
		ekstrak 400mg/KgBB	-95.44600*	1.67924	.000	-98.8858	-92.0062
	DM	normal	250.43400*	1.67924	.000	246.9942	253.8738
		Glibenklamid	166.20800*	1.67924	.000	162.7682	169.6478
		pioglitazone	163.56800*	1.67924	.000	160.1282	167.0078
		ekstrak 100mg/KgBB	142.04600*	1.67924	.000	138.6062	145.4858
		ekstrak 200mg/KgBB	151.16000*	1.67924	.000	147.7202	154.5998

	ekstrak 400mg/KgBB	154.98800*	1.67924	.000	151.5482	158.4278
Glibenklamid	normal	84.22600*	1.67924	.000	80.7862	87.6658
	DM	-166.20800*	1.67924	.000	-169.6478	-162.7682
	pioglitazone	-2.64000	1.67924	.127	-6.0798	.7998
	ekstrak 100mg/KgBB	-24.16200*	1.67924	.000	-27.6018	-20.7222
	ekstrak 200mg/KgBB	-15.04800*	1.67924	.000	-18.4878	-11.6082
	ekstrak 400mg/KgBB	-11.22000*	1.67924	.000	-14.6598	-7.7802
pioglitazone	normal	86.86600*	1.67924	.000	83.4262	90.3058
	DM	-163.56800*	1.67924	.000	-167.0078	-160.1282
	Glibenklamid	2.64000	1.67924	.127	-.7998	6.0798
	ekstrak 100mg/KgBB	-21.52200*	1.67924	.000	-24.9618	-18.0822
	ekstrak 200mg/KgBB	-12.40800*	1.67924	.000	-15.8478	-8.9682
	ekstrak 400mg/KgBB	-8.58000*	1.67924	.000	-12.0198	-5.1402
ekstrak 100mg/KgBB	normal	108.38800*	1.67924	.000	104.9482	111.8278
	DM	-142.04600*	1.67924	.000	-145.4858	-138.6062
	Glibenklamid	24.16200*	1.67924	.000	20.7222	27.6018
	pioglitazone	21.52200*	1.67924	.000	18.0822	24.9618
	ekstrak 200mg/KgBB	9.11400*	1.67924	.000	5.6742	12.5538
	ekstrak 400mg/KgBB	12.94200*	1.67924	.000	9.5022	16.3818
ekstrak 200mg/KgBB	normal	99.27400*	1.67924	.000	95.8342	102.7138
	DM	-151.16000*	1.67924	.000	-154.5998	-147.7202
	Glibenklamid	15.04800*	1.67924	.000	11.6082	18.4878
	pioglitazone	12.40800*	1.67924	.000	8.9682	15.8478
	ekstrak 100mg/KgBB	-9.11400*	1.67924	.000	-12.5538	-5.6742
	ekstrak 400mg/KgBB	3.82800*	1.67924	.030	.3882	7.2678
ekstrak 400mg/KgBB	normal	95.44600*	1.67924	.000	92.0062	98.8858
	DM	-154.98800*	1.67924	.000	-158.4278	-151.5482
	Glibenklamid	11.22000*	1.67924	.000	7.7802	14.6598
	pioglitazone	8.58000*	1.67924	.000	5.1402	12.0198
	ekstrak 100mg/KgBB	-12.94200*	1.67924	.000	-16.3818	-9.5022
	ekstrak 200mg/KgBB	-3.82800*	1.67924	.030	-7.2678	-3.882

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

#### mikroalbumin T3

perlakuan	N	Subset for alpha = 0.05				
		1	2	3	4	5
Tukey HSD <sup>a</sup> normal	5	44.2200				
Glibenklamid	5		128.4460			
pioglitazone	5		131.0860			
ekstrak 400mg/KgBB	5			139.6660		
ekstrak 200mg/KgBB	5			143.4940		
ekstrak 100mg/KgBB	5				152.6080	
DM	5					294.6540
Sig.		1.000	.700	.288	1.000	1.000

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 5.000.

**Hari ke 29 (T4)****Tests of Normality**

perlakuan		Kolmogorov-Smirnov <sup>a</sup>			Shapiro-Wilk		
		Statistic	df	Sig.	Statistic	df	Sig.
mikroalbumin T4	normal	.280	5	.200*	.821	5	.118
	kontrol DM	.275	5	.200*	.866	5	.250
	Glibenklamid	.235	5	.200*	.928	5	.582
	Pioglitazone	.199	5	.200*	.967	5	.856
	ekstrak 100mg/KgBB	.218	5	.200*	.967	5	.854
	ekstrak 200mg/KgBB	.240	5	.200*	.902	5	.418
	ekstrak 400mg/KgBB	.274	5	.200*	.867	5	.256

a. Lilliefors Significance Correction

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

**Test of Homogeneity of Variances**

mikroalbumin T4

Levene Statistic	df1	df2	Sig.
.555	6	28	.762

**ANOVA**

mikroalbumin T4

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	234810.099	6	39135.017	6811.117	.000
Within Groups	160.881	28	5.746		
Total	234970.981	34			

**mikroalbumin T4**

perlakuan		N	Subset for alpha = 0.05					
			1	2	3	4	5	6
Tukey HSD <sup>a</sup>	normal	5	46.0220					
	Pioglitazone	5		56.3220				
	Glibenklamid	5		56.8560				
	ekstrak 400mg/KgBB	5			93.5140			
	ekstrak 200mg/KgBB	5				114.6500		
	ekstrak 100mg/KgBB	5					150.7680	
	kontrol DM	5						298.4620
Sig.			1.000	1.000	1.000	1.000	1.000	1.000

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 5.000.



## Lampiran 20. Analisa statistik histopatologi ginjal tikus

### Tests of Normality

perlakuan		Kolmogorov-Smirnov <sup>a</sup>			Shapiro-Wilk		
		Statistic	df	Sig.	Statistic	df	Sig.
kerusakan ginjal	normal	.328	3	.	.871	3	.298
	DM	.253	3	.	.964	3	.637
	Glibenklamid	.259	3	.	.959	3	.610
	Pioglitazone	.338	3	.	.852	3	.246
	ekstrak 100mg/KgBB	.204	3	.	.993	3	.843
	ekstrak 200mg/KgBB	.324	3	.	.878	3	.317
	ekstrak 400mg/KgBB	.253	3	.	.964	3	.637

a. Lilliefors Significance Correction

### Test of Homogeneity of Variances

kerusakan ginjal

Levene Statistic	df1	df2	Sig.
4.353	6	14	.011

### ANOVA

kerusakan ginjal

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	23954.286	6	3992.381	21.317	.000
Within Groups	2622.000	14	187.286		
Total	26576.286	20			

## Multiple Comparisons

kerusakan ginjal  
Tamhane

(I) perlakuan	(J) perlakuan	Mean Difference (I-J)	Std. Error	Sig.	95% Confidence Interval	
					Lower Bound	Upper Bound
normal	DM	-88.667	5.608	.031	-160.98	-16.35
	Glibenklamid	-90.333	15.734	.440	-388.39	207.72
	Pioglitazone	-22.333	11.411	.986	-226.66	182.00
	ekstrak 100mg/KgBB	-28.000	2.749	.011	-46.84	-9.16
	ekstrak 200mg/KgBB	-25.333	5.558	.463	-96.52	45.85
	ekstrak 400mg/KgBB	-11.000	2.560	.236	-28.46	6.46
DM	normal	88.667	5.608	.031	16.35	160.98
	Glibenklamid	-1.667	16.496	1.000	-219.43	216.10
	Pioglitazone	66.333	12.441	.268	-62.15	194.82
	ekstrak 100mg/KgBB	60.667	5.667	.068	-7.97	129.30
	ekstrak 200mg/KgBB	63.333	7.446	.022	12.67	113.99
	ekstrak 400mg/KgBB	77.667	5.578	.045	3.27	152.07
Glibenklamid	normal	90.333	15.734	.440	-207.72	388.39
	DM	1.667	16.496	1.000	-216.10	219.43
	Pioglitazone	68.000	19.258	.453	-76.58	212.58
	ekstrak 100mg/KgBB	62.333	15.755	.697	-232.54	357.21
	ekstrak 200mg/KgBB	65.000	16.479	.593	-153.97	283.97
	ekstrak 400mg/KgBB	79.333	15.723	.529	-220.34	379.00
Pioglitazone	normal	22.333	11.411	.986	-182.00	226.66
	DM	-66.333	12.441	.268	-194.82	62.15
	Glibenklamid	-68.000	19.258	.453	-212.58	76.58
	ekstrak 100mg/KgBB	-5.667	11.441	1.000	-206.10	194.77
	ekstrak 200mg/KgBB	-3.000	12.419	1.000	-132.30	126.30
	ekstrak 400mg/KgBB	11.333	11.397	1.000	-195.01	217.67
ekstrak 100mg/KgBB	normal	28.000	2.749	.011	9.16	46.84
	DM	-60.667	5.667	.068	-129.30	7.97
	Glibenklamid	-62.333	15.755	.697	-357.21	232.54
	Pioglitazone	5.667	11.441	1.000	-194.77	206.10
	ekstrak 200mg/KgBB	2.667	5.617	1.000	-64.87	70.21
	ekstrak 400mg/KgBB	17.000	2.687	.069	-1.63	35.63
ekstrak 200mg/KgBB	normal	25.333	5.558	.463	-45.85	96.52
	DM	-63.333	7.446	.022	-113.99	-12.67
	Glibenklamid	-65.000	16.479	.593	-283.97	153.97
	Pioglitazone	3.000	12.419	1.000	-126.30	132.30
	ekstrak 100mg/KgBB	-2.667	5.617	1.000	-70.21	64.87
	ekstrak 400mg/KgBB	14.333	5.528	.889	-58.92	87.59
ekstrak 400mg/KgBB	normal	11.000	2.560	.236	-6.46	28.46
	DM	-77.667	5.578	.045	-152.07	-3.27
	Glibenklamid	-79.333	15.723	.529	-379.00	220.34
	Pioglitazone	-11.333	11.397	1.000	-217.67	195.01
	ekstrak 100mg/KgBB	-17.000	2.687	.069	-35.63	1.63
	ekstrak 200mg/KgBB	-14.333	5.528	.889	-87.59	58.92

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