

**PENGARUH EKSTRAK ETANOL DAUN GEDI MERAH (*Abelmoschus manihot*
L. Medik) TERHADAP PENURUNAN KADAR BUN DAN KREATININ
SERUM PADA TIKUS DIABETES NEFROPATI YANG DIINDUKSI
STREPTOZOTOCIN-NIKOTINAMID**



Diajukan oleh :

**Yulianti Lika Ambu
20144283A**

**FAKULTAS FARMASI
UNIVERSITAS SETIA BUDI
SURAKARTA
2018**

PENGESAHAN SKRIPSI

berjudul :

**PENGARUH EKSTRAK ETANOL DAUN GEDI MERAH (*Abelmoschus manihot* L.Medik)
TERHADAP PENURUNAN KADAR BUN DAN KREATININ SERUM PADA TIKUS
DIABETES NEFROPATI YANG DIINDUKSI STREPTOZOTOCIN-NIKOTINAMID**

Oleh :

**Yulianti Lika Ambu
20144283A**

**Dipertahankan di hadapan panitia penguji skripsi
Fakultas Farmasi Universitas Setia Budi
Pada tanggal : 28 Juni 2018**



Mengetahui,
Fakultas Farmasi
Universitas Setia Budi
Dekan,

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

Pembimbing Pendamping

Pembimbing

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

Ghani Nurfiiana, M. Farm., Apt.

Penguji :

1. Dr. Jason Merari P. MM., M.Si. Apt.

2. Dr. Supriyadi, M.Si.

3. Fransiska Leviana, S. Farm., M.Sc., Apt.

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

1.....

3.....

2.....

4.....

PERSEMBAHAN

TUHAN akan mengangkat engkau menjadi kepala dan bukan menjadi ekor, engkau akan tetap naik dan bukan turun, apabila engkau mendengarkan perintah TUHAN, Allahmu, yang kusampaikan pada hari ini kaulakukan dengan setia.

Ulangan 28:13

“Aku tahu, bahwa Engkau sanggup melakukan segala sesuatu, dan tidak ada rencana-Mu yang gagal”

Ayub 42:2

Sebab segala sesuatu adalah dari Dia, dan oleh Dia, dan kepada Dia: Bagi Dialah kemuliaan sampai selama-lamanya!

Roma 11:36

Persembahan syukurku untuk:

Tuhan Yesus Kristus

Alm. Papa, mama dan adik-adik yang selalu memberikan semangat dan motivasi

Seluruh keluarga besar dan sahabat-sahabat

Teman-teman seperjuangan

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 jiplakandari penelitian/karya ilmiah/skripsi orang lain, maka saya siap menerima sanksi, baik secara akademis maupun hukum.

Surakarta, Mei 2018


Yuliani Lika Ambu

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 PENURUNAN KADAR BUN DAN KREATININ SERUM 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 menunjang dan membantu kelancaran dan selesainya skripsi ini.
9. Alm. Papa, mama, adik-adikku tercinta (Umbu dan Adi) serta seluruh keluarga besarku, yang selalu memberikan doa, cinta kasih, dukungan, dan semangat.
10. Keluarga besar PMK Katharos dan MUDA 2014 yang selalu mendukung dalam doa dan memberikan semangat. Keep Spirit Of Excellent.
11. Tim skripsiku, Jofrin, Stefani, Sopan dan Daus, untuk bantuan, motivasi dan kerjasamanya.
12. Terima kasih untuk sahabat-sahabatku (Juan, Nur, Elin dan Ruth) atas dukungan dan semangatnya.
13. Teman-teman kosku (kos Nagaya) yang sudah memberikan dukungan dan motivasi dalam menyelesaikan skripsi.
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, Juni 2018

Yuliati Lika Ambu

DAFTAR ISI

HALAMAN JUDUL	i
LEMBAR PENGESAHAN.....	ii
PERSEMBAHAN.....	iii
PERNYATAAN	iv
KATA PENGANTAR	v
DAFTAR ISI.....	vii
DAFTAR GAMBAR.....	xv
DAFTAR TABEL.....	xvi
INTISARI.....	xvii
ABSTRACT	xviii
BAB I PENDAHULUAN	1
A. Latar Belakang.....	1
B. Rumusan Masalah.....	5
C. Tujuan Penelitian	5
D. Manfaat Penelitian	5
BAB II TINJAUAN PUSTAKA	6
A. Tanaman Gedi.....	6
1. Sistematika tumbuhan	6
2. Nama lain.....	6
3. Morfologi tanaman.....	6
4. Kandungan kimia tanaman	7
4.1. Flavonoid	7
4.2. Tanin.....	7
4.3. Alkaloid.....	7

4.4. Saponin	7
5. Kegunaan tanaman	8
B. Simplisia	8
1. Pengertian simplisia	8
2. Pengumpulan simplisia.....	9
3. Pengeringan simplisia.....	9
C. Pelarut.....	9
D. Penyarian	19
1. Pengertian penyarian	10
2. Pengertian ekstrak	11
3. Metode penyarian.....	11
E. Diabetes Melitus	12
1. Definisi DM	12
2. Klasifikasi DM.....	12
2.1. Diabetes melitus tipe 1 (tergantung insulin)	12
2.2. Diabetes melitus tipe 2 (tidak tergantung insulin).....	13
2.3. Diabetes gestasional	13
2.4. Diabetes tipe lain (sekunder).....	14
3. Patofisiologi DM.....	14
4. Komplikasi pada DM	15
5. Gejala DM	15
6. Diagnosis DM	16
F. Terapi Diabetes Melitus	16
1. Terapi no farmakologi DM.....	17
1.1. Diet	17
1.2. Olah raga.....	17
1.3. Berhenti merokok.....	17
2. Terapi farmakologi.....	18
2.1. Golongan sulfonylurea.....	18

2.2.	Golongan inhibitor α -glukosidase	18
2.3.	Golongan biguanide.....	18
2.4.	Golongan meglitinida	19
2.5.	Golongan thiazolidindion.....	19
2.6.	Golongan agonis <i>glukagon-like peptide 1</i> (GLP-1).....	20
2.7.	Golongan inhibitor <i>dipeptidyl peptidase-4</i> (DPP-4).....	20
2.8.	Golongan inhibitor <i>sodium-glucose-Co-transporter 2</i> (SGLT2)....	20
2.9.	Golongan sekuestran asam empedu.....	21
2.10.	Golongan amilinomimetik	21
G.	Metode Uji Antihiperqlikemia.....	22
1.	Uji diabetes	22
1.1.	Induksi agen diabetogenic.....	22
1.2.	Uji resistensi insulin	23
1.3.	Uji toleransi glukosa	23
2.	Metode pengukuran kadar gula darah	24
2.1.	Prosedur penggunaan spektrofotometer UV-Vis	24
2.2.	Prosedur penggunaan glucometer.....	24
H.	Streptozotocin.....	24
I.	Nikotinamid	26
J.	Glibenklamid	27
K.	Pioglitazone	27
L.	Nefropati Diabetes (ND)	27
1.	Definisi nefropati diabetes.....	27
2.	Etiologi	28
3.	Patofisiologi nefropati diabetes.....	28
4.	Tingkatan nefropati diabetes.....	29
4.1.	Tingkat I.....	29
4.2.	Tingkat II.....	29
4.3.	Tingkat III	30

4.4. Tingkat IV	30
4.5. Tingkat V	30
5. Parameter pemeriksaan fungsi ginjal	30
5.1. Albuminuria	31
5.2. Blood urea nitrogen (BUN).....	31
5.3. Kreatinin	32
M. Hewan Uji.....	32
1. Sistematika hewan uji.....	33
2. Karakteristik tikus	33
3. Pemberian secara oral.....	33
N. Landasan Teori	33
O. Hipotesis.....	37
P. Kerangka Pikiran	38
BAB III METODE PENELITIAN	39
A. Populasi dan Sampel	39
1. Populasi	39
2. Sampel	39
B. Variabel Penelitian.....	39
1. Identifikasi variabel utama	39
2. Kalsifikasi variabel utama	39
3. Definisi operasional variabel utama	40
C. Alat dan Bahan.....	41
1. Alat	41
2. Bahan.....	42
2.1. Bahan sampel	42
2.2. Bahan kimia	42
3. Hewan percobaan	42
D. Jalannya Penelitian.....	42

1. Determinasi tanaman.....	42
2. Pengumpulan, pengeringan dan pembuatan serbuk	42
3. Penetapan kadar air serbuk	43
4. Pembuatan ekstrak simplisia daun gedi merah	43
5. Uji bebas alkohol.....	43
6. Identifikasi kandungan kimia daun gedi merah	43
6.1. Identifikasi flavonoid menggunakan tabung reaksi.....	43
6.2. Identifikasi tanin menggunakan tabung reaksi.....	44
6.3. Identifikasi saponin menggunakan tabung reaksi	44
6.4. Identifikasi alkaloid menggunakan tabung reaksi	44
6.5. Identifikasi flavonoid menggunakan KLT	44
6.6. Identifikasi tanin menggunakan KLT	45
6.7. Identifikasi saponin menggunakan KLT.....	45
6.8. Identifikasi alkaloid menggunakan KLT	45
7. Penentuan dosis.....	45
7.1. Dosis STZ-NA.....	45
7.2. Penentuan dosis glibenklamid.....	45
7.3. Penentuan dosis pioglitazone	46
7.4. Penentuan dosis ekstrak etanol daun gedi merah	46
8. Pembuatan sediaan uji	46
8.1. STZ-NA	46
8.2. CMC Na 0,5%	46
8.3. Glibenklamid.....	46
8.4. Pioglitazone.....	46
9. Kelompok hewan uji	46
10. Prosedur uji diateses STZ-NA.....	47
11. Pengujian efek BUN dan kreatinin.....	48
12. Pemeriksaan kadar BUN	48
13. Pemeriksaan kadar kreatinin	49

E. Analisis Statistik	50
Alur Pembuatan ekstrak	51
Alur Penelitian	52
BAB IV HASIL PENELITIAN DAN PEMBAHASAN	53
A. Hasil determinasi daun gedi merah (<i>Abelmoschus manihot</i> L. Medik).....	53
B. Hasil pengumpulan, pengeringan dan pembuatan serbuk	53
C. Hasil penetapan kadar air serbuk	54
D. Hasil pembuatan ekstrak etanol daun gedi merah	54
E. Hasil uji bebas alkohol	55
F. Hasil identifikasi kandungan kimia daun gedi merah	55
1.1. Flavonoid	56
1.2. Tanin.....	58
1.3. Saponin	59
1.4. Alkaloid	60
G. Hasil pemeriksaan kadar BUN dan kreatinin	61
1. Data pemeriksaan kadar BUN	61
2. Hasil pemeriksaan kadar kreatinin	64
BAB V KESIMPULAN DAN SARAN	73
A. Kesimpulan	73
B. Saran	73
Daftar Pustaka.....	74
Lampiran.....	83
Lampiran 1. Surat keterangan determinasi tanaman.....	84
Lampiran 2. Ethical clearance	85
Lampiran 3. Surat praktik penelitian BUN dan kreatinin	86
Lampiran 4. Foto tanaman gedi merah.....	87
Lampiran 5. Komposisi reagen BUN dan kreatinin.....	88
A. Reagen BUN	88

B. Reagen kreatinin.....	88
Lampiran 6. Foto hewan coba	89
Lampiran 7. Hasil presentase rendemen bobot kering terhadap bobot basah daun gedi merah	90
Lampiran 8. Hasil penetapan kadar air serbuk daun gedi merah.....	91
Lampiran 9. Perhitungan rendemen ekstrak daun gedi merah	92
Lampiran 10. Hasil identifikasi kandungan kimia ekstrak daun gedi merah	93
Lampiran 11. Perhitungan dosis dan volume pemberian	95
Lampiran 12. Hasil penimbangan berat badan hewan uji dan dosis pemeberian	98
Lampiran 13. Hasil pengukuran kadar BUN	100
A. Pengukuran kadar BUN hari ke-0 (T_0).....	100
B. Pengukuran kadar BUN hari ke-5 (T_1).....	101
C. Pengukuran kadar BUN hari ke-15 (T_2).....	102
D. Pengukuran kadar BUN hari ke-22 (T_3).....	103
E. Pengukuran kadar BUN hari ke-29 (T_4).....	104
Lampiran 14. Hasil pengukuran kadar kreatinin	105
A. Pengukuran kadar kreatinin hari ke-0 (T_0).....	105
B. Pengukuran kadar kreatinin hari ke-5 (T_1).....	106
C. Pengukuran kadar kreatinin hari ke-15 (T_2).....	107
D. Pengukuran kadar kreatinin hari ke-22 (T_3).....	108
E. Pengukuran kadar kreatinin hari ke-29 (T_4).....	109
Lampiran 15. Penentuan persentasi penurunan kadar BUN	110
Lampiran 16. Penentuan persentasi penurunan kadar kreatinin	111
Lampiran 17. Hasil analisis statistik penurunan kadar BUN	112
A. Hari ke-0 (T_0).....	112
B. Hari ke-5 (T_1).....	114
C. Hari ke-15 (T_2).....	116
D. Hari ke-22 (T_3).....	118

E. Hari ke-29 (T_4).....	120
Lampiran 18. Hasil analisis statistik penurunan kadar kreatinin.....	122
A. Hari ke-0 (T_0).....	122
B. Hari ke-5 (T_1).....	124
C. Hari ke-15 (T_2).....	126
D. Hari ke-22(T_3).....	128
E. Hari ke-29 (T_4).....	130

DAFTAR GAMBAR

Gambar 1. Struktur kimia dari STZ	25
Gambar 2. Struktur kimia dari NA	26
Gambar 3. Skema patogenesis nefropati diabetes sampai ESRD	29
Gambar 4. Kerangka pikiran	38
Gambar 5. Alur pembuatan ekstrak etanol daun gedi merah	51
Gambar 6. Alur penelitian	52
Gambar 7. Hasil KLT flavonoid	57
Gambar 8. Hasil KLT tanin	58
Gambar 9. Hasil KLT saponin	59
Gambar 10. Hasil KLT alkaloid	60
Gambar 11. Grafik hubungan antara penurunan kadar BUN dengan waktu perlakuan	62
Gambar 12. Grafik hubungan antara penurunan kadar kreatinin dengan waktu perlakuan.....	65

DAFTAR TABEL

Tabel 1. Nilai rujukan kadar urea plasma.....	32
Tabel 2. Hasil prosentase bobot kering terhadap bobot basah daun gedi merah.....	54
Tabel 3. Hasil penetapan kadar air serbuk daun gedi merah.....	54
Tabel 4. Hasil pembuatan ekstrak etanol daun gedi merah.....	55
Tabel 5. Hasil identifikasi kandungan kimia ekstrak daun gedi merah menggunakan tabung reaksi	56
Tabel 6. Hasil identifikasi kandungan kimia ekstrak etanol daun gedi merah menggunakan KLT	56
Tabel 7. Perhitungan rata-rata kadar BUN setelah diinduksi STZ-NA dan setelah pemberian sediaan uji.....	62
Tabel 8. Persentasi penurunan kadar BUN.....	64
Tabel 9. Perhitungan rata-rata kadar kreatinin setelah diinduksi STZ-NA dan setelah pemberian sediaan uji	65
tabel 10. Persentasi penurunan kadar kreatinin.....	67

INTISARI

Ambu, YL., 2018. PENGARUH EKSTRAK ETANOL DAUN GEDI MERAH (*Abelmoschus manihot* L. Medik) TERHADAP PENURUNAN KADAR BUN DAN KREATININ SERUM PADA TIKUS DIABETES NEFROPATI YANG DIINDUKSI STREPTOZOTOCIN NIKOTINAMID

Kadar BUN dan kreatinin yang meningkat dalam darah merupakan penanda adanya 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 kadar BUN dan kreatinin serum pada tikus yang diinduksi streptozotocin-nikotinamid serta dosis efektif yang dapat menurunkan kadar BUN dan kreatinin serum.

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 BUN dan kreatinin serum. Analisa data menggunakan metode ANOVA dilanjutkan uji *Post Hoc*.

Hasil analisis statistik pada kelompok ekstrak mempunyai efek terhadap penurunan kadar BUN dan kreatinin serum. Dosis efektif ekstrak daun gedi merah terhadap penurunan kadar BUN dan kreatinin serum yaitu 400 mg/Kg BB tikus namun masih lebih baik pada kelompok glibenklamid dan pioglitazone.

ABSTRACT

Ambu, YL., 2018. INFLUENCE OF ETHANOL EXTRACT OF RED GEDI LEAF (*Abelmoschus manihot* L. Medik) TO DECREASE OF BUN LEVEL AND KREATININ SERUM IN RATS OF NEFROPATI DIABETES INDUCED STREPTOZOTOCIN-NICOTINAMID

Increased levels of BUN and creatinine in the blood is a marker of renal impairment in DM nephropathy and one of the traditional crops that can be used to treat DM is a red gedi leaf (*Abelmoschus manihot* L. Medik). The aim of this research is to know the effect of ethanol extract of red gedi in lowering BUN and serum creatinine in streptozotocin-nicotinamide induced rats and effective dose that can decrease BUN and serum creatinine levels.

This study used 35 male white rats wistar strains induced STZ-NA ip with dose 45 mg / kg and 110 mg / kg body weight, divided into 7 groups. Mice indicated DM for 15 days after STZ-NA induced and given extract for 14 days. Test preparations are given orally. The parameters measured were serum BUN and serum creatinine levels. Data analysis using ANOVA method followed by *Post Hoc* test.

The results of statistical analysis on the extract group had an effect on decreasing BUN levels and serum creatinine. Effective dose of red ged leaf extract to decrease BUN and creatinine serum level is 400 mg / Kg body weight rats but still better in group glibenklamid and pioglitazone.

BAB I

PENDAHULUAN

A. Latar Belakang

Diabetes Mellitus (DM) merupakan suatu penyakit yang menunjukkan keadaan hiperglikemi di mana kadar hemoglobin yang mengikat glukosa dengan proses glikasi (HbA1c) di atas 6,5%, glukosa darah saat puasa (GDP) di atas 126 mg/dL dan saat 2 jam setelah makan di atas 200 mg/dL. Disebutkan juga bahwa baik keadaan hiperglikemi maupun krisis hiperglikemi, keduanya ditandai dengan kadar glukosa darah acak di atas 200 mg/dL (ADA 2015). Adapun gejala-gejala dari penyakit tersebut antara lain poliuria (sering berkemih dengan jumlah banyak), polidipsi (sering haus), polifagia (sering merasa lapar) dan berat badan menurun (PERKENI 2015). Hiperglikemia yang berlangsung lama dapat menimbulkan komplikasi yaitu kelainan mikrovaskuler seperti nefropati, retinopati dan neuropati (DepKes 2005).

Di Indonesia, prevalensi DM tahun 2013 menurut hasil riset kesehatan dasar yang dilakukan terhadap penduduk usia ≥ 15 tahun mencapai 12.191.564 jiwa untuk kondisi pasien DM, 3.706.236 jiwa untuk kondisi terdiagnosis dan 8.485.329 jiwa untuk kondisi tidak terdiagnosis. Peningkatan proporsi penderita DM ini berbanding lurus dengan peningkatan usia. Pasien dengan kelompok usia 65-74 tahun menempati urutan tertinggi sebagai penderita kategori toleransi glukosa terganggu, sementara kelompok usia 55-64 tahun menempati urutan tertinggi kategori GDP terganggu. Jika ditinjau berdasarkan jenis kelamin, maka perempuan cenderung lebih tinggi terkena DM (Riskesdas 2013).

Nefropati Diabetik (ND) adalah komplikasi yang terjadi pada 20- 40% dari seluruh pasien DM tipe 1 dan DM tipe 2 yang ditandai dengan adanya mikroalbuminuria (30 mg/hari) tanpa adanya gangguan ginjal, disertai dengan peningkatan tekanan darah sehingga mengakibatkan menurunnya filtrasi glomerulus dan akhirnya menyebabkan gagal ginjal tahap akhir (PERKENI 2015). Salah satu indikator kerusakan ginjal, yaitu meningkatnya kadar urea darah (BUN) dan kadar kreatinin dalam serum. Dalam keadaan normal, BUN dan kreatinin seharusnya diekskresikan bersama urin melalui ginjal karena merupakan

limbah hasil metabolisme dalam tubuh. Ketika terjadinya penurunan fungsi ginjal, maka kadar BUN dan kreatinin dalam darah mengalami peningkatan, hal ini dikarenakan adanya gangguan fungsi ginjal yang menyebabkan laju filtrasi glomerulus menurun dan mengakibatkan ekskresi BUN dan kreatinin terganggu, sehingga kadar urea dan kreatinin terakumulasi dalam darah (Widhyari *et al.* 2015). Nilai normal kadar kreatinin serum pada pria adalah 0,7-1,3 mg/dL sedangkan pada wanita 0,6-1,1 mg/dL (Alfonso 2016). Nilai normal BUN 6-20 mg/dl (Verdiansah 2016).

Terapi pasien DM tipe II biasanya menggunakan obat antidiabetes seperti sulfonilurea, meglitinida, biguanida thiazolidindion, inhibitor α -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 glibenklamid yaitu hipoglikemia, gangguan ringan dan jarang, diantaranya gangguan gastrointestinal seperti mual, muntah, diare dan konstipasi dan kontraindikasi dengan penderita yang memiliki gangguan fungsi, gagal ginjal, pada porfiria dan tidak digunakan pada ibu menyusui dan selama kehamilan (Dipiro *et al.* 2015; Katzung *et al.* 2015).

Thiazolidindion atau glitazone merupakan agen sensitivator 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 γ (*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).

Salah satu tanaman herbal yang ada di Indonesia yang memiliki aktivitas yang dapat digunakan sebagai antidiabetes yaitu daun gedi merah (*Abelmoschus manihot* L. Medik) yang mengandung senyawa kimia yang bermanfaat bagi kesehatan (Tea 2012). Beberapa pengalaman secara empiris menyatakan bahwa tanaman gedi merah dapat dijadikan sebagai obat diare, obat usus buntu dan berkhasiat untuk mempercepat proses melahirkan. Daun gedi merah yang direbus tanpa garam, digunakan untuk mengobati beberapa penyakit, antara lain untuk sakit ginjal, maagh, dan kolesterol tinggi (Gani 2013). Di Papua, daunnya banyak dimanfaatkan sebagai obat tradisional usai persalinan bagi ibu hamil, daunnya dipercaya mampu meningkatkan produksi ASI bagi ibu yang sedang menyusui (Plantamor 2017). Senyawa hiperin yang terkandung dalam gedi merah memiliki kemampuan antivirus, antinosiseptif, antiinflamasi, kardioprotektif, hepatoprotektif, dan efek protektif terhadap terhadap gastrimukosal (lapisan membran mukus pada lambung) (Lin-lin 2007). Sarwar *et al.* (2011) menyatakan bahwa gedi memiliki efek antiinflamasi dan antidiabetes yang kuat.

Tanaman gedi mengandung quercetin-3-o-robinobiosid, hyperin, isoquercetin, gossipetin-8-o-glukuronid, dan myricetin (Lin-lin 2007). Berdasarkan penelitian Mandey (2013) diketahui bahwa daun gedi merah mengandung flavonoid, alkaloid, saponin, steroid, dan juga mengandung protein tinggi, serat, dan kalsium. Daun gedi merah memiliki kandungan senyawa yaitu flavonoid sebesar 722,5 mg/Kg (South *et al.* 2013). Hal ini telah dibuktikan dengan adanya penelitian uji efektifitas pada daun gedi merah sebagai antidiabetes (Adeline 2015).

Pada penelitian sebelumnya yang telah dilakukan oleh Adeline *et al.* (2015), diketahui bahwa ekstrak etanol 96% daun gedi merah dapat menurunkan kadar gula darah dengan dosis 3,75 mg/ 200 g BB pada tikus putih yang diinduksi aloksan 200mg/Kg BB tikus secara intraperitoneal dengan kontrol positif yaitu Insulin Novomix 0,9 Iu/200 g BB.

Pada tahun 2016, Tandi *et al* melakukan penelitian terhadap penurunan kadar gula darah pada tikus yang diinduksi STZ dan kontrol positifnya yaitu glibenklamid diperoleh dosis efektif ekstrak etanol 96% daun gedi merah yaitu 150 mg/kgBB. 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.

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 penurunan kadar BUN dan kreatinin serum model tikus yang mengalami DM tipe II tikus yang telah diinduksi STZ-nikotinamid.

B. Perumusan Masalah

1. Pertama, apakah ekstrak etanol daun gedi merah dapat menurunkan kadar BUN pada tikus diabetes nefropati yang diinduksi STZ-NA?
2. Kedua, apakah ekstrak etanol daun gedi merah dapat menurunkan kadar kreatinin serum pada tikus diabetes nefropati yang diinduksi STZ-NA?
3. Ketiga, berapakah dosis efektif ekstrak etanol daun gedi merah yang dapat menurunkan kadar BUN dan kreatinin serum pada tikus diabetes nefropati yang diinduksi STZ-NA?

C. Tujuan Penelitian

1. Pertama, untuk mengukur kadar BUN pada tikus diabetes nefropati yang diinduksi STZ-NA setelah diberikan ekstrak etanol daun gedi merah.
2. Kedua, untuk mengukur kadar kreatinin serum pada tikus diabetes nefropati yang diinduksi STZ-NA setelah diberikan ekstrak etanol daun gedi merah.
3. Ketiga, untuk mengetahui dosis efektif ekstrak etanol daun gedi merah yang dapat menurunkan kadar BUN dan kreatinin serum pada tikus diabetes nefropati yang diinduksi STZ-NA

D. Manfaat penelitian

Hasil penelitian ini diharapkan dapat memberikan informasi dan pengetahuan di bidang farmasi yang berguna untuk masyarakat dalam usaha untuk mengembangkan obat tradisional, khususnya tentang manfaat daun gedi merah (*Abelmoschus manihot* L. Medik) untuk obat antidiabetes khususnya untuk penderita diabetes tipe 2 yang memiliki komplikasi nefropati diabetes (ND) yang dapat digunakan sebagai obat alternatif untuk menurunkan kadar kadar BUN dan kreatinin.

BAB II

TINJAUAN PUSTAKA

A. Tanaman Gedi Merah (*Abelmoschus manihot* L. Medik)

1. Sistematika tumbuhan

Tanaman gedi merah memiliki sistematika sebagai berikut:

Kingdom : Plantae

Subkingdom : Tracheobionta

Divisi : Magnoliophyte

Subdivisi : Spermatophyte

Kelas : Magnoliopsida

Ordo : Malvales

Famili : Malvaceace

Genus : *Abelmoschus*

Spesies : *Abelmoschus manihot* L. Medik (Plantamour 2017)

2. Nama lain

Gedi memiliki nama yang berbeda-beda pada masing-masing negara di antaranya: gedi merah (Indonesia), Mushkdana, Kasturi-dana, Jangli bhindi (India), kasturi bende, kaadu kastoori (Kannada) (Giri *et al.* 2016).

3. Morfologi tanaman

Tumbuhan genus *Abelmoschus* hanya dapat ditemui di daerah beriklim tropik, terutama di Afrika dan Asia. *Abelmoschus* terdiri dari 15 spesies, di Indonesia hanya dikenal 3 spesies yaitu: *Abelmoschus moschatus*, *A. esculentus* dan *A. manihot*. *Abelmoschus* adalah kelompok tanaman herbal dengan pertumbuhan cepat, tinggi tanaman sampai 2 meter, panjang daun 20-40 cm, bentuk daun menjari sebanyak 3-7 helai daun (Mamahit 2009).

4. Kandungan kimia tanaman

Flavonoid total yang tertandung dalam daun gedi merah dengan pelarut etanol 96% diperoleh 41,56% (Pine *et al.* 2011). Daun gedi merah yang diekstrak menggunakan pelarut air mengandung metabolit sekunder berupa senyawa flavonoid dan tanin yang merupakan senyawa polifenol. Total polifenol ekstrak gedi merah sangat tinggi yang dihitung berdasarkan kandungan total fenol (1003,5 mg/Kg), kandungan flavonoid total (722,5 mg/Kg) dan kandungan total tannin (1029 mg/Kg) (South *et al.* 2013).

4.1. Flavonoid. Flavonoid merupakan salah satu kelompok senyawa metabolit sekunder yang paling banyak ditemukan di dalam jaringan tanaman Flavonoid memiliki berbagai aktivitas farmakologi dan memberikan efek penghambatan terhadap berbagai kerja enzim, termasuk kerja enzim yang berhubungan dengan penyakit DM yaitu aldose reduktase. Penghambatan enzim aldose reduktase oleh senyawa flavonoid tersebut berefek positif pada tikus diabetes yang diinduksi STZ karena menyebabkan efek regenerasi sel islet pankreas dan peningkatan pelepasan insulin (Sandhar *et al.* 2011).

4.2. Tanin. Tanin diketahui dapat memacu metabolisme glukosa dan lemak sehingga timbunan kedua sumber kalori ini dalam darah dapat dihindari. Selain itu, tanin 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).

4.3. Alkaloid. Alkaloid bekerja dengan cara menstimulasi hipotalamus untuk meningkatkan sekresi *Growth Hormone Releasing Hormone* (GHRH), sehingga sekresi *Growth Hormone* (GH) pada hipofise meningkat. Kadar GH yang tinggi akan menstimulasi hati untuk mensekresikan *Insulin-like Growth Factor-1* (IGF-1) yang mempunyai efek dalam menginduksi hipoglikemia dan menurunkan gluconeogenesis sehingga kadar glukosa darah dan kebutuhan insulin menurun (Ayunda *et al.* 2014).

4.4. Saponin. Saponin dapat menurunkan kadar gula darah dengan cara menghambat transport glukosa didalam saluran cerna dan merangsang

sekresi insulin pada sel beta pancreas (Atangwho *et al.* 2010). Saponin bersifat adstringent yaitu menciutkan selaput lendir mukosa lambung sehingga menghambat penyerapan senyawa lainnya yang juga ikut berperan terhadap penurunan kadar glukosa darah yaitu alkaloid dan flavonoid. Selain itu senyawa saponin dapat menurunkan kadar glukosa darah dengan menghambat aktivitas enzim alfa glukosidase, yaitu enzim dalam pencernaan yang bertanggung jawab terhadap pengubahan karbohidrat menjadi glukosa (Tandi *et al.* 2016).

5. Kegunaan tanaman

Di Sulawesi Utara tanaman gedi merah sudah di kenal oleh sebagian masyarakat, karena tanaman ini banyak dijadikan sebagai sayuran. Namun berdasarkan spesiesnya tanaman gedi terbagi atas dua jenis yaitu gedi merah dan hijau. Gedi hijau biasanya dikonsumsi oleh masyarakat sebagai sayuran, sedangkan tanaman gedi merah tidak dijadikan sayuran seperti tanaman gedi hijau. Berdasarkan informasi dari masyarakat sekitar, tanaman gedi merah digunakan sebagai pengobatan alternatif untuk menurunkan kadar kolesterol, hipertensi dan antidiabetes (South *et al.* 2013). Berdasarkan informasi masyarakat di daerah Kecamatan Pineleng, Kabupaten Minahasa bahwa daun Gedi Merah (*Abelmoschus manihot* L. Medik) dapat dimanfaatkan sebagai antidiabetes, antikolesterol dan antihipertensi (Adeline *et al.* 2015).

B. Simplisia

1. Pengertian simplisia

Simplisia adalah bahan alam yang digunakan sebagai obat yang belum mengalami pengolahan apapun juga, kecuali dinyatakan lain berupa bahan yang telah dikeringkan (Depkes 1995).

Simplisia dibagi menjadi tiga macam yaitu simplisia nabati, simplisia hewani, dan simplisia mineral (pelikan). Simplisia nabati adalah simplisia yang dapat berupa tanaman utuh, bagian tanaman, eksudat tanaman atau gabungan dari ketiganya. Simplisia hewani adalah simplisia yang berupa hewan utuh atau zat-zat yang berguna yang dihasilkan oleh hewan dan belum berupa bahan kimia murni (Gunawan & Mulyani 2004). Sedangkan simplisia pelikan atau mineral

adalah simplisia berupa bahan pelikan atau mineral yang belum diolah atau telah diolah, dengan menggunakan cara yang sederhana dan belum berupa zat kimia murni (Siswanto 2004).

Simplisia yang akan digunakan dalam penelitian ini yaitu simplisia nabati dan bagian tanaman yang akan digunakan adalah daun gedi merah.

2. Pengumpulan simplisia

Pada beberapa tanaman semusin, waktu panen yang tepat adalah pada saat pertumbuhan vegetatif tanaman sudah maksimal dan akan memasuki fase generatif atau dengan kata lain pemanenan dilakukan sebelum tanaman berbuga. Pemanenan yang dilakukan terlalu awal mengakibatkan produksi tanaman yang didapat rendah dan kandungan bahan aktifnya juga rendah. Sedangkan jika pemanenan terlambat akan menghasilkan mutu rendah karena jumlah daun berkurang dan batang tanaman sudah berkayu (Balitro 2008).

3. Pengeringan simplisia

Pengeringan simplisia dilakukan dengan menggunakan sinar matahari atau suatu alat pengering. Pengeringan bahan simplisia tidak dianjurkan menggunakan alat dari plastik. Pengeringan pada dasarnya dikenal dua acara, yaitu pengeringan secara ilmiah dan buatan. Pengeringan ilmiah dapat dilakukan dengan panas matahari langsung dan dengan diangin-anginkan tanpa dipanaskan dengan sinar matahari langsung. Pengeringan buatan dapat dilakukan dengan menggunakan suatu alat atau mesin pengering yang suhu, kelembaban, tekanan dan aliran udaranya dapat diukur (Depkes 1985).

Proses pengeringan simplisia bertujuan untuk mengeringkan kadar air, sehingga bahan tersebut tidak mudah ditumbuhi kapang dan bakteri, menghilangkan aktivitas enzim yang dapat menguraikan lebih lanjut (Gumawan & Mulyani 2004).

Ciri-ciri waktu pengeringan bila sudah berakhir yaitu daun ataupun temu-temuan sudah dapat dipatahkan dengan mudah. Pada umumnya bahan simplisia yang sudah kering memiliki kadar air \pm 8-10%. Dengan jumlah kadar air tersebut kerusakan bahan dapat ditekan, baik dalam pengolahan maupun waktu penyimpanan (Balitro, 2008). Selama proses pengeringan, di dalam bahan dapat

terjadi perubahan-perubahan hidrolisa enzimatis, pencokelatan, fermentasi, dan oksidasi (Siswanto 2004).

C. Pelarut

Cairan penyari (pelarut) memiliki sifat kepolaran yang berbeda sehingga dalam memilih pelarut disesuaikan dengan sifat senyawa yang diinginkan (Ansel 1989). Pelarut yang digunakan dalam melarutkan zat-zat aktif harus memenuhi beberapa kriteria. Pelarut yang digunakan harus murah, mudah diperoleh (Ansel 1989), bersifat netral, selektif (dapat menarik zat berkhasiat yang diinginkan) dan tidak mempunyai zat berkhasiat (Depkes 1986). Pelarut yang biasa digunakan untuk proses ekstraksi pendahuluan adalah etanol (Harbone 1987).

Etanol merupakan pelarut yang sangat efektif untuk menghasilkan bahan aktif dalam jumlah yang optimal, tidak menyebabkan pembengkakan membran, memperbaiki stabilitas bahan obat terlarut, selektif, pada konsentrasi di atas 20% dapat mencegah tumbuhnya kapang, tidak beracun dan absorpsinya baik (Depkes 1986; Voigt 1994). Pelarut etanol dapat melarutkan alkaloid basa, minyak menguap, glikosida, antrakuinon, flavonoid, steroid, dan saponin (Depkes 1987). Namun dilihat dari kerugiannya, etanol memiliki harga jual yang mahal (Depkes 1986). Etanol yang digunakan dalam penelitian ini adalah etanol 96% karena lazim digunakan untuk ekstraksi sampel segar.

D. Penyarian

1. Pengertian penyarian

Penyarian merupakan proses pemisahan zat aktif yang berkhasiat obat dari komponen tidak aktif atau *inert* di dalam jaringan tanaman atau hewan menggunakan pelarut yang selektif, sesuai dengan standar prosedur ekstraksi (Handa *et al.* 2008).

Penyarian dipengaruhi oleh derajat kehalusan serbuk dan perbedaan konsentrasi yang terdapat mulai dari pusat butir serbuk simplisia sampai ke permukaannya maupun pada perbedaan konsentrasi yang terdapat lapisan batas, sehingga suatu titik akan dicapai oleh zat-zat yang tersari jika ada daya dorong

yang cukup untuk melanjutkan pemindahan massa. Makin besar perbedaan konsentrasi, makin besar daya dorong tersebut sehingga makin mempercepat penyarian. Makin kasar serbuk simplisia makin panjang jarak sehingga konsentrasi zat aktif yang terlarut dan tertinggal dalam sel semakin banyak. Serbuk simplisia harus dibuat sehalus mungkin dan dijaga jangan terlalu banyak sel yang pecah. Cairan penyari harus dapat mencapai seluruh serbuk dan secara terus menerus mendesak larutan yang memiliki konsentrasi yang lebih tinggi keluar (Depkes 1986). Pembuatan sediaan ekstrak dimaksudkan agar zat berkhasiat yang terdapat dalam simplisia mempunyai kadar yang tinggi dan hal ini memudahkan pengaturan dosis zat berkhasiat (Anief 1998).

2. Pengertian ekstrak

Ekstrak adalah sediaan kering, kental atau cair, yang dibuat dengan menyari simplisia nabati atau hewani menurut cara yang cocok, di luar pengaruh cahaya matahari langsung (Kemenkes 2009).

Tujuan pembuatan ekstrak tanaman obat adalah untuk menstandarisasi kandungan aktifnya sehingga dapat menjamin keseragaman mutu, keamanan, dan khasiat produk akhir. Keuntungan penggunaan ekstrak dibandingkan dengan simplisia asalnya adalah penggunaannya yang lebih sederhana dan dari segi bobot, pemakaiannya lebih sedikit dibandingkan dengan bobot tumbuhan asalnya (BPOM RI 2005).

3. Metode penyarian

Metode penyarian dengan menggunakan pelarut penyari yang cocok. Dasar dari metode penyarian adalah adanya perbedaan kelarutan (Gunawan & Mulyani 2004). Cara penyarian dapat dibedakan menjadi infusa, maserasi, perkolasi dan penyarian berkesinambungan.

Metode penyarian yang digunakan dalam penelitian ini adalah maserasi. Istilah maceration berasal dari Bahasa latin *macerare*, yang artinya merendam. Maserasi merupakan proses paling tepat dimana serbuk yang sudah halus memungkinkan untuk direndam dalam wadah sampai meresap dan melunakkan susunan selnya, sehingga zat-zat yang mudah larut akan melarut (Ansel 1989). Maserasi adalah cara ekstraksi yang paling sederhana (Voigt 1994). Maserasi

serbuk simplisia dengan cara menempatkannya dalam wadah tertutup dan direndam dengan pelarut, lalu dibiarkan berada pada suhu kamar selama 5 hari sambil sering diaduk hingga larut. Setelah beberapa waktu yang ditentukan, maserat disaring (Handa *et al.* 2008). Kelemahan dari proses maserasi adalah tidak dapat menghasilkan penyarian yang optimal untuk senyawa-senyawa yang kurang larut dalam suhu kamar. Namun karena dilakukan pada suhu kamar, maka hal tersebut menjadi salah satu kelebihan dari maserasi, yakni tidak menyebabkan terjadinya degradasi dari metabolit yang tidak tahan panas (Depkes 2000).

E. Diabetes Melitus

1. Definisi DM

DM merupakan suatu penyakit metabolik yang ditandai dengan kondisi hiperglikemi. Kondisi tersebut memberikan sinyal atau penanda bahwa terjadi gangguan pada sistem hormonal yang berhubungan dengan metabolisme glukosa dalam hal menurunkan kadar glukosa darah untuk mencapai homeostatis, yaitu insulin. Oleh karena insulin tidak hanya bekerja pada pengaturan metabolisme glukosa melainkan juga pada metabolisme karbohidrat, lemak dan protein, maka jika terjadi gangguan pada insulin, ketiga proses metabolisme itu pun ikut terganggu dan cenderung menyebabkan komplikasi penyakit, baik mikrovaskuler maupun makrovaskuler. Gangguan ini dapat terjadi akibat defisiensi sekresi insulin, baik absolut maupun relatif oleh sel beta Langerhans dan/atau resistensi insulin yaitu penurunan sensitivitas jaringan-jaringan tubuh terhadap insulin (Nugroho *et al.* 2014).

2. Klasifikasi DM

Berdasarkan *American Diabetes Association* (2015), DM diklasifikasikan menjadi 4 golongan yaitu: DM tipe 1, DM tipe 2, DM gestasional dan DM tipe lain.

2.1. Diabetes melitus tipe 1 (Tergantung insulin). DM tipe ini merupakan bentuk diabetes tipe parah yang berhubungan dengan terjadinya ketoasidosis apabila tidak diobati dan biasa disebut DM tipe 1 (tergantung

insulin). Diabetes tipe 1 ada pada pasien yang memiliki sedikit atau tidak normalnya fungsi produksi insulin sehingga pasien membutuhkan penambahan insulin dari luar tubuh (Sweetman 2005). Diabetes tipe 1 tersebut sangat lazim terjadi pada anak remaja tetapi kadang-kadang juga terjadi pada orang dewasa, khususnya yang non obesitas dan yang berusia lanjut. Penyebab timbulnya diabetes tipe 1 ini antara lain karena adanya infeksi atau toksik lingkungan yang menyerang orang pada sistem imunnya yang secara genetik merupakan faktor utama terjadinya respon autoimun kuat yang menyerang β pankreas (Katzung 2002).

2.2. Diabetes melitus tipe 2 (tidak tergantung insulin). Bentuk yang lebih sering dijumpai, meliputi sekitar 90% pasien yang menyandang diabetes merupakan diabetes tipe 2. Pasien diabetes ini umumnya menderita obesitas dan pada usia lanjut dengan gejala ringan sehingga diagnosis bisa saja baru dilakukan pada stadium penyakit yang sudah lanjut, sering kali setelah ditemukan komplikasi seperti retinopati atau penyakit kardiovaskuler. Insensitivitas terhadap insulin (resistensi insulin) dan tidak kuatnya respon sel β pankreas terhadap glukosa plasma yang khas, menyebabkan produksi glukosa hati berlebihan dan penggunaannya yang terlalu rendah oleh jaringan. Ketoasidosis tidak sering terjadi karena pasien memiliki jumlah insulin yang cukup untuk mencegah lipolisis. Walaupun pada awalnya bisa dikendalikan dengan diet dan obat hipoglikemik oral, banyak pasien yang akhirnya memerlukan insulin tambahan, sehingga menjadi penyandang DM tipe 2 yang membutuhkan insulin (Rubenstein 2007).

2.3. Diabetes tipe gestasional. Diabetes gestasional ini biasanya diapakai terhadap pasien yang menderita hiperglikemia selama kehamilan. Diabetes yang derita sebelum hamil disebut *pregestasional diabetes*. Wanita yang mengalami diabetes tipe 1 pada saat hamil dan wanita yang asimtomatik diabetes tipe 2 yang tidak terdiagnosis dikelompokkan menjadi gestasional diabetes. Namun, kebanyakan wanita penderita gestasional diabetes hemeostatis yang normal sampai paruh pertama (sampai bulan ke-5) masa kehamilan (Rimbawan & Siagian 2004). Diabetes ini dikarenakan pada sebagian wanita

hamil memiliki kadar gula darah yang tinggi, tetapi kondisi diabetes ini bersifat sementara karena dapat hilang setelah melahirkan (Soegondo 2007).

2.4. Diabetes melitus tipe lain (sekunder). Pada DM ini jenis hiperglikemia berkaitan dengan penyebab lain yang jelas, meliputi penyakit-penyakit pankreas, pankreatektomi, *sindroma cushing*, *arcomegali* dan sejumlah kelainan genetic tak lazim (Woodley & Whelan 1995).

3. Patofisiologi DM

Glukosa adalah senyawa sumber energi yang sangat dibutuhkan oleh sel atau jaringan tubuh agar dapat menjalankan fungsi fisiologisnya secara optimal. Insulin merupakan molekul pembawa yang berfungsi untuk memfasilitasi atau mentranspor glukosa ke dalam jaringan adiposa dan otot hal ini terjadi karena adanya lapisan membran sel yang menghalangi transpor glukosa ke jaringan tersebut.

Insulin disekresikan oleh sel beta Langerhans dan bertindak sebagai hormon yang menurunkan kadar glukosa darah melalui mekanisme glikogenesis, lipogenesis dan transpor glukosa ke dalam sel atau jaringan, sedangkan kerja glukagon berbanding terbalik dengan insulin yaitu meningkatkan kadar glukosa darah dengan mekanisme glikogenolisis, glukoneogenesis dan lipolisis. Glukagon disekresikan oleh sel α Langerhans ketika kadar glukosa darah dalam tubuh menurun, misalnya pada saat puasa. Tidak hanya glukagon, tetapi hormon-hormon lain seperti epinefrin, glukokortikoid dan hormon pertumbuhan ikut teraktivasi saat terjadi hipoglikemia dan memberikan efek anti-insulin. Dengan demikian, keseimbangan fisiologis antara hormon-hormon tersebut menentukan keseimbangan metabolisme glukosa (Price & Lorraine 2006).

Jika terjadi gangguan fisiologis pada sel β Langerhans dalam mensekresi insulin ataupun pada insulinnya sendiri, maka akan menyebabkan suatu ketidakseimbangan hormonal yang mengarah pada terjadinya hiperglikemi. Hiperglikemi menggambarkan keadaan di mana dalam darah banyak mengandung glukosa sehingga ketika glukosa disalurkan oleh darah ke ginjal untuk difiltrasi dan direabsorpsi, tidak semuanya dapat tereabsorpsi karena kadar glukosa yang begitu tinggi. Akibatnya, sebagian glukosa akan disekresikan

bersama dengan mineral-mineral lainnya melalui urin. Urin akhirnya mengandung gula atau biasa disebut dengan kencing manis, yang merupakan nama lain atau penanda adanya kondisi DM (Patel *et al.* 2012).

4. Komplikasi pada DM

Komplikasi DM secara bermakna mengakibatkan peningkatan morbiditas dan mortalitas, demikian juga dihubungkan dengan kerusakan ataupun kegagalan fungsi beberapa organ vital tubuh seperti pada mata, maupun ginjal serta sistem saraf. Penderita DM juga beresiko tinggi mengalami percepatan timbulnya arterosklerosis, yang selanjutnya akan menderita penyakit jantung koroner, penyakit vaskuler perifer dan stroke, serta kemungkinan besar menderita hipertensi ataupun dislipidemia maupun obesitas. Banyak faktor resiko yang berperan dalam mekanisme terjadinya komplikasi kardiovaskuler ini, diantaranya hiperglikemia, hipertensi, dislipidemia dan hiperinsulinemi. Hiperglikemia merupakan salah satu faktor terpenting dalam patogenesis komplikasi kronik, khususnya vaskuler diabetik. Hiperglikemia memperantari efek merugikan melalui banyak mekanisme, karena glukosa dan metabolitnya banyak digunakan dalam sejumlah jalur metabolisme (Hardiman 2006).

Berdasarkan WHO (2006), komplikasi DM meliputi kerusakan makrovaskuler dan mikrovaskuler. Yang termasuk kerusakan makrovaskuler antara lain, stroke, penyakit jantung iskemik dan vaskular perifer. Sedangkan kerusakan mikrovaskuler meliputi, neuropati diabetika yang menggambarkan adanya gangguan/kerusakan sistem saraf otonom dan perifer pada penderita DM, retinopati diabetika yang menggambarkan adanya kerusakan mata yang terjadi saat menderita diabetes seperti glaukoma, katarak dan bahkan kebutaan dan nefropati diabetika yang menggambarkan adanya gangguan bahkan kegagalan fungsi ginjal sebagai organ pelepasan pada pasien DM sehingga banyak dari pasien tersebut menderita penyakit ginjal stadium akhir.

5. Gejala DM

Umumnya gejala-gejala diabetes melitus, yaitu meliputi banyak kencing (*poliuria*), banyak minum (*polidipsia*), dan banyak makan (*polifagia*) (Lanywati 2001). Gejala yang mungkin dikeluhkan oleh penderita diabetes

melitus antara lain penurunan berat badan yang tidak dapat dijelaskan sebabnya, lemah, kesemutan, gatal, mata kabur, disfungsi ereksi pada pria, serta *pruritic vulvae* pada penderita wanita (Depkes RI 2005).

Poliuria merupakan gejala umum pada penderita diabetes melitus. Banyaknya kencing ini disebabkan kadar glukosa dalam darah tinggi, sehingga merangsang tubuh untuk berusaha mengeluarkannya melalui ginjal bersama air kencing (Lanywati 2001).

Polidipsia sebenarnya merupakan akibat dari kencing yang terlalu banyak sehingga tubuh kekurangan air untuk menghindari tubuh kekurangan cairan (dehidrasi), maka secara otomatis akan timbul rasa haus atau kering yang menyebabkan timbulnya keinginan untuk terus minum selama kadar gula dalam darah belum terkontrol baik (Lanywati 2001).

Polifagia terjadi karena adanya rangsangan ke susunan saraf pusat karena kadar glukosa di dalam sel (intraseluler) berkurang. Kekurangan glukosa ini terjadi akibat tubuh kekurangan insulin sehingga glukosa tidak bisa masuk ke dalam sel. Akibatnya kekurangan glukosa intraseluler maka timbullah rangsangan ke susunan saraf pusat sehingga penderita merasa lapar dan ingin makan terus (Lanywati 2001).

6. Diagnosis DM

Diagnosis DM dapat dilakukan dengan 2 cara yaitu tes kadar glukosa plasma puasa dan uji toleransi glukosa oral. Tes kadar glukosa plasma puasa: penderita dikatakan DM bila kadar glukosa plasmanya lebih dari 40 mg/dL yang ditunjukkan pada sedikitnya 2 kali pemeriksaan. Uji toleransi glukosa oral: hasil yang normal menunjukkan kadar glukosa plasma pada keadaan puasa kurang dari 115 mg/dL. Kadar glukosa plasma 2 jam melebihi 200 mg/dL (Woodley & Wheland 1995).

F. Terapi Diabetes Melitus

Tujuan pengobatan DM adalah menekan gejala-gejala, mengurangi risiko komplikasi yaitu mikrovaskuler dan makrovaskuler, mengurangi angka mortalitas dan meningkatkan kualitas hidup pasien. Target kadar glukosa darah

yang ingin dicapai berdasarkan *American Diabetes Association* untuk *pre-prandial* adalah 3,9-7,2 mmol/L, *post-prandial* adalah <10 mmol/L dan HbA1c sebesar <7% (Dipiro *et al.* 2015).

1. Terapi non farmakologi DM

1.1. Diet. Diet bukan berarti mengurangi jumlah makan dalam 1 hari melainkan menjaga pola makan dengan gizi seimbang antara karbohidrat (60-70%), lemak (20-25%) dan protein (10-15%). Vitamin dan mineral juga dibutuhkan oleh pasien DM dan paling banyak terkandung dalam makanan berserat. Selain memiliki kandungan zat tersebut, makanan berserat ternyata dapat membantu dalam menghambat penyerapan lemak dan mengatasi gejala polifagia tanpa kalori berlebih pada pasien DM. Karena peningkatan berat badan atau obesitas menjadi salah satu penyebab terjadinya DM akibat resistensi maupun defisiensi insulin, maka diperlukan suatu usaha untuk mencapai dan mempertahankan berat badan ideal melalui diet ini. Saat melakukan diet, perlu diperhatikan pemilihan jenis makanan dan penyesuaian jumlah kalori terhadap aktivitas fisik, pertumbuhan, status gizi, tingkat stres dan umur guna mengurangi berat badan hingga mencapai ideal. Jika penurunan berat badan berhasil dilakukan maka akan mengurangi kejadian resistensi dan defisiensi insulin, kadar HbA1C dan meningkatkan kualitas hidup (Depkes 2005).

1.2. Olah raga. Olah raga sangat membantu dalam menurunkan dan menjaga kadar glukosa darah tetap normal pada pasien DM karena dapat meningkatkan jumlah dan sensitivitas reseptor insulin dalam tubuh serta memicu penggunaan glukosa, jika dilakukan secara teratur dan umumnya bersifat olah raga ringan (Depkes 2005).

1.3. Berhenti merokok. Bahan rokok umumnya mengandung nikotin yang dapat menghambat penyerapan glukosa ke sel atau jaringan-jaringan dalam tubuh sehingga memicu peningkatan kadar glukosa darah. Oleh karena itu, pasien DM dengan kebiasaan merokok harus dapat mengurangi bahkan berhenti merokok (Tjay & Raharja 2007).

2. Terapi farmakologi

2.1. Golongan sulfonilurea. Sulfonilurea bekerja dengan cara menstimulasi pelepasan insulin yang tersimpan, menurunkan ambang sekresi insulin dan meningkatkan sekresi insulin sebagai akibat rangsangan glukosa. Contoh obat-obat ini adalah klorpropamid, glipisid, gliklasid, glikuidon, glimepirid. Pada penggunaan jangka panjang, sulfonilurea berguna untuk menekan glukoneogenesis oleh hati, meningkatkan penggunaan glukosa di jaringan perifer dan membantu dalam memperbanyak jumlah reseptor insulin di perifer dan/atau meningkatkan sensitivitas insulin. Glibenklamid mempunyai durasi yang panjang dapat diberikan sekali sehari (Neal 2006).

Akan tetapi diketahui bahwa, penggunaan obat tersebut dapat menyebabkan hipoglikemi dan peningkatan berat badan, sehingga tidak cocok untuk pasien yang obesitas. Selain itu, karena sifat kerjanya merangsang sel beta Langerhans menyebabkan lama-kelamaan terjadi penurunan fungsi fisiologis dari sel tersebut akibat faktor kelelahan, yang dengan demikian berbanding lurus dengan penurunan kontrol glukosa pada periode waktu tertentu (Widyati 2014).

2.2. Golongan inhibitor α -glukosidase. Acarbose merupakan penghambat kompetitif *alfa glukosidase* usus dan memodulasi pencernaan pasca prandial dan absorpsi zat tepung dan disakarida. Akibat klinis pada hambatan enzim adalah meminimalkan pencernaan pada usus bagian atas dan menunda absorpsi zat tepung dan disakarida yang masuk pada usus kecil bagian distal, sehingga menurunkan glikemik setelah makan dan menciptakan suatu efek hemat insulin (Katzung 2002). Data farmakokinetik akarbose adalah onset efek pertama kali muncul 0,5 jam, waktu paruh ($t_{1/2}$) 1-2 jam, durasi 4 jam (Dipiro *et al.* 2005).

2.3. Golongan biguanida. Obat jenis golongan ini bekerja dengan cara meningkatkan sensitivitas tubuh terhadap insulin yang diproduksi oleh tubuh, tidak merangsang peningkatan produksi insulin sehingga pemakaian tunggal tidak berakibat hipoglikemia. Contoh obat golongan biguanida antara lain metformin (Tjay & Rahardja 2002). Hal senada juga dikatakan oleh Widyati (2014) bahwa biguanida tidak bekerja meningkatkan aktivitas sel beta

Langerhans yang merupakan tempat produksi insulin, melainkan bekerja dengan cara menurunkan produksi glukosa melalui proses glukoneogenesis di hati dan meningkatkan penggunaan glukosa di jaringan perifer melalui perbaikan sensitivitas insulin.

2.4. Golongan meglitinida. Obat ini dapat dikombinasikan dengan metformin digunakan dalam pengobatan DM tipe 2 sebagai tambahan terhadap diet dan olahraga untuk penderita yang hiperglikemianya tidak dapat dikontrol secara memuaskan dengan cara-cara tersebut (Tjay & Rahardja 2002). Meglitinida dapat menurunkan kadar glukosa puasa serta menurunkan kadar HbA1c menjadi 1,7-1,9% dibandingkan plasebo. Namun berbeda dengan sulfonilurea, pada meglitinida dikenal aksi *quick on-quick off* yang berarti memiliki onset dan waktu paruh eliminasi yang cepat, sehingga kontrol terhadap kadar glukosa *post-prandial* dapat ditingkatkan dan efek samping hipoglikemi lebih rendah (Widyati 2014).

Salah satu contoh obat golongan meglitinida adalah repaglinid. Repaglinid sangat cocok diberikan pada pasien yang pola makannya tidak teratur dengan cara pemberian diminum segera sebelum makan dan pada dosis 0,5-4 mg, 3-4 kali sehari. Selain itu, repaglinid juga cocok diberikan pada pasien dengan gangguan ginjal dan pasien dengan alergi sulfonilurea (Katzung *et al.* 2015).

2.5. Golongan thiazolidindion. Thiazolidindion adalah suatu golongan obat antidiabetes oral yang dapat meningkatkan kepekaan insulin terhadap jaringan sasaran. Senyawa aktif dalam golongan obat ini adalah rosiglitazone dan pioglitazone. Cara kerja utama dari senyawa ini adalah mengurangi resistensi insulin dengan meningkatkan pengambilan glukosa dan metabolisme dalam otot dan jaringan lemak. Obat ini tidak dianjurkan pada pasien dengan penyakit hati akut. Efek samping yang tidak diinginkan dari golongan obat ini antara lain edema, dan pada penggunaan dalam kombinasi dengan insulin atau sulfonilurea dapat terjadi hiperglikemia (Katzung *et al.* 2002).

2.6. Golongan agonis *glukagon-like peptide 1 (GLP-1)*. GLP-1 termasuk salah satu hormon *incretin* yang disekresikan sebagai bentuk respon terhadap makanan dan adanya reduksi glukagon yang tidak sesuai. Aktivitas hormon tersebut memicu pelepasan insulin. Exenatida dan liraglutida merupakan obat golongan GLP-1 yang dapat digunakan untuk menurunkan kadar glukosa darah dengan cara menstimulasi sel β Langerhans dalam mensekresikan insulin dan mengurangi produksi glukosa oleh hati. Selain itu, obat-obat golongan GLP-1 juga dapat memperlambat waktu pengosongan lambung sehingga jika obat tersebut dikonsumsi, pasien jarang merasakan lapar. Sedangkan untuk kadar glukosa puasa, golongan GLP-1 tidak dapat menurunkannya secara signifikan atau berefek kecil. Efek samping yang ditimbulkan ketika menggunakan golongan obat ini adalah gangguan gastrointestinal seperti mual, muntah dan diare (Dipiro *et al.* 2015).

2.7. Golongan inhibitor *dipeptidyl peptidase-4 (DPP-4)*. Mekanisme kerja dari inhibitor DPP-4 adalah menghambat kerja DPP-4 dalam menguraikan hormon *incretin*. Hormon *incretin* adalah hormon yang memicu sekresi insulin, sehingga jika diinaktivasi menyebabkan sekresi insulin menurun dan berakibat pada peningkatan kadar glukosa darah. Inhibitor DPP-4 bekerja dengan cara menstimulasi insulin dan menghambat sekresi glukagon, namun DPP-4 tidak dapat menghambat pengosongan lambung. Inhibitor DPP-4 dapat digunakan sebagai terapi tunggal atau dikombinasikan dengan metformin atau pioglitazone. Contoh obat golongan inhibitor DPP-4 adalah sitagliptin, saxagliptin dan vildagliptin. Efek samping yang ditimbulkan pada penggunaan obat ini adalah nasofaringis, nyeri kepala dan dilaporkan dapat menyebabkan sindrom Stevens-Johnson (Linn *et al.* 2009; Harvey & Pamela 2013; Dipiro *et al.* 2015).

2.8. Golongan inhibitor *sodium-glucose-Co-transporter 2 (SGLT2)*. *Sodium-glucose-Co-transporter 2 (SGLT2)* merupakan suatu molekul pembawa yang bekerja menyerap atau mengambil glukosa di tubulus proksimal. Diketahui bahwa saat glukosa dialirkan oleh darah menuju ginjal dan mengalami proses filtrasi di glomerulus, glukosa kemudian mengalami proses reabsorpsi di tubulus proksimal. Banyaknya persentase glukosa yang direabsorpsi (sampai 90%)

bergantung pada kerja SGLT2. Jika jumlah glukosa yang diserap SGLT2 semakin banyak, maka akan meningkatkan derajat keparahan DM. Untuk itu dibutuhkan obat untuk menghambat kerja SGLT2, di antaranya canagliflozin, dapagliflozin dan empagliflozin. Kerja dari obat-obat tersebut menyebabkan peningkatan pengeluaran glukosa lewat urin sehingga urin banyak mengandung glukosa atau disebut glikosuria. Dengan demikian, kadar glukosa darah pada pasien DM dapat diturunkan (Puspitasari 2016)

Akan tetapi, penggunaan obat-obat inhibitor SGLT2 dikontraindikasikan pada pasien yang mengalami gangguan fungsi ginjal. Canagliflozin dan empagliflozin dikontraindikasikan pada pasien dengan nilai GFR <45 mL/menit/1,73m², sedangkan dapagliflozin dikontraindikasikan pada pasien dengan nilai GFR <60 mL/menit/1,73 m². Efek samping yang ditimbulkan ketika menggunakan obat-obat ini adalah meningkatnya kejadian infeksi pada saluran kemih dan genital, kadar LDL meningkat 4-8% dan memicu terbentuknya kanker (Katzung *et al.* 2015).

2.9. Golongan sekuestran asam empedu. Colesevelam merupakan obat golongan sekuestran atau agen hipolipidemia yang bekerja menstimulasi sintesis asam empedu dari kolesterol di hati kemudian mengikat asam empedu dan kolesterol di lumen usus sehingga reabsorpsi keduanya terhambat. Dengan demikian, kadar kolesterol total dan LDL menurun (Kolesar & Lee 2015). Selain sebagai agen hipolipidemia, colesevelam dapat juga menurunkan kadar glukosa darah dan HbA1c serta kolesterol total pada pasien DM tipe 2. Dosis yang diberikan untuk mengobati DM tersebut sebanyak 6 tablet/hari dengan dosis satuan 625 mg/tablet (3,75g/hari) atau diberikan 3 tablet untuk pemakaian 2 kali sehari dan diminum bersama makanan. Efek samping yang ditimbulkan ketika menggunakan obat ini berupa sembelit dan dispepsia (Dipiro *et al.* 2015).

2.10. Golongan amilinomimetik. Amilinomimetik atau *islet amyloid polypeptide* (IAPP) merupakan rangkaian peptida yang tersusun dari 37 asam amino dan disekresikan bersama-sama dengan insulin oleh sel beta Langerhans. Fungsi IAPP adalah memberikan umpan balik negatif pada sekresi insulin. Secara farmakologis, IAPP berperan dalam menurunkan kadar glukosa *post-*

prandial dengan cara mengurangi sekresi glukagon selama makan dan memperlambat waktu pengosongan makanan di lambung.

Pada saat kondisi DM, kadar IAPP dalam plasma berkurang sehingga dibutuhkan pasokan amilin dari luar agar dapat membantu mengontrol kadar glukosa darah. Pramlintida merupakan analog dari IAPP yang digunakan untuk mencukupi kebutuhan amilin dalam tubuh pada waktu terjadi DM, baik tipe 1 maupun tipe 2. Dosis terapi yang digunakan menggunakan metode titrasi, yaitu dimulai dari dosis terkecil dan perlahan-lahan ditingkatkan. Untuk DM tipe 1, dosis pramlintida yang digunakan berkisar 15-60 mcg. Sedangkan untuk DM tipe 2 menggunakan dosis awal 60 mcg (setara dengan 10 unit suntikan jarum insulin) dan ditingkatkan dosisnya sebesar 120 mcg (setara dengan 20 unit) setelah 3 hari pemakaian dosis awal. Cara pemberiannya melalui subkutan dan diberikan sebelum makan. Adapun efek samping yang ditimbulkan karena penggunaan obat ini adalah hipoglikemi dan gangguan gastrointestinal (Widyati 2014; Katzung *et al.* 2015).

G. Metode Uji Antihiperglikemia

1. Uji diabetes

Pengujian ini dilakukan dengan cara merusak organ pankreas yang di dalamnya terdapat jaringan pulau Langerhans yang di dalamnya mengandung sel-sel yang bersifat endoktrin atau sel yang mensekresikan hormon yang pemetabolisme. Sel utama yang menjadi target pengujian antidiabetes untuk dirusak adalah sel beta-Langerhans, yaitu sel yang mensekresikan hormon insulin agar dapat menurunkan kadar glukosa darah.

1.1. Induksi agen diabetogenik. Untuk memberikan suatu keadaan DM baik secara permanen atau parsial pada hewan percobaan, salah satu cara yang dapat dilakukan adalah dengan induksi baik melalui pankreatomi, virus ataupun dalam hal ini menggunakan diabetogenik. Diabetogenik adalah senyawa-senyawa kimia berupa streptozotocin, aloksan, asam dehidroaskorbat, asam dialurat dan asam ksanturenat. Kemampuan agen diabetogenik tersebut untuk membentuk kondisi DM tipe 1 maupun DM tipe 2 tergantung pada

besarnya dosis yang diberikan ke hewan uji, baik secara intra vena maupun intra peritoneal (Nugroho 2006). Pada penelitian ini menggunakan STZ.

Diketahui bahwa untuk membuat model hewan uji DM tipe 1, dosis STZ yang diberikan adalah dosis tinggi, di mana untuk mencit berkisar 100-200 mg/kg BB sedangkan untuk tikus berkisar 35-65 mg/kg BB (King 2012). Jika ingin membuat model hewan uji DM tipe 2, maka diinduksikan terlebih dahulu senyawa NA yang berfungsi mengurangi ketoksikan dari STZ dan memberikan efek perlindungan terhadap sel beta Langerhans sehingga tidak mengalami kerusakan yang absolut, dan kemudian STZ diinduksikan. Berdasarkan penelitian oleh Tahara *et al.* (2008), dosis NA sebesar 100 mg/kg BB dan STZ sebesar 50 mg/kg BB, sudah mampu menyebabkan kejadian DM tipe 2 pada hewan uji tikus.

1.2. Uji resistensi insulin. Resistensi insulin merupakan suatu keadaan di mana jaringan target tidak memberikan respon terhadap aktivitas insulin sehingga memicu terjadinya DM tipe 2 (Savage *et al.* 2005). Resistensi insulin ini dapat diinduksi dengan membuat model hewan uji yang didesain mengalami obesitas melalui jalur diet makanan. Hewan uji diinduksi obesitas dengan pemberian pakan kaya lemak dan karbohidrat serta asupan glukosa tinggi dilakukan hingga terjadi peningkatan kadar glukosa darah, yang dapat terjadi dalam waktu 4 minggu setelah pemberian pakan tersebut. Untuk memastikan apakah hewan uji berhasil mengalami resistensi insulin, dilakukan tes toleransi insulin dengan cara hewan uji, misalnya mencit dipuasakan selama 5 jam kemudian dilakukan injeksi insulin secara intra peritoneal dengan dosis 0,75 U/kg BB. Selanjutnya, dilakukan pengukuran kadar glukosa pada waktu ke-0, 15, 30, 60, 90 dan 120 menit setelah injeksi dengan menggunakan glukometer (Lian *et al.* 2007).

1.3. Uji toleransi glukosa. Prinsip pengujian ini adalah hewan uji dipuasakan kurang lebih 20-24 jam dan diberi larutan glukosa secara oral setengah jam setelah pemberian sediaan obat yang diuji. Sebelum pemberian obat dilakukan pengambilan cuplikan darah dimasukkan tabung dan di

sentrifuge. Serum yang diperoleh diberi pereaksi dan diukur serapannya untuk menentukan kadar glukosa darah (Anonim 1993).

Jika kadar glukosa darah yang terukur pada waktu-waktu tertentu dan dinyatakan dalam kurva glukosa darah terus meningkat karena hiperglikemi, maka ini berarti hewan uji tersebut mengalami intoleransi glukosa yang merupakan manifestasi dari DM. Sebab diketahui bahwa ketika terjadi DM, toleransi tubuh terhadap glukosa berkurang akibat berkurangnya sekresi insulin (Suharmiati 2003).

2. Metode pengukuran kadar gula darah

2.1. Prosedur penggunaan spektrofotometer UV-Vis. Kadar glukosa darah ditetapkan dengan metode enzimatik menggunakan pereaksi GOD-PAP dengan alat spektrofotometer UV-Vis pada panjang gelombang 500 nm. Kadar glukosa darah serum ditentukan dengan metode GOD-PAP. Prinsip kerja dari metode ini adalah glukosa dioksidasi oleh enzim glukosa oksidase menghasilkan asam glukonat dan H_2O_2 , selanjutnya H_2O_2 direaksikan dengan aminophenase dan phenol dengan bantuan enzim perioksidase menghasilkan quinoneimine. Warna yang dihasilkan dihitung absorbansinya (Farida *et al.* 2011).

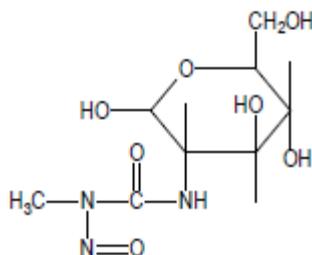
2.2. Prosedur penggunaan glukometer. Alat yang digunakan untuk mengukur kadar glukosa darah adalah *glucometer*. Cara penggunaannya, hidupkan glukometer dan masukkan strip test. Satu sisi dari strip test dimaksudkan untuk pengumpulan darah dan bila strip tersebut dimasukkan dengan benar maka posisinya menghadap bagian luar monitor. Tempatkan ujung strip uji terhadap drop darah sampai strip menarik sejumlah darah yang diperlukan. glukometer akan memberikan tanda/sinyal jika telah memperoleh jumlah darah yang tepat dan pengujian yang telah dimulai dan catat hasil test glukosa (Zorogen 2010).

H. Streptozotocin

Streptozotocin (STZ) merupakan suatu diabetogen yang diperoleh dari *Streptomyces achromogenes* yang dapat digunakan untuk menginduksi DM tipe

1 maupun tipe 2. STZ bersifat toksik dengan cara merusak secara spesifik terhadap β Langerhans (Goodman & Gilman 2008).

STZ memiliki rumus molekul [2-deoksi-2-(3-metil-3-nitrosoamido) 1-D-glukopiranosose]. Adapun struktur kimia STZ dapat dilihat pada Gambar 1.



Gambar 1. Struktur kimia dari STZ (Nugroho 2006).

Gugus glukosa yang dimiliki STZ memberikan sifat yang mirip dengan glukosa pada umumnya sehingga saat berada di sistemik dapat memicu molekul pembawa berupa GLUT2 untuk mengangkut glukosa STZ ke dalam membran sel beta. Sedangkan gugus nitrosoamida berperan penting dalam memberikan efek toksik pada sel beta (Szkudelski 2012).

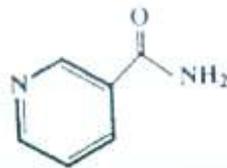
Mekanisme toksisitas STZ tersebut terjadi setelah STZ diinduksikan dan berada dalam sirkulasi sistemik. Disebutkan sebelumnya bahwa gugus glukosa pada STZ akan memberikan aksi intraseluler terutama dalam mengubah untaian DNA sel beta dan gugus nitrosoamida memberikan pengaruh untuk terjadinya alkilasi DNA pada jalur metilasi (Nugroho 2006).

STZ sebagai agen diabetogenik dapat digunakan secara intravena, intraperitoneal, subkutan, intramuskular atau bahkan intracardial. Untuk menghasilkan keadaan DM tipe 2, maka STZ harus dikombinasikan dengan nikotinamid untuk mengurangi toksisitas STZ agar kerusakan sel beta Langerhans bersifat parsial dan dapat dipulihkan meskipun tidak seperti keadaan normalnya. Adapun dosis STZ yang diberikan untuk menginduksi terjadinya DM tergantung dengan waktu perlakuan yang diinginkan. Jika waktu yang ditentukan untuk menghasilkan keadaan DM tipe 2 selama 3 hari, maka dosis yang diberikan adalah 50 mg, intra peritoneal. STZ diberikan setelah dilarutkan

dalam 110 mmol/L *citrat buffer* dengan pH 4,5, yang merupakan pH stabil untuk STZ (Szkudelski 2012).

I. Nikotinamid

Nikotinamid (Na) merupakan salah satu turunan vitamin B₃ (niasin) yang larut air yang mengandung rantai samping berupa gugus amida (Szkudelski 2012). Struktur kimia NA dapat dilihat pada Gambar 2.



Gambar 2. Struktur kimia dari NA (Szkudelski 2012).

NA merupakan senyawa yang dapat mengurangi toksisitas STZ atau melindungi sel beta Langerhans dengan bertindak sebagai inhibitor PARP-1. Adanya mekanisme penghambatan terhadap PARP-1 menyebabkan sintesis NAD⁺ seluler meningkat karena terjadi penurunan penggunaan NAD⁺ sebagai bahan untuk membentuk ADP-ribosa. Adanya peningkatan NAD⁺ diikuti juga dengan peningkatan jumlah ATP dan peningkatan sintesis atau sekresi insulin sehingga dengan demikian, dapat menghambat kejadian apoptosis dan nekrosis sel beta Langerhans (Alenzi 2009).

Cara penggunaannya, NA dilarutkan terlebih dahulu dalam normal saline (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).

J. Glibenklamid

Glibenklamid merupakan Obat Hipoglikemik Oral (OHO) golongan sulfonilurea yang hanya digunakan untuk mengobati individu dengan DM tipe II. Obat golongan ini menstimulasi sel beta pankreas untuk melepaskan insulin yang tersimpan. Mekanisme kerja obat golongan sulfonilurea dengan cara menstimulasi pelepasan insulin yang tersimpan dan meningkatkan sekresi insulin akibat rangsangan glukosa. Efek samping OHO golongan sulfonilurea umumnya ringan dan frekuensinya rendah, antara lain gangguan saluran cerna dan gangguan susunan syaraf pusat. Golongan sulfonilurea cenderung meningkatkan berat badan. Bila pemberian dihentikan, obat akan bersih dari serum sesudah 36 jam (Novrial *et al.* 2012).

K. Pioglitazone

Pioglitazone merupakan obat untuk mengobati DM dari golongan thiazolidindione. Golongan ini merupakan golongan baru yang mempunyai efek meningkatkan sensitivitas insulin, sehingga bisa mengatasi masalah resistensi insulin dan berbagai masalah akibat resistensi insulin tanpa menyebabkan hipoglikemi. Efek farmakologisnya luas dan berupa penurunan kadar glukosa dan insulin dengan jalan meningkatkan kepekaan bagi insulin dari otot, jaringan lemak dan hati sehingga efek penyerapan glukosa ke dalam jaringan lemak dan otot meningkat. Efek farmakologi lainnya yaitu dapat menurunkan kadar trigliserida atau asam lemak bebas dan mengurangi glukoneogenesis dalam hati. (Tjay dan Raharja 2007). Mekanisme kerjanya yaitu mengatur ekspresi gen dengan mengikat PPAR- γ dan PPAR- α . Bekerja dengan cara meningkatkan sensitivitas insulin pada jaringan target, seperti menurunkan glukoneogenesis di hati (Tuyet & Chuyen 2007).

Efek samping yang utama dari thiazolidindione adalah udem, terutama pada pasien hipertensi dan congestive cardiac failure (Depkes 2005).

L. Nefropati Diabetes (ND)

1. Definisi nefropati diabetes

Ginjal merupakan organ yang berperan menyaring dan mengekskresikan hasil metabolit yang sudah tidak diperlukan oleh tubuh. Kadar gula darah yang

tinggi (hiperglikemia) akan menyebabkan terjadinya berbagai komplikasi kronik, baik mikroangiopati maupun makroangiopati. Penyakit akibat komplikasi mikrovaskuler yang dapat terjadi pada pasien diabetes melitus salah satunya adalah nefropati diabetika (Depkes 2005).

Menurut Gross *et al* (2005) Nefropati diabetes (ND) merupakan penyebab utama terjadinya gagal ginjal yang ditandai dengan adanya mikroalbuminuria disertai peningkatan tekanan darah sehingga menyebabkan terjadinya penurunan fungsi ginjal dalam hal filtrasi glomerulus sehingga menyebabkan gagal ginjal tahap akhir.

2. Etiologi

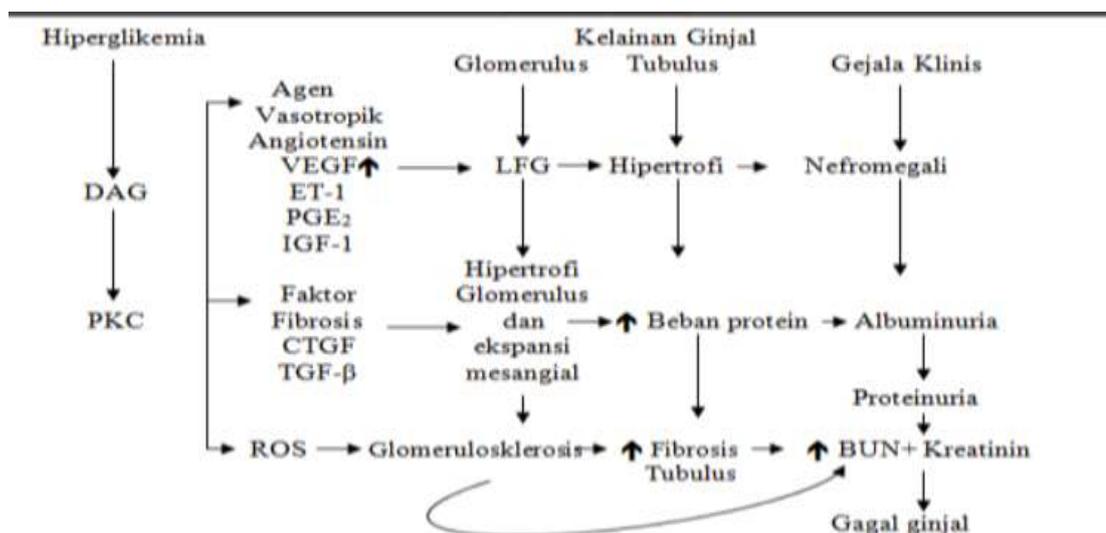
Faktor-faktor etiologis timbulnya nefropati diabetes adalah: pengendalian kadar glukosa darah yang kurang; kelainan hemodinamik (peningkatan aliran darah ginjal dan laju filtrasi glomerulus); hipertensi sistemik; sindrom resistensi insulin (sindrom metabolik); serta asupan protein yang berlebihan (Hendromartono 2009).

3. Patofisiologis nefropati diabetes

Kadar glukosa yang tinggi menyebabkan terjadinya glikolisasi protein membran basalis, sehingga terjadinya penebalan selaput membran basalis, dan terjadi pula penumpukan zat berupa glikoprotein membran basalis pada mesangium sehingga lambat laun kapiler-kapiler glomerulus terdesak dan aliran darah terganggu yang dapat mengakibatkan glomerulosklerosis dan hipertrofi nefron sehingga menimbulkan nefropati diabetes (Hendromartono 2009).

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- α dan NF κ B serta meningkatkan aktivitas fibrotik yaitu CTGF dan TGF- β 13. 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).



Gambar 3. Skema Patogenesis Nefropati Diabetik sampai ESRD⁷

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-β: Transforming Growth Factor-β, ROS: Reactive Oxygen Specie, BUN: Blood Urea Nitrogen

Sumber: Sulistyoningrum 2014.

4. Tingkatan nefropati diabetes

Berikut merupakan tingkatan-tingkatan nefropati diabetes menurut Hendromartono (2009):

4.1. Tingkat I. pada tahap ini laju filtrasi glomerulus (LFG) meningkat melewati batas normal hingga 40% yang disertai dengan pembesaran ukuran ginjal. Pada tingkatan ini, albuminuria belum nyata dan tekanan darah biasanya normal. Kondisi ini masih reversibel dan berlangsung 0-5 tahun sejak awal diagnosa DM tipe 2 ditegakkan. Pengendalian glukosa darah yang ketat dapat menormalkan kembali kelainan fungsi ataupun struktur ginjal.

4.2. Tingkat II. Pada tingkat ini terjadi setelah 5-10 tahun diagnosa DM ditegakkan, perubahan struktur ginjal masih berlanjut, dan LFG masih tetap meningkat. Kerusakan mikroalbuminuria sedikit meningkat dan pada keadaan

ini berlangsung lama. Albumin diekskresikan lebih dari 30 mg dalam urin selama 24 jam dan keadaan ini berkembang menjadi penyakit ginjal terminal.

4.3. Tingkat III. Ini adalah tahap awal terjadinya nefropati atau *insipient diabetic nephropathy* saat mikroalbuminuria telah nyata. Pada tahap ini biasanya terjadi setelah 10-15 tahun terdiagnosa DM. Secara hispatologis, penebalan pada membran basalis glomerulus terlihat jelas dan LFG terus meningkat. Pengendalian terhadap glukosa dan tekanan darah memungkinkan untuk pencegahan.

4.4. Tingkat IV. Pada tahap ini ND bermanifestasi secara klinis dengan proteinuria yang nyata dengan pemeriksaan biasa, tekanan darah meningkat tajam, BUN (blood urea nitrogen) dan kreatinin mulai meningkat sedangkan LFG mengalami penurunan 10% per tahunnya, ini terjadi setelah 15-20 tahun didiagnosa DM. Penyulit DM seperti retinopati, gangguan profil lemak dan gangguan vaskular lainnya dapat dijumpai pada tahap ini. Pengendalian terhadap glukosa darah, lemak darah dan tekanan darah dapat memperlambat terjadinya progresivitas ke arah gagal ginjal.

4.5. Tingkat V. Pada tingkat ini merupakan tahap gagal ginjal, LFG sudah sedemikian rendah atau menurun menjadi 10 ml/menit (< 10 ml/menit) sehingga pasien membutuhkan terapi ginjal seperti hemodialysis, dialysis peritoneum atau transplantasi ginjal.

5. Parameter pemeriksaan fungsi ginjal

Glomerular filtration rate (GFR) atau biasa disebut laju filtrasi glomerulus adalah parameter terbaik dalam menentukan fungsi ginjal dan harus diukur pada pasien diabetes dengan mikro dan makroalbuminuria. Pada pasien DM tipe 1 dengan mikroalbumin yang tidak mendapatkan terapi, GFR menurun sekitar 12 ml/menit per bulannya. Pada kasus DM tipe 2 terjadi penurunan GFR yang bervariasi (Gross *et al.* 2005).

Untuk menilai GFR digunakan rumus Cockcroft-Gault:

$$\text{Untuk pria} : \text{GFR} = \frac{(140 - \text{umur}) \times \text{BB (kg)}}{72 \times \text{kreatinin serum (mg\%)}}$$

Untuk wanita: GFR = nilai pada pria x 0.85

Ureum dan kreatinin adalah produk metabolisme yang tergantung pada filtrasi glomerulus untuk ekskresinya, sehingga keduanya akan terakumulasi di darah jika fungsi ginjal mengalami gangguan. Peningkatan konsentrasi tersebut berbanding lurus dengan penurunan jumlah nefron ginjal. Nilai GFR tergantung pada jenis kelamin, berat badan, diet, aktivitas fisik dan keadaan fisiologis tertentu seperti kehamilan. Nilai normal GFR pada wanita adalah 120 ml/menit per $1,73 \text{ m}^2$ dan pada pria memiliki nilai GFR normal yaitu 130 ml/menit per $1,73 \text{ m}^2$. Nilai GFR bervariasi sesuai dengan ukuran tubuh, sehingga perlu disesuaikan dengan area permukaan tubuh yaitu $1,73 \text{ m}^2$ (Lydia 2014).

5.1. Albuminuria. Mikroalbuminuria didefinisikan sebagai ekskresi albumin lebih dari 30 mg per hari dan dianggap sebagai prediktor penting untuk timbulnya nefropati diabetik (Hendromartono 2009). Pada keadaan normal, albumin urin tidak lebih dari 30 mg/hari. Bila albumin dalam urin antara 30-300 mg/hari dan tidak terdeteksi dengan dipstick urin dapat dipastikan mikroalbuminuria.

Menurut Immanuel (2006), ada beberapa cara pemeriksaan microalbuminuria yaitu:

- a. Pengukuran albumin urin 24 jam: mikroalbuminuria antara 30-300 mg/hari.
- b. Pemeriksaan albumin pada urin sewaktu: mikroalbuminuria 20-200 $\mu\text{g}/\text{menit}$.
- c. Pengukuran rasio albumin-kreatinin urin pada pengumpulan urin sewaktu yaitu antara 30-300 mg/g kreatinin

5.2. Blood urea nitrogen (BUN). Urea merupakan produk nitrogen terbesar yang dibentuk di dalam hati dan dikeluarkan melalui ginjal. Urea berasal dari diet dan protein endogen yang telah difiltrasi oleh glomerulus dan direabsorpsi sebagian oleh tubulus. Konsentrasi ureum umumnya dinyatakan sebagai kandungan nitrogen molekul, yaitu nitrogen urea darah atau blood urea nitrogen (BUN). Namun di beberapa negara, konsentrasi ureum dinyatakan sebagai berat urea total. Pada penurunan fungsi ginjal, kadar BUN meningkat sehingga pengukuran BUN dapat memberi petunjuk mengenai keadaan ginjal

(Guyton *et al.* 1997). Kadar normal BUN didalam darah bervariasi berdasarkan usia.

Tabel 1. kadar urea plasma

Kategori usia	Kadar urea plasma
Dewasa	5-25 mg/dL
Anak-anak	5-20 mg/dL
Bayi	5-15 mg/dL
Lansia	Sedikit lebih tinggi dari pada dewasa

Sumber: Kee (2014)

5.3. Kreatinin. Kreatinin adalah produk metabolisme yang memiliki molekul lebih besar dari ureum dan pada dasarnya tidak permeabel terhadap membran tubulus. Oleh karena itu, kreatinin yang difiltrasi hampir tidak ada yang direabsorpsi, sehingga sebenarnya semua kreatinin yang difiltrasi oleh glomerulus akan diekskresikan ke dalam urin. Kreatinin merupakan zat hasil metabolisme otot yang disekresikan secara konstan oleh tubuh setiap hari. Oleh karena itu peningkatan kadar kreatinin dapat menandakan adanya kerusakan ginjal (Guyton *et al.* 2014). Nilai normal kreatinin serum (0,5 –1,5 mg/dL). Kreatinin serum lebih sensitif dan merupakan indikator khusus pada ginjal dibandingkan BUN. Jika BUN dan kreatinin meningkat dicurigai adanya gangguan fungsi ginjal. Kreatinin serum sangat berguna untuk mengevaluasi fungsi dari glomerulus. Kerusakan ginjal terjadi bila kadar kreatinin serum sebesar 2,5 mg/dL (Kee 2014).

M. Hewan Uji

Hewan uji adalah setiap hewan yang digunakan pada sebuah penelitian biologis dan biomedis dan dipilih berdasarkan standar dasar yang diperlukan dalam penelitian tersebut (Ridwan 2013). Salah satu hewan uji yang digunakan dalam penelitian adalah tikus yang berumur antara 2-3 bulan dengan berat badan 180-200 gram (Priyambodo 2003). Pada penelitian ini, hewan uji yang digunakan yaitu tikus putih jantan galur wistar (*Rattus novergicus*).

1. **Sistematika hewan uji**

Menurut Akbar (2010), taksonomi tikus adalah:

Kingdom	: Animalia
Filum	: Chordata
Subfilum	: Vertebrata
Kelas	: Mamalia
Subkelas	: Theria
Ordo	: Rodensia
Subordo	: Sciurognathi
Famili	: Muridae
Subfamili	: Murinae
Genus	: Rattus
Spesies	: <i>Rattus norvegicus</i>

2. **Karakteristik tikus**

Tikus (*Rattus norvegicus*) telah diketahui sifat-sifatnya secara sempurna, mudah dipelihara, dan merupakan hewan yang relatif sehat dan cocok untuk berbagai penelitian. Ciri-ciri morfologi tikus ini antara lain memiliki berat 150-600 gram, hidung tumpul dan badan besar dengan panjang 18-25 cm, kepala dan badan lebih pendek dari ekornya, serta telinga relatif kecil dan tidak lebih dari 20-23 mm (Akbar 2010).

3. **Pemberian secara oral**

Pemberian ekstrak etanol daun gedi merah secara oral pada tikus dilakukan dengan menggunakan jarum oral (jarum berujung tumpul), yang dimasukkan perlahan-lahan ke dalam mulut melalui tepi langit-langit ke belakang sampai ke esophagus. Pemakaian jarum tersebut harus hati-hati agar dinding esofagus tidak tertembus (Akbar 2010).

N. Landasan Teori

Penyakit DM merupakan istilah terminologi medis yang digunakan untuk menggambarkan segala gangguan yang melibatkan sel beta Langerhans dan kerja hormon insulin di pankreas sehingga terjadi keadaan hiperglikemi dan

gangguan metabolisme karbohidrat, lemak dan protein, yang diakibatkan oleh beberapa faktor diantaranya, reaksi autoimun, resistensi insulin dan/atau defisiensi sekresi insulin, kehamilan bahkan penyebab spesifik lainnya seperti kerusakan genetik (Dipiro *et al.* 2015). Namun dari beberapa faktor tersebut, penelitian ini lebih memfokuskan pada DM tipe 2 yang disebabkan oleh defisiensi insulin.

Di Indonesia, prevalensi DM tahun 2013 menurut hasil riset kesehatan dasar yang dilakukan terhadap penduduk usia ≥ 15 tahun mencapai 12.191.564 jiwa untuk kondisi pasien DM, 3.706.236 jiwa untuk kondisi terdiagnosis dan 8.485.329 jiwa untuk kondisi tidak terdiagnosis. Peningkatan proporsi penderita DM ini berbanding lurus dengan peningkatan usia. Pasien dengan kelompok usia 65-74 tahun menempati urutan tertinggi sebagai penderita kategori toleransi glukosa terganggu, sementara kelompok usia 55-64 tahun menempati urutan tertinggi kategori GDP terganggu. Jika ditinjau berdasarkan jenis kelamin, maka perempuan cenderung lebih tinggi terkena DM (Riskesdas 2014).

Keadaan nefropati diabetika adalah salah satu komplikasi penyakit DM dimana hal ini merupakan kerusakan ginjal yang dijumpai pada 35-45% pasien diabetes melitus, terutama diabetes melitus tipe 2 karena diabetes melitus tipe 2 lebih sering dijumpai. Indikator adanya kerusakan ataupun gangguan pada ginjal dalam hal ini mengenai penyakit DM yaitu meningkatnya kadar BUN dan kreatinin dalam darah hal ini dikarenakan kreatinin yang merupakan hasil perombakan metabolisme otot dan memiliki massa yang lebih besar daripada ureum sedangkan BUN merupakan nitrogen yang mengalami metabolisme di hati yang seharusnya dibuang melalui urin setelah mengalami filtrasi oleh glomerulus dan direabsorpsi di tubulus.

Dalam penelitian ini, tanaman obat Indonesia yang telah diteliti untuk terapi DM akan diuji aktivitasnya dalam menurunkan kadar BUN dan kreatinin dalam serum dengan menggunakan glibenklamid dan pioglitazon sebagai kontrol positif. Hasil penelitian dengan tanaman obat ini diharapkan dapat memberikan aktivitas penurunan kadar BUN dan kreatinin serum yang lebih

baik. Tanaman obat yang dapat dimanfaatkan untuk terapi DM tersebut adalah daun gedi merah.

Daun gedi merah merupakan salah satu tanaman yang dimanfaatkan oleh masyarakat sebagai obat tradisional yakni pengobatan hipertensi, kolesterol, dan diabetes. Berdasarkan penelitian yang telah dilakukan oleh Adeline *et al.* (2015) menyatakan bahwa daun gedi merah dapat menurunkan kadar gula darah tikus yang diinduksi dengan aloksan dengan dosis 200 mg/Kg BB tikus. Senyawa kimia tertinggi yang terdapat dalam daun gedi merah kandungan flavonoid total (722,5 mg/Kg) dan kandungan total tannin (1029 mg/Kg) (South *et al.* 2013).

Pada penelitian yang telah dilakukan oleh Assagaf *et al.* (2013) terhadap toksisitas akut ekstrak etanol daun gedi merah didapatkan bahwa pada kelompok tikus yang diberi ekstrak etanol daun gedi merah dengan dosis 6,25 g/kgBB terjadi kematian pada seluruh kelompok hewan uji.

Taroreh *et al.* (2015) melakukan penelitian terhadap ekstrak daun gedi merah untuk menganalisis kandungan total fenolik dan flavonoid, sedangkan aktivitas antioksidannya dilakukan secara *in vitro* meliputi penangkal radikal bebas DPPH, pengkelat logam dan penstabil oksigen singlet. Hasil penelitian menunjukkan bahwa ekstrak sekuensial heksana aseton-metanol (ESHAM) memiliki total fenol dan total flavonoid yang tertinggi dibandingkan dengan ekstrak lainnya, masing-masing sebesar $10,67 \pm 0,49$ mg GAE/g ekstrak dan $2,33 \pm 0,026$ mg kuersetin/g ekstrak. ESHAM juga memiliki aktivitas antioksidan yang paling tinggi, dengan persentase penghambatan DPPH sebesar 67,47%; persen pengkelat logam sebesar 48,07% dan persen penghambatan oksigen singlet sebesar 38,66% pada konsentrasi 150 μ g/mL ekstrak.

Daun gedi merah merupakan obat tradisional yang digunakan untuk membantu pengobatan penyakit, salah satunya mengurangi dan melindungi kerusakan ginjal (Shao 2006). Tandi *et al.* (2016) melakukan penelitian efek ekstrak etanol 96% daun gedi merah dengan dosis 150, 300 dan 400 mg/kgBB dan kontrol positifnya yaitu glibenklamid terhadap kadar glukosa darah (KGD), 8-hidroksideoksiganosin, malondialdehid, insulin pada tikus putih (*Rattus norvegicus*) diabetes yang diinduksi streptozotocin dengan dosis 40 mg/kgBB,

dari hasil penelitian tersebut bahwa ekstrak daun gedi merah dapat menurunkan KGD, 8-hidroksideoksiganosin, malondialdehid, dan meningkatkan kadar insulin dengan dosis efektif yaitu 150 mg/kgBB. Selanjutnya Tandi *et al.* (2017) melakukan pengujian terhadap kombinasi ekstrak daun gedi merah dan daun kumis kucing untuk melihat efek nefroprotektif karena senyawa yang memiliki sifat nefroprotektif adalah senyawa yang memiliki kemampuan melindungi ginjal yang disebabkan oleh radikal bebas. Pengujian efek nefroprotektif tersebut dilakukan dengan kombinasi ekstrak daun gedi merah (*Abelmoschus manihot* L. Medik) dengan dosis 50 mg/kg BB dan daun kumis kucing (*Orthosiphon stamineus* B.) dengan dosis 100 mg/kg BB efektif dalam menghambat peningkatan kadar ureum dan kreatinin serum tikus putih jantan (*Rattus norvegicus*) yang diinduksi etilen glikol.

Ditinjau dari hasil penelitian sebelumnya, aktivitas daun gedi merah dalam menurunkan kadar gula darah tikus maupun peningkatan kadar ureum dan kreatinin serum tikus maka daun gedi diharapkan mampu menjadi pilihan terapi pendamping pasien DM sehingga dapat mengurangi kejadian efek samping penggunaan sulfonilurea yang digunakan oleh pasien. Disisi lain, dari hasil penelitian ini diharapkan mampu memberikan informasi bahwa daun gedi merah juga dapat dimanfaatkan untuk pasien komplikasi DM yaitu nefropati diabetik dalam menurunkan kadar BUN dan kreatinin dalam darah sehingga dapat mengurangi beban kerja ginjal.

Metode penarikan zat aktif pada penelitian ini menggunakan cara maserasi, karena pengerjaan dan peralatannya sederhana, serta mudah diusahakan (Depkes 1986). Sedangkan untuk larutan penyarinya digunakan etanol karena dapat melarutkan zat aktif yang dibutuhkan dalam penelitian seperti, alkaloid, glikosida, flavonoid, dan steroid (Depkes 1986), dapat memperbaiki stabilitas bahan simplisia terlarut, dan menghambat kerja enzim sehingga terhindar dari proses hidrolisis dan oksidasi (Voigt 1994). Etanol yang digunakan adalah etanol 96% karena lazim digunakan untuk ekstraksi sampel segar (Helmy *et al.* 2006).

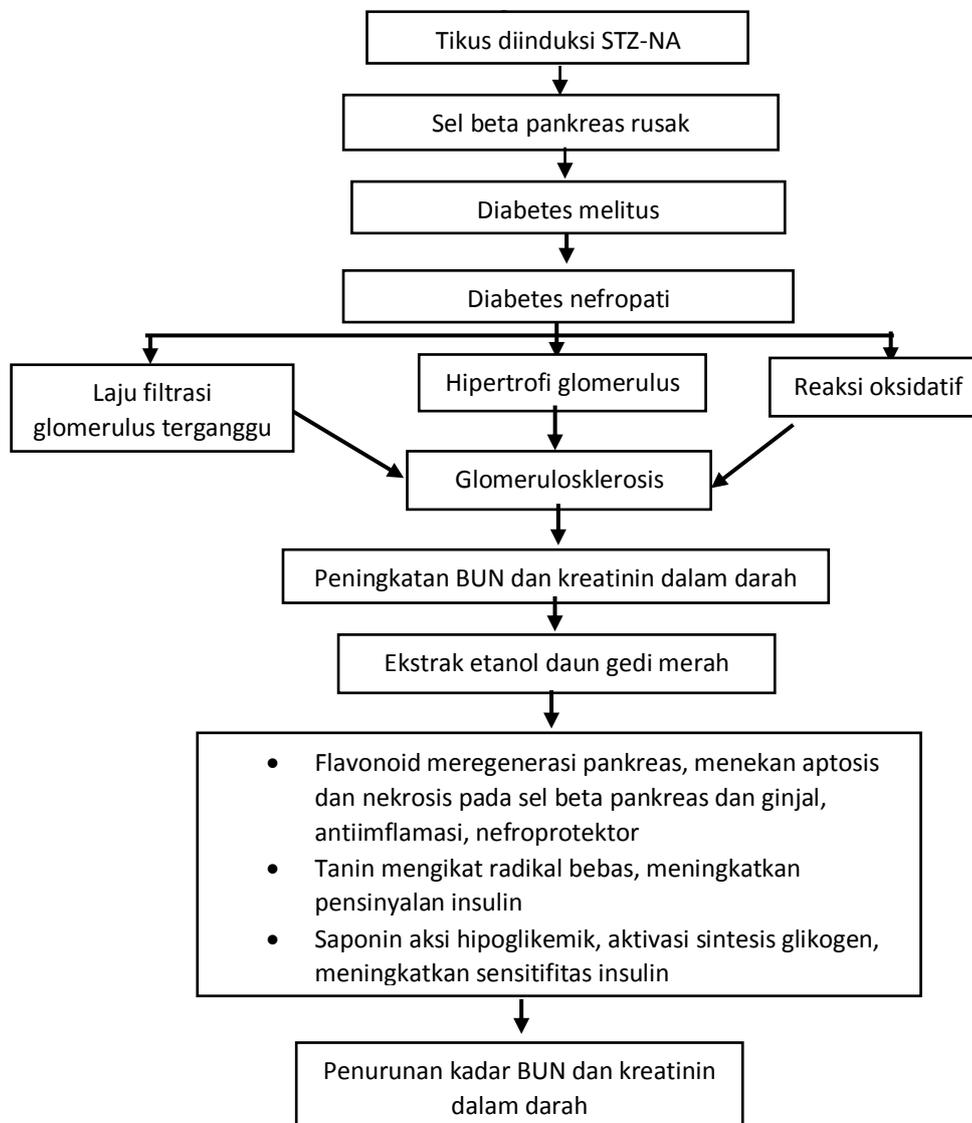
Untuk mengetahui aktivitas menurunkan kadar BUN dan kreatinin serum pada kondisi patofisiologis DM tipe 2, dilakukan metode uji melalui pendekatan dengan menginduksikan STZ-NA secara intra peritoneal. Digunakan STZ karena memiliki kemampuan merusak sel beta secara spesifik (Nugroho 2006). STZ diberikan setelah pemberian NA karena dapat mengurangi toksisitas STZ atau melindungi sel beta Langerhans dengan bertindak sebagai inhibitor PARP-1 (Alenzi 2009), sehingga kerusakan sel beta pankreas bersifat parsial.

O. Hipotesis

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

1. Pertama, ekstrak etanol daun gedi merah (*Abelmoschus manihot* L. Medik) dapat menurunkan kadar BUN pada tikus diabetes nefropati yang diinduksi STZ-NA.
2. Kedua, ekstrak etanol daun gedi merah (*Abelmoschus manihot* L. Medik) dapat menurunkan kadar kreatinin serum pada tikus diabetes nefropati yang diinduksi STZ-NA.
3. Ketiga, ekstrak etanol daun gedi merah (*Abelmoschus manihot* L. Medik) mampu menurunkan kadar BUN dan kreatinin serum tikus diabetes nefropati secara optimal pada dosis tertentu.

P. Kerangka Pikiran



Gambar 4. Kerangka pikiran.

BAB III

METODE PENELITIAN

A. Populasi dan Sampel

1. Populasi

Populasi adalah keseluruhan objek penelitian atau objek yang diteliti (Notoadmojo 2002). Populasi yang digunakan pada penelitian ini adalah tanaman gedi merah (*Abelmoschus manihot* L. Medik).

2. Sampel

Sampel adalah sebagian kecil dari populasi yang dianggap mewakili seluruh populasi dalam penelitian (Notoadmojo 2002). Sampel yang digunakan pada penelitian ini adalah daun gedi merah (*Abelmoschus manihot* L. Medik) yang diperoleh dari Bitung, Kabupaten Minahasa Utara, Provinsi Sulawesi Utara.

B. Variabel Penelitian

1. Identifikasi variabel utama

Variabel utama pertama dalam penelitian ini adalah variasi dosis ekstrak etanol daun gedi merah.

Variabel utama kedua dalam penelitian ini adalah penurunan kadar BUN dan kreatinin serum tikus putih jantan galur Wistar (*Rattus norvegicus*).

Variabel utama ketiga pada penelitian ini adalah tikus putih jantan galur Wistar.

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 diklarifikasi ke dalam beberapa variabel yaitu variabel bebas, variabel tergantung dan variabel kendali.

Variabel bebas adalah variabel yang sengaja direncanakan untuk diteliti pengaruhnya terhadap variabel tergantung. Variabel bebas dalam penelitian ini

adalah variasi dosis ekstrak etanol daun gedi merah yang diberikan pada tikus dengan variasi dosis.

Variabel tergantung adalah titik pusat persoalan yang merupakan kriteria penelitian, variabel tergantung dalam penelitian ini adalah penurunan kadar serum BUN dan kreatinin.

Variabel kendali adalah variabel yang mempengaruhi variabel tergantung selain variabel bebas yaitu kondisi pengukuran, laboratorium dan kondisi fisik dari hewan yang akan diuji seperti berat badan, jenis kelamin, umur, lingkungan, pakan, instrumen BUN dan kreatinin, suhu pada inkubasi dan lama perlakuan.

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 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 peningkatan kadar BUN >28,3 mg/dl dan kreatinin >1,00 mg/dl dalam darah.

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, BUN (*Blood Urea Nitrogen*) merupakan produk akhir nitrogen dari metabolisme protein yang normalnya dieksresi dalam urin BUN adalah metabolit primer yang berasal dari protein diet dan pergantian protein jaringan dengan nilai normal BUN pada tikus yaitu 13,9-28,3 mg/dl (Doloksaribu 2008). Pengukuran kadar BUN dilakukan pada tikus diabetes nefropati yang diamati sebelum dan sudah diberikan ekstrak daun gedi merah.

Kedelapan, Kreatinin adalah produk dari katabolisme kreatin otot dan diekskresikan oleh ginjal bersama urin. Nilai normal kreatinin serum tikus yaitu 0,30-1,00 mg/dl (Doloksaribu 2008). Pengukuran kadar kreatinin dilakukan pada tikus diabetes nefropati yang diamati sebelum dan sudah diberikan ekstrak daun gedi merah.

Kesembilan, dosis efektif adalah dosis dari ekstrak etanol daun gedi merah yang memiliki aktivitas menurunkan kadar BUN dan menurunkan kadar kreatinin serum 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. Alat dan Bahan

1. Alat

Alat untuk pembuatan sampel terdiri dari timbangan digital, oven, ayakan mess 40, bejana maserasi, kertas saring, kain flanel, evaporator, corong pisah, botol dan alat glass.

Alat yang digunakan untuk perlakuan hewan uji adalah timbangan, spuit oral, dan kandang tikus.

Alat yang digunakan untuk mengukur kadar BUN dan kreatinin adalah spektrofotometri.

2. Bahan

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

2.2. 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, CMC-Na, etanol 96%, NaCl 0,9% dan aquadest. Bahan untuk mengukur kadar BUN dan kreatinin adalah reagen BUN dan kreatinin.

3. Hewan percobaan

Hewan percobaan yang digunakan dalam penelitian ini adalah tikus putih galur Wistar jantan berumur 2-3 bulan dengan berat badan antara 180-220 gram sebanyak 35 ekor yang diperoleh dari Laboratorium Penelitian Antar Universitas (PAU), Universitas Gadjah Mada, Yogyakarta.

D. Jalannya Penelitian

1. Determinasi tanaman

Determinasi dalam tahap penelitian adalah menetapkan kebenaran sampel daun gedi merah (*Abelmoschus manihot* L. Medik) yang berkaitan dengan ciri-ciri makroskopis dan mencocokkan yang ada dalam tanaman yang akan diteliti. Determinasi akan dilakukan di Laboratorium Biologi FMIPA Universitas Sebelas Maret Surakarta.

2. Pengumpulan, pengeringan dan pembuatan serbuk

Pada penelitian ini sampel yang ingin diteliti adalah daun gedi merah yang diperoleh dari Bitung, Kabupaten Minahasa Utara, Provinsi Sulawesi Utara. Sampel yang telah dikumpulkan disortasi basah lalu dicuci. Sampel kemudian dikeringkan dengan cara diangin-anginkan dan dikeringkan menggunakan kabinet dengan suhu 40°C, selanjutnya dilakukan disortasi kering dan diserbukkan dengan menggunakan mesin serbuk lalu diayak dengan menggunakan pengayak mesh 40 hingga didapatkan serbuk daun gedi merah yang diinginkan (Handayani & Sriherfyna 2016).

3. Penetapan kadar air serbuk

Penetapan kadar air daun gedi merah dilakukan dengan menggunakan alat *Sterling-Bidwell*. Caranya dengan menimbang serbuk daun gedi merah 20 gram dimasukkan ke dalam labu destilasi dan ditambahkan pelarut *xylene* sampai serbuk terendam, kemudian memasang alat *Sterling-Bidwell*, tahap selanjutnya dipanaskan. Pemanasan dihentikan bila air pada menampungan tidak menetes lagi (kurang lebih 1 jam), kemudian diukur kadar airnya dengan melihat volume pada skala alat tersebut dan hitung % air dari berat sampel dengan rumus % (Yenrina 2015):

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

4. Pembuatan ekstrak simplisia 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 kimia daun gedi merah

6.1 Identifikasi flavonoid menggunakan tabung reaksi. Sejumlah ekstrak ditambahkan air panas 10 ml lalu dipanaskan selama 5 menit. 5 ml filtrat disaring lalu ditambahkan serbuk Mg, 1 ml HCl pekat dan amil alkohol sebanyak

1 ml lalu dikocok. Adanya senyawa flavonoid ditunjukkan dengan terbentuknya warna merah atau jingga atau kuning pada lapisan amil alkohol (South 2013).

6.2 Identifikasi tanin menggunakan tabung reaksi. Sejumlah ekstrak ditambah 20 ml air panas kemudian dididihkan selama 15 menit, setelah dingin disaring. Sebanyak 5 ml filtrat dimasukkan ke dalam tabung reaksi kemudian ditambahkan pereaksi larutan besi (III) klorida 1%. Jika tanin positif maka akan terbentuk warna hijau kehitaman setelah direaksikan dengan larutan besi (III) klorida (Depkes 1995).

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

6.4 Identifikasi alkaloid menggunakan tabung reaksi. Pemeriksaan alkaloid dilakukan dengan cara ekstrak simplisia sebanyak 500 mg dilarutkan dalam 100 ml air panas, kemudian didinginkan lalu 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. Senyawa flavonoid diidentifikasi menggunakan KLT dengan fase diam yaitu silikia gel F₂₅₄. Fase gerak yang digunakan yaitu kloroform : etil asetat (6:4) lalu dideteksi dibawah sinar UV 254 berwarna gelap dan selanjutnya dibawah sinar UV 366 berwarna biru, kuning atau ungu pada KLT dan pereaksi semprot yang digunakan yaitu uap amoniak akan menghasilkan warna biru kehijauan, hijau kekuningan, lembayung, atau kuning kecoklatan dibawah sinar tampak, yang menunjukkan adanya flavonoid. Baku pembanding yang digunakan yaitu kuarsetin sebagai pembanding rutin yang menghasilkan noda warna kuning (Hayati & Halimah 2010; Aditama *et al.* 2016).

6.6 Identifikasi tanin menggunakan KLT. Tanin diidentifikasi menggunakan KLT dengan fase diam silika gel F₂₅₄ dan fase geraknya yaitu asam asetat glasial : air : HCl pekat (30:10:3), selanjutnya dideteksi dibawah sinar UV 254 memberikan warna hijau dan dibawah sinar UV 366 nila atau ungu (lembayung). Pereaksi semprot yang digunakan digunakan FeCl₃ yang menghasilkan warna hijau kebiruan dibawah sinar tampak (Hayati *et al.* 2010).

6.7 Identifikasi saponin menggunakan KLT. Untuk identifikasi saponin dengan KLT menggunakan fase diam silika gel F₂₅₄ dan fase geraknya kloroform : methanol : air (20:60:10), selanjutnya dideteksi dibawah sinar UV 254 berwarna kuning dan dibawah sinar UV 366 berwarna hijau. Pereaksi semprot anisaldehyd-H₂SO₄ yang menghasilkan berwarna coklat dibawah sinar tampak (Hayati & Halimah 2010; Stahl 1985).

6.8 Identifikasi alkaloid menggunakan KLT. Alkaloid diidentifikasi dengan menggunakan KLT menggunakan fase diam silika gel F₂₅₄ dan fase geraknya kloroform : metanol (9,5 : 0,5), selanjutnya dideteksi di bawah sinar UV 254 berwarna kuning dan di bawah sinar UV 366 berwarna hijau. Setelah disemprot dengan Dragendrof menghasilkan berwarna coklat di bawah cahaya tampak (Hayati & Halimah 2010; Stahl 1985).

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 dipuasakan semalam. 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).

7.3. Penentuan dosis pioglitazone. Dosis glibenklamid 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).

7.4. Penentuan dosis ekstrak etanol daun gedi merah. 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 (100 mg/Kg BB tikus), dosis II (200 mg/Kg BB tikus), dan dosis III (400 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. Suspensi glibenklamid dibuat dalam kadar 0,009%. Cara pembuatannya dimulai dengan menimbang serbuk glibenklamid sebanyak 9 mg, kemudian disuspensikan ke dalam larutan CMC Na sampai 100 ml, sehingga diperoleh konsentrasi 0,09 mg/ml.

8.4. Pioglitazone. Suspensi pioglitazone dibuat dalam kadar 0,009%. Cara pembuatannya dimulai dengan menimbang serbuk pioglitazone sebanyak 27 mg, kemudian disuspensikan ke dalam larutan CMC Na sampai 100 ml, sehingga diperoleh konsentrasi 0,27 mg/ml.

9. Pengelompokan hewan uji

Pengelompokan hewan uji yaitu tikus ditimbang dan masing-masing diberi tanda. Sebelum perlakuan, tikus diadaptasi terlebih dahulu selama satu minggu

untuk penyesuaian diri terhadap lingkungan. Tikus yang digunakan sebanyak 35 ekor tikus dengan berat rata-rata 180-200 gram. Sebelumnya tikus dipuasakan selama 18, selanjutnya dilakukan pengambilan darah untuk mengukur kadar BUN dan kreatinin serum (T_0). Masing-masing tikus diberikan STZ-NA dengan dosis 155 mg/kgBB secara intraperitoneal selama 15 hari kecuali 5 ekor tikus sebagai kelompok normal. Setelah 5 hari pemberian STZ-NA, dilakukan pengambilan darah tikus untuk diukur kadar BUN dan kreatinin serumnya (T_1), selanjutnya pada hari ke-15 dilakukan pengambilan darah tikus untuk diperiksa kadar BUN dan kreatinin serumnya (T_2). Tikus yang kadar BUNya $>28,3$ mg/dl dan yang kadar kreatinin serumnya $>1,00$ mg/dl dikelompokkan menjadi 7 kelompok yang masing-masing kelompok terdiri dari 5 ekor tikus, dengan perlakuan yang diberikan yaitu:

Kelompok 1 : Kontrol 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 (EDGM) dengan dosis 100 mg/Kg BB tikus selama 14 hari.

Kelompok 6 : Tikus diberikan ekstrak etanol daun gedi merah (EDGM) dengan dosis 200 mg/Kg BB tikus selama 14 hari.

Kelompok 7 : Tikus diberikan ekstrak etanol daun gedi merah (EDGM) dengan dosis 400 mg/Kg BB tikus selama 14 hari.

Pada hari ke-22, darah tikus diambil untuk dilakukan pengukuran terhadap kadar BUN dan kreatinin serum (T_3) dan pada hari ke-29 dilakukan pengambilan darah tikus terakhir untuk diukur kadar BUN dan kreatinin serumnya (T_4).

10. Prosedur uji diabetes STZ-NA

Sebelum dilakukan perlakuan terhadap tikus, tikus terlebih dahulu diadaptasi selama 7 hari dan selanjutnya tikus dipuasakan selama 18 jam, selanjutnya dilakukan pengambilan darah tikus untuk dilakukan pengukuran kadar BUN dan kreatinin serum awal (T_0). Pada hari yang sama juga diberikan larutan STZ-NA 155 mg/kg BB tikus secara intraperitoneal dan ditunggu selama 15 hari.

Pada hari ke-5 dilakukan pengambilan darah tikus untuk dilakukan pengukuran kadar BUN dan kreatinin serum (T_1), selanjutnya pada hari ke-15 dilakukan pengambilan darah tikus untuk dilakukan pengukuran kadar BUN dan kreatinin serum (T_2). Hewan uji dengan kadar BUNya lebih dari 28,3 mg/dl dan yang kadar kreatininnya lebih dari 1,00 mg/dl (positif nefropati diabetes) dikelompokkan pada masing-masing kelompok, selanjutnya tikus kelompok perlakuan daun gedi merah diberikan ekstrak daun gedi merah dengan dosis 100 mg/kg BB, 200 mg/kg BB dan 400 mg/kg BB selama 14 hari. Pada hari ke-22 (T_3) dan hari ke-29 (T_4) dilakukan pengambilan darah tikus untuk pengukuran kadar BUN dan kreatinin serum. Pengambilan darah tikus dilakukan melalui pembuluh mata *plexus reorbitalis* tikus.

11. Pengujian efek BUN dan kreatinin

Hewan uji dikelompokkan menjadi 7 kelompok, masing-masing kelompok terdiri dari 5 ekor tikus. Sebelum perlakuan hewan diaklimatisasi selama 18 jam. Kelompok I sebagai kontrol normal tanpa perlakuan, kelompok II-VII diinduksi NA 110 mg/kgBB, setelah 15 menit kemudian tikus diberikan STZ dengan dosis 45 mg/kgBB secara intraperitoneal pada hari ke-1 dan ditunggu hingga hari ke-15. Pada hari ke-16 kelompok II sebagai kontrol negatif diberikan CMC 0,5%, kelompok III dan IV sebagai kontrol positif dimana masing-masing diberikan glibenklamid dengan dosis 0,45 mg/kgBB dan pioglitazon dengan dosis 0,27 mg/kgBB, kelompok V-VII diberikan ekstrak etanol daun gedi merah dengan masing-masing dosis 100, 200, 400 mg/kgBB. Pengambilan dari untuk pengukuran BUN dan kreatinin pada hari ke-0 (T_0) dimana belum dilakukan perlakuan, selanjutnya dilakukan pengukuran darah pada hari ke- 5 (T_1) dan pada hari ke-15 (T_2) setelah diinduksi Na-STZ. Pada hari ke-22 dilakukan pengambilan darah (T_3) dan pengambilan darah terakhir dilakukan pada hari ke-29 yaitu hari terakhir setelah pemberian ekstrak etanol daun gedi merah (T_4).

12. Pemeriksaan kadar BUN

Penetapan kadar BUN dilakukan dengan metode Enzymatic UV test, Urease GLDH. Pembuatan monoreagen dilakukan dengan cara mencampur empat bagian reagen 1 dengan satu bagian reagen 2. Tahap selanjutnya yaitu sejumlah 10

μL serum uji direaksikan dengan 1000 μL pereaksi uji (monoreagen BUN) untuk pemeriksaan BUN dihomogenkan dengan vortex. Selanjutnya dibaca absorbansinya dengan spektrofotometer pada panjang gelombang 340 nm pada suhu 37°C . Hasil absorbansi sebagai absorbansi pertama (A1) pada detik ke- 30, kemudian absorbansi diukur lagi pada detik ke-60 sebagai (A2). Hal yang sama dilakukan terhadap blanko (pereaksi + aquades) dan standar (pereaksi + standar nitrogen urea). Selisih A2-A1 (ΔA) digunakan untuk menghitung kadar BUN dengan rumus:

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

13. Pemeriksaan kadar kreatinin

Prinsip kerja adalah kreatinin bereaksi dengan asam pikrat dalam kondisi basa dan membentuk kompleks warna merah orange. Perubahan warna sebanding dengan konsentrasi kreatinin dalam sampel. Metode yang digunakan yaitu metode jaffe. Kreatinin serum dibaca menggunakan spektrofotometer pada panjang gelombang 492 nm. Kreatinin merupakan hasil akhir metabolisme otot yang dilepaskan dari otot dengan kecepatan yang hampir konstan dan dieksresi dalam urin dengan kecepatan yang sama.

Pada penetapan kadar kreatinin dan BUN perlu dibuat monoreagen terlebih dahulu. Pembuatan monoreagen kreatinin dengan mencampurkan empat bagian reagen 1 (R1) dengan satu bagian reagen 2 (R2), selanjutnya sejumlah 50 μL serum uji direaksikan dengan 1000 μL pereaksi uji (monoreagen kreatinin), dihomogenkan dengan bantuan vortex. Absorbansi diukur dengan spektrofotometer pada panjang gelombang 490-510 nm pada suhu 37°C selama 60 detik (A1), diukur lagi absorbansi setelah 120 detik (A2). Hal yang sama dilakukan terhadap blanko (pereaksi + aquades) dan standar (pereaksi + standar kreatinin), Selisih A2-A1 (ΔA) digunakan untuk menghitung kadar kreatinin dengan rumus :

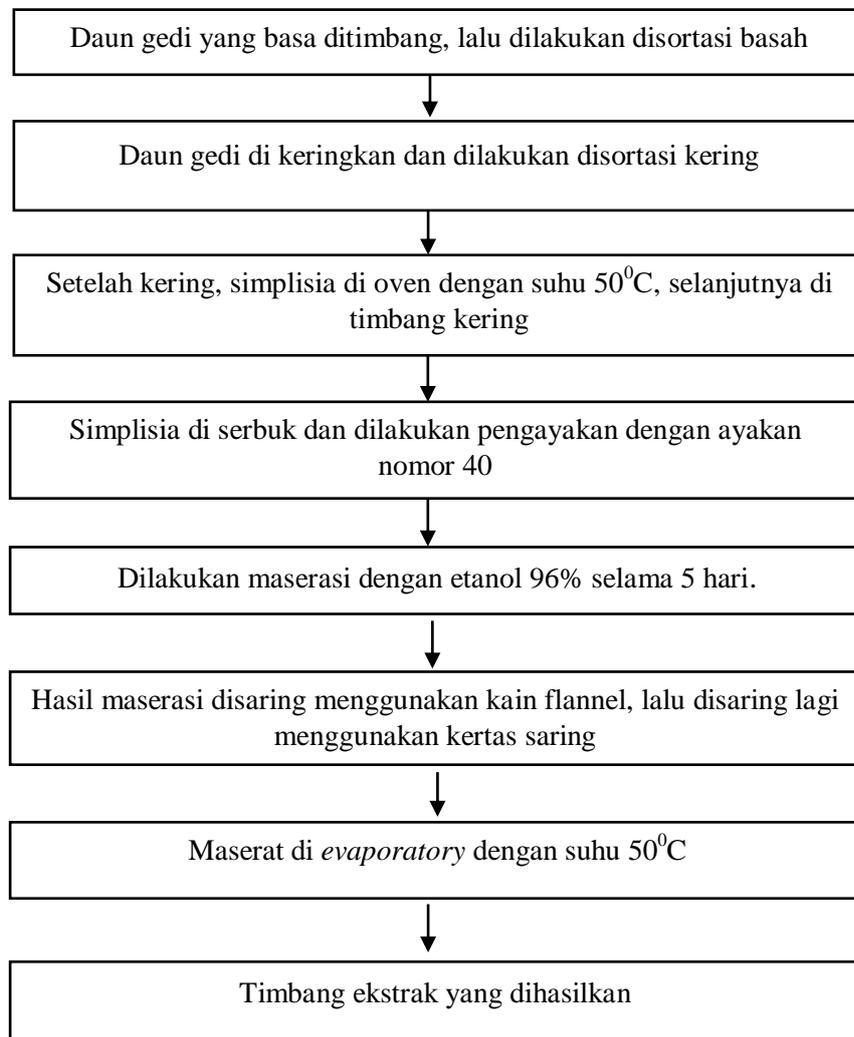
$$\text{Kreatinin (mg/dl)} = \frac{\Delta A \text{ Sampel}}{\Delta A \text{ Standar}} \times \text{konsentrasi standar (mg/dl)}.$$

E. Analisis 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 distibusi tidak normal.

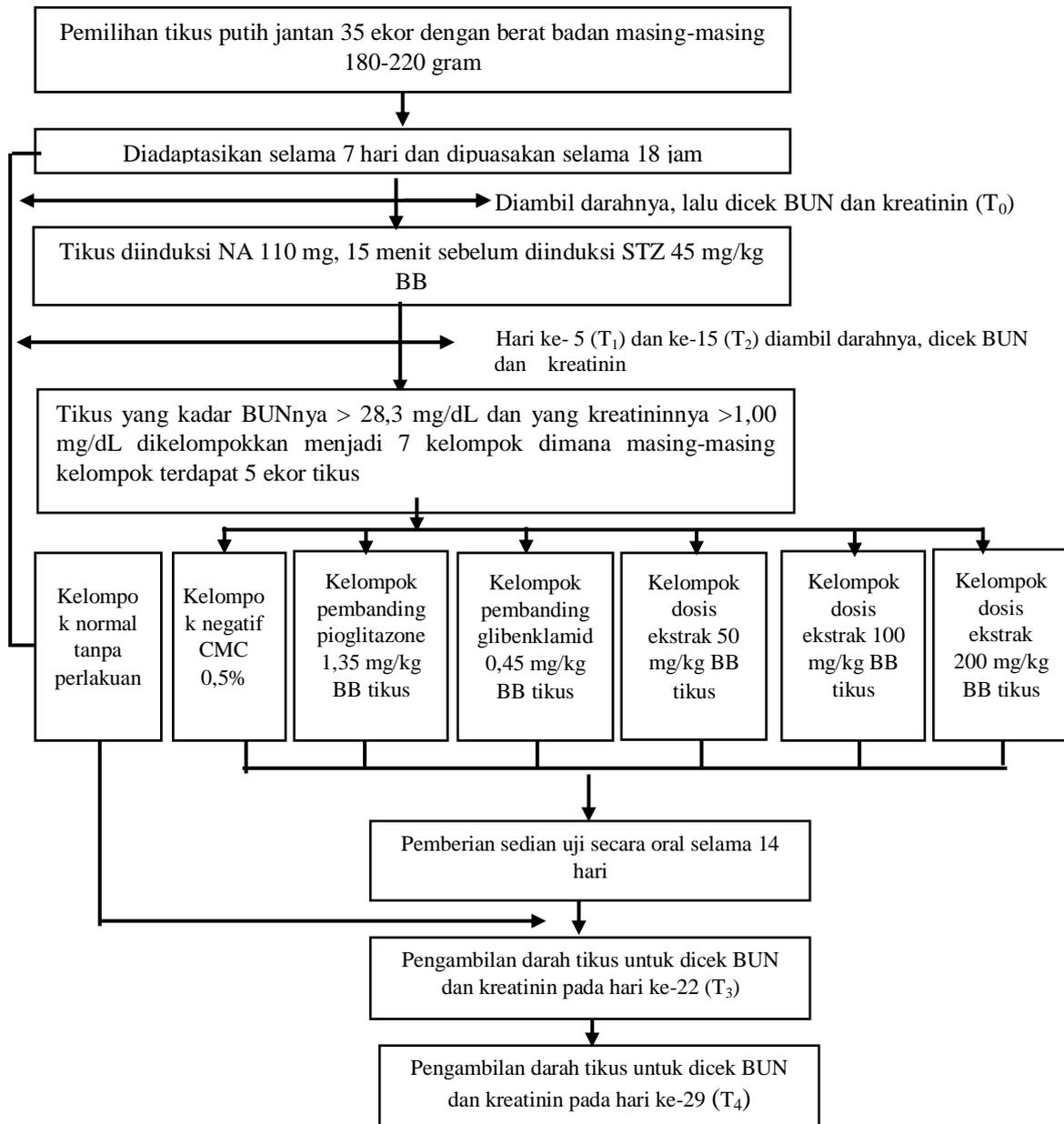
Selanjutnya diuji parametik dengan analisis data menggunakan *ANOVA* jika Sig $> 0,05$ maka H_0 diterima dan jika $< 0,05$ maka H_0 ditolak. Jika sig $< 0,05$ uji dilanjutkan dengan post hoc untuk melihat apakah terdapat perbedaan diantara masing-masing kelompok perlakuan.

Alur pembuatan ekstrak



Gambar 5. Alur pembuatan ekstrak etanol daun gedi merah.

Alur Penelitian



Gambar 6. Alur penelitian: pemberian ekstrak etanol daun gedi merah, pengambilan darah untuk pengujian kadar BUN dan kreatinin serum.

BAB IV

HASIL PENELITIAN DAN PEMBAHASAN

A. Hasil determinasi daun gedi merah (*Abelmoschus manihot* L. Medik)

Sampel yang digunakan dalam penelitian ini adalah daun tanaman gedi merah (*Abelmoschus manihot* L. Medik) yang diperoleh dari Bitung, Kabupaten Minahasa Utara, Provinsi Sulawesi Utara.

Proses awal dalam penelitian ini yaitu determinasi daun tanaman gedi merah yang dilakukan. Determinasi tanaman gedi merah dilakukan di Laboratorium Program Studi Biologi Universitas Sebelas Maret, Surakarta. Tujuan dari proses determinasi ini adalah untuk menetapkan kebenaran sampel yang berkaitan dengan ciri-ciri makroskopis dan mencocokkan ciri morfologis yang ada pada tanaman yang akan diteliti. Berdasarkan hasil determinasi daun gedi merah yang dilakukan di Laboratorium Program Studi Biologi nomor 71/UN27.9.6.4/Lab/2018 menurut C.A. Backher & Bakhuizen van den Brink, Jr (1963): 1b-2b-3b-4b-12b-13b-14b-17b-18b-19b-20b-21b-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-55b-56b-57b-58b-59d-72b-73b-74b-631b-632b-633b-634b-635b-636b-637b-638a-639b-640b-652b-653b-655b-656b-657b-658a-659b-660a_____96. Malvaceae 1b-3b-5b-13b-14b-15a-16a_____14. *Abelmoschus* 1b-2a-3b_____ *Abelmoschus manihot* L. Medik.

menunjukkan bahwa tanaman yang digunakan dalam penelitian ini adalah benar-benar tanaman gedi merah (*Abelmoschus Manihot* L. Medik). Hasil determinasi tanaman gedi merah dapat dilihat pada lampiran 1.

B. Hasil pengumpulan, pengeringan dan pembuatan serbuk

Daun gedi merah yang digunakan dalam penelitian ini diperoleh dari Bitung, Kabupaten Minahasa Utara, Provinsi Sulawesi Utara. Daun gedi merah yang telah dikumpulkan dicuci dengan air mengalir yang bersih agar bebas dari kotoran. Sampel kemudian dikeringkan dengan cara diangin-anginkan dan dikeringkan dengan oven pada suhu 50⁰C. Pengeringan dilakukan dengan tujuan

untuk mengurangi kadar air sehingga mencegah timbulnya jamur yang dapat menyebabkan terjadinya perubahan kimia dan dapat menurunkan mutu dan khasiat daun gedi merah. Daun gedi merah yang telah kering, dihaluskan menggunakan mesin serbuk dan diblender. Serbuk yang diperoleh kemudian diayak dengan pengayak no. 40 untuk memperoleh serbuk yang halus.

Penentuan prosentase bobot kering terhadap bobot basah dilakukan dengan cara menimbang daun gedi merah yang masih basah, kemudian hasilnya dibandingkan dengan bobot daun gedi merah yang sudah kering. Bobot kering yang diperoleh yaitu sebesar 1700 gram. Hasil prosentase bobot kering terhadap bobot basah daun gedi merah dapat dilihat pada tabel 2 dibawah ini. Hasil perhitungan rendemen serbuk daun gedi merah dapat dilihat pada lampiran 7.

Tabel 2. Hasil prosentase bobot kering terhadap bobot basah daun gedi merah

No	Bobot basah (g)	Bobot kering (g)	Rendemen (%)
1.	9000,0	1700,0	18,89

C. Hasil penetapan kadar air serbuk

Hasil penetapan kadar air dapat dilihat pada tabel 3 dibawah ini:

Tabel 3. Hasil penetapan kadar air serbuk daun gedi merah

No	Berat serbuk (g)	Volume terbaca (ml)	Kadar air (%)
1.	20,0	1,5	7,5
2.	20,0	1,4	7,0
3.	20,0	1,4	7,0
	Rata-rata±SD		7,167±0,289

Hasil perhitungan penetapan kadar air serbuk daun gedi merah menggunakan alat *Sterling-bidwell* didapat kadar air $7,167 \pm 0,289\%$. Nilai kadar air serbuk daun gedi merah yang diperoleh telah memenuhi syarat yaitu kurang dari 10% (Depkes 2008). Hasil perhitungan penetapan kadar air serbuk daun gedi merah dapat dilihat pada lampiran 8.

D. Hasil pembuatan ekstrak etanol daun gedi merah

Proses pembuatan ekstrak serbuk daun gedi merah dilakukan menggunakan metode maserasi dengan pelarut etanol 96%. Sebanyak 1500 gram serbuk daun gedi merah ditimbang lalu direndam dalam cairan penyari pelarut

sebanyak 11250 ml etanol 96% dengan perbandingan 1:7,5. Perendaman dilakukan di dalam bejana maserasi dalam keadaan tertutup rapat selama 5 hari dengan dilakukan penggojokan 3 kali sehari. Hasil ekstraksi disaring dari ampasnya dengan kain flanel, dilanjutkan dengan kertas saring. Ampas atau residu yang tersisa kemudian dialiri kembali dengan etanol 96% sebanyak 2500 ml. Hasilnya kemudian disaring dengan menggunakan kain flanel dan dilanjutkan dengan kertas saring.

Filtrat yang telah diperoleh, dilakukan proses pemekatan menggunakan alat *rotary evaporatory* dengan suhu 50⁰C. Tujuan dilakukan evaporasi yaitu untuk menguapkan pelarut yang ada sehingga diperoleh ekstrak kental yang berwarna hitam kehijauan dengan bau yang khas. Hasil ekstrak diperoleh sebanyak 75,88 gram dengan rendemen sebesar 5,05%. Rendemen ekstrak daun gedi merah dapat dilihat pada tabel 4. Perhitungan rendemen ekstrak terdapat pada lampiran 9.

Tabel 4. Hasil pembuatan ekstrak etanol daun gedi merah

Bobot serbuk (g)	Bobot ekstrak + wadah (g)	Bobot wadah (g)	Bobot ekstrak (g)	Rendemen (%)
1500,00	404,25	328,37	75,88	5,05

E. Hasil uji bebas alkohol

Proses pengujian bebas alkohol pada ekstrak dilakukan dengan cara ekstrak daun gedi merah dimasukkan dalam tabung reaksi ditambahkan dengan asam asetat encer dan asam sulfat pekat lalu dipanaskan. Dari hasil pengujian yang telah dilakukan terhadap ekstrak daun gedi merah tidak terdapat bau ester (etil asetat) berarti tidak terdapat etanol pada ekstrak.

F. Hasil identifikasi kandungan kimia daun gedi merah

Ekstrak etanol daun gedi merah dilakukan uji penapisan kimia menggunakan reaksi warna untuk mengetahui flavonoid, tanin, alkaloid dan saponin. Dari hasil identifikasi kandungan kimia menggunakan tabung reaksi, diketahui ekstrak etanol daun gedi merah mengandung flavonoid, tanin, alkaloid

dan saponin. Selain identifikasi kandungan kimia ekstrak daun gedi merah menggunakan tabung reaksi, identifikasi kandungan kimia juga dilakukan menggunakan kromatografi lapis tipis (KLT). Hasil identifikasi kandungan kimia ekstrak etanol daun gedi merah dapat dilihat pada tabel 5 dan 6. Hasil identifikasi kandungan kimia daun gedi merah terdapat pada lampiran 10.

Tabel 5. Hasil identifikasi kandungan kimia ekstrak daun gedi merah menggunakan tabung reaksi

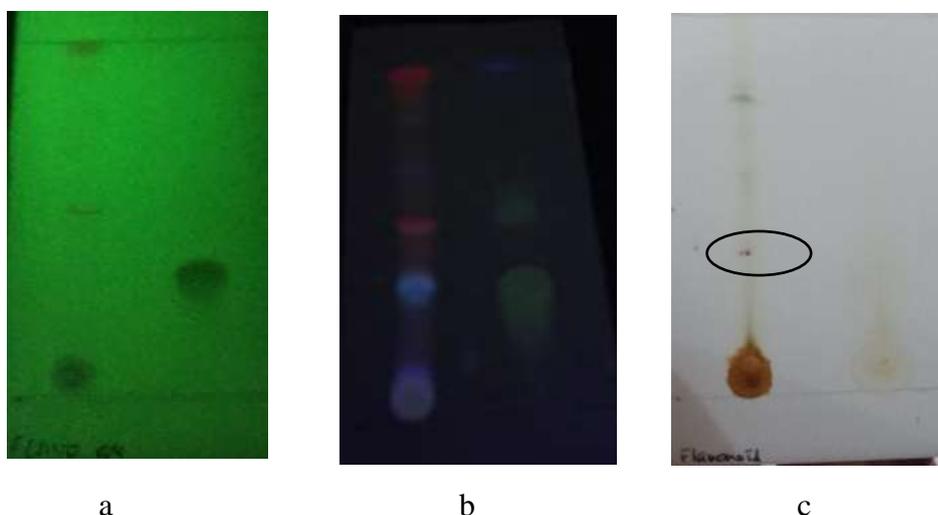
Kandungan Kimia	Pustaka	Hasil	Kesimpulan
Flavonoid	Warna jingga pada lapisan amil alkohol (Setyowati <i>et al.</i> 2014)	Warna jingga pada lapisan amil alkohol	+
Alkaloid	Terbentuk kekeruhan atau endapan warna cokelat (Setyowati <i>et al.</i> 2014)	Tidak terbentuk kekeruhan atau endapan warna cokelat	-
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 6. 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. Identifikasi kualitatif terhadap ekstrak daun gedi merah dapat diketahui bahwa ekstrak etanol daun gedi merah mengandung flavonoid. Identifikasi flavonoid dilakukan dengan penambahan HCl pekat untuk menghidrolisis flavonoid menjadi aglikonnya, dimana dengan menghidrolisis O-glikosil, glikosis akan digantikan oleh H⁺ dari asam karena sifatnya yang elektrofilik. Glikosida berupa gula yang dijumpai yaitu glukosa, galaktosa, dan ramnosa. Reduksi dengan Mg dan HCl pekat akan menghasilkan senyawa kompleks yang berwarna merah atau jingga pada flavonon, flavonolol (Robinson 1985). South *et al.* (2013) dan Tandi *et al.* (2016) mengemukakan bahwa flavonoid yang terkandung dalam daun gedi merah termasuk dalam golongan flavonon dan flavonolol.

Identifikasi kandungan kimia daun gedi merah menggunakan kromatografi lapis tipis (KLT) dilakukan sebagai penegasan dari hasil kualitatif identifikasi flavonoid menggunakan tabung reaksi. Pengamatan dilakukan di bawah sinar UV 254 dan UV 366 yang akan dipertegas dengan dilakukan penyemprotan pada setiap lempeng KLT dengan pereaksi. Identifikasi KLT golongan senyawa flavonoid pada ekstrak etanol daun gedi merah menggunakan fase gerak kloroform : etil asetat (6:4) dengan pereaksi uap amoniak. Hasil identifikasi flavonoid dengan KLT dapat dilihat pada gambar 7.



gambar 7. Hasil KLT flavonoid. (a) bercak di bawah sinar UV 254 sebelum diuapi uap ammonia, (b) bercak dibawah sinar UV 366 sebelum diuapi uap ammonia, (c) cahaya tampak setelah diuapi uap ammonia.

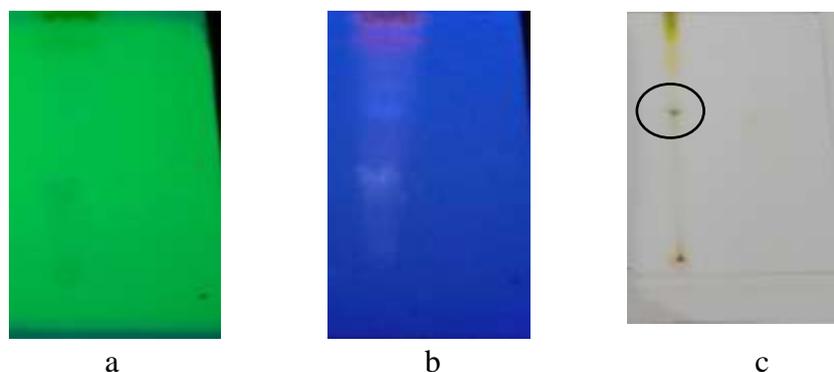
Hayati & Halimah (2010) melakukan identifikasi KLT pada senyawa flavonoid menunjukkan bahwa setelah disemprot dengan amonia berwarna kuning di bawah cahaya tampak menegaskan adanya flavonoid. Flavonoid termasuk kelompok benzo- γ -piron dengan struktur umum difenilpropan ($C_6-C_3-C_6$) terdiri dari 2 (dua) cincin aromatis yang dihubungkan oleh 3 (tiga) atom karbon membentuk heterosiklik teroksigenasi (Pranowo 2015).

Flavonoid berperan sebagai penangkal radikal hidroksi dan superhidroksi sehingga dapat melindungi lipid membran sel β pankreas terhadap reaksi yang merusak, dapat mengurangi peroksidasi lipid dan mengembalikan sensitivitas reseptor insulin.

Flavonoid yang terdapat dalam tanaman gedi merah memiliki aktivitas sebagai antidiabetes melalui fungsinya sebagai antioksidan (Pine *et al.* 2011). Antioksidan yang terdapat pada daun gedi merah memiliki kemampuan untuk mengikat radikal bebas sehingga dapat mengurangi stres oksidatif, dengan berkurangnya stres oksidatif dapat mengurangi resistensi insulin dan mencegah perkembangan disfungsi dan kerusakan sel β pankreas (Sinata & Arifin 2016).

1.2. Identifikasi tanin. Identifikasi kandungan tanin pada ekstrak etanol daun gedi merah dilakukan dengan uji kualitatif yaitu menggunakan tabung reaksi dan menggunakan KLT. Hasil identifikasi tanin secara kualitatif menggunakan tabung reaksi diperoleh yaitu terdapat kandungan senyawa tanin pada ekstrak etanol daun gedi merah yang dibuktikan terbentuknya warna hijau violet. Warna hijau violet yang diperoleh disebabkan karena adanya senyawa kompleks yang terbentuk antara tanin dan FeCl_3 .

Identifikasi senyawa tanin juga dilakukan dengan KLT dengan fase gerak menggunakan asam asetat glasial : air : HCl pekat (30:10:3) dan pereaksi yang digunakan yaitu FeCl_3 . Hasil identifikasi tanin secara KLT dapat dilihat pada gambar 8.



Gambar 8. Hasil KLT tanin. (a) bercak dibawah sinar UV 254 sebelum disemprot FeCl_3 , (b) bercak dibawah sinar UV 366 sebelum disemprot FeCl_3 , (c) cahaya tampak setelah disemprot FeCl_3 .

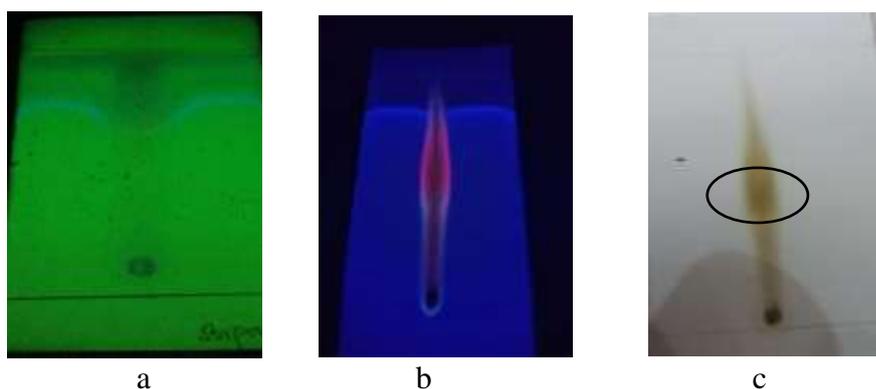
Setelah disemprot dengan FeCl_3 , berwarna hijau kebiruan di bawah cahaya tampak menegaskan adanya kandungan tanin pada ekstrak etanol daun gedi merah (Hayati & Halim 2010; Harbone 1987). Dari hasil identifikasi yang telah dilakukan, maka diasumsikan bahwa ekstrak etanol daun gedi merah mengandung senyawa tanin.

Tanin yang terkandung dalam daun gedi merah berfungsi sebagai penghambat α -glukosidase yang bermanfaat untuk menunda absorpsi glukosa setelah makan sehingga dapat menghambat kondisi hiperglikemia postprandial (Eryuda & Soleha 2016).

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).

1.3. Identifikasi saponin. Identifikasi saponin pada ekstrak daun gedi merah dilakukan dengan menggunakan tabung reaksi dan KLT. Hasil identifikasi ekstrak etanol daun gedi merah menggunakan tabung reaksi terdapat buih setinggi 1-10 cm yang bertahan setelah dikocok kuat-kuat. Saponin ditandai dengan adanya buih karena adanya glikosida yang terhidrolisis yang memiliki kemampuan membentuk buih di dalam air (Marliana *et al.* 2005).

Identifikasi penegasan terhadap senyawa saponin yang terdapat pada ekstrak etanol daun gedi merah dilakukan menggunakan KLT dengan fase gerak yang digunakan yaitu kloroform : metanol : air (20 : 60 : 10) dengan pereaksi yang digunakan anisaldehyd. Hasil identifikasi saponin dengan KLT dapat dilihat pada gambar 9.



gambar 9. (a) bercak dibawah sinar UV 254 sebelum disemprot anisaldehyd, (b) bercak dibawah sinar UV 366 sebelum disemprot anisaldehyd, (c) bercak dibawah sinar tampak setelah disemprot anisaldehyd.

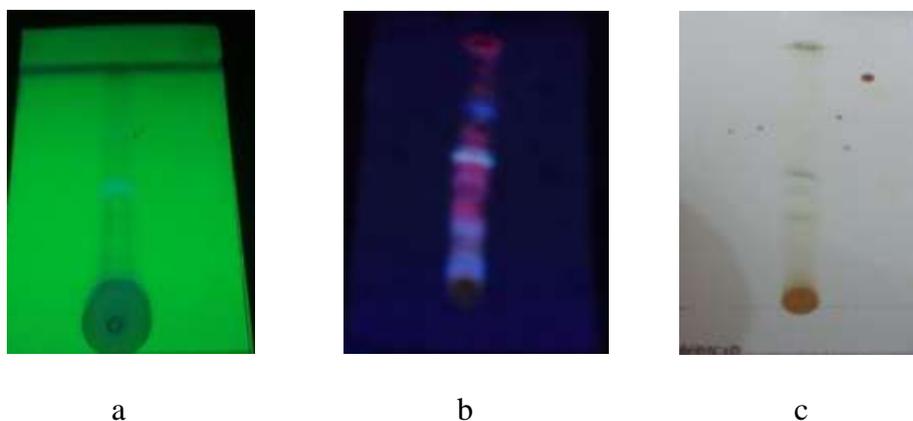
Setelah disemprot dengan anisaldehyd berwarna coklat menegaskan adanya kandungan saponin pada ekstrak etanol daun gedi merah (Hayati & Halim 2010;

Wagner *et al.* (1996). Hasil identifikasi saponin yang telah dilakukan, ekstrak etanol daun gedi merah mengandung senyawa saponin.

Saponin yang terkandung dalam daun gedi merah dapat menurunkan kadar gula darah dengan cara menghambat transport glukosa di dalam saluran cerna dan merangsang sekresi insulin pada sel β pankreas (Atangwho *et al.* 2010).

Saponin yang terdapat dalam daun gedi merah dapat menghambat aktivitas enzim α glukosidase, yaitu enzim yang terdapat dalam pencernaan yang berperan untuk mengubah karbohidrat menjadi glukosa sehingga dapat menghambat waktu pengosongan lambung dengan cara memperlama waktu absorpsi (Tandi *et al.* 2016).

1.4. Identifikasi alkaloid. Identifikasi alkaloid terhadap ekstrak etanol daun gedi merah dilakukan menggunakan tabung reaksi dan KLT. Uji kualitatif menggunakan tabung reaksi tidak ditemukan adanya endapan coklat pada tabung reaksi. Identifikasi alkaloid juga dilakukan menggunakan KLT dengan fase gerak kloroform : metanol (9,5 : 0,5) dan pereaksi yang digunakan yaitu Dragendrof. Hasil KLT senyawa alkaloid dapat dilihat pada gambar 10.



Gambar 10. Hasil KLT alkaloid. (a) bercak dibawah sinar UV 254 sebelum disemprot Dragendrof, (b) bercak dibawah sinar UV 366 sebelum disemprot Dragendrof, (c) cahaya tampak setelah disemprot Dragendrof.

Menurut Hayati & Halim (2010), senyawa alkaloid akan berwarna coklat jingga setelah disemprot Dragendrof. Hasil identifikasi alkaloid pada ekstrak etanol daun gedi merah menggunakan KLT yang menghasilkan berwarna hijau kebiruan setelah disemprot dengan Dragendroff di bawah cahaya tampak

menegaskan tidak adanya kandungan alkaloid pada ekstrak etanol daun gedi merah.

Hasil identifikasi ekstrak etanol daun gedi merah tidak memiliki senyawa alkaloid. 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).

Alkaloid yang terdapat dalam daun gedi merah mempunyai kemampuan meregenerasi sel β pankreas yang rusak, adanya perbaikan pada jaringan pankreas, maka akan terjadi peningkatan jumlah insulin di dalam tubuh sehingga glukosa darah akan masuk ke dalam sel sehingga terjadi penurunan kadar glukosa darah dalam tubuh (Tandi *et al.* 2016).

G. Hasil pemeriksaan kadar BUN dan kreatinin

1. Data pemeriksaan kadar BUN

Pemeriksaan kadar BUN dilakukan pada T_0 yaitu sebelum diinduksi STZ-NA untuk mengetahui kadar BUN awal pada hewan uji, dan sebagai pembanding apakah berhasil atau tidaknya induksi STZ-NA secara intra peritoneal (i.p) pada semua kelompok uji kecuali pada kelompok uji kontrol normal. Induksi STZ diberikan setelah 15 menit diinduksi NA.

Pengukuran kadar BUN dilakukan lagi pada hari ke-5 sebagai T_1 setelah diinduksi STZ-NA dengan tujuan untuk membuat kondisi DM tipe II dan diperpanjang hingga hari ke-15 (T_2) dilakukan pengukuran kadar BUN untuk memastikan apakah hewan uji telah mengalami diabetes nefropati atau belum, dimana kadar BUN yaitu $>28,3$ mg/dl, hewan uji dengan kadar BUN $>28,3$ mg/dl positif diabetes nefropati dan diberikan perlakuan ekstrak daun gedi merah (EDGM) hingga hari ke-29. Hasil perhitungan rata-rata kadar BUN hari ke-0, hari ke-5, hari ke-15, yaitu sebelum diberikan setelah diinduksi STZ-NA dapat dilihat pada tabel 7.

Tabel 7. Perhitungan rata-rata kadar BUN setelah diinduksi STZ-NA dan setelah pemberian sediaan uji

Kelompok	Kadar BUN (Rata-rata ± SD)				
	Hari ke-0 (T ₀)	Hari ke-5 (T ₁)	Hari ke-15 (T ₂)	Hari ke-22 (T ₃)	Hari ke-29 (T ₄)
Kontrol normal	10,85±0,43	11,09±0,43 ^{b,c,d}	11,45±0,36 ^{b,c,d}	11,90±0,42 ^{b,c,d}	11,99±0,42 ^b
Kontrol negatif	10,52±0,19	48,85±1,08 ^a	50,92±1,79 ^a	51,97±2,00 ^{a,c,d}	52,47±1,93 ^{a,c,d}
Pioglitazone	11,11±0,52	47,50±3,57 ^a	48,49±3,69 ^a	31,29±1,44 ^{a,b}	18,22±2,67 ^b
Glibenklamid	11,37±0,43	48,78±3,36 ^a	50,39±2,93 ^a	30,88±0,66 ^{a,b}	19,45±1,12 ^{a,b}
EDGM 100	10,92±0,37	50,06±3,20 ^a	51,45±3,07 ^a	44,90±12,25 ^{a,b,c,d}	32,53±2,21 ^{a,b,c,d}
EDGM 200	10,98±0,55	48,53±7,27 ^a	50,46±6,59 ^a	36,80±1,96 ^{a,b,c,d}	27,81±1,34 ^{a,b}
EDGM 400	11,18±0,63	52,76±6,39 ^a	54,01±6,05 ^a	32,31±1,90 ^{a,b}	23,56±1,79 ^{a,b}

Keterangan :

a : berbeda signifikan dengan kelompok normal

b : berbeda signifikan dengan kelompok negatif

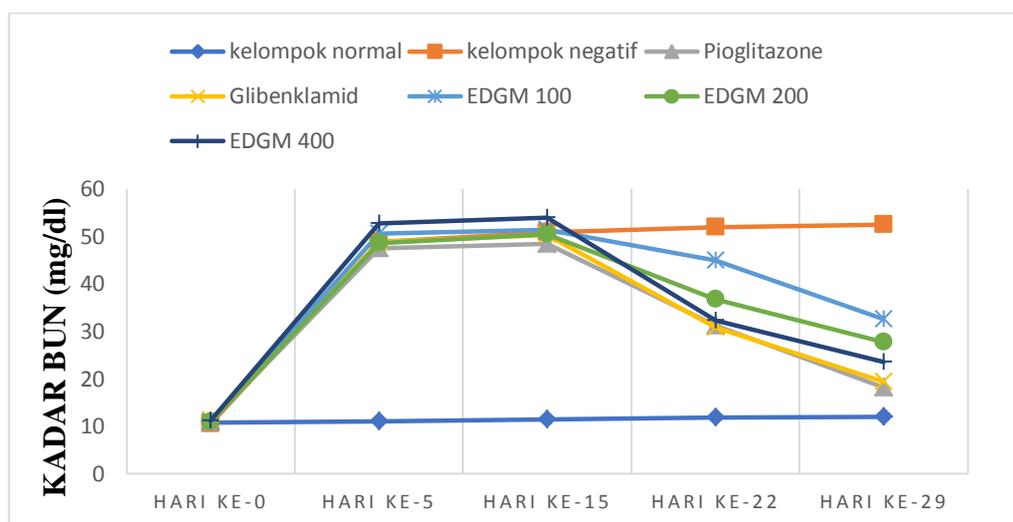
c : berbeda signifikan dengan kelompok pioglitazone

d : berbeda signifikan dengan kelompok glibenklamid

EDGM 100 = ekstrak etanol daun gedi merah 100 mg/Kg BB tikus

EDGM 200 = ekstrak etanol daun gedi merah 200 mg/Kg BB tikus

EDGM 400 = ekstrak etanol daun gedi merah 400 mg/Kg BB



Gambar 11. Grafik hubungan antara penurunan kadar BUN dengan waktu perlakuan

Pada grafik di atas terlihat rata-rata kadar BUN terjadi peningkatan pada hari ke-5 hingga hari ke-1 pada kontrol negatif, kontrol positif (pioglitazone dan glibenklamid), ekstrak daun gedi merah dosis 100, 200, dan 400 mg/Kg BB tikus. Pada hari ke-22 dan hari ke-29 terjadi penurunan kadar BUN setelah tikus diberikan ekstrak etanol daun gedi merah dosis 100, 200, dan 400 mg/Kg BB tikus, dimana kelompok normal memperlihatkan kadar rata-rata normal dari kadar BUN pada kondisi tikus yang sehat sehingga dapat digunakan sebagai pembandingan terhadap kontrol negatif, kontrol positif (pioglitazone dan

glibenklamid), ekstrak daun gedi merah (EDGM) 100, 200, dan 400 mg/KgBB tikus.

Berdasarkan hasil uji *Shapiro-Wilk* pada hari ke-0, hari ke-5, hari ke-15, hari ke-22, dan hari ke-29 diperoleh bahwa data terdistribusi normal ($p > 0,05$). Data yang diperoleh dari hasil uji *homogeneity of variances* diperoleh bahwa pada hari ke-0 (T_0) dinyatakan homogen ($p > 0,05$) sehingga dapat dilanjutkan dengan dilakukan uji *One Way Anova* untuk mengetahui adanya perbedaan antara tiap-tiap kelompok dengan dilakukan uji *Post Hoc* menggunakan *Tukey* menunjukkan tidak ada perbedaan yang bermakna antara tiap-tiap kelompok. Dilakukan uji *Anova One Way* pada hari ke-5 (T_1), hari ke-15 (T_2), hari ke-22 (T_3), dan hari ke-29 (T_4) untuk mengetahui adanya perbedaan antar kelompok, dilakukan uji *post hoc* untuk mengetahui adanya perbedaan yang bermakna antara kelompok normal dengan tiap-tiap kelompok lainnya menggunakan *Tamhane's T2*. Data hasil uji *homogeneity of variances* diperoleh bahwa pada hari ke-5 (T_1), hari ke-15 (T_2), hari ke-22 (T_3), dan hari ke-29 (T_4) menunjukkan bahwa data tersebut tidak homogen ($p < 0,05$), sehingga uji *post hoc* menggunakan *Tamhane's T2* menunjukkan bahwa adanya perbedaan yang bermakna antara kelompok normal dengan kelompok lainnya, sehingga dapat disimpulkan bahwa telah terjadi peningkatan kadar BUN yang merupakan indikasi terjadinya diabetes nefropati pada hari ke-5 dan hari ke-15, sedangkan pada hari ke-22 dan hari ke-29 menunjukkan bahwa kadar BUN pada kelompok ekstrak 100, 200, dan 400 mg/KgBB tikus berbeda signifikan ($p > 0,05$) terhadap kontrol negatif sebagai kontrol DM, namun aktivitas penurunan terhadap kadar BUN belum setara dengan aktivitas pioglitazone dan glibenklamid dalam menurunkan kadar BUN.

Kelompok dosis ekstrak daun gedi merah (EDGM) 100, 200, dan 400 mg/KgBB tikus menunjukkan bahwa ekstrak etanol daun gedi merah mampu menurunkan kadar BUN. Tabel perhitungan presentase penurunan kadar BUN dapat dilihat pada tabel 8. Persentasi penurunan kadar kreatinin dapat dilihat pada lampiran 15.

Tabel 8. Persentasi penurunan kadar BUN

Kelompok	Persentasi penurunan kadar BUN (%)
Kontrol normal	-5
Kontrol negatif	-3
Pioglitazone	62,43
Glibenklamid	61,40
EDGM 100	36,77
EDGM 200	44,89
EDGM 400	56,38

Keterangan :

- = tidak terjadi penurunan kadar BUN

EDGM 100 = ekstrak etanol daun gedi merah 100 mg/Kg BB tikus

EDGM 200 = ekstrak etanol daun gedi merah 200 mg/Kg BB tikus

EDGM 400 = ekstrak etanol daun gedi merah 400 mg/Kg BB

Pada tabel persentasi penurunan kadar BUN diperoleh bahwa pioglitazone sebagai kontrol positif dapat menurunkan kadar BUN sebesar 18,22 mg/dl atau 62,43%, glibenklamid dapat menurunkan kadar BUN sebesar 19,45 mg/dl atau 61,40%, sedangkan EDGM 100 mg/KgBB ikus dapat menurunkan kadar BUN sebesar 32,53 mg/dl atau 36,77%, EDGM 200 mg/Kg BB tikus dapat menurunkan kadar BUN sebesar 27,81 mg/dl atau 44,89% dan EDGM 400 mg/KgBB tikus dapat menurunkan kadar BUN sebesar 23,56 mg/dl atau 56,38%. Dosis pemberian ekstrak etanol daun gedi merah yang diujikan pada tikus diabetes nefropati yaitu terdiri atas tiga dosis yaitu 100, 200, dan 400 mg/KgBB tikus yang secara signifikan memberikan efektivitas yaitu dosis 400 mg/KgBB tikus, namun masih lebih baik penurunan yang terjadi pada kontrol positif (pioglitazone dan glibenklamid) karena dapat menurunkan kadar BUN mendekati kontrol normal.

2. Hasil pemeriksaan kadar kreatinin

Pemeriksaan kadar kreatinin dilakukan pada T_0 yaitu sebelum diinduksi STZ-NA untuk mengetahui kadar kreatinin awal pada hewan uji, dan sebagai pembanding apakah berhasil atau tidaknya induksi STZ-NA secara intra peritoneal (i.p) pada semua kelompok uji kecuali pada kelompok uji kontrol normal. induksi STZ diberikan setelah 15 menit diinduksi NA.

Pengukuran kadar kreatinin dilakukan lagi pada hari ke-5 sebagai T_1 setelah diinduksi STZ-NA dengan tujuan untuk membuat kondisi DM tipe II dan diperpanjang hingga hari ke-15 (T_2) dilakukan pengukuran kadar kreatinin untuk memastikan apakah hewan uji telah mengalami diabetes nefropati atau belum, dimana kadar kreatinin yaitu $>1,00$ mg/dl. Hewan uji yang terindikasi DM

nefropati dengan kadar kreatinin $>1,00$ mg/dl diberikan perlakuan ekstrak daun gedi merah (EDGM) hingga hari ke-29. Hasil perhitungan rata-rata kadar kreatinin hari ke-0, hari ke-5, hari ke-15, hari ke-22 dan hari ke-29 dapat dilihat pada tabel 9.

Tabel 9. Perhitungan rata-rata kadar kreatinin setelah diinduksi STZ-NA dan setelah pemberian sediaan uji

Kelompok	Kadar BUN (Rata-rata \pm SD)				
	Hari ke-0 (T ₀)	Hari ke-5 (T ₁)	Hari ke-15 (T ₂)	Hari ke-22 (T ₃)	Hari ke-29 (T ₄)
Kontrol normal	0,57 \pm 0,08	0,61 \pm 0,01 ^{b,c,d}	0,64 \pm 0,03 ^{b,c,d}	0,65 \pm 0,03 ^{b,c,d}	0,66 \pm 0,03 ^{b,c,d}
Kontrol negatif	0,60 \pm 0,003	3,19 \pm 0,13 ^{a,c,d}	3,22 \pm 0,12 ^a	3,26 \pm 0,08 ^{a,c,d}	3,32 \pm 0,05 ^{a,c,d}
Pioglitazone	0,61 \pm 0,02	3,41 \pm 0,03 ^a	3,44 \pm 0,04 ^a	2,54 \pm 0,03 ^{a,b}	0,91 \pm 0,06 ^{a,b}
Glibenklamid	0,61 \pm 0,02	3,39 \pm 0,03 ^a	3,42 \pm 0,04 ^a	2,53 \pm 0,02 ^{a,b}	0,88 \pm 0,04 ^{a,b}
EDGM 100	0,60 \pm 0,02	3,39 \pm 0,03 ^a	3,44 \pm 0,03 ^a	3,01 \pm 0,03 ^{a,b,c,d}	2,28 \pm 0,07 ^{a,b,c,d}
EDGM 200	0,63 \pm 0,04	3,35 \pm 0,05 ^a	3,38 \pm 0,05 ^a	2,94 \pm 0,03 ^{a,b,c,d}	1,50 \pm 0,04 ^{a,b,c,d}
EDGM 400	0,61 \pm 0,02	3,38 \pm 0,04 ^a	3,40 \pm 0,06 ^a	2,71 \pm 0,04 ^{a,b,c,d}	1,04 \pm 0,07 ^{a,b,c,d}

Keterangan :

a : berbeda signifikan dengan kelompok normal

b : berbeda signifikan dengan kelompok negatif

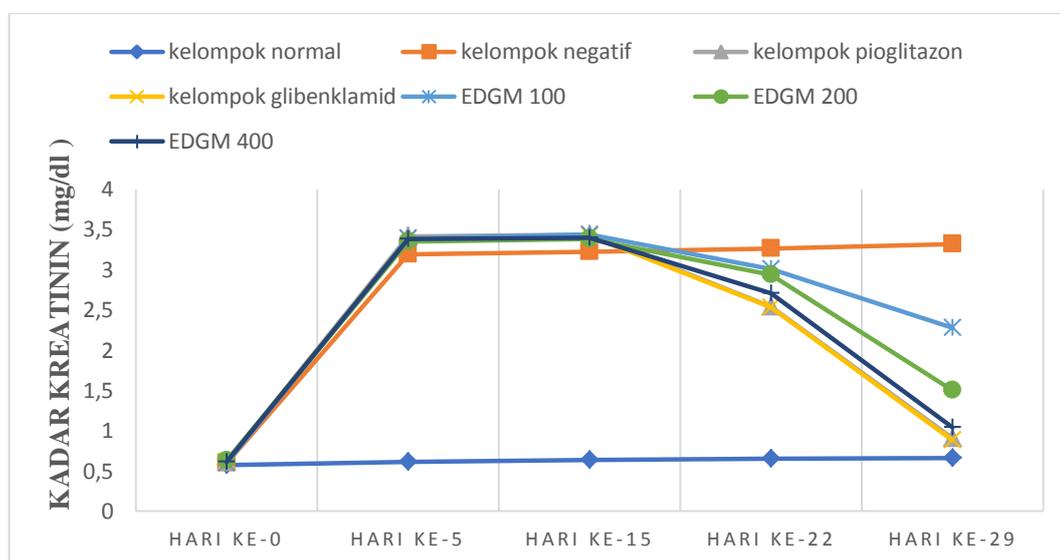
c : berbeda signifikan dengan kelompok pioglitazone

d : berbeda signifikan dengan kelompok glibenklamid

EDGM 100 = ekstrak etanol daun gedi merah 100 mg/Kg BB tikus

EDGM 200 = ekstrak etanol daun gedi merah 200 mg/Kg BB tikus

EDGM 400 = ekstrak etanol daun gedi merah 400 mg/Kg BB



Gambar 12. Grafik hubungan antara penurunan kadar kreatinin dengan waktu perlakuan.

Pada grafik di atas terlihat rata-rata kadar kreatinin terjadi peningkatan pada hari ke-5 hingga hari ke-1 pada kontrol negatif, kontrol positif (pioglitazone dan glibenklamid), ekstrak daun gedi merah dosis 100, 200, dan 400 mg/Kg BB tikus. Pada hari ke-22 dan hari ke-29 terjadi penurunan kadar kreatinin setelah

tikus diberikan ekstrak etanol daun gedi merah dosis 100, 200, dan 400 mg/Kg BB tikus, dimana kelompok normal memperlihatkan kadar rata-rata normal dari kadar kreatinin pada kondisi tikus yang sehat sehingga dapat digunakan sebagai pembandingan terhadap kontrol negatif, kontrol positif (pioglitazone dan glibenklamid), ekstrak daun gedi merah (EDGM) 100, 200, dan 400 mg/KgBB tikus.

Berdasarkan hasil uji *Shapiro-Wilk* pada hari ke-0, hari ke-5, hari ke-15, hari ke-22, dan hari ke-29 diperoleh bahwa data terdistribusi normal ($p > 0,05$). Dilakukan uji *Anova One Way* pada hari ke-0 (T_0), hari ke-5 (T_1), hari ke-15 (T_2), hari ke-22 (T_3), dan hari ke-29 (T_4) untuk mengetahui adanya perbedaan antar kelompok, dilakukan uji *post hoc* untuk mengetahui adanya perbedaan yang bermakna antara kelompok normal dengan tiap-tiap kelompok lainnya menggunakan *Tamhane's T2* dan untuk hari ke-29 (T_4) menggunakan *Tukey HSD*. Data hasil uji *homogeneity of variances* diperoleh bahwa pada hari ke-0 (T_0), hari ke-5 (T_1), hari ke-15 (T_2), dan hari ke-22 (T_3) menunjukkan bahwa data tersebut tidak homogen ($p < 0,05$), sehingga uji *post hoc* menggunakan *Tamhane's T2* sedangkan untuk hari ke-29 (T_4) diperoleh hasil uji *homogeneity of variances* yaitu ($P > 0,05$) sehingga menggunakan *Tukey HSD*, diperoleh bahwa hasil uji *post hoc* menunjukkan bahwa adanya perbedaan yang bermakna antara kelompok normal dengan kelompok lainnya, sehingga dapat disimpulkan bahwa telah terjadi peningkatan kadar kreatinin yang merupakan indikasi terjadinya diabetes nefropati pada hari ke-5 dan hari ke-15, sedangkan pada hari ke-22 dan hari ke-29 menunjukkan bahwa kadar BUN pada kelompok ekstrak 100, 200, dan 400 mg/KgBB tikus berbeda signifikan ($p > 0,05$) terhadap kontrol negatif sebagai kontrol DM, namun aktivitas penurunan terhadap kadar BUN belum setara dengan aktivitas pioglitazone dan glibenklamid dalam menurunkan kadar BUN.

Kelompok dosis ekstrak daun gedi merah (EDGM) 100, 200, dan 400 mg/KgBB tikus menunjukkan bahwa ekstrak etanol daun gedi merah mampu menurunkan kadar kreatinin. Tabel perhitungan presentase penurunan kadar kreatinin dapat dilihat pada tabel 10. Persentase penurunan kadar kreatinin dapat dilihat pada lampiran 15.

Tabel 10. Persentasi penurunan kadar kreatinin

Kelompok	Persentasi penurunan kadar kreatinin (%)
Kontrol normal	-3,13
Kontrol negatif	0
Pioglitazone	73,55
Glibenklamid	74,27
EDGM 100	33,72
EDGM 200	55,62
EDGM 400	69,41

Keterangan :

- = tidak terjadi penurunan kadar BUN

EDGM 100 = ekstrak etanol daun gedi merah 100 mg/Kg BB tikus

EDGM 200 = ekstrak etanol daun gedi merah 200 mg/Kg BB tikus

EDGM 400 = ekstrak etanol daun gedi merah 400 mg/Kg BB

Pada tabel persentasi penurunan kadar kreatinin diperoleh bahwa pioglitazone sebagai kontrol positif dapat menurunkan kadar kreatinin sebesar 0,91 mg/dl atau 73,55%, glibenklamid dapat menurunkan kadar kreatinin sebesar 0,88 mg/dl atau 75,27%, sedangkan EDGM 100 mg/KgBB ikus dapat menurunkan kadar kreatinin sebesar 2,28 mg/dl atau 33,72%, EDGM 200 mg/Kg BB tikus dapat menurunkan kadar kreatinin sebesar 1,50 mg/dl atau 55,62% dan EDGM 400 mg/KgBB tikus dapat menurunkan kadar kreatinin sebesar 1,04 mg/dl atau 69,41%. Dosis pemberian ekstrak etanol daun gedi merah yang diujikan pada tikus diabetes nefropati yaitu terdiri atas tiga dosis yaitu 100, 200, dan 400 mg/KgBB tikus yang secara signifikan memberikan efektivitas yaitu dosis 400 mg/KgBB tikus, namun masih lebih baik penurunan yang terjadi pada kontrol positif (pioglitazone dan glibenklamid) karena dapat menurunkan kadar kreatinin mendekati kontrol normal.

Streptozotocin (STZ) atau 2-deoksi-2-3-[3-(metil-3-nitrosoureido)-D-glukopiranos], STZ masuk ke sel β Langerhans melalui transporter glukosa GLUT . Alkalisasi DNA oleh STZ melalui gugus nitrosourea mengakibatkan kerusakan pada sel β pankreas. STZ mendonorkan NO (*nitric oxide*) dan meningkatkan oksigen reaktif yang memiliki peran terhadap kerusakan β pankreas. STZ menghambat siklus Krebs dan menurunkan konsumsi oksigen di mitokondria sehingga produksi ATP menurun. Penurunan ATP akan memacu peningkatan substrat enzim xantin oksidase, dimana enzim tersebut memiliki peran sebagai katalis reaksi pembentukan anion superoksida aktif yang akan membentuk hydrogen peroksida dan radikal superoksida. NO dan oksigen reaktif merupakan penyebab

utama terjadinya kerusakan sel β pankreas. Kerusakan DNA akibat STZ dapat mengaktivasi poli ADP-ribose yang kemudian mengakibatkan penekanan NAD^+ seluler, penurunan jumlah ATP, dan terjadinya penghambatan sekresi dan sintesis insulin.

Nicotinamide (NA) dapat digunakan pada saat induksi STZ untuk mencegah kerusakan pankreas menjadi lebih parah sehingga DM tidak disebabkan oleh defisiensi absolut insulin (DM tipe I) melainkan karena adanya kerusakan parsial pada pankreas (DM tipe II) (Pratiwi & Murbawan 2015).

Kondisi hiperglikemia akan mengaktifkan Protein Kinase C (PKC) melalui diasilgliserol. PKC 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 $\text{TNF-}\alpha$ dan $\text{NF}\kappa\text{B}$ serta meningkatkan aktivitas fibrotik yaitu CTGF dan $\text{TGF-}\beta$. 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.

Pemeriksaan kadar ureum serum (BUN) dan kreatinin serum merupakan indikasi terjadinya gangguan pada fungsi ginjal. Pada hasil pemeriksaan kadar BUN dan kreatinin setelah diinduksi STZ-NA terjadinya peningkatan signifikan dengan kelompok normal, hal ini menandakan STZ-NA dosis 155 mg/Kg BB tikus mampu meningkatkan kadar BUN dan kreatinin serum tikus yang menjadi penanda terjadinya diabetes nefropati.

Peningkatan kadar BUN disebabkan karena fungsi ginjal yang merupakan tempat filtrasi menurun sehingga kadar BUN akan terakumulasi dalam darah. Adanya gangguan fungsi ginjal menyebabkan laju filtrasi glomerulus menurun dan mengakibatkan ekskresi urea terganggu, karena kadar BUN menggambarkan keseimbangan antara katabolisme protein dan pembentukan urea serta ekskresi

urea oleh ginjal (Wahyono *et al.* 2007). Pengukuran BUN memberikan gambaran mengenai keadaan gungsi ginjal. Gangguan pada ginjal ditunjukkan dengan meningkatnya kadar BUN yang seharusnya dikeluarkan melalui urin masuk lagi ke dalam peredaran darah sehingga kadarnya dalam darah meningkat.

Peningkatan konsentrasi kadar kreatinin disebabkan karena penumpukan kreatinin pada darah karena klirens kreatinin terganggu di ginjal sehingga kadar di dalam darah akan meningkat karena jumlah yang dikeluarkan bersama urine lebih sedikit. Kadar kreatinin yang tinggi pada kelompok induksi menunjukkan adanya kerusakan ginjal pada hewan uji (Price & Wilson, 2006). Kerusakan ginjal pada kelompok induksi merupakan akibat dari pengaruh pemberian STZ-NA, karena perbandingan kreatinin antara kelompok normal dan kelompok induksi terdapat perbedaan yang signifikan. Salah satu manifestasi klinis yang timbul akibat streptozotosin adalah peningkatan kadar kreatinin. Peningkatan kadar kreatinin diduga akibat adanya kerusakan pada sel-sel tubuler ginjal terutama pada tubulus proksimal. Oleh karena itu, induksi STZ-NA dapat menyebabkan kerusakan pada organ ginjal yang merupakan tempat terjadinya ekskresi BUN dan kreatinin (Kamal 2014). Menurut Kishore *et al.* (2016), karakteristik diabetes nefropati yaitu dimulai dengan terjadinya stres oksidatif, respon inflamasi, penebalan membran basal, perluasan matriks mesangial, peningkatan fibrosis intestinal, kematian pada sel ginjal, terjadinya peningkatan albuminuria, peningkatan kadar BUN dan kreatinin dan pada akhirnya terjadinya gagal ginjal.

Penggunaan obat antidiabetes yang sering digunakan untuk terapi diantaranya yaitu glibenklamid yang merupakan antidiabetes golongan sulfonilurea. Glibenklamid bekerja dengan cara menstimulasi pelepasan insulin yang tersimpan dan meningkatkan sekresi insulin (Depkes 2005). Pilihan pengobatan untuk pasien diabetes dengan penyakit ginjal konis sangat terbatas, terutama pasien dengan gagal ginjal tahap akhir. Pioglitazone merupakan antidiabetes golongan thiazolidindion yang dapat memperbaiki sensitivitas insulin pada jaringan lemak, otot, dan hepar. Pioglitazone merupakan reseptor aktif gamma (PPAR- γ) yang dapat meningkatkan sensitivitas adiposit bagi insulin. Pengobatan dengan golongan thiazolidindion (TZDs) menunjukkan efek proteksi

pada ginjal dimana pengobatan dengan TZDs secara signifikan menurunkan albumin urin dan ekskresi protein pada pasien diabetes (Wang *et al.* 2017).

Pada daun gedi merah terdapat senyawa flavonoid yaitu kelompok flavon atau 3-OH tersubstitusi serta kerabatnya seperti glikosida rutin, isokuersetin, glikosida kaemperon, glikosida ramnetin, kanabestin dan kuersimeritin (Mandey 2013). Penelitian lain Chumbhale (2015), 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 BUN dan kreatinin akibat pemberian ekstrak etanol daun gedi merah disebabkan karena ekstrak etanol daun gedi merah mengandung zat aktif tersebut.

Flavonoid yang terdapat pada daun gedi merah dapat menurunkan kadar BUN dan kreatinin melalui fungsinya yang menunjukkan efek perlindungan pada ginjal diabetes dengan mengurangi stres oksidatif, hal ini dikarenakan stres oksidatif memiliki peranan yang penting dalam perkembangan komplikasi diabetes nefropati. Stres oksidatif terjadi karena hiperaktivitas jalur poliol yang diinduksi oleh hiperglikemia dan bertindak sebagai agen utama komplikasi diabetes nefropati. Manfaat flavonoid tidak hanya untuk mengurangi stres oksidatif, melainkan mengurangi nekrosis dan regenerasi sel β . Oleh karena itu, efek penurunan BUN dan kreatinin serum pada ekstrak etanol daun gedi merah disebabkan adanya kandungan flavonoid yang secara langsung bertindak untuk mengurangi stres oksidatif melalui penghambatan pembentukan radikal bebas, mengurangi degradasi glutathion (GSH) yang berfungsi sebagai enzim antioksidan dan meningkatkan GSH dan mendetoksifikasi produk reaktif oksigen dari lipid peroksidasi (LPO) (Kishore 2017). 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). Xie *et al.* (2018) mengemukakan

melalui penelitiannya terhadap efek flavonoid terhadap diabetes nefropati, menyimpulkan bahwa senyawa flavonoid dapat mengurangi apoptosis, meningkatkan sekresi insulin, menurunkan resistensi insulin, meningkatkan proliferasi sel beta dan meningkatkan translokasi GLUT 4, selain itu flavonoid memiliki efek protektif pada ginjal tikus, melalui mekanisme pensinyalan terhadap jalur PI3K/Akt. PI3K (*phosphatidylinositol 3-kinase*) yang merupakan jalur penting dalam memediasi efek metabolik insulin, sedangkan Akt berperan penting dalam proses pengambilan glukosa oleh jaringan-jaringan target insulin melalui translokasi GLUT 4 dan menstimulasi proliferasi sel-sel beta dalam pankreas (Sari & Ridwan 2016).

Induksi STZ-NA yang dilakukan terhadap hewan uji telah menyebabkan terjadinya kerusakan pada ginjal dan pankreas. Flavonoid memiliki kemampuan untuk meregenerasi sel beta pankreas, dimana flavonoid mampu menstimulasi sel-sel progenitor pada saluran pankreas untuk berdiferensiasi membentuk sel pulau Langerhans baru atau sel endokrin pada tikus DM (Sulistiyorini *et al.* 2015). Menurut Nubatonis *et al* (2013) menyatakan bahwa senyawa flavonoid dalam usaha penyembuhan diabetes meningkatkan pengeluaran insulin yang dihasilkan oleh sel beta pankreas dengan cara merubah metabolisme Ca^{2+} dan meregenerasi pulau langerhans pankreas terutama sel beta.

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 terhadap fungsi histologi 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, glutathion 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).

Senyawa tanin juga pengikat radikal bebas (ROS) dan mengaktifkan enzim antioksidan. Kerja tanin menurunkan kadar BUN dan kreatinin juga tidak secara

langsung, melainkan 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 BUN dan kreatinin melalui aksi hipoglikemik, meregenerasikan kerja insulin memberi signal insulin, melepaskan insulin dari pulau sel beta, menghambat aktivitas disakarida, aktivasi sintesis glikogen, Inhibisi glukoneogenesis, penghambatan aktivitas α -glukosidase, penghambatan ekspresi mRNA dari glikogen fosforilasa dan glukosa 6-fosfatase dan meningkatkan ekspresi Glut 4 (Barky *et al.* 2017).

BAB V

KESIMPULAN DAN SARAN

A. Kesimpulan

Berdasarkan hasil penelitian yang telah dilakukan, maka dapat disimpulkan bahwa:

1. Pertama, pemberian ekstrak etanol daun gedi merah dengan dosis 100 mg/KgBB tikus dapat menurunkan 36,77%, dosis 200 mg/KgBB tikus dapat menurunkan 44,89% dan dosis 400 mg/KgBB tikus dapat menurunkan 56,38% kadar BUN pada model tikus yang mengalami DM nefropati yang telah diinduksi STZ-NA.
2. Kedua, pemberian ekstrak etanol daun gedi merah dengan dosis 100 mg/KgBB tikus dapat menurunkan 33,72%, dosis 200 mg/KgBB tikus dapat menurunkan 55,62% dan dosis 400 mg/KgBB tikus dapat menurunkan 69,41% kadar kreatinin serum pada model tikus yang mengalami DM nefropati yang telah diinduksi STZ-NA.
3. Ketiga, dosis efektif ekstrak etanol daun gedi merah terhadap penurunan kadar BUN dan kreatinin serum pada model tikus yang mengalami DM nefropati yang telah diinduksi STZ-NA adalah dosis 400 mg/Kg BB tikus.

B. Saran

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

1. Pertama, perlu dilakukan penelitian lebih lanjut menggunakan metode dan parameter yang berbeda terkait efek antidiabetes ekstrak etanol daun gedi merah dan dengan variasi dosis yang lebih baik.
2. Kedua, perlu dilakukan fraksinasi dan isolasi senyawa daun gedi merah yang paling efektif dalam menurunkan kadar BUN dan kreatinin serum pada diabetes nefropati

DAFTAR PUSTAKA

- 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 norvegicus*) yang diinduksi aloksan. *Jurnal e-Biomedik (eBm)* 3:490.
- Aditama AP, Agil M, Laswati H. 2016. Aktivitas antiosteoporosis ekstrak etanol 96 % daun *abelmoschus manihot* L. Medik secara in vitro menggunakan sel preosteoblas mc3t3-e1. *Traditional Medicine Journal*. 21 (3): 1-8.
- Agung Endro Nugroho. (2006). Hewan Percobaan Diabetes Mellitus : Patologi Dan Mekanisme Aksi Diabetogenik, *Biodiversitas* [Skripsi]. Yogyakarta: Laboratorium Farmakologi Dan Toksikologi, Bagian Farmakologi Dan Farmasi Klinik, Fakultas Farmasi Universitas Gadjah Mada.
- Ajie RB. 2015. White dragon fruit (*Hylocereus undatus*) potential as diabetes mellitus treatment. *J Majority*. 4 (5): 69-72.
- Atangwho IJ, Ebong PE, Egbung GE, dan Obi AU. 2010. *Extract of Vernonia amygdalina* Del. (african bitter leaf) can reverse pancreatic cellular lesion after alloxan damage in the rat. *Australian Journal of Basic and Applied Sciences*. 4 (5): 711-716.
- Ansel HC. 1989. *Pengantar Bentuk Sediaan Farmasi*. Edisi IV. Farida I, penerjemah; Jakarta: Universitas Indonesia. Terjemahan dari: *Introduction to pharmaceutical Dosage Forms*. Hlm 605-608.
- Anief M. 1998. *Ilmu Meracik Obat*. Yogyakarta: Gadjah Mada University Pres. Hlm 169.
- [Anonim]. 1993. *Pedoman Pengujian dan Pengembangan Fitokimia Penapisan Farmakologi, Pengujian Fitokimia dan Pengujian Klinik*. Jakarta: Yayasan Pengembangan Obat Bahan Alam.
- America Diabetes Association. 2015. Standards of Medical Care in Diabetes 2015. *Diabetes Care*. 38 (Suppl. 1). S8-S16.
- 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.
- 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.
- Akbar B. 2010. *Tumbuhan dengan Kandungan Senyawa Aktif yang Berpotensi sebagai Bahan Antifertilitas*. Jakarta: Adibia Press.

- Alfonso AA, Mongan AE, Memah FM. 2016. Gambaran kadar kreatinin serum pada pasien penyakit ginjal kronik stadium 5 non dialysis. *Jurnal e-Biomedik (eBm)*. 4:1
- Alenzi, Faris Q. 2009. Effect of nicotinamide on experimental induced diabetes. *Iran J Allergy Asthma Immunol*; 8(1): 11-18
- Ayunda R, Andrie M, Taurina W. 2014. Uji aktivitas jamu gendong kunyit asam (*Curcuma domestica* val.; *Tamarindus indica* l.) sebagai antidiabetes pada tikus yang diinduksi *streptozotocin* [Skripsi]. Pontianak: Program Studi Farmasi, Fakultas Kedokteran, Universitas Tanjungpura Pontianak.
- Ayuningtyas NA, Heru FT, Fitrianingrum I. 2015. Efek nefrotoksik pemberian ekstrak etanol 70% daun karamunting (*Rhodomyrtus tomentosa* (Aiton) Hassk.) terhadap kadar ureum dan kreatinin serum tikus galur wistar. *Jurnal Cerebellum* 1 (4):293-305.
- Balittro. 2008. *Teknologi penyiapan simplisia terstandar tanaman obat*. <http://Balittro.litbang.deptan.go.id/indeks.php>.
- 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. 2005. Peraturan Kepala Badan Pengawas Obat dan Makanan Republik Indonesia nomor: HK.00.05.41.1384 tahun 2005 tentang Kriteria Dan Tatalaksana Pendaftaran Obat Tradisional Obat Herbal Terstandar Dan Fitofarmaka.
- 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.
- [Depkes] RI. 1985. *Cara Pembuatan Simplisia*. Jakarta: Departemen Kesehatan Republik Indonesia. Hlm 1-5.
- [Depkes] RI. 1986. *Sediaan Galenik*. Ed ke-3. Jakarta: Departemen Kesehatan RI. Hlm 3-13, 6-7, 10.
- [Depkes] RI. 1987. *Analisa Obat Tradisional*. Jilid 1. Jakarta: Departemen Kesehatan Republik Indonesia. Hal 43-49.
- [Depkes] RI. 1995. *Materia Medika Indonesia*. Jilid VI. Jakarta: Departemen Kesehatan Republik Indonesia.
- [Depkes] RI. 2000. *Inventaris Tanaman Obat*. Jilid 1. Jakarta: Departemen Kesehatan RI. Hal. 101-102.
- [Depkes] RI. 2005. *Pharmaceutical Care Untuk Penyakit Diabetes Melitus*. Jakarta: Direktorat Bina Farmasi Komunikasi Dan Klinik Direktorat Jendral Bina Kefararmasian Dan Alat Kesehatan Depkes RI. Hlm 44, 37.

- Dipiro JT, Talbert RL, Yee GC, Wells BG dan Posey L. 2005. *Pharmacotherapy A Pathophysiologic Approach*. 6th Edition. MCGraw Hill New York.
- Dipiro JT, Talbert RL, Yee GC, Wells BG dan Posey L. 2015. *Pharmacotherapy A Pathophysiologic Approach*. 9th Edition. MCGraw Hill New York.
- Djamhuri TR, Yuliet, KK. 2016. Aktivitas penghambatan pembentukan batu ginjal (*Antinefrolithiasis*) ekstrak etanol daun gedi merah (*Abelmoschus moschatus* Medik) pada tikus putih jantan. *Galenika Journal of Pharmacy*. 2 (1): 31-37.
- Eryuda F, Soleha TR. 2016. Ekstrak daun kluwih (*Artocarpus camansi*) dalam menurunkan kadar glukosa darah pada penderita diabetes mellitus. *Majority*. 5 (4): 3-5
- Farida NI, Lily A, Woro RP. 2011. Pengaruh pemberian chitosan terhadap kadar glukosa darah dan histopatologi pancreas tikus *sprague dawley* yang diinduksi aloksan. *Jurnal Kesehatan*. 4(2):131-142
- Gani N, Momuat LI, Pitoi M. 2013. Profil lipida plasma tikus wistar yang hiperkolesterolemia pada pemberian gedi merah (*Abelmoschus manihot* L.). *Jurnal Mipa Unsrat Online*. 2(1):44-49
- Giri M, Vivek J, Mahati.K. 2016. A Review on CNS Effects of abelmoschus moschatus. *Journal of Pharmaceutical Research*. 15 (1): 1
- Gunawan D, Mulyani S. 2004. *Ilmu Obat Alam: Farmakognosi*. Jilid ke-1. Jakarta: Penebar Swadaya. Hlm 9;13;87-90.
- Guyton AC dan Hall EJ. 1997. *Buku Ajar Kedokteran*. Edisi 7. Buku Kedokteran EGC. Jakarta.
- Goodman and Gilman. 2008. *Dasar Farmakologi Terapi*, edisi 10. Alih Bahasa: Amalia hanif *et al*. Jakarta: EGC.
- Gross JL *et al*. 2005. Diabetic nephropathy: Diagnosis, prevention, and treatment,. *Diabetes Care*. 28 :164-176.
- Harbone JB. 1987. *Metode Fitokimia; Penuntun Cara modern Menganalisa Tumbuhan*. Terbitan ke-2. Padmawinata K, Soediro I, penerjemah: Bandung: ITB.
- Hardiman, D. 2006. Meeting to day's standars for glycaemic control: fixed dosecombination approach. Dalam: *kumpulan makalah lengkap "The Indonesia Challenge In Endroctrinology Year 2006: Treating To Multiple Targets"*. Solo: UNS Press.

- Handayani H, Sriherfyna FH. 2016. Ekstraksi antioksidan daun sirsak metode ultrasonik bahth (kajian risio bahan : pelarut dan lama ekstraksi). *Jurnal pangan dan argoindustri* 4:262-272
- Handa SS, Khanuja SPS, Longo G, Rakesh DD. 2008. *Extraction Technologies for Medicinal and Aromatic Plants*. Trieste, Italia: CS-UNIDO. Hlm. 5, 30
- Handani AR. 2015. Pengaruh pemberian kacang panjang (*Vigna unguiculata*) terhadap struktur mikroskopis ginjal mencit (*Mus musculus*) yang diinduksi aloksan. *Jurnal Medika Veterinaria*. 9 (1): 18-22.
- 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
- Hendromartono. 2009. *Diabetes nefropati*. Dalam : Buku Ajar Ilmu Penyakit Dalam. Jilid III edisi V. Interna publishing. Jakarta. Hlm 8.
- HR Dewoto 2007, Pengembangan Obat Tradisional Indonesia Menjadi Fitofarmaka, *Majalah Kedokteran Indonesia*. 57(7): 205-211.
- Immanuel S. 2006. Pemeriksaan Laboratorium Penyulit Diabetes Melitus. Jakarta: Bagian Patologi Klinik FKUI.
- Kamal A. 2014. Impact of diabetes on renal function parameters. *Centre for Info Bio Technology*. 4: 411
- Katzung BG. 2002. *Farmakologi Dasar dan Klinik*. Bagian farmakologi fakultas kedokteran Univ. Airlangga, editor. Jakarat: Salemba Mediaka. Hlm 449-452.
- Katzung BG. 2015. *Basic And Clinical Pharmacology* 12th edition. Hlm: 755-756
- Kemenkes RI. 2009. *Farmakope Herbal*. Edisi 1. Jakarta: Kementerian Kesehatan RI.
- Kee J. 2014. *Pedoman Pemeriksaan Laboratorium & Diagnostik*. Edisi 6. Jakarta: Pusat Penerbit Buku Kedokteran EGC. hlm 89-91; 150-154.
- Kishore L, Kaur N, Singh R. 2016. Nephrorotective effect of *Paeonia emodi* via inhibition of advanced glycation end products and oxidative stress in streptozotocin-nikotinamide induced diabetic nephropathy. *Journal of FDA* 25 (2017): 576-588.
- Kumari M, Jain S. 2012. Tannins : An antinutrient with positive effect to manage diabetes. *Research Journal of Recent Science* 1 (12): 70-73.
- Lanywati E. 2001. *Diabetes Melitus Penyakit Kencing Manis*. Yogyakarta: Kanisius.

- Liu Y, Xianyin L, Xiaomei L, Yuying Z, Jingrong C. 2006. Interactions between thrombin with flavonoids from *Abelmoschus manihot* (L.) *Medicus* by CZE. 78 (64): 45.
- Lin-lin W, Xin-bo Y, Zheng-ming H, He-zhi L, Guang-xia W. 2007. In vivo and in vitro antiviral activity of hyperoside extracted from *Abelmoschus manihot* (L) medic. *Acta Pharmacol Sin.* 28 (3):404-409.
- Lian *et al.* 2007 the use of high-fat/carbohydrate diet-fed and *Streptozotocin*-treated mice as a suitable animal model of tipe 2 diabetes mellitus. *Scand. J. Lab. Anim. Sci.*
- Lydia A, Nugroho P. 2014. Buku Ajar Ilmu Penyakit Dalam: Tes Fungsi Ginjal. Jilid II. Ed ke-6. Jakarta : FK UI. hlm 250-254.
- Mamahit L. 2009. Satu senyawa steroid dari daun geddi (*Abelmoschus manihot* L. Medik) Asal Sulawesi Utara. *Chem Prog.* 2 (1): 33-36
- 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. *Journal of Research in Biology.* 4 (2): 1276-1286.
- Marliana SD, Suryanti V, Suyono. 2005. Skrining fitokimia dan analisis kromatografi lapis tipis komponen kimia buah labu siam (*Sechium edule* Jacq. Swartz.) dalam ekstrak etanol. *Biofarmasi* 3 (1): 26-36.
- Murnah, Indranila KS. 2014. Pengaruh ekstrak etanol mengkudu (*Morinda Citrifolia* L) terhadap diabetik nefropati pada tikus spraque dawley yang diinduksi *streptozotocin* (STZ). *JNH* 2 (1): 4.
- Neal MJ. 2006. *At A Glance Farmakologi Medis.* Jakarta: Erlangga. Hal 78-79.
- Notoatmodjo S. 2002. *Metodologi Penelitian Kesehatan.* Jakarta: Rineka cipta.
- Novrial D, Sulisty H, Setiawati. 2012. Perbandingan efek antidiabetik madu, glibenklamid, metformin dan kombinasinya pada tikus yang diinduksi *streptozotocin*. *Prosiding Seminar Nasional Kesehatan Jurusan Kesehatan Masyarakat; FKIK UNSOED Purwokerto, 31 Maret 2012.* Hlm. 1-15.
- Nubatonis DC, Ndaong NA, Selan YN. Pengaruh pemberian ekstrak etanol daun sambiloto (*Andrographis paniculata* Nees) terhadap histopatologi pankreas mencit (*Mus musculus*) diabetes melitus (DM) tipe I. *Jurnal Kajian Veteriner* 3 (1): 31-41.
- Patel DK, Kumar R, Laloo D, Hemalatha S. 2012. Diabetes mellitus: An overview on its pharmacological aspects and reported medicinal plants having antidiabetic activity. *Asian Pac J Trop Biomed.* 2 (5): 411-20.

- Panche AN, Diwan AD, Chandra SR. 2016. Flavonoids: An overview. *Journal of Nutritional Science* 5 : 2,3, 14.
- PERKENI. 2015. *Konsensus Pengelolaan Dan Pencegahan Diabetes Melitus Tipe 2 Di Indonesia*. PB. PERKENI. Jakarta.
- Pine ATD, Alam G, Attamin F. 2011. Standardisasi mutu ekstrak daun gedi (*Abelmoschus manihot* (L.) Medik) dan uji efek antioksidan dengan metode DPPH. [diacu 2017 September 20] Tersedia dari <http://pasca.unhas.ac.id/jurnal/files/d1043b1ce802ee8dbcb6f1dbb5626d55.pdf>.
- Plantamour (Situs Dunia Tumbuhan). 2017. Informasi Spesies. Daun Gedi *Abelmoschus manihot* L. <http://www.plantamour.com/index.php?plant=2>.
- Pratiwi Astri, 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, A. Sylvia, Lorraine Mc. Carty Wilson. 2006. *Patofisiologi : Konsep Klinis Proses-proses Penyakit*, Edisi 6. Penerjemah; Peter Anugrah. EGC: Jakarta.
- Rimbawan dan Siagian, A. 2004. *Indeks Glikemik pangan*. Jakarta: Peneba Swadaya. Hal: 53.
- Ridwan, Endi. 2013. *Etika Pemanfaatan Hewan Percobaan dalam Penelitian Kesehatan*. Jakarta: Komisi Etik Penelitian Kesehatan Fakultas Kedokteran Universitas Indonesia.
- Riset Kesehatan Dasar. 2013. Badan Penelitian dan Pengembangan Kesehatan Kementerian Kesehatan RI. Jakarta. Tersedia dari www.depkes.go.id/resources/download/general/Hasil%20Risksedas%202013.pdf.
- Rubenstein D, Wayne D, Bradley J. 2007. *Lecture Notes Kedokteran Klinis*. Jakarta: Penerbit Airlangga.
- Robinson T. 1995. *Kandungan Organik Tumbuhan Tinggi*. Edisi V. Padmawinata K, penerjemah; Bandung: ITB. Terjemahan dari: *The Organic Constituent Of Higher Plants*.
- Sandhar HK, dkk. 2011. A Review of Phytochemistry and Pharmacology of Flavonoids. *Internationale Pharmaceutica Scientia*. 1 (1): 28-37.
- Sarwar M, Attitalia IH, Abdollahi M . 2011. A review on the recent advances in pharmacological studies on medicinal plants; animal studies are done but

- clinical studies needs completing. *Asian Journal of Animal and Veterinary Advances*: 6, 867-883.
- Sari M, Ridwan A. 2016. Efektivitas ekstrak biji pinang terhadap densitas gluth 4 pada sel-sel otot rangka mencit yang terinduksi hiperklikemia. *Jurnal Sumberdaya Hayati*. 2 (2): 52-58.
- Setyowati , 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*. ISBN: 979363-0. Hlm. 275-277.
- 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 (4): 317 – 325.
- Siswanto YW. 2004. *Penanganan Hasil Panen Tanaman Obat Komersial*. Penebar Swadaya. Jakarta.
- Sinata N, Arifin H. 2016. Antidiabetes dari fraksi air daun karamunting (*Rhodomlyrtus tomentosa* (Ait.) Hassk.) terhadap kadar glukosa darah mencit diabetes. *Jurnal Sains Farmasi dan Klinis*. 3 (1): 72-78.
- Soegondo S. 2007. Uji efek penurunan kadar glukosa darah ekstrak etil daun seledri (*Apiumgraveolens* L) pada kelinci jantan [SKRIPSI]. Surakarta Fakultas Farmasi Universitas Muhammadiyah Surakarta.
- South E, Kaempe H, Tampi A. 2013. Evaluasi kandungan total polifenol dan isolasi senyawa flavonoid pada daun gedi merah (*Abelmoschus manihot* L.). *Chem Prog*. 6 (2): 86-91.
- Suharmiati. 2003. *Pengujian Bioaktivitas Anti Diabetes Mellitus Tumbuhan Obat*. Cermin Dunia Kedokteran. No. 140. Surabaya: Departemen Kesehatan RI. Hlm. 10
- Sulistyoningrum E. 2014. Perubahan seluler dan molekuler pada nefropati diabetik. *Mandala of Health* 7:514-519.
- Sulistyorini R, Sarjadi, Johan A, Djamiatun K. 2015. Pengaruh ekstrak etanol daun kelor (*Moringa oleifera*) pada ekspresi insulin dan insulinitis tikus diabetes melitus. *MKB*. 47 (2): 74.
- Sweetman S.C. 2005. *Martindale The Complete Drug Reference*. 34 th ed. UK: Pharmaceutical Press (PhP). Hlm 1141.

- Szkudelski T. 2012. Streptozotocin-nikotinamid induced diabetes in the rat. Characteristics of the experimental model. *Experimental Biology and Medicine*. 237: 481-490.
- Tahara A, Matsuyama-Yokono A, Nakano R, Someya Y, Shibasaki M. 2008. Effects of antidiabetic drugs glucose tolerance in streptozotocin-nicotinamide-induced mildly diabetic and streptozotocin-induced severely diabetic mice. *Horm Metab Res*. 40:880-886.
- 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 dan Rahardja K. 2007. *Obat-Obat Penting Khasiat, Penggunaan dan Efek-Efek Sampingnya*. Edisi ke VI. Jakarta: PT Elex Media Komputindo. Hlm. 693-713.
- Tandi J, Roem M, Yuliet. 2017. Efek nefroprotektif kombinasi ekstrak daun gedi merah dan daun kumis kucing pada tikus induksi etilen glikol. *J Trop Pharm Chem*. 4 (1) : 30.
- Tandi J, HZ Muthi'ah, Yuliet, Yusriadi. 2016. Efektivitas ekstrak daun gedi merah terhadap glukosa darah, malondialdehid, 8-hidroksi-deoksiganosin, insulin tikus diabetes. *J Trop Pharm Chem*. 3 (4): 30.
- Taroreh M, Rahardjo S, Hatuti P, Murdiati A. 2015. Ekstraksi daun gedi (*Abelmoschus manihot* L) secara sekuensial dan aktivitas antioksidannya. *AGRITECH*. 35 (3): 282.
- Voigt. 1994. *Buku Pelajaran Teknologi Farmasi*. Edisi ke-5. Soewandi SN, Widianto MB, Editor: Universitas Gajah Mada. Terjemahan dari: *Lehrbuch der Pharazeutischen technologie*. Yogyakarta.
- Verdiansah. 2016. Pemeriksaan Fungsi Ginjal. *CDK-23*. Hlm. 149.
- Wahyono D, Hakim AR dan Nugroho AE. 2007. Profil farmakokinetika sulfasetamid pada tikus gagal ginjal karena induksi uranil nitrat. *Majalah Farmasi Indonesia*, Yogyakarta: Universitas Gadjah Mada.
- Wardhani, L. K. Dan N. Sulistyani. 2012. Uji aktivitas antibakteri ekstrak etil asetat daun binahong (*Anredera scandens* (L.) Moq.) terhadap *shigella flexneri* beserta profil kromatografi lapis tipis. *Jurnal Ilmiah Kefarmasian*. 2 (1): 1-16.
- Wang W *et al*. 2017. Efficacy and safety of thiozolidinediones in diabetes patients with renal impairment: a systematic review and meta-analysis. *Scientific Reports*. 7 (1717): 1-8.
- Woodley M dan Wheland A, editor. 1995. *Pedoman Pengobatan*. Edisi pertama. Yogyakarta: Andi Offset 36-39.

WHO. 2006. [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

Xie Y, Yu W, Yu P, Bing L. 2018. Protective effects of buckwheat flavonoids on diabetic nephropathy rats via PI3K/Akt signaling pathway. *Acta Medica Mediterranea*. 34 (719): 720-729.

Yenrina Rina. 2015. *Metode Analisis Bahan Pangan dan Komponen Bioaktif*. Padang : Andalas University Press. Hlm 9

[Zorogen K. 2010. How to test blood glucose with a glucometer. www.Livestrong.com/article/230170-how-to-test-blood-glucose-with-a-glucometer/\[20 Oktober 2017\].](http://www.livestrong.com/article/230170-how-to-test-blood-glucose-with-a-glucometer/)

L

A

M

P

I

R

A

N

Lampiran 1. Surat keterangan determinasi tanaman



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

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

Nama Pemesan : Yuliati Lika Ambu
NIM : 20144283A
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 0.2-1cm, 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 Widyaningrum, 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

12/9/2017

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 : 1.076 / XII / 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
 PENURUNAN KADAR BUN DAN KREATININ SERUM PADA TIKUS DIABETES NEFROPATI YANG DIINDUKSI
 STREPTOZOTOCIN-NIKOTINAMID**

Principal investigator : Yuliaty Lika Ambu
Peneliti Utama : 20144283A

Location of research : Universitas Gajah Mada
Lokasi Tempat Penelitian

Is ethically approved
 Dinyatakan layak etik



Issued on : 09 Dec 2017

Chairman
 Ketua

Dr. Hart Wijoso, dr, Sp.FMM
 NIP-49621022 199503 1 001

Lampiran 3. Surat praktik penelitian BUN dan kreatinin



UNIVERSITAS GADJAH MADA
 Pusat Studi Pangan dan Gizi
 Jln. Teknika Utara, Berek, YOGYAKARTA 55281
 Telp. 0274 589242, 6492282 Web : www.cfns.ugm.ac.id
 Email : cfns@ugm.ac.id

SURAT KETERANGAN BEBAS PEMINJAMAN

Menerangkan bahwa yang tersebut di bawah ini :

Nama : Yuliah Lika Ambu
 Nomor Mahasiswa : 20144238A
 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

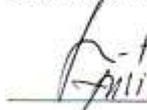
Teknisi,
 Laboratorium Mikrobiologi


 M. Agus

Teknisi,
 Laboratorium Kimia dan Biokimia


 Nugraha

Teknisi,
 Laboratorium Gizi


 F. Ali

Teknisi,
 Laboratorium Rekayasa Pangan


 Setya

Mengetahui,
 Sekretaris,




 Dr. Ir. Setyastuti Purwanti, SU
 NIP. 195203021979032001

Lampiran 4. Foto tanaman gedi merah



Foto tanaman daun gedi merah



Foto tanaman daun gedi merah kering



Foto serbuk daun gedi meah



Foto ekstrak daun gedi merah

Lampiran 5. Komposisi reagen BUN dan kreatinin

A. Komposisi reagen BUN

Nama reagen	Komposisi	Jumlah
Reagen 1	Tris pH 7,8	120 mmol/l
	2-oksoglutarate	7mmol/l
	ADH (monosodium salt)	0,6 mmol/l
	Urease	≥ 6 KU/l
	GLDH	≥ 1 KU/l
	NADH	0,25 mmol/l
Reagen 2		
Standar	Ureum	50 mg/dl

B. Komposisi reagen kreatinin

Nama reagen	Komposisi	Jumlah
Reagen 1	Sodium hydroxide	0,16 mol/l
Reagen 2	Picric acid	4,0 mmol/l
Standar	Kreatinin	2 mg/dl

Lampiran 6. Foto hewan percobaan



Foto kandang tikus



foto tikus percobaan



Foto suntik i.p



foto suntik oral



Foto pengambilan darah tikus melalui pembuluh mata tikus

Lampiran 7. Hasil presentase rendemen bobot kering terhadap bobot basah daun gedi merah

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

Perhitungan rendemen :

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

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

$$= 18,88\%$$

Lampiran 8. Hasil penetapan kadar air serbuk daun gedi merah

No	Berat serbuk (g)	Volume terbaca (ml)	Kadar air (%)
4.	20,0	1,5	7,5
5.	20,0	1,4	7,0
6.	20,0	1,4	7,0
Rata-rata±SD			7,167±0,289

Rumus perhitungan kadar air (%) :

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

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

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

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

Lampiran 9. Perhitungan rendemen ekstrak daun gedi meah

Bobot serbuk (g)	Bobot ekstrak + wadah (g)	Bobot wadah (g)	Bobot ekstrak (g)	Rendemen (%)
1500,00	404,25	328,37	75,88	5,05

$$\begin{aligned}\text{Rendemen ekstrak} &= \frac{\text{berat esktrak}}{\text{berat serbuk}} \times 100\% \\ &= \frac{75,88}{1500} \times 100\% \\ &= 5,05 \%\end{aligned}$$

Hasil rendemen ekstrak daun gedi merah yang diperoleh sebesar 5,05 %

Lampiran 10. Hasil identifikasi kandungan kimia ekstrak daun geddi merah**1. Flavonoid**

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

→ Warna kuning pada lapisan amil alkohol (+)

2. Alkaloid

ekstrak + Reagen Dragendroff 2 tetes

→ endapan dan kekeruhan berwarna coklat (-)

3. Tanin

ekstrak + 20 mL air panas, disaring + FeCl₃ 5 tetes

→ warna hijau kehitaman (+)

4. Saponin

ekstrak + 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	
falvonoid				Menghasilkan warna biru dan merah keunguan dibawah sinar UV 366 setelah disemprot amonia.
Tanin				Menghasilkan warna ungu dibawah sinar UV 366 setelah di semprot FeCl ₃ .
Saponin				Menghasilkan warna biru keunguan dibawah sinar UV 366 setelah disemprotkan anisaldehyd.
Alkaloid				Menghasilkan warna ungu dibawah sinar UV 366 setelah disemprot Dragendrof.

Lampiran 11. 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 ke dalam 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 ke dalam 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 dihaluskan dan dilarutkan dalam 100 ml larutan Na CMC 0,5%.

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

$$\text{Dosis glibenklamid untuk tikus (200 g)} = 5 \text{ mg} \times 0,018$$

$$= 0,09 \text{ mg/200 gram BB tikus} \\ (0,45 \text{ mg/kg BB tikus})$$

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

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

- 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 dihaluskan 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 12. Hasil penimbangan berat badan hewan uji dan dosis pemberian

Perlakuan	Tikus T0 (gram)	Tikus T1 (gram)	Tikus T2 (gram)	Tikus T3 (gram)	Tikus T4 (gram)
Kontrol normal	208	213	222	229	238
	214	220	228	235	243
	207	211	220	228	237
	215	222	229	235	242
	213	218	225	234	240
Kontrol negatif (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 13. Hasil pengukuran kadar BUN

A. Pengukuran kadar BUN hari ke-0 (T_0)

Kelompok	Kode	nilai	A1	A2	absorbansi	Rata-rata \pm SD
I	01:01	sampel	0,120	0,087	10,78	10,85 \pm 0,43
	01:02		0,113	0,081	10,46	
	01:03		0,127	0,093	11,11	
	01:04		0,124	0,092	10,46	
	01:05		0,126	0,091	11,44	
		standar	0,289	0,136		
II	02:01	sampel	0,130	0,099	10,13	10,52 \pm 0,91
	02:02		0,120	0,086	11,11	
	02:03		0,123	0,094	9,48	
	02:04		0,126	0,090	11,76	
	02:05		0,120	0,089	10,13	
		standar	0,289	0,136		
III	03:01	sampel	0,131	0,098	10,78	11,11 \pm 0,52
	03:02		0,128	0,094	11,11	
	03:03		0,133	0,098	11,44	
	03:04		0,132	0,096	11,76	
	03:05		0,127	0,095	10,46	
		standar	0,289	0,136		
IV	04:01	sampel	0,131	0,096	11,44	11,37 \pm 0,43
	04:02		0,125	0,089	11,76	
	04:03		0,129	0,095	11,11	
	04:04		0,123	0,090	10,78	
	04:05		0,130	0,094	11,76	
		standar	0,289	0,136		
V	05:01	sampel	0,121	0,087	11,11	10,92 \pm 0,37
	05:02		0,129	0,094	11,44	
	05:03		0,130	0,098	10,46	
	05:04		0,125	0,092	10,78	
	05:05		0,128	0,095	10,78	
		standar	0,289	0,136		
VI	06:01	sampel	0,134	0,103	10,13	10,98 \pm 0,55
	06:02		0,133	0,098	11,44	
	06:03		0,129	0,096	10,78	
	06:04		0,131	0,097	11,11	
	06:05		0,130	0,095	11,44	
		standar	0,289	0,136		
VII	07:01	sampel	0,132	0,096	11,76	11,18 \pm 0,63
	07:02		0,130	0,099	10,13	
	07:03		0,131	0,096	11,44	
	07:04		0,128	0,094	11,11	
	07:05		0,133	0,098	11,44	
		standar	0,289	0,136		

B. Pengukuran kadar BUN hari ke-5 (T₁)

Kelompok	Kode	nilai	A1	A2	absorbansi	Rata-rata ±SD
I	01:01	sampel	0,119	0,085	10,90	11,09±0,43
	01:02		0,117	0,081	11,54	
	01:03		0,124	0,088	11,54	
	01:04		0,116	0,083	10,58	
	01:05		0,116	0,082	10,90	
		standar	0,285	0,129		
II	02:01	sampel	0,251	0,099	48,72	48,85±1,08
	02:02		0,257	0,106	48,40	
	02:03		0,243	0,094	47,76	
	02:04		0,249	0,097	48,72	
	02:05		0,250	0,092	50,64	
		standar	0,285	0,129		
III	03:01	sampel	0,231	0,077	49,36	47,50±3,57
	03:02		0,216	0,083	42,63	
	03:03		0,244	0,081	52,24	
	03:04		0,230	0,085	46,47	
	03:05		0,235	0,089	46,79	
		standar	0,285	0,129		
IV	04:01	sampel	0,241	0,075	53,21	48,78±3,36
	04:02		0,230	0,090	44,87	
	04:03		0,229	0,078	48,40	
	04:04		0,238	0,093	46,47	
	04:05		0,235	0,076	50,96	
		standar	0,285	0,129		
V	05:01	sampel	0,257	0,091	53,21	50,06±3,20
	05:02		0,242	0,074	53,85	
	05:03		0,227	0,080	47,12	
	05:04		0,235	0,084	48,40	
	05:05		0,230	0,081	47,76	
		standar	0,285	0,129		
VI	06:01	sampel	0,219	0,082	43,91	48,53±7,27
	06:02		0,250	0,082	53,85	
	06:03		0,261	0,083	57,05	
	06:04		0,221	0,099	39,10	
	06:05		0,242	0,090	48,72	
		standar	0,285	0,129		
VII	07:01	sampel	0,238	0,092	46,79	52,76±6,39
	07:02		0,240	0,086	49,36	
	07:03		0,255	0,083	55,13	
	07:04		0,285	0,089	62,82	
	07:05		0,237	0,082	49,68	
		standar	0,285	0,129		

C. Pengukuran BUN hari ke-15 (T₂)

Kelompok	Kode	nilai	A1	A2	absorbansi	Rata-rata ±SD
I	01:01	sampel	0,124	0,090	11,18	11,45±0,36
	01:02		0,122	0,086	11,84	
	01:03		0,127	0,091	11,84	
	01:04		0,121	0,087	11,18	
	01:05		0,118	0,084	11,18	
		standar	0,278	0,126		
II	02:01	sampel	0,249	0,089	52,63	50,92±1,79
	02:02		0,253	0,094	52,30	
	02:03		0,244	0,096	48,68	
	02:04		0,250	0,100	49,34	
	02:05		0,252	0,095	51,64	
		standar	0,278	0,126		
III	03:01	sampel	0,233	0,080	50,33	48,49±3,69
	03:02		0,219	0,087	43,42	
	03:03		0,246	0,084	53,29	
	03:04		0,233	0,090	47,04	
	03:05		0,238	0,091	48,36	
		standar	0,278	0,126		
IV	04:01	sampel	0,245	0,080	54,28	50,39±2,93
	04:02		0,229	0,087	46,71	
	04:03		0,234	0,084	49,34	
	04:04		0,236	0,086	49,34	
	04:05		0,247	0,088	52,30	
		standar	0,278	0,126		
V	05:01	sampel	0,250	0,082	55,26	51,45±3,07
	05:02		0,250	0,085	54,28	
	05:03		0,238	0,090	48,68	
	05:04		0,233	0,082	49,67	
	05:05		0,235	0,085	49,34	
		standar	0,278	0,126		
VI	06:01	sampel	0,224	0,086	45,39	50,46±6,59
	06:02		0,258	0,090	55,26	
	06:03		0,270	0,093	58,22	
	06:04		0,218	0,089	42,43	
	06:05		0,237	0,082	50,99	
		standar	0,278	0,126		
VII	07:01	sampel	0,237	0,087	49,34	54,01±6,05
	07:02		0,248	0,093	50,99	
	07:03		0,258	0,086	56,58	
	07:04		0,283	0,090	63,49	
	07:05		0,239	0,088	49,67	
		standar	0,278	0,126		

D. Pengukuran BUN hari ke-22 (T₃)

Kelompok	Kode	nilai	A1	A2	absorbansi	Rata-rata ±SD
I	01:01	sampel	0,121	0,087	11,56	11,90±0,42
	01:02		0,119	0,084	11,90	
	01:03		0,126	0,089	12,59	
	01:04		0,117	0,083	11,56	
	01:05		0,115	0,080	11,90	
		standar	0,276	0,129		
II	02:01	sampel	0,246	0,088	53,74	51,97±2,00
	02:02		0,247	0,090	53,40	
	02:03		0,236	0,091	49,32	
	02:04		0,240	0,092	50,34	
	02:05		0,243	0,087	53,06	
		standar	0,276	0,129		
III	03:01	sampel	0,167	0,078	30,27	31,29±1,44
	03:02		0,180	0,085	32,31	
	03:03		0,179	0,084	32,31	
	03:04		0,166	0,080	29,25	
	03:05		0,178	0,083	32,31	
		standar	0,276	0,129		
IV	04:01	sampel	0,171	0,079	31,29	30,88±0,66
	04:02		0,176	0,083	31,63	
	04:03		0,169	0,081	29,93	
	04:04		0,178	0,088	30,61	
	04:05		0,176	0,085	30,95	
		standar	0,276	0,129		
V	05:01	sampel	0,276	0,080	66,67	44,90±12,25
	05:02		0,199	0,081	40,14	
	05:03		0,204	0,086	40,14	
	05:04		0,199	0,080	40,48	
	05:05		0,191	0,082	37,07	
		standar	0,276	0,129		
VI	06:01	sampel	0,198	0,082	39,46	36,80±1,96
	06:02		0,197	0,087	37,41	
	06:03		0,200	0,090	37,41	
	06:04		0,186	0,084	34,69	
	06:05		0,184	0,081	35,03	
		standar	0,276	0,129		
VII	07:01	sampel	0,174	0,083	30,95	32,31±1,90
	07:02		0,180	0,088	31,29	
	07:03		0,184	0,084	34,01	
	07:04		0,189	0,087	34,69	
	07:05		0,175	0,085	30,61	
		standar	0,276	0,129		

E. Pengukuran BUN hari ke-29 (T₄)

Kelompok	Kode	nilai	A1	A2	absorbansi	Rata-rata ±SD
I	01:01	sampel	0,125	0,091	11,64	11,99±0,42
	01:02		0,124	0,089	11,99	
	01:03		0,130	0,093	12,67	
	01:04		0,123	0,089	11,64	
	01:05		0,120	0,085	11,99	
		standar	0,274	0,128		
II	02:01	sampel	0,249	0,094	53,08	52,47±1,93
	02:02		0,253	0,095	54,11	
	02:03		0,239	0,094	49,66	
	02:04		0,242	0,092	51,37	
	02:05		0,249	0,091	54,11	
		standar	0,274	0,128		
III	03:01	sampel	0,140	0,087	18,15	18,22±2,67
	03:02		0,136	0,090	15,75	
	03:03		0,152	0,092	20,55	
	03:04		0,138	0,093	15,41	
	03:05		0,150	0,088	21,23	
		standar	0,274	0,128		
IV	04:01	sampel	0,142	0,086	19,18	19,45±1,12
	04:02		0,146	0,090	19,18	
	04:03		0,140	0,087	18,15	
	04:04		0,153	0,091	21,23	
	04:05		0,146	0,089	19,52	
		standar	0,274	0,128		
V	05:01	sampel	0,185	0,086	33,90	32,53±2,21
	05:02		0,176	0,088	30,14	
	05:03		0,191	0,090	34,59	
	05:04		0,186	0,087	33,90	
	05:05		0,180	0,092	30,14	
		standar	0,274	0,128		
VI	06:01	sampel	0,170	0,085	29,11	27,81±1,34
	06:02		0,174	0,091	28,42	
	06:03		0,177	0,093	28,77	
	06:04		0,165	0,088	26,37	
	06:05		0,164	0,087	26,37	
		standar	0,274	0,128		
VII	07:01	sampel	0,151	0,086	22,26	23,56±1,79
	07:02		0,156	0,091	22,26	
	07:03		0,160	0,085	25,68	
	07:04		0,164	0,090	25,34	
	07:05		0,154	0,089	22,26	
		standar	0,274	0,128		

Lampiran 14. Hasil pengukuran kadar kreatinin

A. Pengukuran kadar kreainin hari ke-0 (T_0)

Kelompok	Kode	nilai	A1	A2	kadar	rata2 \pm SD
I	01:01	sampel	0,094	0,132	0,58	0,57 \pm 0,08
	01:02		0,098	0,132	0,52	
	01:03		0,091	0,132	0,63	
	01:04		0,101	0,132	0,47	
	01:05		0,089	0,132	0,66	
		standar	0,096	0,227		
II	02:01	sampel	0,099	0,135	0,55	0,60 \pm 0,03
	02:02		0,093	0,133	0,61	
	02:03		0,107	0,147	0,61	
	02:04		0,103	0,143	0,61	
	02:05		0,092	0,133	0,63	
		standar	0,096	0,227		
III	03:01	sampel	0,095	0,134	0,60	0,61 \pm 0,02
	03:02		0,097	0,137	0,61	
	03:03		0,093	0,135	0,64	
	03:04		0,101	0,140	0,60	
	03:05		0,108	0,146	0,58	
		standar	0,096	0,227		
IV	04:01	sampel	0,092	0,132	0,61	0,61 \pm 0,02
	04:02		0,097	0,137	0,61	
	04:03		0,105	0,145	0,61	
	04:04		0,103	0,144	0,63	
	04:05		0,107	0,145	0,58	
		standar	0,096	0,227		
V	05:01	sampel	0,099	0,137	0,58	0,60 \pm 0,02
	05:02		0,102	0,141	0,60	
	05:03		0,106	0,145	0,60	
	05:04		0,101	0,140	0,60	
	05:05		0,098	0,139	0,63	
		standar	0,096	0,227		
VI	06:01	sampel	0,101	0,140	0,60	0,63 \pm 0,04
	06:02		0,097	0,140	0,66	
	06:03		0,094	0,136	0,64	
	06:04		0,090	0,134	0,67	
	06:05		0,099	0,138	0,60	
		standar	0,096	0,227		
VII	07:01	sampel	0,096	0,137	0,63	0,61 \pm 0,02
	07:02		0,092	0,131	0,60	
	07:03		0,098	0,138	0,61	
	07:04		0,100	0,140	0,61	
	07:05		0,095	0,133	0,58	
		standar	0,096	0,227		

B. Pengukuran kadar kreatinin hari ke-5 (T₁)

Kelompok	Kode	nilai	A1	A2	kadar	rata2 ±SD
I	01:01	sampel	0,102	0,138	0,59	0,61±0,01
	01:02		0,097	0,135	0,62	
	01:03		0,111	0,148	0,61	
	01:04		0,098	0,136	0,62	
	01:05		0,095	0,133	0,62	
		standar	0,092	0,214		
II	02:01	sampel	0,099	0,299	3,28	3,19±0,13
	02:02		0,109	0,295	3,05	
	02:03		0,103	0,307	3,34	
	02:04		0,101	0,288	3,07	
	02:05		0,098	0,295	3,23	
		standar	0,092	0,214		
III	03:01	sampel	0,095	0,303	3,41	3,41±0,03
	03:02		0,099	0,309	3,44	
	03:03		0,106	0,311	3,36	
	03:04		0,108	0,315	3,39	
	03:05		0,096	0,305	3,43	
		standar	0,092	0,214		
IV	04:01	sampel	0,102	0,308	3,38	3,39±0,03
	04:02		0,101	0,309	3,41	
	04:03		0,105	0,310	3,36	
	04:04		0,107	0,314	3,39	
	04:05		0,099	0,308	3,43	
		standar	0,092	0,214		
V	05:01	sampel	0,098	0,307	3,43	3,39±0,03
	05:02		0,102	0,310	3,41	
	05:03		0,099	0,305	3,38	
	05:04		0,102	0,307	3,36	
	05:05		0,104	0,311	3,39	
		standar	0,092	0,214		
VI	06:01	sampel	0,104	0,307	3,33	3,35±0,05
	06:02		0,101	0,309	3,41	
	06:03		0,101	0,304	3,33	
	06:04		0,099	0,300	3,30	
	06:05		0,109	0,315	3,38	
		standar	0,092	0,214		
VII	07:01	sampel	0,101	0,309	3,41	3,38±0,04
	07:02		0,098	0,305	3,39	
	07:03		0,103	0,308	3,36	
	07:04		0,103	0,305	3,31	
	07:05		0,099	0,307	3,41	
		standar	0,092	0,214		

C. Pengukuran kadar kreatinin hari ke-15 (T₂)

Kelompok	Kode	nilai	A1	A2	kadar	rata2 ±SD
I	01:01	sampel	0,096	0,133	0,60	0,64±0,03
	01:02		0,108	0,149	0,66	
	01:03		0,101	0,140	0,63	
	01:04		0,099	0,138	0,63	
	01:05		0,102	0,143	0,66	
		standar	0,097	0,221		
II	02:01	sampel	0,109	0,313	3,29	3,22±0,12
	02:02		0,103	0,294	3,08	
	02:03		0,102	0,310	3,35	
	02:04		0,098	0,290	3,10	
	02:05		0,104	0,306	3,26	
		standar	0,097	0,221		
III	03:01	sampel	0,108	0,322	3,45	3,44±0,04
	03:02		0,101	0,315	3,45	
	03:03		0,098	0,308	3,39	
	03:04		0,099	0,310	3,40	
	03:05		0,102	0,318	3,48	
		standar	0,097	0,221		
IV	04:01	sampel	0,101	0,312	3,40	3,42±0,04
	04:02		0,099	0,314	3,47	
	04:03		0,097	0,306	3,37	
	04:04		0,102	0,313	3,40	
	04:05		0,103	0,318	3,47	
		standar	0,097	0,221		
V	05:01	sampel	0,107	0,321	3,45	3,44±0,03
	05:02		0,098	0,310	3,42	
	05:03		0,102	0,318	3,48	
	05:04		0,099	0,309	3,39	
	05:05		0,097	0,310	3,44	
		standar	0,097	0,221		
VI	06:01	sampel	0,102	0,310	3,35	3,38±0,05
	06:02		0,099	0,313	3,45	
	06:03		0,097	0,305	3,35	
	06:04		0,102	0,309	3,34	
	06:05		0,101	0,311	3,39	
		standar	0,097	0,221		
VII	07:01	sampel	0,100	0,314	3,45	3,40±0,06
	07:02		0,099	0,312	3,44	
	07:03		0,101	0,310	3,37	
	07:04		0,104	0,310	3,32	
	07:05		0,102	0,315	3,44	
		standar	0,097	0,221		

D. Pengukuran kadar kreatinin hari ke-22 (T₃)

Kelompok	Kode	nilai	A1	A2	kadar	rata2 ±SD
I	01:01	sampel	0,092	0,169	0,61	0,65±0,03
	01:02		0,099	0,184	0,67	
	01:03		0,096	0,178	0,65	
	01:04		0,093	0,175	0,65	
	01:05		0,098	0,183	0,67	
	standar	0,092	0,219			
II	02:01	sampel	0,099	0,518	3,30	3,26±0,08
	02:02		0,097	0,505	3,21	
	02:03		0,098	0,525	3,36	
	02:04		0,101	0,501	3,15	
	02:05		0,097	0,512	3,27	
	standar	0,092	0,219			
III	03:01	sampel	0,102	0,425	2,54	2,54±0,03
	03:02		0,098	0,420	2,54	
	03:03		0,093	0,410	2,50	
	03:04		0,096	0,419	2,54	
	03:05		0,097	0,426	2,59	
	standar	0,092	0,219			
IV	04:01	sampel	0,098	0,418	2,52	2,53±0,02
	04:02		0,096	0,422	2,57	
	04:03		0,092	0,412	2,52	
	04:04		0,099	0,419	2,52	
	04:05		0,101	0,423	2,54	
	standar	0,092	0,219			
V	05:01	sampel	0,100	0,484	3,02	3,01±0,03
	05:02		0,097	0,478	3,00	
	05:03		0,094	0,470	2,96	
	05:04		0,096	0,482	3,04	
	05:05		0,091	0,473	3,01	
	standar	0,092	0,219			
VI	06:01	sampel	0,098	0,472	2,94	2,94±0,03
	06:02		0,094	0,472	2,98	
	06:03		0,092	0,468	2,96	
	06:04		0,098	0,469	2,92	
	06:05		0,095	0,466	2,92	
	standar	0,092	0,219			
VII	07:01	sampel	0,094	0,442	2,74	2,71±0,04
	07:02		0,091	0,439	2,74	
	07:03		0,097	0,435	2,66	
	07:04		0,099	0,440	2,69	
	07:05		0,098	0,445	2,73	
	standar	0,092	0,219			

E. Pengukuran kadar kreatinin hari ke-29 (T₄)

Kelompok	Kode	nilai	A1	A2	absorbansi	Rata-rata ±SD
I	01:01	sampel	0,097	0,174	0,62	0,66±0,03
	01:02		0,092	0,178	0,69	
	01:03		0,098	0,180	0,66	
	01:04		0,095	0,176	0,65	
	01:05		0,099	0,184	0,68	
	standar	0,095	0,220			
II	02:01	sampel	0,092	0,515	3,38	3,32±0,05
	02:02		0,090	0,501	3,29	
	02:03		0,096	0,517	3,37	
	02:04		0,089	0,499	3,28	
	02:05		0,093	0,505	3,30	
	standar	0,095	0,220			
III	03:01	sampel	0,092	0,210	0,94	0,91±0,06
	03:02		0,091	0,206	0,92	
	03:03		0,097	0,201	0,83	
	03:04		0,095	0,203	0,86	
	03:05		0,090	0,212	0,98	
	standar	0,095	0,220			
IV	04:01	sampel	0,097	0,202	0,84	0,88±0,04
	04:02		0,094	0,208	0,91	
	04:03		0,093	0,206	0,90	
	04:04		0,100	0,203	0,82	
	04:05		0,094	0,207	0,90	
	standar	0,095	0,220			
V	05:01	sampel	0,093	0,383	2,32	2,28±0,07
	05:02		0,090	0,378	2,30	
	05:03		0,098	0,370	2,18	
	05:04		0,093	0,385	2,34	
	05:05		0,091	0,372	2,25	
	standar	0,095	0,220			
VI	06:01	sampel	0,099	0,285	1,49	1,50±0,04
	06:02		0,094	0,280	1,49	
	06:03		0,092	0,281	1,51	
	06:04		0,091	0,284	1,54	
	06:05		0,097	0,278	1,45	
	standar	0,095	0,220			
VII	07:01	sampel	0,090	0,226	1,09	1,04±0,07
	07:02		0,093	0,221	1,02	
	07:03		0,099	0,219	0,96	
	07:04		0,097	0,223	1,01	
	07:05		0,089	0,230	1,13	
	standar	0,095	0,220			

Lampiran 15. Penentuan persentasi penurunan kadar BUN

Kelompok	Kadar BUN (mg/dl)				
	Hari ke-0 T ₀	Hari ke-5 T ₁	Hari ke-15 T ₂	Hari ke-22 T ₃	Hari ke-29 T ₄
I	10,85±0,43	11,09±0,43	11,45±0,36	11,90±0,42	11,99±0,42
II	10,52±0,19	48,85±1,08	50,92±1,79	51,97±2,00	52,47±1,93
III	11,11±0,52	47,50±3,57	48,49±3,69	31,29±1,44	18,22±2,67
IV	11,37±0,43	48,78±3,36	50,39±2,93	30,88±0,66	19,45±1,12
V	10,92±0,37	50,06±3,20	51,45±3,07	44,90±12,25	32,53±2,21
VI	10,98±0,55	48,53±7,27	50,46±6,59	36,80±1,96	27,81±1,34
VII	11,18±0,63	52,76±6,39	54,01±6,05	32,31±1,90	23,56±1,79

Rumus perhitungan persentase penurunan kadar BUN :

$$\text{Rumus perhitungan} = \frac{(\text{kadar BUN T}_2 - \text{kadar BUN T}_4)}{(\text{Kadar BUN T}_2)} \times 100\%$$

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

Kelompok	Persentase penurunan kadar BUN (%)
Kontrol normal	-5
Kontrol negatif	-3
Pioglitazone	62,43
Glibenklamid	61,40
EDGM 100	36,77
EDGM 200	44,89
EDGM 400	56,38

Lampiran 16. Penentuan persentasi penurunan kadar kreatinin

Kelompok	Kadar BUN (mg/dl)				
	Hari ke-0 T ₀	Hari ke-5 T ₁	Hari ke-15 T ₂	Hari ke-22 T ₃	Hari ke-29 T ₄
I	0,57±0,08	0,61±0,01	0,64±0,03	0,65±0,03	0,66±0,03
II	0,60±0,03	3,19±0,13	3,22±0,12	3,26±0,08	3,32±0,05
III	0,61±0,02	3,41±0,03	3,44±0,04	2,54±0,03	0,91±0,06
IV	0,61±0,02	3,39±0,03	3,42±0,04	2,53±0,02	0,88±0,04
V	0,60±0,02	3,39±0,03	3,44±0,03	3,01±0,03	2,28±0,07
VI	0,63±0,04	3,35±0,05	3,38±0,05	2,94±0,03	1,50±0,04
VII	0,61±0,02	3,38±0,04	3,40±0,06	2,71±0,04	1,04±0,07

Rumus perhitungan persentase penurunan kadar kreatinin :

$$\text{Rumus perhitungan} = \frac{(\text{kadar kreatinin T2-kadar kreatinin T4})}{(\text{Kadar kreatinin T2})} \times 100\%$$

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

Rumus perhitungan persentase penurunan kadar kreatinin :

Kelompok	Persentase penurunan kadar kreatinin (%)
Kontrol normal	-3,13
Kontrol negatif	0
Pioglitazone	73,55
Glibenklamid	74,27
EDGM 100	33,72
EDGM 200	55,62
EDGM 400	69,41

Lampiran 17. Hasil analisis statistik kadar BUN

A. Hari ke-0 (T_0)

	kelompokperlakuan	Kolmogorov-Smirnov ^a			Shapiro-Wilk		
		Statistic	df	Sig.	Statistic	df	Sig.
BUN	kelompok kontrol normal	.220	5	.200*	.901	5	.417
	kelompok negatif	.268	5	.200*	.938	5	.653
	kelompok pioglitazon	.139	5	.200*	.985	5	.961
	kelompok glibenklamid	.220	5	.200*	.901	5	.417
	EDGM 100	.240	5	.200*	.959	5	.802
	EDGM 200	.201	5	.200*	.882	5	.319
	EDGM 400	.263	5	.200*	.857	5	.216

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

a. Lilliefors Significance Correction

Harga signifikansi uji *Shapiro-Wilk* terhadap data BUN hari ke-0 diperoleh masing-masing kelompok $> 0,05$ berarti setiap data pada masing-masing kelompok terdistribusi normal sehingga dilanjutkan dengan uji ANOVA.

Test of Homogeneity of Variances

BUN

Levene Statistic	df1	df2	Sig.
1.329	6	28	.277

Nilai probabilitas Lavene Statistic adalah $0,277 > 0,05$ yang artinya bahwa kadar BUN hari ke-0 memiliki varians yang homogen.

ANOVA

kelompokperlakuan

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	19.375	6	3.229	.750	.615
Within Groups	120.625	28	4.308		
Total	140.000	34			

Dari hasil uji ANOVA diperoleh signifikansi yaitu $0,615 > 0,05$ berarti tidak adanya perbedaan kadar BUN pada hari ke-0 pada masing-masing kelompok, selanjutnya dilakukan post hoc menggunakan uji *Tukay HSD* untuk mengetahui perbedaan kadar BUN yang bermakna dalam setiap kelompok.

Post Hoc Tests

Multiple Comparisons

Dependent Variable: BUN

Tukey HSD

(I) kelompokperlakuan	(J) kelompokperlakuan	Mean Difference (I-J)	Std. Error	Sig.	95% Confidence Interval	
					Lower Bound	Upper Bound
kelompok kontrol normal	kelompok negatif	.32800	.36100	.968	-.8171	1.4731
	kelompok pioglitazon	-.26000	.36100	.990	-1.4051	.8851
	kelompok glibenklamid	-.52000	.36100	.776	-1.6651	.6251
	EDGM 100	-.06400	.36100	1.000	-1.2091	1.0811
	EDGM 200	-.13000	.36100	1.000	-1.2751	1.0151
EDGM 400	-.32600	.36100	.969	-1.4711	.8191	
kelompok negatif	kelompok kontrol normal	-.32800	.36100	.968	-1.4731	.8171
	kelompok pioglitazon	-.58800	.36100	.666	-1.7331	.5571
	kelompok glibenklamid	-.84800	.36100	.257	-1.9931	.2971
	EDGM 100	-.39200	.36100	.927	-1.5371	.7531
	EDGM 200	-.45800	.36100	.860	-1.6031	.6871
EDGM 400	-.65400	.36100	.552	-1.7991	.4911	
kelompok pioglitazon	kelompok kontrol normal	.26000	.36100	.990	-.8851	1.4051
	kelompok negatif	.58800	.36100	.666	-.5571	1.7331
	kelompok glibenklamid	-.26000	.36100	.990	-1.4051	.8851
	EDGM 100	.19600	.36100	.998	-.9491	1.3411
	EDGM 200	.13000	.36100	1.000	-1.0151	1.2751
EDGM 400	-.06600	.36100	1.000	-1.2111	1.0791	
kelompok glibenklamid	kelompok kontrol normal	.52000	.36100	.776	-.6251	1.6651
	kelompok negatif	.84800	.36100	.257	-.2971	1.9931
	kelompok pioglitazon	.26000	.36100	.990	-.8851	1.4051
	EDGM 100	.45600	.36100	.863	-.6891	1.6011
	EDGM 200	.39000	.36100	.929	-.7551	1.5351
EDGM 400	.19400	.36100	.998	-.9511	1.3391	
EDGM 100	kelompok kontrol normal	.06400	.36100	1.000	-1.0811	1.2091
	kelompok negatif	.39200	.36100	.927	-.7531	1.5371
	kelompok pioglitazon	-.19600	.36100	.998	-1.3411	.9491
	kelompok glibenklamid	-.45600	.36100	.863	-1.6011	.6891
	EDGM 200	-.06600	.36100	1.000	-1.2111	1.0791
EDGM 400	-.26200	.36100	.990	-1.4071	.8831	
EDGM 200	kelompok kontrol normal	.13000	.36100	1.000	-1.0151	1.2751
	kelompok negatif	.45800	.36100	.860	-.6871	1.6031
	kelompok pioglitazon	-.13000	.36100	1.000	-1.2751	1.0151
	kelompok glibenklamid	-.39000	.36100	.929	-1.5351	.7551
	EDGM 100	.06600	.36100	1.000	-1.0791	1.2111
EDGM 400	-.19600	.36100	.998	-1.3411	.9491	
EDGM 400	kelompok kontrol normal	.32600	.36100	.969	-.8191	1.4711
	kelompok negatif	.65400	.36100	.552	-.4911	1.7991
	kelompok pioglitazon	.06600	.36100	1.000	-1.0791	1.2111
	kelompok glibenklamid	-.19400	.36100	.998	-1.3391	.9511
	EDGM 100	.26200	.36100	.990	-.8831	1.4071
EDGM 200	.19600	.36100	.998	-.9491	1.3411	

Homogeneous Subsets

BUN

Tukey HSD^a

kelompokperlakuan	N	Subset for alpha = 0.05
		1
kelompok negatif	5	10.5220
kelompok kontrol normal	5	10.8500
EDGM 100	5	10.9140
EDGM 200	5	10.9800
kelompok pioglitazon	5	11.1100
EDGM 400	5	11.1760
kelompok glibenklamid	5	11.3700
Sig.		.257

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 5.000.

B. Hari ke-5 (T₁)

		Tests of Normality					
		Kolmogorov-Smirnov ^a			Shapiro-Wilk		
	kelompokperlakuan	Statistic	df	Sig.	Statistic	df	Sig.
BUN	Kelompok normal	.273	5	.200*	.852	5	.201
	kelompok negatif	.347	5	.048	.857	5	.217
	kelompok pioglitazone	.187	5	.200*	.980	5	.935
	kelompok glibenklamid	.154	5	.200*	.973	5	.892
	EDGM 100	.299	5	.165	.818	5	.112
	EDGM 200	.168	5	.200*	.972	5	.889
	EDGM 400	.285	5	.200*	.888	5	.345

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

a. Lilliefors Significance Correction

Harga signifikansi uji *Shapiro-Wilk* terhadap data BUN hari ke-5 diperoleh masing-masing kelompok $> 0,05$ berarti setiap data pada masing-masing kelompok terdistribusi normal sehingga dilanjutkan dengan uji ANOVA.

Test of Homogeneity of Variances

BUN

Levene Statistic	df1	df2	Sig.
4.312	6	28	.003

Nilai probabilitas Lavene Statistic adalah $0,003 < 0,05$ yang artinya bahwa kadar BUN hari ke-5 memiliki varians yang tidak homogen homogen.

ANOVA

BUN

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	6377.448	6	1062.908	57.521	.000
Within Groups	517.402	28	18.479		
Total	6894.850	34			

Dari hasil uji ANOVA diperoleh signifikansi yaitu $0,000 < 0,05$ berarti adanya perbedaan kadar BUN pada hari ke-5 pada masing-masing kelompok, selanjutnya dilakukan post hoc menggunakan uji *Tamhane* untuk mengetahui perbedaan kadar BUN yang bermakna dalam setiap kelompok.

Post Hoc Tests

Multiple Comparisons

Dependent Variable: BUN
Tamhane

(I) kelompok perlakuan	(J) kelompok perlakuan	Mean Difference (I-J)	Std. Error	Sig.	95% Confidence Interval	
					Lower Bound	Upper Bound
Kelompok normal	kelompok negatif	-37.75600*	.51797	.000	-40.5787	-34.9333
	kelompok pioglitazone	-36.40600*	1.61162	.000	-47.0767	-25.7353
	kelompok glibenklamid	-37.69000*	1.51465	.000	-47.6836	-27.6964
	EDGM 100	-38.97600*	1.44417	.000	-48.4762	-29.4758
	EDGM 200	-37.43400*	3.25527	.007	-59.4302	-15.4378
	EDGM 400	-41.66400*	2.86570	.003	-60.9903	-22.3377
kelompok negatif	Kelompok normal	37.75600*	.51797	.000	34.9333	40.5787
	kelompok pioglitazone	1.35000	1.67089	1.000	-8.4899	11.1899
	kelompok glibenklamid	.06600	1.57757	1.000	-9.0827	9.2147
	EDGM 100	-1.22000	1.51003	1.000	-9.8676	7.4276
	EDGM 200	.32200	3.28502	1.000	-21.1381	21.7821
	EDGM 400	-3.90800	2.89945	.997	-22.6407	14.8247
kelompok pioglitazone	Kelompok normal	36.40600*	1.61162	.000	25.7353	47.0767
	kelompok negatif	-1.35000	1.67089	1.000	-11.1899	8.4899
	kelompok glibenklamid	-1.28400	2.19494	1.000	-10.8512	8.2832
	EDGM 100	-2.57000	2.14691	.998	-11.9597	6.8197
	EDGM 200	-1.02800	3.62220	1.000	-19.4637	17.4077
	EDGM 400	-5.25800	3.27656	.973	-21.2405	10.7245
kelompok glibenklamid	Kelompok normal	37.69000*	1.51465	.000	27.6964	47.6836
	kelompok negatif	-.06600	1.57757	1.000	-9.2147	9.0827
	kelompok pioglitazone	1.28400	2.19494	1.000	-8.2832	10.8512
	EDGM 100	-1.28600	2.07511	1.000	-10.3249	7.7529
	EDGM 200	.25600	3.58011	1.000	-18.3524	18.8644
	EDGM 400	-3.97400	3.22997	.998	-20.0601	12.1121
EDGM 100	Kelompok normal	38.97600*	1.44417	.000	29.4758	48.4762
	kelompok negatif	1.22000	1.51003	1.000	-7.4276	9.8676
	kelompok pioglitazone	2.57000	2.14691	.998	-6.8197	11.9597
	kelompok glibenklamid	1.28600	2.07511	1.000	-7.7529	10.3249
	EDGM 200	1.54200	3.55087	1.000	-17.2110	20.2950
	EDGM 400	-2.68800	3.19752	1.000	-18.8726	13.4966
EDGM 200	Kelompok normal	37.43400*	3.25527	.007	15.4378	59.4302
	kelompok negatif	-.32200	3.28502	1.000	-21.7821	21.1381
	kelompok pioglitazone	1.02800	3.62220	1.000	-17.4077	19.4637
	kelompok glibenklamid	-.25600	3.58011	1.000	-18.8644	18.3524
	EDGM 100	-1.54200	3.55087	1.000	-20.2950	17.2110
	EDGM 400	-4.23000	4.32843	1.000	-23.1906	14.7306
EDGM 400	Kelompok normal	41.66400*	2.86570	.003	22.3377	60.9903
	kelompok negatif	3.90800	2.89945	.997	-14.8247	22.6407
	kelompok pioglitazone	5.25800	3.27656	.973	-10.7245	21.2405
	kelompok glibenklamid	3.97400	3.22997	.998	-12.1121	20.0601
	EDGM 100	2.68800	3.19752	1.000	-13.4966	18.8726
	EDGM 200	4.23000	4.32843	1.000	-14.7306	23.1906

C. Hari ke-15 (T₂)

Tests of Normality

	kelompok perlakuan	Kolmogorov-Smirnov ^a			Shapiro-Wilk		
		Statistic	df	Sig.	Statistic	df	Sig.
BUN	kelompok normal	.367	5	.026	.684	5	.006
	kelompok negatif	.256	5	.200*	.867	5	.256
	kelompok pioglitazone	.147	5	.200*	.997	5	.997
	kelompok glibenklamid	.240	5	.200*	.956	5	.781
	EDGM 100	.318	5	.109	.819	5	.115
	EDGM 200	.179	5	.200*	.954	5	.769
	EDGM 400	.292	5	.191	.838	5	.160

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

a. Lilliefors Significance Correction

Harga signifikansi uji *Shapiro-Wilk* terhadap data BUN hari ke-15 diperoleh masing-masing kelompok $> 0,05$ berarti setiap data pada masing-masing kelompok terdistribusi normal sehingga dilanjutkan dengan uji ANOVA.

Test of Homogeneity of Variances

BUN

Levene Statistic	df1	df2	Sig.
4.345	6	28	.003

Nilai probabilitas Lavene Statistic adalah $0,003 < 0,05$ yang artinya bahwa kadar BUN hari ke-15 memiliki varians yang tidak homogen homogen.

ANOVA

BUN

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	6771.072	6	1128.512	68.700	.000
Within Groups	459.944	28	16.427		
Total	7231.016	34			

Dari hasil uji ANOVA diperoleh signifikansi yaitu $0,000 < 0,05$ berarti adanya perbedaan kadar BUN pada hari ke-15 pada masing-masing kelompok, selanjutnya dilakukan post hoc menggunakan uji *Tamhane* untuk mengetahui perbedaan kadar BUN yang bermakna dalam setiap kelompok.

Post Hoc Tests

Multiple Comparisons

Dependent Variable: BUN
Tamhane

(I) kelompok perlakuan	(J) kelompok perlakuan	Mean Difference (I-J)	Std. Error	Sig.	95% Confidence Interval	
					Lower Bound	Upper Bound
kelompok normal	kelompok negatif	-39.47400 [*]	.81803	.000	-44.6519	-34.2961
	kelompok pioglitazone	-37.04400 [*]	1.65488	.000	-48.0975	-25.9905
	kelompok glibenklamid	-38.95000 [*]	1.32382	.000	-47.7034	-30.1966
	EDGM 100	-40.00200 [*]	1.38458	.000	-49.1790	-30.8250
	EDGM 200	-39.01400 [*]	2.95167	.004	-58.9772	-19.0508
	EDGM 400	-42.57000 [*]	2.70890	.002	-60.8714	-24.2686
kelompok negatif	kelompok normal	39.47400 [*]	.81803	.000	34.2961	44.6519
	kelompok pioglitazone	2.43000	1.83181	.996	-6.9285	11.7885
	kelompok glibenklamid	.52400	1.53929	1.000	-6.7809	7.8289
	EDGM 100	-.52800	1.59184	1.000	-8.1904	7.1344
	EDGM 200	.46000	3.05438	1.000	-17.9278	18.8478
	EDGM 400	-3.09600	2.82047	1.000	-19.7589	13.5669
kelompok pioglitazone	kelompok normal	37.04400 [*]	1.65488	.000	25.9905	48.0975
	kelompok negatif	-2.43000	1.83181	.996	-11.7885	6.9285
	kelompok glibenklamid	-1.90600	2.10686	1.000	-11.2608	7.4488
	EDGM 100	-2.95800	2.14556	.992	-12.4167	6.5007
	EDGM 200	-1.97000	3.37620	1.000	-18.4463	14.5063
	EDGM 400	-5.52600	3.16615	.942	-20.5607	9.5087
kelompok glibenklamid	kelompok normal	38.95000 [*]	1.32382	.000	30.1966	47.7034
	kelompok negatif	-.52400	1.53929	1.000	-7.8289	6.7809
	kelompok pioglitazone	1.90600	2.10686	1.000	-7.4488	11.2608
	EDGM 100	-1.05200	1.90192	1.000	-9.3356	7.2316
	EDGM 200	-.06400	3.22685	1.000	-17.0388	16.9108
	EDGM 400	-3.62000	3.00639	.999	-18.9897	11.7497
EDGM 100	kelompok normal	40.00200 [*]	1.38458	.000	30.8250	49.1790
	kelompok negatif	.52800	1.59184	1.000	-7.1344	8.1904
	kelompok pioglitazone	2.95800	2.14556	.992	-6.5007	12.4167
	kelompok glibenklamid	1.05200	1.90192	1.000	-7.2316	9.3356
	EDGM 200	.98800	3.25225	1.000	-15.8652	17.8412
	EDGM 400	-2.56800	3.03363	1.000	-17.8424	12.7064
EDGM 200	kelompok normal	39.01400 [*]	2.95167	.004	19.0508	58.9772
	kelompok negatif	-.46000	3.05438	1.000	-18.8478	17.9278
	kelompok pioglitazone	1.97000	3.37620	1.000	-14.5063	18.4463
	kelompok glibenklamid	.06400	3.22685	1.000	-16.9108	17.0388
	EDGM 100	-.98800	3.25225	1.000	-17.8412	15.8652
	EDGM 400	-3.55600	3.99978	1.000	-21.0142	13.9022
EDGM 400	kelompok normal	42.57000 [*]	2.70890	.002	24.2686	60.8714
	kelompok negatif	3.09600	2.82047	1.000	-13.5669	19.7589
	kelompok pioglitazone	5.52600	3.16615	.942	-9.5087	20.5607
	kelompok glibenklamid	3.62000	3.00639	.999	-11.7497	18.9897
	EDGM 100	2.56800	3.03363	1.000	-12.7064	17.8424
	EDGM 200	3.55600	3.99978	1.000	-13.9022	21.0142

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

D. Hari ke-22 (T₃)

		Tests of Normality					
		Kolmogorov-Smirnov ^a			Shapiro-Wilk		
kelompokperlakuan		Statistic	df	Sig.	Statistic	df	Sig.
BUN	kelompok normal	.302	5	.154	.831	5	.142
	kelompok negatif	.307	5	.140	.842	5	.171
	kelompok pioglitason	.360	5	.033	.767	5	.042
	kelompok glibenklamid	.141	5	.200*	.979	5	.928
	EDGM 100	.441	5	.002	.650	5	.003
	EDGM 200	.222	5	.200*	.910	5	.470
	EDGM 400	.278	4	.	.852	4	.233

a. Lilliefors Significance Correction

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

Harga signifikansi uji *Shapiro-Wilk* terhadap data BUN hari ke-22 diperoleh masing-masing kelompok $> 0,05$ berarti setiap data pada masing-masing kelompok terdistribusi normal sehingga dilanjutkan dengan uji ANOVA.

Test of Homogeneity of Variances

BUN

Levene Statistic	df1	df2	Sig.
5.202	6	28	.001

Nilai probabilitas Lavene Statistic adalah $0,001 < 0,05$ yang artinya bahwa kadar BUN hari ke-22 memiliki varians yang tidak homogen homogen.

ANOVA

ANOVA					
BUN	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	4786.413	6	797.736	34.018	.000
Within Groups	656.619	28	23.451		
Total	5443.032	34			

Dari hasil uji ANOVA diperoleh signifikansi yaitu $0,000 < 0,05$ berarti adanya perbedaan kadar BUN pada hari ke-22 pada masing-masing kelompok, selanjutnya dilakukan post hoc menggunakan uji *Tamhane* untuk mengetahui perbedaan kadar BUN yang bermakna dalam setiap kelompok.

Post Hoc Tests

Multiple Comparisons

BUN
LSD

(I) kelompokperlakuan	(J) kelompokperlakuan	Mean Difference (I-J)	Std. Error	Sig.	95% Confidence Interval	
					Lower Bound	Upper Bound
kelompok normal	kelompok negatif	-40.07000*	3.06272	.000	-46.3437	-33.7963
	kelompok pioglitason	-19.38800*	3.06272	.000	-25.6617	-13.1143
	kelompok glibenklamid	-18.98000*	3.06272	.000	-25.2537	-12.7063
	EDGM 100	-32.99800*	3.06272	.000	-39.2717	-26.7243
	EDGM 200	-24.89800*	3.06272	.000	-31.1717	-18.6243
	EDGM 400	-20.40800*	3.06272	.000	-26.6817	-14.1343
kelompok negatif	kelompok normal	40.07000*	3.06272	.000	33.7963	46.3437
	kelompok pioglitason	20.68200*	3.06272	.000	14.4083	26.9557
	kelompok glibenklamid	21.09000*	3.06272	.000	14.8163	27.3637
	EDGM 100	7.07200*	3.06272	.029	.7983	13.3457
	EDGM 200	15.17200*	3.06272	.000	8.8983	21.4457
	EDGM 400	19.66200*	3.06272	.000	13.3883	25.9357
kelompok pioglitason	kelompok normal	19.38800*	3.06272	.000	13.1143	25.6617
	kelompok negatif	-20.68200*	3.06272	.000	-26.9557	-14.4083
	kelompok glibenklamid	.40800	3.06272	.895	-5.8657	6.6817
	EDGM 100	-13.61000*	3.06272	.000	-19.8837	-7.3363
	EDGM 200	-5.51000	3.06272	.083	-11.7837	.7637
	EDGM 400	-1.02000	3.06272	.742	-7.2937	5.2537
kelompok glibenklamid	kelompok normal	18.98000*	3.06272	.000	12.7063	25.2537
	kelompok negatif	-21.09000*	3.06272	.000	-27.3637	-14.8163
	kelompok pioglitason	-.40800	3.06272	.895	-6.6817	5.8657
	EDGM 100	-14.01800*	3.06272	.000	-20.2917	-7.7443
	EDGM 200	-5.91800	3.06272	.064	-12.1917	.3557
	EDGM 400	-1.42800	3.06272	.645	-7.7017	4.8457
EDGM 100	kelompok normal	32.99800*	3.06272	.000	26.7243	39.2717
	kelompok negatif	-7.07200*	3.06272	.029	-13.3457	-7.983
	kelompok pioglitason	13.61000*	3.06272	.000	7.3363	19.8837
	kelompok glibenklamid	14.01800*	3.06272	.000	7.7443	20.2917
	EDGM 200	8.10000*	3.06272	.013	1.8263	14.3737
	EDGM 400	12.59000*	3.06272	.000	6.3163	18.8637
EDGM 200	kelompok normal	24.89800*	3.06272	.000	18.6243	31.1717
	kelompok negatif	-15.17200*	3.06272	.000	-21.4457	-8.8983
	kelompok pioglitason	5.51000	3.06272	.083	-.7637	11.7837
	kelompok glibenklamid	5.91800	3.06272	.064	-.3557	12.1917
	EDGM 100	-8.10000*	3.06272	.013	-14.3737	-1.8263
	EDGM 400	4.49000	3.06272	.154	-1.7837	10.7637
EDGM 400	kelompok normal	20.40800*	3.06272	.000	14.1343	26.6817
	kelompok negatif	-19.66200*	3.06272	.000	-25.9357	-13.3883
	kelompok pioglitason	1.02000	3.06272	.742	-5.2537	7.2937
	kelompok glibenklamid	1.42800	3.06272	.645	-4.8457	7.7017
	EDGM 100	-12.59000*	3.06272	.000	-18.8637	-6.3163
	EDGM 200	-4.49000	3.06272	.154	-10.7637	1.7837

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

E. Hari ke-29 (T₄)

Tests of Normality

kelompokperlakuan	Kolmogorov-Smirnov ^a			Shapiro-Wilk		
	Statistic	df	Sig.	Statistic	df	Sig.
BUN kelompok normal	.296	5	.174	.836	5	.155
kelompok negatif	.225	5	.200*	.882	5	.316
kelompok pioglitazone	.222	5	.200*	.887	5	.342
kelompk glibenklamid	.276	5	.200*	.905	5	.438
EDGM 100	.332	5	.074	.769	5	.044
EDGM 200	.277	5	.200*	.808	5	.094
EDGM 400	.367	5	.027	.715	5	.014

a. Lilliefors Significance Correction

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

Harga signifikansi uji *Shapiro-Wilk* terhadap data BUN hari ke-29 diperoleh masing-masing kelompok $> 0,05$ berarti setiap data pada masing-masing kelompok terdistribusi normal sehingga dilanjutkan dengan uji ANOVA.

Test of Homogeneity of Variances

BUN

Levene Statistic	df1	df2	Sig.
4.621	6	28	.002

Nilai probabilitas Lavene Statistic adalah $0,002 < 0,05$ yang artinya bahwa kadar BUN hari ke-29 memiliki varians yang tidak homogen homogen.

ANOVA

BUN	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	5249.398	6	874.900	277.275	.000
Within Groups	88.350	28	3.155		
Total	5337.748	34			

Dari hasil uji ANOVA diperoleh signifikansi yaitu $0,000 < 0,05$ berarti adanya perbedaan kadar BUN pada hari ke-22 pada masing-masing kelompok, selanjutnya dilakukan post hoc menggunakan uji *Tamhane* untuk mengetahui perbedaan kadar BUN yang bermakna dalam setiap kelompok.

Post Hoc Tests

Multiple Comparisons

BUN
Tamhane

(I) kelompokperlakuan	(J) kelompokperlakuan	Mean Difference (I-J)	Std. Error	Sig.	95% Confidence Interval	
					Lower Bound	Upper Bound
kelompok normal	kelompok negatif	-40.48000*	.88217	.000	-46.0024	-34.9576
	kelompok pioglitazone	-6.23200	1.20827	.116	-14.0853	1.6213
	kelompok glibenklamid	-7.46600*	.53462	.001	-10.4330	-4.4990
	EDGM 100	-20.54800*	1.00322	.000	-26.9420	-14.1540
	EDGM 200	-15.82200*	.62603	.000	-19.4675	-12.1765
	EDGM 400	-11.57400*	.81976	.002	-16.6433	-6.5047
kelompok negatif	kelompok normal	40.48000*	.88217	.000	34.9576	46.0024
	kelompok pioglitazone	34.24800*	1.47221	.000	27.5763	40.9197
	kelompok glibenklamid	33.01400*	.99665	.000	28.2099	37.8181
	EDGM 100	19.93200*	1.30918	.000	14.1936	25.6704
	EDGM 200	24.65800*	1.04853	.000	19.8576	29.4584
	EDGM 400	28.90600*	1.17452	.000	23.7825	34.0295
kelompok pioglitazone	kelompok normal	6.23200	1.20827	.116	-1.6213	14.0853
	kelompok negatif	-34.24800*	1.47221	.000	-40.9197	-27.5763
	kelompok glibenklamid	-1.23400	1.29422	1.000	-8.1785	5.7105
	EDGM 100	-14.31600*	1.54778	.000	-21.1505	-7.4815
	EDGM 200	-9.59000*	1.33457	.008	-16.3465	-2.8335
	EDGM 400	-5.34200	1.43568	.146	-11.9772	1.2932
kelompok glibenklamid	kelompok normal	7.46600*	.53462	.001	4.4990	10.4330
	kelompok negatif	-33.01400*	.99665	.000	-37.8181	-28.2099
	kelompok pioglitazone	1.23400	1.29422	1.000	-5.7105	8.1785
	EDGM 100	-13.08200*	1.10523	.000	-18.6494	-7.5146
	EDGM 200	-8.35600*	.77910	.000	-11.7888	-4.9232
	EDGM 400	-4.10800	.94186	.074	-8.5410	.3250
EDGM 100	kelompok normal	20.54800*	1.00322	.000	14.1540	26.9420
	kelompok negatif	-19.93200*	1.30918	.000	-25.6704	-14.1936
	kelompok pioglitazone	14.31600*	1.54778	.000	7.4815	21.1505
	kelompok glibenklamid	13.08200*	1.10523	.000	7.5146	18.6494
	EDGM 200	4.72600	1.15222	.104	-.7541	10.2061
	EDGM 400	8.97400*	1.26796	.003	3.3580	14.5900
EDGM 200	kelompok normal	15.82200*	.62603	.000	12.1765	19.4675
	kelompok negatif	-24.65800*	1.04853	.000	-29.4584	-19.8576
	kelompok pioglitazone	9.59000*	1.33457	.008	2.8335	16.3465
	kelompok glibenklamid	8.35600*	.77910	.000	4.9232	11.7888
	EDGM 100	-4.72600	1.15222	.104	-10.2061	.7541
	EDGM 400	4.24800	.99659	.067	-.2323	8.7283
EDGM 400	kelompok normal	11.57400*	.81976	.002	6.5047	16.6433
	kelompok negatif	-28.90600*	1.17452	.000	-34.0295	-23.7825
	kelompok pioglitazone	5.34200	1.43568	.146	-1.2932	11.9772
	kelompok glibenklamid	4.10800	.94186	.074	-.3250	8.5410
	EDGM 100	-8.97400*	1.26796	.003	-14.5900	-3.3580
	EDGM 200	-4.24800	.99659	.067	-8.7283	.2323

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

Lampiran 18. Hasil analisis statistik kadar kreatinin

A. hari ke-0 (T_0)

		Tests of Normality					
		Kolmogorov-Smirnov ^a			Shapiro-Wilk		
	kelompok perlakuan	Statistic	df	Sig.	Statistic	df	Sig.
Kreatinin	kelompok normal	.172	5	.200*	.962	5	.822
	kelompok negatif	.404	5	.008	.768	5	.044
	kelompok pioglitazon	.228	5	.200*	.932	5	.607
	kelompok glibenklamid	.345	5	.053	.863	5	.238
	EDGM 100	.345	5	.053	.863	5	.238
	EDGM 200	.250	5	.200*	.862	5	.234
	EDGM 400	.213	5	.200*	.963	5	.826

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

a. Lilliefors Significance Correction

Harga signifikansi uji *Shapiro-Wilk* terhadap data kreatinin hari ke-0 diperoleh masing-masing kelompok $> 0,05$ berarti setiap data pada masing-masing kelompok terdistribusi normal sehingga dilanjutkan dengan uji ANOVA.

Test of Homogeneity of Variances

Kreatinin			
Levene Statistic	df1	df2	Sig.
4.556	6	28	.002

Nilai probabilitas Lavene Statistic adalah $0,002 < 0,05$ yang artinya bahwa kadar kreatinin hari ke-0 memiliki varians yang tidak homogen.

ANOVA

Kreatinin					
	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	.010	6	.002	1.198	.336
Within Groups	.038	28	.001		
Total	.048	34			

Dari hasil uji ANOVA diperoleh signifikansi yaitu $0,336 > 0,05$ berarti tidak adanya perbedaan kadar kreatinin pada hari ke-0 pada masing-masing kelompok, selanjutnya dilakukan post hoc menggunakan uji *Tamhane* untuk mengetahui perbedaan kadar kreatinin yang bermakna dalam setiap kelompok.

Post Hoc Tests

Multiple Comparisons

Dependent Variable: Kreatinin

Tamhane

(I) kelompok perlakuan	(J) kelompok perlakuan	Mean Difference (I-J)	Std. Error	Sig.	95% Confidence Interval	
					Lower Bound	Upper Bound
kelompok normal	kelompok negatif	-.03000	.03739	1.000	-.2353	.1753
	kelompok pioglitazon	-.03400	.03619	1.000	-.2504	.1824
	kelompok glibenklamid	-.03600	.03575	1.000	-.2580	.1860
	EDGM 100	-.03000	.03575	1.000	-.2520	.1920
	EDGM 200	-.06200	.03782	.973	-.2645	.1405
	EDGM 400	-.03400	.03578	1.000	-.2556	.1876
kelompok negatif	kelompok normal	.03000	.03739	1.000	-.1753	.2353
	kelompok pioglitazon	-.00400	.01673	1.000	-.0798	.0718
	kelompok glibenklamid	-.00600	.01575	1.000	-.0815	.0695
	EDGM 100	.00000	.01575	1.000	-.0755	.0755
	EDGM 200	-.03200	.02000	.966	-.1193	.0553
	EDGM 400	-.00400	.01581	1.000	-.0795	.0715
kelompok pioglitazon	kelompok normal	.03400	.03619	1.000	-.1824	.2504
	kelompok negatif	.00400	.01673	1.000	-.0718	.0798
	kelompok glibenklamid	-.00200	.01265	1.000	-.0579	.0539
	EDGM 100	.00400	.01265	1.000	-.0519	.0599
	EDGM 200	-.02800	.01766	.972	-.1097	.0537
	EDGM 400	.00000	.01273	1.000	-.0562	.0562
kelompok glibenklamid	kelompok normal	.03600	.03575	1.000	-.1860	.2580
	kelompok negatif	.00600	.01575	1.000	-.0695	.0815
	kelompok pioglitazon	.00200	.01265	1.000	-.0539	.0579
	EDGM 100	.00600	.01131	1.000	-.0432	.0552
	EDGM 200	-.02600	.01673	.980	-.1084	.0564
	EDGM 400	.00200	.01140	1.000	-.0476	.0516
EDGM 100	kelompok normal	.03000	.03575	1.000	-.1920	.2520
	kelompok negatif	.00000	.01575	1.000	-.0755	.0755
	kelompok pioglitazon	-.00400	.01265	1.000	-.0599	.0519
	kelompok glibenklamid	-.00600	.01131	1.000	-.0552	.0432
	EDGM 200	-.03200	.01673	.898	-.1144	.0504
	EDGM 400	-.00400	.01140	1.000	-.0536	.0456
EDGM 200	kelompok normal	.06200	.03782	.973	-.1405	.2645
	kelompok negatif	.03200	.02000	.966	-.0553	.1193
	kelompok pioglitazon	.02800	.01766	.972	-.0537	.1097
	kelompok glibenklamid	.02600	.01673	.980	-.0564	.1084
	EDGM 100	.03200	.01673	.898	-.0504	.1144
	EDGM 400	.02800	.01679	.962	-.0542	.1102
EDGM 400	kelompok normal	.03400	.03578	1.000	-.1876	.2556
	kelompok negatif	.00400	.01581	1.000	-.0715	.0795
	kelompok pioglitazon	.00000	.01273	1.000	-.0562	.0562
	kelompok glibenklamid	-.00200	.01140	1.000	-.0516	.0476
	EDGM 100	.00400	.01140	1.000	-.0456	.0536
	EDGM 200	-.02800	.01679	.962	-.1102	.0542

B. Hari ke-5 (T_1)

		Tests of Normality					
		Kolmogorov-Smirnov ^a			Shapiro-Wilk		
	kelompok perlakuan	Statistic	df	Sig.	Statistic	df	Sig.
kreatinin	kelompok normal	.330	5	.079	.735	5	.021
	kelompok negatif	.233	5	.200*	.896	5	.389
	kelompok pioglitazon	.173	5	.200*	.958	5	.794
	kelompok glibenklamid	.159	5	.200*	.990	5	.980
	EDGM 100	.159	5	.200*	.990	5	.980
	EDGM 200	.275	5	.200*	.930	5	.598
	EDGM 400	.230	5	.200*	.866	5	.251

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

a. Lilliefors Significance Correction

Harga signifikansi uji *Shapiro-Wilk* terhadap data kreatinin hari ke-5 diperoleh masing-masing kelompok $> 0,05$ berarti setiap data pada masing-masing kelompok terdistribusi normal sehingga dilanjutkan dengan uji ANOVA.

Test of Homogeneity of Variances

kreatinin

Levene Statistic	df1	df2	Sig.
10.242	6	28	.000

Nilai probabilitas Lavene Statistic adalah $0,000 < 0,05$ yang artinya bahwa kadar kreatinin hari ke-5 memiliki varians yang tidak homogen homogen.

ANOVA

kreatinin

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	32.343	6	5.391	1646.323	.000
Within Groups	.092	28	.003		
Total	32.435	34			

Dari hasil uji ANOVA diperoleh signifikansi yaitu $0,000 < 0,05$ berarti adanya perbedaan kadar kreatinin pada hari ke-5 pada masing-masing kelompok, selanjutnya dilakukan post hoc menggunakan uji *Tamhane* untuk mengetahui perbedaan kadar kreatinin yang bermakna dalam setiap kelompok.

Post Hoc Tests

Multiple Comparisons

Dependent Variable: kreatinin
Tamhane

(I) kelompok perlakuan	(J) kelompok perlakuan	Mean Difference (I-J)	Std. Error	Sig.	95% Confidence Interval	
					Lower Bound	Upper Bound
kelompok normal	kelompok negatif	-2.58200*	.05779	.000	-2.9676	-2.1964
	kelompok pioglitazon	-2.79400*	.01549	.000	-2.8780	-2.7100
	kelompok glibenklamid	-2.78200*	.01342	.000	-2.8507	-2.7133
	EDGM 100	-2.78200*	.01342	.000	-2.8507	-2.7133
	EDGM 200	-2.73800*	.02059	.000	-2.8598	-2.6162
	EDGM 400	-2.76400*	.01975	.000	-2.8795	-2.6485
kelompok negatif	kelompok normal	2.58200*	.05779	.000	2.1964	2.9676
	kelompok pioglitazon	-.21200	.05926	.332	-.5748	.1508
	kelompok glibenklamid	-.20000	.05875	.397	-.5698	.1698
	EDGM 100	-.20000	.05875	.397	-.5698	.1698
	EDGM 200	-.15600	.06079	.666	-.5021	.1901
	EDGM 400	-.18200	.06051	.484	-.5307	.1667
kelompok pioglitazon	kelompok normal	2.79400*	.01549	.000	2.7100	2.8780
	kelompok negatif	.21200	.05926	.332	-.1508	.5748
	kelompok glibenklamid	.01200	.01876	1.000	-.0706	.0946
	EDGM 100	.01200	.01876	1.000	-.0706	.0946
	EDGM 200	.05600	.02441	.688	-.0545	.1665
	EDGM 400	.03000	.02371	.997	-.0762	.1362
kelompok glibenklamid	kelompok normal	2.78200*	.01342	.000	2.7133	2.8507
	kelompok negatif	.20000	.05875	.397	-.1698	.5698
	kelompok pioglitazon	-.01200	.01876	1.000	-.0946	.0706
	EDGM 100	.00000	.01709	1.000	-.0744	.0744
	EDGM 200	.04400	.02315	.894	-.0658	.1538
	EDGM 400	.01800	.02241	1.000	-.0868	.1228
EDGM 100	kelompok normal	2.78200*	.01342	.000	2.7133	2.8507
	kelompok negatif	.20000	.05875	.397	-.1698	.5698
	kelompok pioglitazon	-.01200	.01876	1.000	-.0946	.0706
	kelompok glibenklamid	.00000	.01709	1.000	-.0744	.0744
	EDGM 200	.04400	.02315	.894	-.0658	.1538
	EDGM 400	.01800	.02241	1.000	-.0868	.1228
EDGM 200	kelompok normal	2.73800*	.02059	.000	2.6162	2.8598
	kelompok negatif	.15600	.06079	.666	-.1901	.5021
	kelompok pioglitazon	-.05600	.02441	.688	-.1665	.0545
	kelompok glibenklamid	-.04400	.02315	.894	-.1538	.0658
	EDGM 100	-.04400	.02315	.894	-.1538	.0658
	EDGM 400	-.02600	.02731	1.000	-.1450	.0930
EDGM 400	kelompok normal	2.76400*	.01975	.000	2.6485	2.8795
	kelompok negatif	.18200	.06051	.484	-.1667	.5307
	kelompok pioglitazon	-.03000	.02371	.997	-.1362	.0762
	kelompok glibenklamid	-.01800	.02241	1.000	-.1228	.0868
	EDGM 100	-.01800	.02241	1.000	-.1228	.0868
	EDGM 200	.02600	.02731	1.000	-.0930	.1450

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

C. hari ke-15 (T₂)

		Tests of Normality					
		Kolmogorov-Smirnov ^a			Shapiro-Wilk		
	kelompokperlakuan	Statistic	df	Sig.	Statistic	df	Sig.
kreatinin	kelompok normal	.231	5	.200*	.881	5	.314
	kelompok negatif	.243	5	.200*	.886	5	.336
	kelompok pioglitazon	.264	5	.200*	.903	5	.429
	kelompok glibenklamid	.286	5	.200*	.839	5	.163
	EDGM 100	.147	5	.200*	.995	5	.994
	EDGM 200	.316	5	.116	.823	5	.124
	EDGM 400	.337	5	.066	.826	5	.130

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

a. Lilliefors Significance Correction

Harga signifikansi uji *Shapiro-Wilk* terhadap data kreatinin hari ke-15 diperoleh masing-masing kelompok $> 0,05$ berarti setiap data pada masing-masing kelompok terdistribusi normal sehingga dilanjutkan dengan uji ANOVA.

Test of Homogeneity of Variances

kreatinin			
Levene Statistic	df1	df2	Sig.
7.300	6	28	.000

Nilai probabilitas Lavene Statistic adalah $0,000 < 0,05$ yang artinya bahwa kadar kreatinin hari ke-15 memiliki varians yang tidak homogen homogen.

ANOVA

kreatinin					
	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	32.477	6	5.413	1521.693	.000
Within Groups	.100	28	.004		
Total	32.577	34			

Dari hasil uji ANOVA diperoleh signifikansi yaitu $0,000 < 0,05$ berarti adanya perbedaan kadar kreatinin pada hari ke-15 pada masing-masing kelompok, selanjutnya dilakukan post hoc menggunakan uji *Tamhane* untuk mengetahui perbedaan kadar kreatinin yang bermakna dalam setiap kelompok.

Post Hoc Tests

Multiple Comparisons

Dependent Variable: kreatinin
Tamhane

(I) kelompok perlakuan	(J) kelompok perlakuan	Mean Difference (I-J)	Std. Error	Sig.	95% Confidence Interval	
					Lower Bound	Upper Bound
kelompok normal	kelompok negatif	-2.58000*	.05470	.000	-2.9244	-2.2356
	kelompok pioglitazon	-2.79800*	.02030	.000	-2.8920	-2.7040
	kelompok glibenklamid	-2.78600*	.02324	.000	-2.8999	-2.6721
	EDGM 100	-2.80000*	.01876	.000	-2.8844	-2.7156
	EDGM 200	-2.74000*	.02328	.000	-2.8542	-2.6258
EDGM 400	-2.76800*	.02778	.000	-2.9146	-2.6214	
kelompok negatif	kelompok normal	2.58000*	.05470	.000	2.2356	2.9244
	kelompok pioglitazon	-.21800	.05614	.234	-.5447	.1087
	kelompok glibenklamid	-.20600	.05727	.271	-.5228	.1108
	EDGM 100	-.22000	.05561	.233	-.5525	.1125
	EDGM 200	-.16000	.05729	.549	-.4766	.1566
EDGM 400	-.18800	.05926	.354	-.4933	.1173	
kelompok pioglitazon	kelompok normal	2.79800*	.02030	.000	2.7040	2.8920
	kelompok negatif	.21800	.05614	.234	-.1087	.5447
	kelompok glibenklamid	.01200	.02646	1.000	-.1047	.1287
	EDGM 100	-.00200	.02263	1.000	-.1010	.0970
	EDGM 200	.05800	.02650	.734	-.0589	.1749
EDGM 400	.03000	.03053	1.000	-.1113	.1713	
kelompok glibenklamid	kelompok normal	2.78600*	.02324	.000	2.6721	2.8999
	kelompok negatif	.20600	.05727	.271	-.1108	.5228
	kelompok pioglitazon	-.01200	.02646	1.000	-.1287	.1047
	EDGM 100	-.01400	.02530	1.000	-.1280	.1000
	EDGM 200	.04600	.02881	.966	-.0794	.1714
EDGM 400	.01800	.03256	1.000	-.1265	.1625	
EDGM 100	kelompok normal	2.80000*	.01876	.000	2.7156	2.8844
	kelompok negatif	.22000	.05561	.233	-.1125	.5525
	kelompok pioglitazon	.00200	.02263	1.000	-.0970	.1010
	kelompok glibenklamid	.01400	.02530	1.000	-.1000	.1280
	EDGM 200	.06000	.02534	.644	-.0543	.1743
EDGM 400	.03200	.02953	1.000	-.1095	.1735	
EDGM 200	kelompok normal	2.74000*	.02328	.000	2.6258	2.8542
	kelompok negatif	.16000	.05729	.549	-.1566	.4766
	kelompok pioglitazon	-.05800	.02650	.734	-.1749	.0589
	kelompok glibenklamid	-.04600	.02881	.966	-.1714	.0794
	EDGM 100	-.06000	.02534	.644	-.1743	.0543
EDGM 400	-.02800	.03259	1.000	-.1726	.1166	
EDGM 400	kelompok normal	2.76800*	.02778	.000	2.6214	2.9146
	kelompok negatif	.18800	.05926	.354	-.1173	.4933
	kelompok pioglitazon	-.03000	.03053	1.000	-.1713	.1113
	kelompok glibenklamid	-.01800	.03256	1.000	-.1625	.1265
	EDGM 100	-.03200	.02953	1.000	-.1735	.1095
EDGM 200	.02800	.03259	1.000	-.1166	.1726	

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

D. Hari ke-22 (T₃)

		Tests of Normality					
		Kolmogorov-Smirnov ^a			Shapiro-Wilk		
	kelompok perlakuan	Statistic	df	Sig.	Statistic	df	Sig.
kreatinin	kelompok normal	.300	5	.161	.833	5	.146
	kelompok negatif	.159	5	.200 [*]	.990	5	.980
	kelompok pioglitazon	.325	5	.091	.877	5	.296
	kelompok glibenklamid	.339	5	.062	.754	5	.033
	EDGM 100	.220	5	.200 [*]	.956	5	.777
	EDGM 200	.221	5	.200 [*]	.902	5	.421
	EDGM 400	.293	5	.185	.838	5	.159

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

a. Lilliefors Significance Correction

Harga signifikansi uji *Shapiro-Wilk* terhadap data kreatinin hari ke-22 diperoleh masing-masing kelompok $> 0,05$ berarti setiap data pada masing-masing kelompok terdistribusi normal sehingga dilanjutkan dengan uji ANOVA.

Test of Homogeneity of Variances

kreatinin

Levene Statistic	df1	df2	Sig.
2.846	6	28	.027

Nilai probabilitas Lavene Statistic adalah $0,027 < 0,05$ yang artinya bahwa kadar kreatinin hari ke-22 memiliki varians yang tidak homogen.

ANOVA

kreatinin

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	22.475	6	3.746	2280.100	.000
Within Groups	.046	28	.002		
Total	22.521	34			

Dari hasil uji ANOVA diperoleh signifikansi yaitu $0,000 < 0,05$ berarti adanya perbedaan kadar kreatinin pada hari ke-22 pada masing-masing kelompok, selanjutnya dilakukan post hoc menggunakan uji *Tamhane* untuk mengetahui perbedaan kadar kreatinin yang bermakna dalam setiap kelompok.

Post Hoc Tests

Multiple Comparisons

Dependent Variable: kreatinin
Tamhane

(I) kelompok perlakuan	(J) kelompok perlakuan	Mean Difference (I-J)	Std. Error	Sig.	95% Confidence Interval	
					Lower Bound	Upper Bound
kelompok normal	kelompok negatif	-2.60800*	.03787	.000	-2.8307	-2.3853
	kelompok pioglitazon	-1.89200*	.01800	.000	-1.9725	-1.8115
	kelompok glibenklamid	-1.88400*	.01470	.000	-1.9483	-1.8197
	EDGM 100	-2.35600*	.01720	.000	-2.4320	-2.2800
	EDGM 200	-2.29400*	.01600	.000	-2.3637	-2.2243
	EDGM 400	-2.06200*	.01934	.000	-2.1507	-1.9733
kelompok negatif	kelompok normal	2.60800*	.03787	.000	2.3853	2.8307
	kelompok pioglitazon	.71600*	.03896	.000	.5028	.9292
	Kelompok glibenklamid	.72400*	.03755	.000	.4976	.9504
	EDGM 100	.25200*	.03860	.025	.0361	.4679
	EDGM 200	.31400*	.03808	.011	.0934	.5346
	EDGM 400	.54600*	.03960	.000	.3367	.7553
kelompok pioglitazon	kelompok normal	1.89200*	.01800	.000	1.8115	1.9725
	kelompok negatif	-.71600*	.03896	.000	-.9292	-.5028
	kelompok glibenklamid	.00800	.01732	1.000	-.0715	.0875
	EDGM 100	-.46400*	.01949	.000	-.5490	-.3790
	EDGM 200	-.40200*	.01844	.000	-.4836	-.3204
	EDGM 400	-.17000*	.02140	.001	-.2636	-.0764
kelompok glibenklamid	kelompok normal	1.88400*	.01470	.000	1.8197	1.9483
	kelompok negatif	-.72400*	.03755	.000	-.9504	-.4976
	kelompok pioglitazon	-.00800	.01732	1.000	-.0875	.0715
	EDGM 100	-.47200*	.01649	.000	-.5464	-.3976
	EDGM 200	-.41000*	.01523	.000	-.4771	-.3429
	EDGM 400	-.17800*	.01871	.001	-.2666	-.0894
EDGM 100	kelompok normal	2.35600*	.01720	.000	2.2800	2.4320
	kelompok negatif	-.25200*	.03860	.025	-.4679	-.0361
	kelompok pioglitazon	.46400*	.01949	.000	.3790	.5490
	kelompok glibenklamid	.47200*	.01649	.000	.3976	.5464
	EDGM 200	.06200	.01766	.158	-.0154	.1394
	EDGM 400	.29400*	.02074	.000	.2025	.3855
EDGM 200	kelompok normal	2.29400*	.01600	.000	2.2243	2.3637
	kelompok negatif	-.31400*	.03808	.011	-.5346	-.0934
	kelompok pioglitazon	.40200*	.01844	.000	.3204	.4836
	kelompok glibenklamid	.41000*	.01523	.000	.3429	.4771
	EDGM 100	-.06200	.01766	.158	-.1394	.0154
	EDGM 400	.23200*	.01975	.000	.1428	.3212
EDGM 400	kelompok normal	2.06200*	.01934	.000	1.9733	2.1507
	kelompok negatif	-.54600*	.03960	.000	-.7553	-.3367
	kelompok pioglitazon	.17000*	.02140	.001	.0764	.2636
	kelompok glibenklamid	.17800*	.01871	.001	.0894	.2666
	EDGM 100	-.29400*	.02074	.000	-.3855	-.2025
	EDGM 200	-.23200*	.01975	.000	-.3212	-.1428

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

E. Hari ke-29 (T₄)

Tests of Normality

	kelompokperlakuan	Kolmogorov-Smirnov ^a			Shapiro-Wilk		
		Statistic	df	Sig.	Statistic	df	Sig.
kreatinin	kelompok normal	.167	5	.200*	.964	5	.833
	kelompok negatif	.294	5	.181	.825	5	.127
	kelompok pioglitazon	.191	5	.200*	.962	5	.823
	kelompok glibenklamid	.337	5	.065	.821	5	.120
	EDGM 100	.234	5	.200*	.922	5	.540
	EDGM 200	.228	5	.200*	.967	5	.858
	EDGM 400	.228	5	.200*	.957	5	.790

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

a. Lilliefors Significance Correction

Harga signifikansi uji *Shapiro-Wilk* terhadap data kreatinin hari ke-29 diperoleh masing-masing kelompok $> 0,05$ berarti setiap data pada masing-masing kelompok terdistribusi normal sehingga dilanjutkan dengan uji ANOVA.

Test of Homogeneity of Variances

kreatinin

Levene Statistic	df1	df2	Sig.
1.842	6	28	.127

Nilai probabilitas Lavene Statistic adalah $0,127 < 0,05$ yang artinya bahwa kadar kreatinin hari ke-29 memiliki varians yang homogen homogen.

ANOVA

kreatinin

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	27.957	6	4.660	1801.034	.000
Within Groups	.072	28	.003		
Total	28.030	34			

Dari hasil uji ANOVA diperoleh signifikansi yaitu $0,000 < 0,05$ berarti adanya perbedaan kadar kreatinin pada hari ke-29 pada masing-masing kelompok, selanjutnya dilakukan post hoc menggunakan uji *Tukey HSD* untuk mengetahui perbedaan kadar kreatinin yang bermakna dalam setiap kelompok.

Homogeneous Subsets

kreatinin

Tukey HSD^a

kelompokperlakuan	N	Subset for alpha = 0.05					
		1	2	3	4	5	6
kelompok normal	5	.6600					
kelompok glibenklamid	5		.8740				
kelompok pioglitazon	5		.9060				
EDGM 400	5			1.0420			
EDGM 200	5				1.4960		
EDGM 100	5					2.2780	
kelompok negatif	5						3.3240
Sig.		1.000	.951	1.000	1.000	1.000	1.000

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 5.000.

Post Hoc Tests

Multiple Comparisons

Dependent Variable: kreatinin
Tukey HSD

(I) kelompok perlakuan	(J) kelompok perlakuan	Mean Difference (I-J)	Std. Error	Sig.	95% Confidence Interval	
					Lower Bound	Upper Bound
kelompok normal	kelompok negatif	-2.66400 [*]	.03217	.000	-2.7660	-2.5620
	kelompok pioglitazon	-.24600 [*]	.03217	.000	-.3480	-.1440
	kelompok glibenklamid	-.21400 [*]	.03217	.000	-.3160	-.1120
	EDGM 100	-1.61800 [*]	.03217	.000	-1.7200	-1.5160
	EDGM 200	-.83600 [*]	.03217	.000	-.9380	-.7340
	EDGM 400	-.38200 [*]	.03217	.000	-.4840	-.2800
kelompok negatif	kelompok normal	2.66400 [*]	.03217	.000	2.5620	2.7660
	kelompok pioglitazon	2.41800 [*]	.03217	.000	2.3160	2.5200
	kelompok glibenklamid	2.45000 [*]	.03217	.000	2.3480	2.5520
	EDGM 100	1.04600 [*]	.03217	.000	.9440	1.1480
	EDGM 200	1.82800 [*]	.03217	.000	1.7260	1.9300
	EDGM 400	2.28200 [*]	.03217	.000	2.1800	2.3840
kelompok pioglitazon	kelompok normal	.24600 [*]	.03217	.000	.1440	.3480
	kelompok negatif	-2.41800 [*]	.03217	.000	-2.5200	-2.3160
	kelompok glibenklamid	.03200	.03217	.951	-.0700	.1340
	EDGM 100	-1.37200 [*]	.03217	.000	-1.4740	-1.2700
	EDGM 200	-.59000 [*]	.03217	.000	-.6920	-.4880
	EDGM 400	-.13600 [*]	.03217	.004	-.2380	-.0340
kelompok glibenklamid	kelompok normal	.21400 [*]	.03217	.000	.1120	.3160
	kelompok negatif	-2.45000 [*]	.03217	.000	-2.5520	-2.3480
	kelompok pioglitazon	-.03200	.03217	.951	-.1340	.0700
	EDGM 100	-1.40400 [*]	.03217	.000	-1.5060	-1.3020
	EDGM 200	-.62200 [*]	.03217	.000	-.7240	-.5200
	EDGM 400	-.16800 [*]	.03217	.000	-.2700	-.0660
EDGM 100	kelompok normal	1.61800 [*]	.03217	.000	1.5160	1.7200
	kelompok negatif	-1.04600 [*]	.03217	.000	-1.1480	-.9440
	kelompok pioglitazon	1.37200 [*]	.03217	.000	1.2700	1.4740
	kelompok glibenklamid	1.40400 [*]	.03217	.000	1.3020	1.5060
	EDGM 200	.78200 [*]	.03217	.000	.6800	.8840
	EDGM 400	1.23600 [*]	.03217	.000	1.1340	1.3380
EDGM 200	kelompok normal	.83600 [*]	.03217	.000	.7340	.9380
	kelompok negatif	-1.82800 [*]	.03217	.000	-1.9300	-1.7260
	kelompok pioglitazon	.59000 [*]	.03217	.000	.4880	.6920
	kelompok glibenklamid	.62200 [*]	.03217	.000	.5200	.7240
	EDGM 100	-.78200 [*]	.03217	.000	-.8840	-.6800
	EDGM 400	.45400 [*]	.03217	.000	.3520	.5560
EDGM 400	kelompok normal	.38200 [*]	.03217	.000	.2800	.4840
	kelompok negatif	-2.28200 [*]	.03217	.000	-2.3840	-2.1800
	kelompok pioglitazon	.13600 [*]	.03217	.004	.0340	.2380
	kelompok glibenklamid	.16800 [*]	.03217	.000	.0660	.2700
	EDGM 100	-1.23600 [*]	.03217	.000	-1.3380	-1.1340
	EDGM 200	-.45400 [*]	.03217	.000	-.5560	-.3520

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