

LAMPIRAN

Lampiran 1. Surat Keterangan Kode Etik



KOMISI ETIK PENELITIAN  
UNIVERSITAS BRAWIJAYA

KETERANGAN KELAIKAN ETIK  
"ETHICAL CLEARANCE"

No: 510-KEP-UB

KOMISI ETIK PENELITIAN (ANIMAL CARE AND USE COMMITTEE)  
UNIVERSITAS BRAWIJAYA  
TELAH MEMPELAJARI SECARA SEKSAMA RANCANGAN PENELITIAN YANG  
DIUSULKAN, MAKA DENGAN INI MENYATAKAN BAHWA:

PENELITIAN BERJUDUL : EKSPLORASI POLIFENOL RUMPUT LAUT COKLAT (*Sargasum sp*) SEBAGAI ANTIKOMPLIKASI MAKRO DAN MIKRO VASCULAR DIABETES MELITUS

PENELITI : MUHAMAD FIRDAUS

UNIT/LEMBAGATEMPAT : UNIVERSITAS BRAWIJAYA

DINYATAKAN : LAIK ETIK

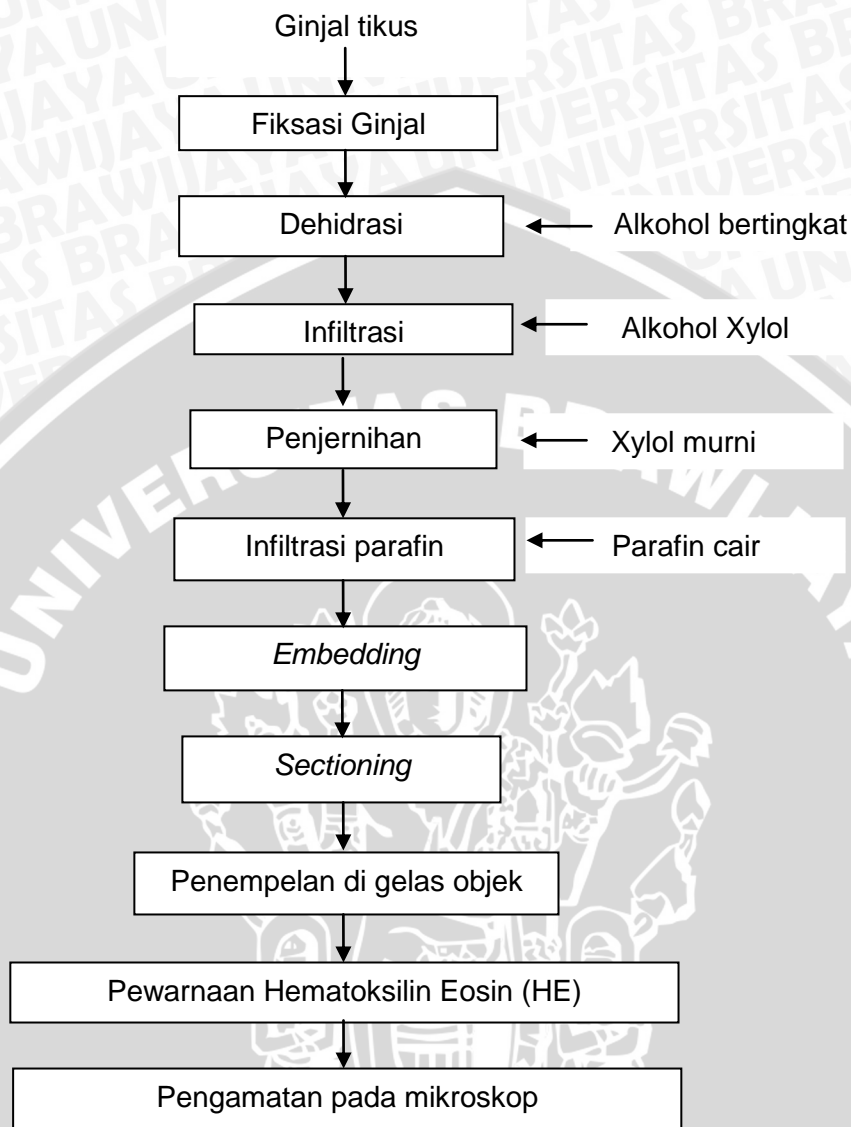
Malang, 2 Februari 2016  
Ketua Komisi Etik Penelitian  
Universitas Brawijaya



Prof. Dr. drh. Aulanni'am, DES.  
NIP. 19600903 198802 2 001



Lampiran 2. Pembuatan Preparat Histopatologi Ginjal Tikus



Pembuatan preparat histopatologi ginjal tikus

### Lampiran 3. Cara Perhitungan

#### 1. Induksi Streptozotosin (STZ)

$$\frac{40 \text{ mg}}{1 \text{ kgBB}} = \frac{40 \text{ mg}}{1000 \text{ g}} = \frac{4 \text{ mg}}{100 \text{ g}}$$

Pengukuran berat badan, misalnya untuk tikus dengan BB 250 g membutuhkan STZ seberat :

$$\frac{4 \text{ mg}}{100 \text{ g}} = \frac{x}{250 \text{ g}}$$
$$x = \frac{250 \text{ g} \cdot 4 \text{ mg}}{100 \text{ g}}$$

= 10 mg per tikus dengan BB 250 g

STZ yang telah ditimbang kemudian dicampurkan dengan buffer sitrat. STZ dibuat dengan berat 90 mg dan buffer sitrat sebanyak 2 mL untuk satu ekor tikus dengan berat 250 g jumlah mL STZ yang telah dicampur buffer sitrat dibutuhkan sebesar :

$$\frac{90 \text{ mg}}{2 \text{ mL}} = \frac{10 \text{ mg}}{x}$$
$$x = \frac{2 \text{ mL} \cdot 10 \text{ mg}}{90 \text{ g}}$$

x = 0,22 mL

Sebanyak 0,22 mL campuran STZ dan buffer sitrat diinduksi ke tikus dengan berat badan 250 g.

#### 2. Pemberian Obat Hiperglikemik Oral (OHO)

$$\frac{30 \text{ mg}}{1 \text{ kgBB}} = \frac{30 \text{ mg}}{1000 \text{ g}} = \frac{3 \text{ mg}}{100 \text{ g}}$$

Pengukuran berat badan dilakukan, misalnya untuk tikus dengan BB 250 g membutuhkan OHO seberat :

$$\frac{3 \text{ mg}}{100 \text{ g}} = \frac{x}{250 \text{ g}}$$

$$x = \frac{250 \text{ g} \cdot 3 \text{ mg}}{100 \text{ g}}$$

= 7,5 mg per tikus dengan BB 250 g

OHO yang telah ditimbang kemudian dicampurkan dengan minyak wijen.

OHO yang dibuat dengan berat 50 mg dan minyak wijen sebanyak 2 mL maka untuk satu ekor tikus dengan berat 250 gr, dibutuhkan jumlah mL OHO yang telah dicampur minyak wijen sebanyak :

$$\frac{50 \text{ mg}}{2 \text{ mL}} = \frac{7,5 \text{ mg}}{x}$$

$$x = \frac{2 \text{ mL} \cdot 7,5 \text{ mg}}{50 \text{ g}}$$

x = 0,3 mL

Sebanyak 0,3 mL campuran OHO dan minyak wijen disondekan ke tikus dengan berat badan 250 g.

### 3. Pemberian Polifenol *Sargassum* sp

#### a. Dosis Rendah (200 mg/ kg BB)

$$\frac{200 \text{ mg}}{1 \text{ kgBB}} = \frac{200 \text{ mg}}{1000 \text{ g}} = \frac{20 \text{ mg}}{100 \text{ g}}$$

Pengukuran berat badan dilakukan, misalnya untuk tikus dengan BB 250 g membutuhkan ekstrak metanol *Sargassum* sp dengan dosis rendah seberat :

$$\frac{20 \text{ mg}}{100 \text{ g}} = \frac{x}{250 \text{ g}}$$

$$x = \frac{250 \text{ g} \cdot 20 \text{ mg}}{100 \text{ g}}$$

= 50 mg per tikus dengan BB 250 g

Ekstrak metanol *Sargassum* sp yang telah ditimbang kemudian dicampurkan dengan minyak wijen. Ekstrak metanol *Sargassum* sp yang dibuat dengan berat 250 mg dan minyak wijen sebanyak 2 mL maka untuk satu ekor tikus

dengan berat 250 gr, dibutuhkan jumlah mL ekstrak metanol *Sargassum* sp yang telah dicampur minyak wijen sebanyak :

$$\frac{250 \text{ mg}}{2 \text{ mL}} = \frac{50 \text{ mg}}{x}$$

$$x = \frac{2 \text{ mL} \cdot 50 \text{ mg}}{250 \text{ g}}$$

$$x = 0,4 \text{ mL}$$

Sebanyak 0,4 mL campuran ekstrak metanol *Sargassum* sp dan minyak wijen disondekan ke tikus dengan berat badan 250 g.

b. Dosis Sedang (400 mg/kg BB)

$$\frac{400 \text{ mg}}{1 \text{ kgBB}} = \frac{400 \text{ mg}}{1000 \text{ g}} = \frac{40 \text{ mg}}{100 \text{ g}}$$

Pengukuran berat badan dilakukan, misalnya untuk tikus dengan BB 250 g membutuhkan ekstrak metanol *Sargassum* sp dengan dosis sedang seberat :

$$\frac{40 \text{ mg}}{100 \text{ g}} = \frac{x}{250 \text{ g}}$$

$$x = \frac{250 \text{ g} \cdot 40 \text{ mg}}{100 \text{ g}}$$

$$= 100 \text{ mg per tikus dengan BB 250 g}$$

Ekstrak metanol *Sargassum* sp yang telah ditimbang kemudian dicampurkan dengan minyak wijen. Ekstrak metanol *Sargassum* sp yang dibuat dengan berat 550 mg dan minyak wijen sebanyak 2 mL maka untuk satu ekor tikus dengan berat 250 gr, dibutuhkan jumlah mL ekstrak metanol *Sargassum* sp yang telah dicampur minyak wijen sebanyak :

$$\frac{550 \text{ mg}}{2 \text{ mL}} = \frac{100 \text{ mg}}{x}$$

$$x = \frac{2 \text{ mL} \cdot 100 \text{ mg}}{550 \text{ g}}$$

$$x = 0,36 \text{ mL}$$

Sebanyak 0,36 mL campuran ekstrak metanol *Sargassum* sp dan minyak wijen disondekan ke tikus dengan berat badan 250 g.

c. Dosis Tinggi (600 mg/kg BB)

$$\frac{600 \text{ mg}}{1 \text{ kgBB}} = \frac{600 \text{ mg}}{1000 \text{ g}} = \frac{60 \text{ mg}}{100 \text{ g}}$$

Pengukuran berat badan dilakukan, misalnya untuk tikus dengan BB 250 g membutuhkan ekstrak metanol *Sargassum* sp dengan dosis tinggi seberat :

$$\frac{60 \text{ mg}}{100 \text{ g}} = \frac{x}{250 \text{ g}}$$

$$x = \frac{250 \text{ g} \cdot 60 \text{ mg}}{100 \text{ g}}$$

= 150 mg per tikus dengan BB 250 g

Ekstrak metanol *Sargassum* sp yang telah ditimbang kemudian dicampurkan dengan minyak wijen. Ekstrak metanol *Sargassum* sp yang dibuat dengan berat 900 mg dan minyak wijen sebanyak 2 mL maka untuk satu ekor tikus dengan berat 250 gr, dibutuhkan jumlah mL ekstrak metanol *Sargassum* sp yang telah dicampur minyak wijen sebanyak :

$$\frac{900 \text{ mg}}{2 \text{ mL}} = \frac{150 \text{ mg}}{x}$$

$$x = \frac{2 \text{ mL} \cdot 150 \text{ mg}}{900 \text{ mg}}$$

x = 0,33 mL

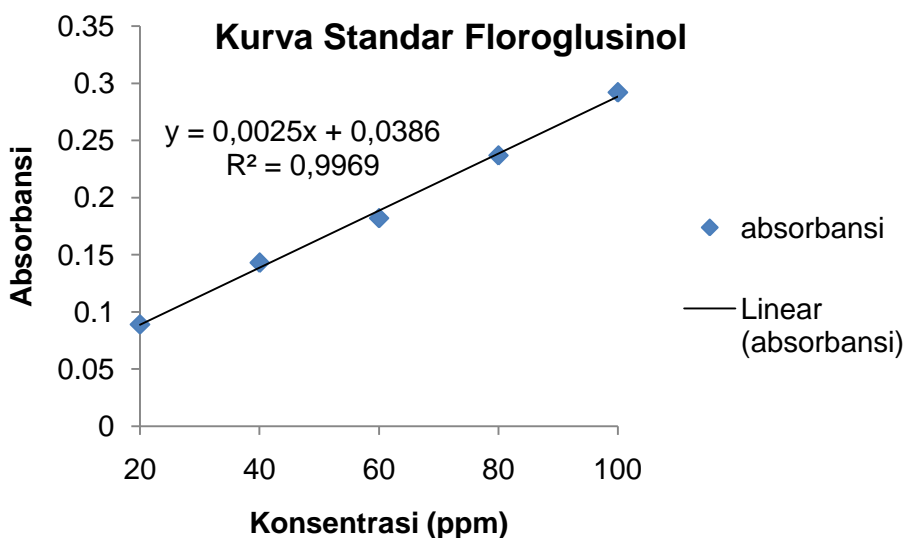
Sebanyak 0,33 mL campuran ekstrak metanol *Sargassum* sp dan minyak wijen disondekan ke tikus dengan berat badan 250 g.

**Lampiran 4.** Kandungan Phlorotannin Metanol *Sargassum* sp

Data pengamatan absorbansi floroglusinol

Konsentrasi (ppm)	20	40	60	80	100
Absorbansi	0,089	0,143	0,182	0,237	0,292

Persamaan hubungan linear antara konsentrasi floroglusinol dan absorbansi



**Data Total Fenol**

Perlakuan	Absorbansi	Konsentrasi (mg/kg)	Rerata total fenol	
			mg/kg	mg/mg
1	1,566	610,96	674,96	0,00067
2	1,924	754,16		
3	1,688	659,76		

Data penyerapan florotanin pada tikus coba

Perlakuan	Ulangan	Berat Badan Tikus (g)	Dosis input (mg)	Kadar Florotanin			Terserap (%)	Rerata (%)
				Input mg/dosis	Output mg/dosis	Terserap mg/dosis		
E (dosis ekstrak 200 mg/kg BB)	1	219	43,8	0,02956	0,00036	0,02920	98,78214	98,83968
	2	211	42,2	0,02848	0,00036	0,02812	98,73596	
	3	234	46,8	0,03159	0,00032	0,03127	98,98702	
	4	210	42	0,02835	0,00035	0,02800	98,76543	
	5	228	45,6	0,03078	0,00033	0,03045	98,92788	
F (dosis ekstrak 400 mg/kg BB)	1	215	86	0,05805	0,00019	0,05786	99,67270	99,66513
	2	204	81,6	0,05508	0,00021	0,05487	99,61874	
	3	239	95,6	0,06453	0,00017	0,06436	99,73656	
	4	203	81,2	0,05481	0,00019	0,05462	99,65335	
	5	209	83,6	0,05623	0,00020	0,05603	99,64432	
G (dosis ekstrak 600 mg/kg BB)	1	223	133,8	0,09008	0,00023	0,08985	99,74467	99,74784
	2	205	123	0,08281	0,00021	0,08260	99,74641	
	3	204	122,4	0,08239	0,00023	0,08216	99,72084	
	4	216	129,6	0,08726	0,00022	0,08704	99,74788	
	5	258	154,8	0,10426	0,00023	0,10403	99,77940	



**Lampiran5.** Data dan analisis kadar glukosa darah  
Data kadar glukosa darah hari ke-45

Perlakuan	Ulangan				
	1	2	3	4	5
A	116	121	118	103	113
B	68	74	79	69	76
C	595	598	586	570	585
D	400	412	413	359	400
E	397	402	445	412	427
F	394	400	386	404	375
G	256	275	297	297	305

Analisis keragaman pengaruh ekstrak metanol *Sargassum* sp terhadap kadar glukosa darah tikus diabetes hari ke-45

Descriptives

Kadar glukosa darah

	N	Mean	Std. Deviation	Std. Error	95% Confidence Interval for Mean		Minimum	Maximum
					Lower Bound	Upper Bound		
					A	5		
B	5	73.20	4.658	2.083	67.42	78.98	68	79
C	5	586.80	10.941	4.893	573.22	600.38	570	598
D	5	396.80	22.039	9.856	369.44	424.16	359	413
E	5	416.60	19.578	8.756	392.29	440.91	397	445
F	5	391.80	11.584	5.181	377.42	406.18	375	404
G	5	286.00	20.149	9.011	260.98	311.02	256	305
Total	35	323.63	170.282	28.783	265.13	382.12	68	598

ANOVA

Kadar Glukosa Darah

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	979474.971	6	163245.829	714.960	.000
Within Groups	6393.200	28	228.329		
Total	985868.171	34			

Duncan

	N	Subset for alpha = 0.05					
		1	2	3	4	5	6
B	5	73.20					
A	5		114.20				
G	5			286.00			
F	5				391.80		
D	5				396.80		
E	5					416.60	
C	5						586.80
Sig.		1.000	1.000	1.000	.605	1.000	1.000

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.



**Lampiran 6. Data Hispatologi Ginjal dengan Uji Kruskal Wallis**

		Ranks	
	Kerusakan	N	Mean Rank
Hasil	Nekrosis	7	13,64
	Piknosis	7	10,79
	Kariolisis	7	8,57
	Total	21	

ANOVA					
HasilAnalisaNekrosis					
	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	70,434	6	11,739	31,404	,000
Within Groups	62,800	168	,374		
Total	133,234	174			

HasilAnalisaNekrosis					
Tukey HSD <sup>a</sup>					
JenisPerlakuan	N	Subset for alpha = 0.05			
		1	2	3	4
K-	25	,44			
K-OHO	25	,88	,88		
PC	25		1,08	1,08	
PB	25			1,40	
PA	25				1,96
K+OHO	25				2,12
K+	25				2,24
Sig.		,150	,909	,516	,670

ANOVA					
HasilAnalisaPiknosis					
	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	20,629	6	3,438	7,648	,000
Within Groups	75,520	168	,450		
Total	96,149	174			

**HasilAnalisaPiknosis**

Tukey HSD<sup>a</sup>

JenisPerlakuan	N	Subset for alpha = 0.05	
		1	2
K-	25	,40	
PC	25	,96	,96
K-OHO	25		1,04
PB	25		1,08
K+	25		1,36
PA	25		1,36
K+OHO	25		1,52
Sig.		,054	,054

**ANOVA**

HasilAnalisaKariolisis

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	17,154	6	2,859	9,440	,000
Within Groups	50,880	168	,303		
Total	68,034	174			

**HasilAnalisaKariolisis**

Tukey HSD<sup>a</sup>

JenisPerlakuan	N	Subset for alpha = 0.05			
		1	2	3	4
K-	25	,32			
K+OHO	25	,72	,72		
PC	25	,76	,76	,76	
K-OHO	25		1,12	1,12	1,12
PB	25		1,12	1,12	1,12
PA	25			1,20	1,20
K+	25				1,24
Sig.		,076	,142	,076	,987

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 25,000.



Lampiran 7. Tabel Kreatin

Perlakuan	Ulangan					
	1	2	3	4	5	Rerata
<b>A</b>	0,73	0,73	0,7	0,71	0,78	0,73
<b>B</b>	0,34	0,32	0,34	0,35	0,35	0,34
<b>C</b>	0,32	0,28	0,29	0,31	0,3	0,3
<b>D</b>	0,33	0,36	0,34	0,37	0,35	0,35
<b>E</b>	0,47	0,5	0,46	0,49	0,48	0,48
<b>F</b>	0,55	0,56	0,57	0,54	0,53	0,55
<b>G</b>	0,5	0,5	0,53	0,48	0,49	0,5

Data RAL Kreatin

Between-Subjects Factors			
	Value Label		N
Perlakuan	1,00	K-	5
	2,00	K-OHO	5
	3,00	K+	5
	4,00	K+OHO	5
	5,00	PA	5
	6,00	PB	5
	7,00	PC	5

Tests of Between-Subjects Effects					
Dependent Variable: Hasil					
Source	Type III Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Corrected Model	,675 <sup>a</sup>	6	,112	321,361	,000
Intercept	7,545	1	7,545	21556,122	,000
Perlakuan	,675	6	,112	321,361	,000
Error	,010	28	,000		
Total	8,229	35			
Corrected Total	,685	34			

a. R Squared = ,986 (Adjusted R Squared = ,983)

ANOVA					
HasilAnalisaKreatin	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	,675	6	,112	321,361	,000
Within Groups	,010	28	,000		
Total	,685	34			

**HasilAnalisaKreatin**

Tukey HSD <sup>a</sup>		Subset for alpha = 0.05				
JenisPerlakuan	N	1	2	3	4	5
K+	5	,3000				
K-OHO	5		,3400			
K+OHO	5		,3500			
PA	5			,4800		
PC	5			,5000		
PB	5				,5500	
K-	5					,7300
Sig.		1,000	,978	,628	1,000	1,000

		Hasil					
Tukey HSD <sup>a,b</sup>	Perlakuan	N	1	2	3	4	5
Duncan <sup>a,b</sup>	K+	5	,3000				
	K-OHO	5		,3400			
	K+OHO	5		,3500			
	PA	5			,4800		
	PC	5			,5000		
	PB	5				,5500	
	K-	5					,7300
	Sig.		1,000	,978	,628	1,000	1,000
Gabriel <sup>a,b</sup>	K+	5	,3000				
	K-OHO	5		,3400			
	K+OHO	5		,3500			
	PA	5			,4800		
	PC	5			,5000		
	PB	5				,5500	
	K-	5					,7300
	Sig.		1,000	,405	,102	1,000	1,000

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.  
 Based on observed means.  
 The error term is Mean Square(Error) = ,000.

- a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 5,000.
- b. Alpha = 0,05.



**Lampiran 8. Metode de garmo**

	Parameter			
Penilaian	Kadar glukosa	histopa ginjal	Kreatin	penyerapan florotanin
Penilaian	4	3	2	1
Total	4	3	2	1
Rerata	4	3	2	1
Ranking	1	2	3	4
b.vari	1	0,75	0,5	0,25

Parameter	A	B	C	D	E	F	G	Nilai terbaik	Nilai terjelek	Selisih
kadar glukosa	114	73,2	586,8	396,8	416,6	391,8	286	73,2	586,8	-513,6
histopatologi ginjal	0,38	1,01	1,61	1,46	1,5	1,2	0,93	0,3	1,61	-1,31
kreatin	0,73	0,34	0,3	0,35	0,48	0,55	0,5	0,73	0,3	0,43
florotanin					98,83969	99,66513	99,74784	99,74784	98,83969	0,90815

Lampiran 9. Gambar proses penelitian



Sargassumsp



Pencucian



Penjemuran



Merasimetanol 1 : 3



Tepung Sargassumsp



Penggilingan



Penyaringan



Evaporasi



Degassing

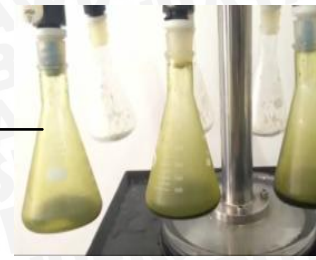




Pengelompokantikus



Serbukekstrak Sargass  
umsp



Freeze Drying



Pemeliharaantikusselam  
a 45 haripenelitian



Penyondeantikusujid  
enganekstrak Sargass  
sumsp,  
minyakwijendanglicla  
zida



Pembedahandanpenga  
mbilanhati yang  
akandiuji



Pengukurankadargl  
ukosadarahpadahar  
ike -46

Hati tikus normal



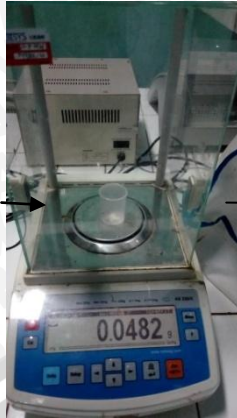
Hati tikus DM



Lampiran 10. Gambar preparasi STZ dan tikus coba



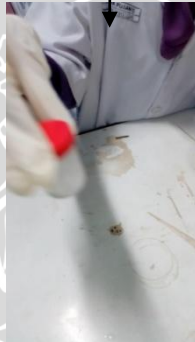
Streptozotocin



Penimbangan Streptozotocin 40 mg/kgBB



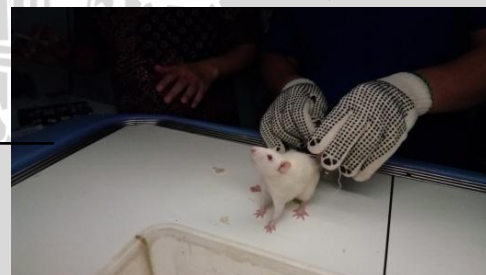
Buffer sitrat pH 4,5



Streptozotocin dilarutkan dalam buffer sitrat pH 4,5



Persiapan penginduksian dengan gancara intra peritoneal



Tikus yang telah di aklimatisasi dan mempunyai berat  $\geq 200$  g



Tikus induksi *streptozotocin* secara intra peritoneal



Pengecekan kadar glukosa darah pada hari ke 7 setelah penginduksian. Tikus dengan kadar glukosa darah > 200 mg/dL akan digunakan sebagai tikus diabetes mellitus dalam penelitian sedang tikus dengan kadar gula < 200 mg/dL tidak digunakan dalam penelitian

