

**Efek Preventif Perasan Daun dan Tangkai Semanggi Air (*Marsilea crenata*)
Terhadap Urolithiasis Pada Tikus (*Rattus norvegicus*) Penderita
Hiperglikemia Berdasarkan Kadar Kreatinin Serum dan
Histopatologi Ureter**

SKRIPSI

**Oleh :
GURITNA SEPUTRA
125130102111001**



**PROGRAM STUDI PENDIDIKAN DOKTER HEWAN
FAKULTAS KEDOKTERAN HEWAN
UNIVERSITAS BRAWIJAYA
MALANG
2018**

**Efek Preventif Perasan Daun dan Tangkai Semanggi Air (*Marsilea crenata*)
Terhadap Urolithiasis Pada Tikus (*Rattus norvegicus*) Penderita
Hiperglikemia Berdasarkan Kadar Kreatinin Serum dan
Histopatologi Ureter**

SKRIPSI

Sebagai salah satu syarat untuk memperoleh gelar
Sarjana Kedokteran Hewan

Oleh :
GURITNA SEPUTRA
125130102111001



**PROGRAM STUDI PENDIDIKAN DOKTER HEWAN
FAKULTAS KEDOKTERAN HEWAN
UNIVERSITAS BRAWIJAYA
MALANG
2018**

LEMBAR PENGESAHAN SKRIPSI

Efek Preventif Perasan Daun dan Tangkai Semanggi Air (*Marsilea crenata*) Terhadap Urolithiasis Pada Tikus (*Rattus norvegicus*) Penderita Hiperglikemia Berdasarkan Kadar Kreatinin Serum dan Histopatologi Ureter

Oleh:

GURITNA SEPUTRA

125130102111001

Setelah dipertahankan di depan Majelis Penguji
pada tanggal 1 Agustus 2018

dan dinyatakan memenuhi syarat untuk memperoleh gelar

Sarjana Kedokteran Hewan

Pembimbing 1

Pembimbing 2

Dr. Sri Murwani, drh., MP

NIP. 196301011989032001

drh. Dahliatul Qosimah, M.kes

NIP. 198201272015042001

Mengetahui,

Dekan Fakultas Kedokteran Hewan

Universitas Brawijaya

Prof. Dr. Aulanni'am, drh., DES

NIP. 196009031988022001

LEMBAR PERNYATAAN

Saya yang bertanda tangan di bawah ini :

Nama : GURITNA SEPUTRA
NIM : 125130102111001
Program Studi : Kedokteran Hewan
Penulis Skripsi berjudul : Efek Preventif Perasan Daun dan Tangkai Semanggi Air (*Marsilea crenata*) Terhadap Urolithiasis Pada Tikus (*Rattus norvegicus*) Penderita Hiperglikemia Berdasarkan Kadar Kreatinin Serum dan Histopatologi Ureter

Dengan ini menyatakan bahwa :

1. Isi dari skripsi yang saya buat benar-benar karya saya sendiri dan tidak menjiplak karya orang lain, selain nama-nama yang termaktub di isi dan tertulis di daftar pustaka dalam skripsi ini.
2. Apabila dikemudian hari ternyata skripsi yang saya tulis terbukti hasil jiplakan, maka saya akan bersedia menanggung segala resiko yang akan saya terima.

Demikian pernyataan ini dibuat dengan segala kesadaran.

Malang, 1 Agustus 2018
Yang menyatakan

(GURITNA SEPUTRA)
NIM. 125130102111001

**Efek Preventif Perasan Daun dan Tangkai Semanggi Air (*Marsilea crenata*)
Terhadap Urolithiasis Pada Tikus (*Rattus norvegicus*) Penderita
Hiperglikemia Berdasarkan Kadar Kreatinin Serum dan
Histopatologi Ureter**

ABSTRAK

Urolithiasis merupakan akibat adanya masa keras seperti batu yang terbentuk disepanjang saluran kencing. Urolithiasis dapat diperparah dengan keadaan hiperglikemia kronis yang menyebabkan inflamasi yang berdampak pada peningkatan oksalat kemudian mengendap dan terjadi kristalisasi di saluran urinasi sehingga menyebabkan kejadian urolithiasis tinggi. Semanggi air (*Marsilea crenata*) mengandung kalium dan flavonoid yang berperan sebagai diuretik, antioksidan dan antiinflamasi. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui efek perasan daun dan tangkai semanggi air (*Marsilea crenata*) terhadap urolithiasis pada tikus (*Rattus norvegicus*) penderita hiperglikemia berdasarkan kadar kreatinin serum dan histopatologi ureter. Penelitian ini bersifat eksperimental, *post test only control design* menggunakan RAL (Rancangan Acak Lengkap). Hewan model yang dipakai adalah tikus putih (*Rattus norvegicus*) wistar jantan berumur 3-4 bulan dengan BB 200 gram dibagi menjadi 5 kelompok. Kelompok P1 kontrol urolithiasis yang diinduksi 10 hari dengan etilen glikol 0,75% dan amonium klorida 2%; P2 kontrol Hiperglikemia+Urolithiasis yang diberi campuran fruktosa 66% dan margarin 1,7 gram selama 15 hari kemudian diinduksi urolithiasis; P3, P4, P5 adalah kelompok perlakuan Hiperglikemia+urolithiasis yang diberi semanggi air dengan konsentrasi 20%, 40%, 60%. Data yang diuji adalah kreatinin serum menggunakan spektrofotometri dan dianalisis secara statistika dengan uji *one-way* ANOVA $\alpha = 0,05$. Histopatologi ureter perwarnaan HE yang dianalisis deskriptif. Hasil penelitian menunjukkan terjadinya penurunan kreatinin pada kelompok perlakuan dengan pemberian perasan semanggi air, serta menunjukkan adanya penurunan kerusakan sel epitel pada pengamatan histopatologi ureter pada kelompok perlakuan 60% (P3). Kesimpulan penelitian ini pemberian 60% perasan daun dan tangkai semanggi air dapat dijadikan prevensi urolithiasis pada penderita hiperglikemia.

Kata kunci : Hiperglikemia, Urolithiasis, Semanggi Air, Kreatinin Serum, Ureter

Preventive Effect of Leaf Juice and Water Clover (*Marsilea crenata*) Against Urolithiasis In Rats (*Rattus norvegicus*) Patients with Hyperglycemia Based on Serum Creatinine and Ureter Histopathology

ABSTRACT

Urolithiasis is a result of a hard time like a stone formed along the urinary tract. Urolithiasis can be exacerbated by the presence of chronic hyperglycemia that causes inflammation that affects the increase in oxalate then settles and crystallization occurs in the urinary tract causing high urolithiasis occurrence. Water clover (*Marsilea crenata*) contains potassium and flavonoids that act as diuretics, antioxidants and anti-inflammatory. The aim of this research is to know the effect of leaf juice and water clover (*Marsilea crenata*) on urolithiasis in mice (*Rattus norvegicus*) of hyperglycemic patient based on serum creatinine and ureter histopathology. This research is experimental, post test only control design using RAL (Completely Randomized Design). An animals model use are a mouse white (*rattus norvegicus*) wistar male was 3-4 month with bb 200 gram divided into 5 group. Group P1 control of urolithiasis induced for 10 days with ethylene glycol 0.75% and 2% ammonium chloride; P2 control Hyperglycemia + Urolithiasis given a mixture of fructose 66% and margarine 1.7 grams for 15 days then induced urolithiasis; P3, P4, P5 were treated with hyperglycemia + urolithiasis group with concentration of 20%, 40%, 60%. The test of the data were serum creatinine level using spectrophotometry and statistically analyzed by one-way ANOVA $\alpha = 0,05$. Histopathology of the HE colored ureter was analyzed descriptively. The results showed that creatinine decrease in the treatment group by giving the water semanggi juice, and showed the decrease of epithelial cell damage on ureteric histopathology observation in 60% (P3) treatment group. The conclusion of this research giving 60% of leaf juice and water clover stalk can be used as prevention of urolithiasis in patients with hyperglycemia.

Keywords : Hyperglycemia, Urolithiasis, Water Clover, Serum Creatinine, Ureter

KATA PENGANTAR

Puji syukur penulis panjatkan kehadapan Allah SWT yang melimpahkan rahmat, taufiq, dan hidayah-Nya. Sholawat dan salam semoga tetap tercurahkan kepada Nabi Agung Muhammad SAW, sehingga penulis dapat membuat proposal skripsi yang berjudul : **Efek Preventif Perasan Daun dan Tangkai Semanggi Air (*Marsilea crenata*) Terhadap Urolithiasis Pada Tikus (*Rattus norvegicus*) Penderita Hiperglikemia Berdasarkan Kadar Kreatinin Serum dan Histopatologi Ureter**

Penulis menyampaikan terima kasih yang sebesar-besarnya kepada seluruh pihak yang membantu membimbing, memotivasi dan memperlancar dalam penulisan skripsi ini, secara khusus penulis mengucapkan terima kasih kepada :

1. Dr. Sri Murwani, drh., MP dan drh. Dahliatul Qosimah, M.kes selaku dosen pembimbing yang telah berkenan memberikan bimbingan, waktu, kesabaran, motivasi dan bantuan yang telah diberikan.
2. drh. Dodik Prasetyo, M.Vet dan drh. Nurina Titisari, M.Sc. selaku dosen penguji yang telah berkenan memberikan tanggapan, masukan, kritik dan saran.
3. Prof. Dr. Aulanni'am, drh, DES selaku Dekan Fakultas Kedokteran Hewan Universitas Brawijaya.
4. Keluarga besar penulis, Ayahanda Sukardjo, Ibunda Tri Astuti almh., atas pengorbanan yang luar biasa baik waktu, kasih sayang, materi, kesabaran,

doa, dorongan, nasehat, bimbingan dan pelajaran hidup mengenai keikhlasan dan semangat sebagai bekal kesuksesan penulis.

5. Penulis mengucapkan terima kasih kepada keluarga besar VENA-12, teman-teman kelompok Urolithiasis, teman baik, sahabat dan saudara baru bagi penulis: Gallant, Wahid, Athul, Mulam, Siska, Bangun, Anggit, Basofi, Fiktor, Tito, Yudi, Teddy dan seluruh kolega FKH UB atas motivasi, semangat, nasehat, bantuan, keceriaan dan kebersamaan selama ini.
6. Kepada semua rekan-rekan dan sahabat angkatan 2012 serta sahabat-sahabat lain yang tidak dapat disebutkan satu persatu, terimakasih atas segala perhatian, dorongan, motivasi dan doa yang telah diberikan.
7. Semua pihak yang telah membantu dalam penyelesaian penulisan skripsi ini yang tidak mungkin penulis sebutkan satu persatu.

Kritik dan saran yang sifatnya membangun sangat penulis harapkan dari berbagai pihak. Akhir kata, penulis berharap semoga Allah SWT membalas segala kebaikan yang telah diberikan dan Skripsi ini dapat memberikan manfaat serta wawasan tidak hanya bagi penulis namun juga bagi pembaca.

DAFTAR ISI

	Halaman
HALAMAN JUDUL	i
HALAMAN PENGESAHAN.....	ii
HALAMAN PENYATAAN.....	iii
ABSTRAK.....	iv
KATA PENGANTAR.....	vi
DAFTAR ISI.....	viii
DAFTAR TABEL.....	x
DAFTAR GAMBAR	xi
DAFTAR LAMPIRAN.....	xii
DAFTAR SINGKATAN DAN LAMBANG	xiii
BAB I PENDAHULUAN	1
1.1 Latar Belakang	1
1.2 Rumusan Masalah	3
1.3 Batasan Masalah	3
1.4 Tujuan Penelitian	4
1.5 Manfaat Penelitian	4
BAB II TINJAUAN PUSTAKA	5
2.1 Hiperglikemia.....	5
2.1.1 Definisi.....	5
2.2.2 Patogenesis Hiperglikemia.....	6
2.2 Urolithiasis.....	6
2.2.1 Definisi.....	6
2.2.2 Jenis-jenis Batu Saluran Kemih.....	7
2.2.3 Patogenesis Urolithiasis.....	8
2.3 Bahan Induksi Hiperglikemia	9
2.4.1 Fruktosa	9
2.4.2 Margarin	10
2.5 Bahan Induksi Urolithiasis	10
2.5.1 Etilen Glikol	10
2.5.2 Amonium Klorida	11
2.6 Ureter.....	11
2.7 Kreatinin Serum	12
2.8 Semanggi Air (<i>Marsilea crenata</i>).....	13
2.8.1 Klasifikasi Tanaman.....	13
2.8.2 Deskripsi dan Morfologi Tanaman	14
2.8.3 Kandungan Tanaman	15

2.8.4 Manfaat	17
2.9 Hewan Coba.....	18
BAB III KERANGKA KONSEP DAN HIPOTESIS.....	20
3.1 Kerangka Konsep.....	20
3.2 Hipotesis Penelitian.....	23
BAB IV METODOLOGI PENELITIAN.....	24
4.1 Waktu dan Tempat Penelitian.....	24
4.2 Alat dan Bahan Penelitian.....	25
4.3 Tahapan Penelitian	25
4.3.1 Penetapan Sampel Penelitian	25
4.3.2 Penetapan Dosis Perasan Daun dan Tangkai Semanggi Air	27
4.3.3 Penetapan Dosis Bahan Induksi.....	27
4.3.5 Rancangan Penelitian.....	27
4.3.6 Variabel Penelitian.....	29
4.4 Prosedur Penelitian	29
4.4.1 Persiapan Hewan Percobaan.....	29
4.4.2 Pembuatan Perasan Daun dan Tangkai Semanggi Air	29
4.4.3 Pemberian Perlakuan	30
4.4.4 Pengukuran Glukosa Darah	30
4.4.5 Pemeriksaan Urolithiasis	31
4.4.6 Pengambilan Sampel Serum Darah	31
4.4.7 Pengambilan Sampel Organ Ureter	31
4.4.8 Pengukuran Kadar Kreatinin	32
4.4.9 Pengamatan Histopatologi Ureter	32
4.5 Analisa Data	32
BAB V HASIL DAN PEMBAHASAN.....	33
5.1 Pengaruh Perlakuan Perasan Daun dan Tangkai Semanggi Air (Marsilea crenata) Terhadap Kadar Kreatinin Serum	33
5.2 Pengaruh Perlakuan Perasan Daun dan Tangkai Semanggi Air (Marsilea crenata) Terhadap Histopatologi Ureter	39
BAB VI PENUTUP.....	47
6.1 Kesimpulan.....	47
6.2 Saran	47
DAFTAR PUSTAKA.....	48
LAMPIRAN.....	53

DAFTAR TABEL

Tabel	Halaman
4.1 Rancangan Penelitian	28
5.1 Rata Nilai Kreatinin Serum dan Hasil <i>Tuckey</i>	35
5.2 Rata Nilai Tebal Lapisan Epitel Ureter dan Hasil <i>Tuckey</i>	43



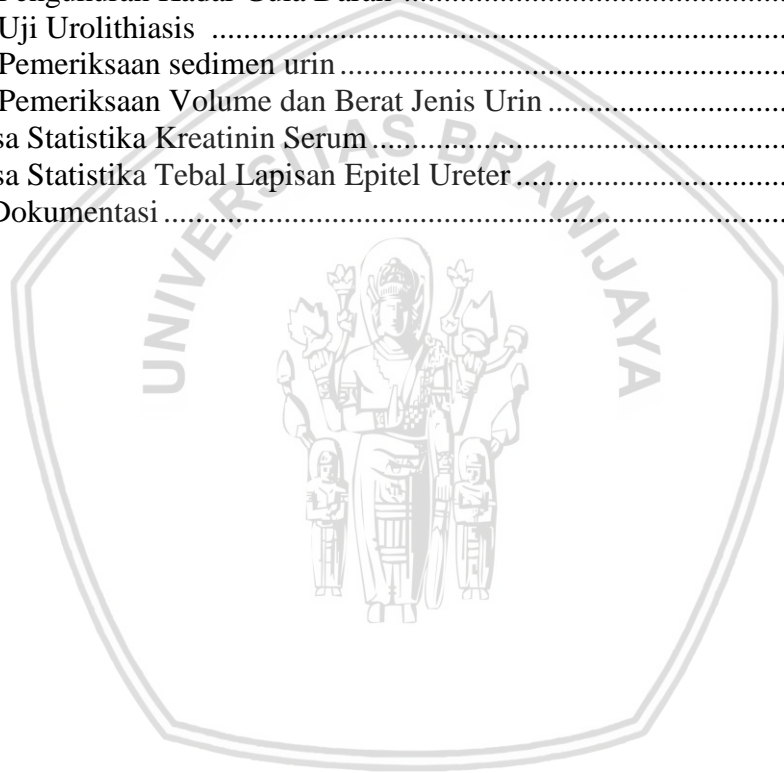
DAFTAR GAMBAR

Gambar	Halaman
2.1 Struktur fruktosa	9
2.3 Histologi Ureter Tikus Putih (<i>Rattus norvegicus</i>).....	13
2.4 Semangi Air (<i>Marsilea crenata</i>)	14
2.5 Tikus Putih (<i>Rattus norvegicus</i>).....	19
5.1 Kadar Kreatinin Serum Semua Kelompok Penelitian	34
5.2a Histologi Kontrol Urolithiasis P1	40
5.2b Histologi Kontrol Hiperglikemia+urolithiasis P2	40
5.2c Histologi Perlakuan Semangi Air Kadar 20% P3	41
5.2d Histologi Perlakuan Semangi Air Kadar 40% P4	41
5.2e Histologi Perlakuan Semangi Air Kadar 60% P5	42
5.2f Ukuran Tebal Lapisan Epitel Ureter	42



DAFTAR LAMPIRAN

Lampiran	Halaman
1. Diagram Tahapan Penelitian	54
2. Prosedur Kerja	55
2.1 Pembuatan Perasan Daun dan Tangkai Semanggi Air.....	55
2.2 Pembuatan Bahan Induksi Hiperglikemia.....	56
2.3 Pembuatan Bahan Induksi Urolithiasis	56
3. Prosedur Pengukuran Kreatinin	57
4. Surat Determinasi dan Layak Etik	58
5. Hasil Pengukuran Kadar Gula Darah	60
6. Hasil Uji Urolithiasis	61
6.1 Pemeriksaan sedimen urin	61
6.2 Pemeriksaan Volume dan Berat Jenis Urin	63
7. Analisa Statistika Kreatinin Serum	64
8. Analisa Statistika Tebal Lapisan Epitel Ureter	71
9. Foto Dokumentasi	74



DAFTAR SINGKATAN DAN LAMBANG

%	: Persen
μL	: Mikroliter
AGE	: <i>Advance Glycation End Product</i>
AGEs	: <i>Advanced Glycation End Products</i>
AK	: Amonium Klorida
ANOVA	: <i>One Way Analysis of Variant</i>
ATP	: <i>Adenosina Trifosfat</i>
BB	: Berat Badan
BNJ	: Beda Nyata Jujur
Ca^{2+}	: Konsentrasi Ion Kalsium
CaOx	: Kalsium Oksalat
Cu^{2+}	: Ion Kupri
CK	: <i>Creatin Kinase</i>
DAG	: <i>Diacylglycerol</i>
EG	: Etilen Glikol
g	: Gram
GFR	: <i>Gromerular Filtration Rate</i>
HCl	: Hidrogen Klorida
ISPAD	: <i>International Society for Pediatrics and Adolescent</i>
kg	: Kilogram
KGD	: Kadar Gula Darah
KHK	: Ketoheksokinase
mg	: Miligram
mL	: Mililiter
mg/dL	: Miligram/Deciliter
mmol/L	: Millimoles/Liter
MMP	: <i>Matrix Metalloproteinases</i>
NaCl	: Natrium Klorida
NaOH	: Natrium Hidroksida

NAD ⁺	: <i>Nikotinamida Adenina Dinukleotida</i>
NADH	: <i>Nikotinamida Adenosin Dinukleotida Hidrogen</i>
NADPH	: <i>Nicotineamid Adenosine Dinucleotide Phosphate</i>
NH ₄ CL	: <i>Amonium Klorida</i>
nm	: <i>Nanometer</i>
No	: <i>Nitrit Oksida</i>
PBS	: <i>Phosphate Buffer Saline</i>
PET	: <i>Polietilen Tereftalat</i>
pH	: <i>Power Of Hydrogen</i>
PKC	: <i>Protein Kinase C</i>
PO	: <i>Per Oral</i>
PUFA	: <i>Poly Unsaturated Fatty Acid</i>
RAL	: <i>Rancangan Acak Lengkap</i>
ROS	: <i>Reactive Oxygen Species</i>



BAB I PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang penelitian

Urolithiasis merupakan keadaan patologis karena adanya masa keras seperti batu yang terbentuk disepanjang saluran kencing dan dapat menyebabkan nyeri, perdarahan, atau infeksi pada saluran kencing. Terbentuknya batu disebabkan karena air kemih jenuh dengan garam-garam yang dapat membentuk batu atau karena air kemih kekurangan materi-materi yang dapat menghambat pembentukan batu, kurangnya produksi air kencing, dan keadaan-keadaan lain yang idiopatik (Dewi, 2007). Lokasi batu saluran kemih dijumpai khas di kaliks atau pelvis (nefrolitiasis) dan bila akan keluar akan terhenti di ureter atau di kandung kemih (vesikolitiasis) (Robbins, 2007). Urolitiasis adalah salah satu penyebab *feline lower urinary tract disease* selain *idiopathic cystitis*. The Ohio State University Veterinary Hospital mengevaluasi 109 ekor kucing dengan gejala klinis stranguria dan 15 ekor diantaranya mengalami urolithiasis (Buffington, 2001). Pasien dengan penyakit urologi mencapai 2,1 % pada manusia di rumah sakit Inggris dan 3 % pada anjing di rumah sakit hewan. Dilaporkan prevalensi urolithiasis pada anjing di Sweedia dan Norwegia sekitar 0,25 dan 0,5 % (Stevenson, 2002).

Hiperglikemia merupakan suatu keadaan meningkatnya kadar glukosa darah melebihi normal. Hal ini karena defisiensi insulin akibat kerusakan sel beta pankreas dan atau terjadi resistensi insulin pada hati dan otot. Hiperglikemia kronik pada penyakit diabetes melitus memiliki peranan penting terhadap kerusakan berbagai organ, termasuk jantung, mata, tulang, ginjal, saraf dan sistem vaskular, yang pada akhirnya menimbulkan komplikasi diabetes melitus. Semakin

lama seseorang menderita diabetes melitus maka risiko komplikasinya menjadi lebih berat (Apriani dkk, 2011).

Keadaan hiperglikemia kronis menyebabkan inflamasi ringan pada epitel gastrointestinal yang mengganggu keseimbangan flora normal pada usus dan mekanisme peredaran sirkulasi darah. Inflamasi ini menginduksi peningkatan oksalat dan diare kronis. Peningkatan oksalat pada saluran urinasi yang tinggi tersebut dapat mengakibatkan pengendapan kristalisasi CaOx. Hal ini yang menyebabkan kejadian urolithiasis semakin tinggi (Davarci *et al*, 2011)

Perkembangan ilmu pengetahuan bidang pengobatan di dunia saat ini mengalami kemajuan pesat seiring dengan kemajuan teknologi, namun adanya kecenderungan pola hidup kembali ke alam (*back to nature*) membuat penggunaan obat herbal digemari oleh masyarakat di Indonesia (Yacoeb dkk, 2010).

Semangi air (*Marsilea crenata*) merupakan salah satu jenis tumbuhan air yang termasuk ke dalam paku-pakuan dan banyak ditemukan pada pematang sawah, kolam, danau, rawa, dan sungai. Kandungan mineral dan fitokimia dalam semangi air yang dimanfaatkan dalam penelitian ini adalah kalium dan flavonoid. Kalium berfungsi untuk melarutkan kristal CaOx, sedangkan flavonoid berfungsi sebagai antioksidan dan antiinflamasi (Nurjanah, dkk., 2012)

1.2 Rumusan Masalah

Rumusan masalah dari penelitian ini yaitu :

1. Apakah perasan daun dan tangkai semanggi air (*Marsilea crenata*) dapat mencegah urolithiasis tikus putih (*Rattus norvegicus*) hiperglikemia berdasarkan penurunan kadar kreatin serum.
2. Apakah efek perasan daun dan tangkai semanggi air (*Marsilea crenata*) dapat mencegah urolithiasis tikus putih (*Rattus norvegicus*) hiperglikemia berdasarkan perbaikan histopatologi ureter.

1.3 Batasan Masalah

Batasan dari penelitian ini yaitu :

1. Hewan coba yang digunakan yaitu tikus putih (*Rattus norvegicus*) jantan usia 8 – 12 minggu dengan berat rata-rata 120 gram, diperoleh dari Laboratorium Universitas Muhammadiyah Malang.
2. Perasan daun dan tangkai semanggi air diberikan bertingkat yaitu 20 %, 40 %, dan 60 % diberikan secara per oral (PO) selama 10 hari sesuai dengan kelompok perlakuan (Pradana, 2013).
3. Induksi hiperglikemia dilakukan dengan menggunakan larutan fruktosa 66% yang dicampurkan ke dalam pakan tikus selama 15 hari pada hari ke-8 sampai pada hari ke-22 (Rahmawati, 2015).
4. Induksi urolithiasis secara per oral (PO) dilakukan dengan menggunakan etilen glikol dalam bentuk cairan dan amonium klorida dalam bentuk serbuk dilarutkan dengan *aquabidest* dengan konsentrasi masing-masing 0,75% dan

2% dengan dosis 12 mL/200 g BB/hari selama 10 hari pada hari ke-23 sampai pada hari ke-32 (Murwani, 2013).

5. Variabel yang diamati yaitu berdasarkan kadar kreatinin serum dan histopatologi ureter.

1.4 Tujuan Penelitian

Ujian dari penelitian ini yaitu :

1. Untuk mengetahui perasan daun dan tangkai semanggi air dapat memberikan efek preventif terhadap urolithiasis pada tikus putih (*Rattus novergicus*) hiperglikemia berdasarkan penurunan kadar kreatinin serum
2. Untuk mengetahui perasan daun dan tangkai semanggi air dapat memberikan efek preventif urolithiasis tikus putih (*Rattus novergicus*) hiperglikemia berdasarkan perbaikan penampang histopatologi ureter

1.5 Manfaat Penelitian

Penelitian ini diharapkan memberikan informasi tentang pemanfaatan daun dan tangkai semanggi air sebagai bahan prevensi urolithiasis yang diperparah dengan keadaan hiperglikemia serta dapat digunakan sebagai acuan untuk penelitian selanjutnya.

BAB II TINJAUAN PUSTAKA

2.1 Hiperglikemia

2.1.1 Definisi

Hiperglikemia adalah keadaan meningkatnya kadar glukosa darah melebihi normal. Keadaan hiperglikemia ini terjadi pada penyakit diabetes melitus tipe II dimana terjadi resistensi jaringan tubuh terhadap insulin, defek sekresi insulin, atau peningkatan produksi glukosa (Longo, et al., 2011). Keadaan hiperglikemia yang tidak terkontrol ini ternyata memiliki peran sebagai penyebab komplikasi pada diabetes melitus (Gugliuci, 2000).

Pada beberapa kasus yang terjadi dikarenakan tingginya kadar glukosa darah (hiperglikemia) dan glikosuria dapat bermanifestasi menjadi penyakit diabetes melitus yang pernah dilaporkan pada anjing ras jenis *Golden Retriever* di Amerika Serikat, yang mengalami kelebihan berat badan pada usia tua dengan gejala poliuria, polidipsia, polifagi dan astenia (kurang energi). Kasus serupa pernah dilaporkan pada anjing ras jenis *St. Bernard* di Cleveland Ohio (El-Soud, et al., 2007)

Peran hiperglikemia pada komplikasi diabetes, merupakan fokus utama yang menjadi satu mekanisme kunci biokimia berdasarkan proses patologis, efek langsung glukosa dan gula lainnya pada protein (dikenal dengan glikasi atau glikosilasi nonenzimatik). Glikosilasi adalah reaksi yang terjadi antara protein dan glukosa pada konsentrasi tinggi, reaksi ini disebut juga reaksi *Maillard*. Reaksi glikosilasi diawali oleh kondensasi gugus amino dengan senyawa kimia yang mengandung karbonil hingga akhirnya

akan terbentuk berbagai senyawa AGEs (*Advanced Glycation End Products*). AGEs (*Advanced Glycation End Products*) meningkat pada diabetes memicu pembentukan variasi modifikasi kimia protein (Hein, 2003).

2.1.2 Patogenesis Hiperglikemia

Faktor yang mendasari pada keadaan hiperglikemia adalah defisiensi insulin, relatif ataupun absolut, pada keadaan resistensi insulin yang meningkat. Kadar insulin tidak adekuat untuk mempertahankan kadar glukosa serum yang normal dan untuk mensupres ketogenesis. Hiperglikemia sendiri selanjutnya dapat melemahkan kapasitas sekresi insulin dan menambah berat resistensi insulin sehingga membentuk lingkaran setan dimana hiperglikemia bertambah berat dan produksi insulin makin kurang (Arifin dkk, 2011).

2.2 Urolithiasis

2.2.1 Definisi

Urolitiasis adalah Batu ginjal (kalkulus) bentuk deposit mineral, paling umum oksalat Ca^{2+} dan fosfat Ca^{2+} , namun asam urat dan kristal lain juga membentuk batu, meskipun kalkulus ginjal dapat terbentuk dimana saja dari saluran perkemihan, batu ini paling sering ditemukan pada pelvis dan kalik ginjal (Marilynn, 2002).

2.2.2 Jenis-jenis Batu Saluran Kemih

a. Batu Kalsium Oksalat

Umunya, batu ginjal yang terbanyak adalah kalsium, yaitu jenis kalsium oksalat dan kalsium fosfat. Batu jenis ini mengandung kapur dan mudah mengendap di saluran kemih serta tergolong mudah membentuk batu pada air seni yang bersuasana basa. Jika di foto rontgen, batu kalsium tampak berwarna putih (Mughni,2013).

b. Batu *Struvite*

Terbentuknya batu ini karena infeksi bakteri. Batu jenis struvit terdiri atas kalsium fosfat, magnesium, dan amonium. Batu dapat berkembang menjadi lebih besar dan memiliki bentuk agak runcing seperti tanduk. Jika di rontgen, tampak berwarna putih (Mughni,2013).

c. Batu Asam Urat

Batu ini timbul karena endapan asam urat. Oleh karena itu, biasanya penderita juga menderita asam urat. Penyebab terjadinya asam urat karena penderita banyak mengkonsumsi asam urat, seperti jeroan dan kacang-kacangan. Bentuk batu jenis ini relatif kecil, bahkan jika difoto rontgen tidak tampak. Namun, gejalanya cukup dirasakan oleh penderita (Mughni,2013).

d. Batu Cystine

Penyakit batu ginjal akibat batu *cystin* jarang ditemukan. Biasanya, karena bawaan dari kecil atau diturunkan oleh orang tuanya (Mughni,2013).

2.2.3 Patogenesis Urolithiasis

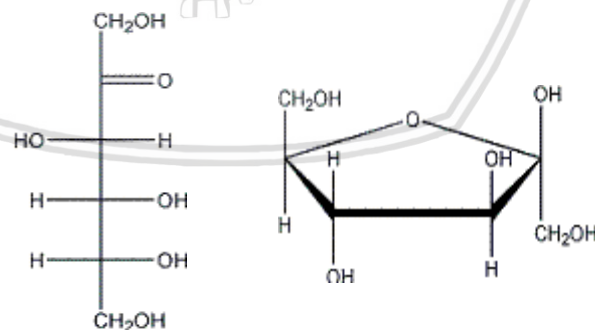
Urolithiasis secara teoritis dapat terjadi atau terbentuk diseluruh saluran kemih terutama pada tempat-tempat yang sering mengalami hambatan aliran urin (stasis urin) antara lain yaitu sistem kalises ginjal atau buli-buli. Adanya kelainan bawaan pada pelvikalis (*stenosis uretro-pelvis*), divertikel, obstruksi intravesiko kronik, seperti *Benign Prostate Hyperplasia* (BPH), striktur dan buli-buli neurogenik merupakan keadaan-keadaan yang memudahkan terjadinya pembentukan batu (Prabowo dan pranata, 2014).

Batu terdiri atas kristal-kristal yang tersusun oleh bahan-bahan organik yang terlarut di dalam urine. Kristal-kristal tersebut tetap berada dalam keadaan metastable (tetap larut) kemudian akan mengadakan agregasi, dan menarik bahan-bahan lain sehingga menjadi kristal yang lebih besar. Meskipun ukurannya cukup besar, agregat Kristal masih rapuh dan belum cukup mampu membuntu saluran kemih. Untuk itu agregat Kristal menempel pada epitel saluran kemih, dan dari sini bahan-bahan lain diendapkan pada 3 agregat itu sehingga membentuk batu yang cukup besar untuk menyumbat saluran kemih (Anggraeni, 2013).

2.3 Bahan Induksi Hiperglikemia

2.3.1 Fruktosa

Fruktosa adalah suatu heksulosa, memiliki rumus molekul ($C_6H_{12}O_6$) dengan struktur yang dapat dilihat pada **Gambar 2.1**. disebut juga levulosa karena memutar bidang polarisasi ke kiri. Merupakan satu-satunya heksulosa yang terdapat di alam. Fruktosa merupakan gula termanis, terdapat dalam madu dan buah buahan bersama glukosa. Fruktosa dapat terbentuk dari hidrolisis suatu disakarida yang disebut sukrosa dan fruktosa adalah salah satu gula pereduksi. Pemberian larutan fruktosa 66% dengan pemberian pakan standar dan air minum *ad libitum* selama 15 hari dapat menyebabkan hiperglikemia pada tikus putih (*Rattus norvegicus*) (Rahmawati, 2015).



(a)

(b)

Gambar 2.1. a. Struktur fruktosa rantai lurus, b. Struktur fruktosa cincin

2.3.2 Margarin

Margarin adalah produk makanan berbentuk emulsi, baik semipadat maupun cair, yang dibuat dari lemak makan dan atau minyak makan nabati, dengan atau tanpa perubahan kimiawi termasuk hidrogenasi, interesterifikasi, dan telah melalui proses pemurnian, sebagai bahan utama serta mengandung air dan bahan tambahan pangan yang diizinkan (Kusnadi dan Ramadhana, 2016). Pemberian margarin dapat memicu peningkatan kadar glukosa darah. Margarin mengandung asam lemak trans yang dapat menyebabkan terjadinya peningkatan kadar glukosa darah mekanisme peningkatan kadar glukosa darah dengan peningkatan distribusi asam lemak di hati yang dapat meningkatkan glukoneogenesis. Akumulasi trigliserida pada hati semakin lama akan menyebabkan terjadinya resistensi insulin sehingga terjadi peningkatan kadar glukosa darah (Rahmawati, 2015).

2.4 Bahan Induksi Urolithiasis

2.4.1 Etilen Glikol

Etilen glikol adalah senyawa kimia turunan yang dibuat dari sekian banyak produk kimia komersial, termasuk polietilen tereftalat (PET) resin, poliester resin tak jenuh, serat poliester dan poliester lapis. Ginjal merupakan organ yang paling peka terhadap etilen glikol dan merupakan target organ primer. Tata cara pengobatan keracunan etilen glikol akut diatur untuk mencegah metabolit asam yang sangat toksik masuk, mengatasi asidosis dan mencegah kerusakan ginjal permanen (Cruzan dkk., 2004).

Keracunan etilen glikol memperlihatkan perbedaan kepekaan antar spesies dan jenis kelamin setelah pemberian jangka panjang, dimana tikus lebih peka daripada mencit dan jenis kelamin jantan lebih peka daripada jenis kelamin betina. Etilen glikol menginduksi nefrotoksik pada tikus yang kemungkinan berpengaruh terhadap resiko kesehatan manusia. Kerusakan ginjal tersebut diakibatkan oleh pembentukan kristal kalsium oksalat pada tubulus ginjal (Cruzan dkk., 2004).

2.4.2 Amonium Klorida

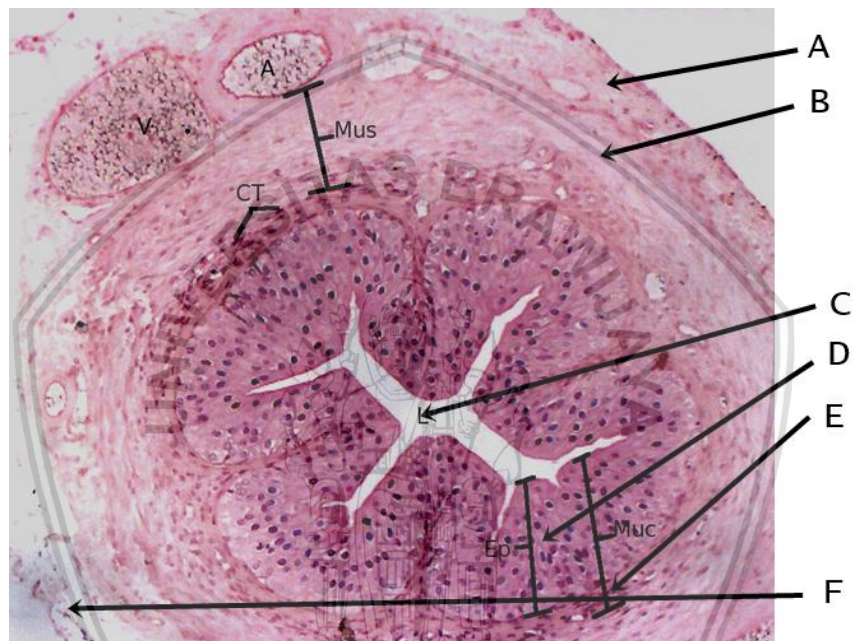
Amonium klorida (NH_4Cl) adalah garam berbentuk kristal putih, tidak berbau, mudah larut dalam air, bersifat sedikit asam karena berasal dari asam kuat (HCL) dan basa lemah. Etilen glikol (0,75%) yang dikombinasikan dengan amonium klorida dapat mempercepat terjadinya urolithiasis dalam bentuk kalsium oksalat karena amonium klorida dapat meningkatkan konsentrasi kalsium dan oksalat pada urin. Pemberian kombinasi amonium klorida 2% dan etilen glikol 0,75% selama 10 hari dapat membentuk kalsium oksalat (Sartono, 2013).

2.4.3 Ureter

Ureter adalah suatu saluran urinasi berbentuk silinder yang menghantarkan urin dari ginjal menuju kandung kemih. Panjang ureter adalah sekitar 20-30 cm dengan diameter sekitar 3-4mm dan berjalan dari hilus ginjal menuju kandung kemih. Ureter dibagi menjadi pars abdominalis, pelvis, dan intravesikalis. Dinding ureter terdiri dari mukosa yang dilapisi oleh sel-sel transisional, otot polos sirkuler dan longitudinal

yang dapat melakukan gerakan kontraksi guna mengeluarkan urin ke buli-buli (Basuki, 2011).

Struktur organ ureter pada tikus secara anatomi berbentuk saluran berwarna putih yang membentang menghubungkan organ ginjal sampai pada vesika urinaria yang secara histologi dapat dilihat pada **Gambar 2.3**.



Gambar 2.3 Histologi ureter tikus (a.Otot sirkular, b.Otot longitudinal, c.Lumen, d.Epitel transisional, f. Jaringan ikat fibroelastis dan adiposa (Morawietz, 2004).

2.4.4 Kreatinin Serum

Kreatinin adalah produk protein otot yang merupakan hasil akhir metabolisme otot yang dilepaskan dari otot dengan kecepatan yang hampir konstan dan diekskresi dalam urin dengan kecepatan yang sama. Kreatinin diekskresikan oleh ginjal melalui kombinasi filtrasi dan sekresi, konsentrasinya relatif konstan dalam plasma dari hari ke hari, kadar yang

lebih besar dari nilai normal mengisyaratkan adanya gangguan fungsi ginjal (Corwin, 2001).

2.5 Semanggi Air (*Marsilea crenata*)

2.5.1 Klasifikasi Tanaman

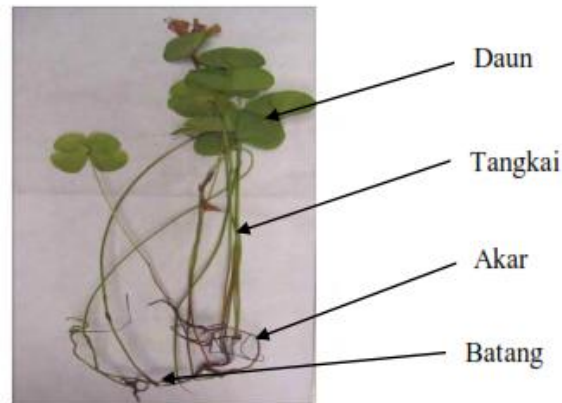
Klasifikasi menurut Arifin (2009), yaitu:

Kingdom	: <i>Plantae</i>
Subkingdom	: <i>Tracheobionta</i>
Divisi	: <i>Pteridophyta</i>
Kelas	: <i>Pteridopsida</i>
Ordo	: <i>Marsileales</i>
Famili	: <i>Marsileaceae</i>
Genus	: <i>Marsilea</i>
Spesies	: <i>Marsilea crenata</i>

2.5.2 Deskripsi dan Morfologi Tanaman

Semanggi air (*Marsilea crenata*) merupakan salah satu jenis tumbuhan air yang termasuk ke dalam paku-pakuan dan banyak ditemukan pada pematang sawah, kolam, danau, rawa, dan sungai. Tumbuhan ini memiliki morfologi yang sangat khas yaitu bentuk daunnya menyerupai payung yang tersusun dari empat kelopak anak daun yang berhadapan

Gambar 2.4. Di daerah Jawa daun semanggi muda banyak digunakan sebagai bahan pangan. Semanggi muda banyak digunakan sebagai campuran pecel di daerah Surabaya (Afriastini, 2003).



Gambar 2.4 Semanggi air (*Marsilea crenata*) (Arifin, 2009)

Pemanfaatan semanggi air tidak hanya sebagai bahan pangan saja, daun dan batang semanggi juga dapat digunakan sebagai peluruh air seni (Afriastini, 2003). Tanaman semanggi segar terdapat kandungan fitokimia berupa gula pereduksi, steroid, kandungan karbohidrat, dan flavonoid. Saat ini penelitian mengenai semanggi air masih belum banyak dilakukan. Salah satu informasi penting yang belum diketahui masyarakat adalah aktivitas antioksidan pada semanggi air. Antioksidan merupakan senyawa yang dapat menghambat reaksi oksidasi, dengan mengikat radikal bebas. Tubuh manusia secara alami memiliki sistem antioksidan untuk menangkal reaktivitas radikal bebas secara berkelanjutan. Apabila jumlah radikal bebas dalam tubuh berlebih maka dibutuhkan antioksidan tambahan yang diperoleh dari asupan bahan makanan yaitu vitamin C, vitamin E, flavonoid, dan karotin (Erguder *et al.* 2007). Rohman dan Riyanto (2005) menyatakan bahwa antioksidan dari daun kemuning dapat mencegah penyakit karsinogenesis, kardiovaskuler dan penuaan dini.

2.5.3 Kandungan Tanaman

Pada tanaman semanggi segar terdapat kandungan fitokimia berupa gula pereduksi, steroid, kandungan karbohidrat dan flavanoid. Didalam tanaman ini juga terdapat aktivitas antioksidan yang merupakan senyawa penghambat reaksi oksidasi, dengan mengikat radikal bebas (Nurjanah dkk, 2012).

a. Gula pereduksi

Gula pereduksi merupakan kelompok gula atau karbohidrat yang mampu mereduksi senyawa pengoksidasi. Monosakarida akan segera mereduksi senyawa-senyawa pengoksidasi antara lain ferisianida, hidrogen peroksida atau ion kupri (Cu^{2+}). Senyawa pereduksi adalah pemberi elektron dan senyawa pengoksidasi adalah penerima elektron. Glukosa dan gula-gula lain yang mampu mereduksi senyawa pengoksidasi disebut gula pereduksi. Sifat ini berguna dalam analisis gula, dengan mengukur jumlah dari senyawa pengoksidasi yang tereduksi oleh suatu larutan gula tertentu, dapat dilakukan pendugaan konsentrasi gula. Prinsip tersebut berguna dalam menganalisa kandungan gula dalam darah dan air seni untuk diagnosa diabetes mellitus (Astuti, 2013).

b. Steroid

Steroid adalah molekul kompleks yang larut dalam lemak dengan empat cincin yang saling bergabung. Steroid yang paling banyak adalah sterol yang merupakan steroid alkohol. Kolesterol merupakan

sterol utama pada jaringan hewan. Membran sel tumbuhan mengandung jenis sterol lain terutama stigmasterol yang berbeda dari kolesterol hanya dalam ikatan ganda di antara karbon 22 dan 23 (Astuti, 2013).

c. Karbohidrat

Karbohidrat merupakan konstituen yang paling banyak jumlahnya dibandingkan dengan kandungan kimia lainnya yang terdapat dalam tanaman atau hewan. Karbohidrat dibentuk melalui proses fotosintesis pada tanaman. Zat tersebut dapat diubah menjadi senyawa kimia organik lain yang diperlukan tanaman. Karbohidrat (gula) berguna sebagai *storing energy* misalnya pati, *transport of energy* misalnya sukrosa, dan sebagai penyusun dinding sel misalnya selulosa. Kegunaan gula pada tanaman antara lain untuk membantu penyerbukan, melindungi luka, dan mencegah terjadinya infeksi serta detoksifikasi dari bahan lain. Fungsi karbohidrat sebagai zat bioaktif yang baik untuk kesehatan, misalnya karbohidrat jenis fruktosa yang baik untuk penderita diabetes, besi (II) glukonat digunakan untuk mengobati anemia, dan kalsium levulinat untuk penderita kekurangan kalsium (Astuti, 2013)

d. Flavanoid

Flavanoid merupakan senyawa yang terdiri dari C₆-C₃-C₆. Flavanoid umumnya terdapat pada tumbuhan sebagai glikosida. Kegunaan flavanoid bagi tumbuhan adalah untuk menarik perhatian

binatang yang membantu penyebaran biji. Bagi manusia, flavanoid dalam dosis kecil bekerja sebagai stimulan pada jantung dan pembuluh darah kapiler (Astuti, 2013).

2.5.4 Manfaat

Manfaat semanggi air yaitu sebagai bahan pangan. Salah satu zat gizi yang diduga banyak terkandung di dalam semanggi adalah mineral. Mineral memegang peranan penting dalam pemeliharaan fungsi tubuh pada tingkat sel, jaringan, organ, maupun fungsi tubuh secara keseluruhan (Arifin, 2009). Di Filipina daun semanggi air digunakan sebagai bahan obat neurasthenia dan oedema. Di India digunakan untuk melawan kusta, demam dan keracunan pada darah (Arifin, 2009). Selain itu daun dan batang semanggi juga dapat digunakan sebagai peluruh air seni serta memiliki kandungan aktivasi antioksidan yang merupakan senyawa penghambat reaksi oksidasi dengan mengikat radikal bebas (Nurjanah dkk, 2012).

2.6 Hewan Coba

Penelitian ini menggunakan hewan coba tikus putih (*Rattus norvegicus*) dan galur yang digunakan yaitu galur *Sprague dawley*. Tikus putih (*Rattus norvegicus*) banyak digunakan sebagai hewan percobaan pada berbagai penelitian. Galur tikus *Sprague dawley* dan *Long-Evans* dikembangkan dari tikus galur Wistar. Tikus Wistar lebih aktif (agresif) daripada jenis lain seperti tikus *Sprague dawley* (Sirois, 2005). Tikus telah diketahui sifat-sifatnya dengan sempurna, mudah dipelihara, merupakan hewan yang relatif sehat dan cocok untuk berbagai

macam penelitian. Dibandingkan dengan tikus liar, tikus laboratorium lebih cepat menjadi dewasa, tidak memperlihatkan perkawinan musiman, dan umumnya lebih mudah berkembangbiak (Juhriyyah, 2008). Adapun gambaran dari hewan coba dapat dilihat pada **Gambar 2.5**.



Gambar 2.5 Tikus Putih (*Rattus norvegicus*) (Sirois, 2005).

Klasifikasi tikus putih (*Rattus norvegicus*) (Adiyati, 2011) :

Kingdom	: <i>Animalia</i>
Filum	: <i>Chordata</i>
Kelas	: <i>Mamalia</i>
Ordo	: <i>Rodentia</i>
Subordo	: <i>Sciurognathi</i>
Famili	: <i>Muridae</i>
Sub-Famili	: <i>Murinae</i>
Genus	: <i>Rattus</i>
Spesies	: <i>Rattus norvegicus</i>
Galur/Strain	: <i>Sparague Dawley</i>

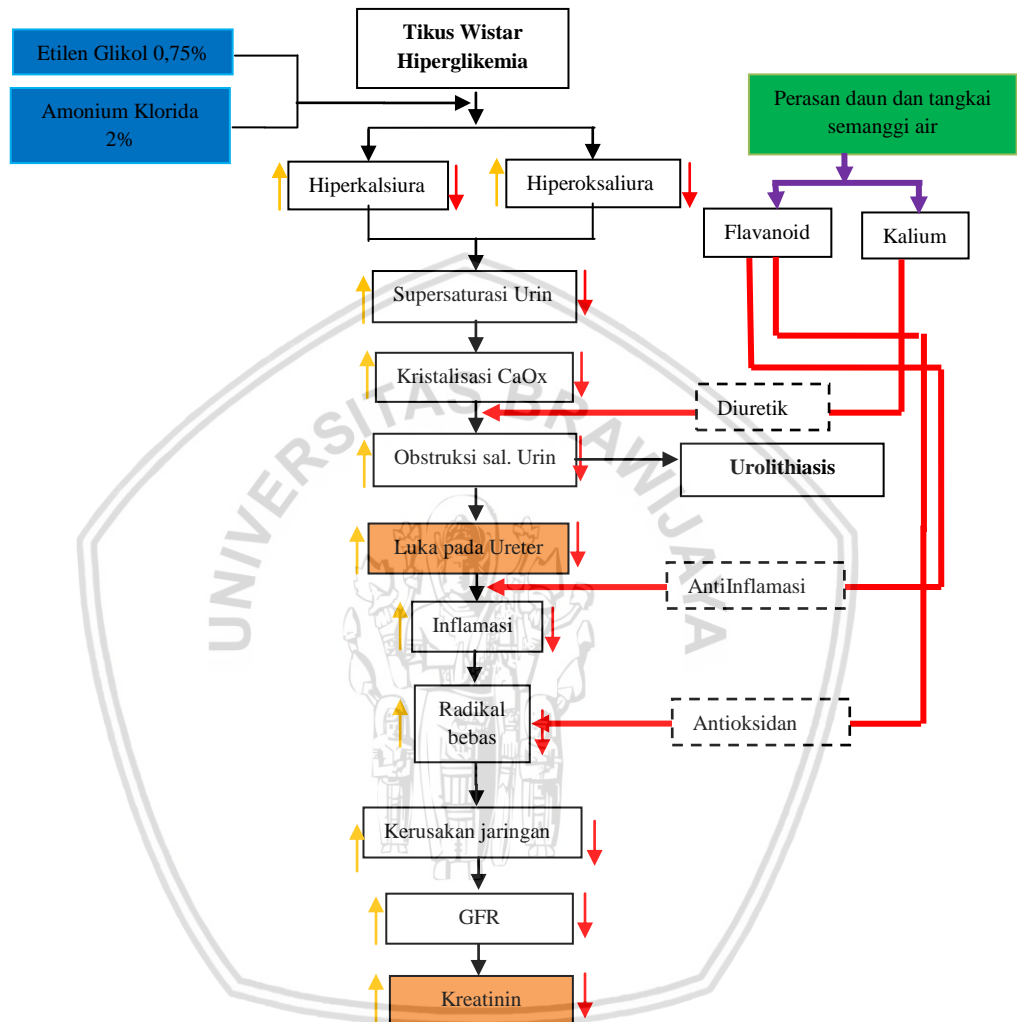
Terdapat beberapa galur atau varietas tikus yang memiliki kekhususan tertentu antara lain galur *Sprague-Dawley* yang berwarna albino putih,

berkepala kecil dan ekornya lebih panjang daripada badannya; galur *Wistar* ditandai dengan kepala besar dan ekor yang lebih pendek; dan galur *Long Evans* yang lebih kecil daripada tikus putih dan memiliki warna hitam pada kepala dan tubuh bagian depan (Juhriyyah, 2008).



BAB III KERANGKA KONSEPTUAL DAN HIPOTESIS PENELITIAN

3.1. Kerangka Konseptual



Keterangan :

- █ Variabel Kendali
- █ Variabel Bebas
- █ Variabel tergantung
- Kandungan Fitokimia

- Pengaruh pemberian semanggi
- Memicu / merangsang
- Pengaruh terpapar Urolithiasis

Induksi percobaan hiperglikemia menggunakan fruktosa yang dilakukan pada hewan coba tikus putih (*Rattus norvegicus*). Pemberian fruktosa dalam jumlah yang besar dapat menyebabkan simulasi lipogenesis secara cepat dan akumulasi trigliserida. Sehingga akan berakibat pada berkurangnya sensitivitas insulin dan resistensi insulin hepatic hal tersebut akan berpengaruh terhadap peningkatan kadar glukosa darah (Rahmawati, 2015).

Pemberian margarin juga dapat memicu peningkatan kadar glukosa darah. Margarin mengandung asam lemak trans yang dapat menyebabkan terjadinya peningkatan kadar glukosa darah. Mekanisme peningkatan kadar glukosa darah dengan adanya akumulasi trigliserida pada hati yang semakin lama akan menyebabkan terjadinya resistensi insulin sehingga terjadi peningkatan kadar glukosa darah (Rahmawati, 2015).

Kombinasi etilen glikol 0,75% dan amonium klorida 2% diinduksikan pada hewan model tikus putih (*Rattus norvegicus*) dilakukan dengan cara sonde lambung dapat menyebabkan terjadinya urolithiasis (Hardyanto dkk., 2013). Hal ini dikarenakan metabolisme akhir etilen glikol adalah senyawa oksalat yang kemudian mengendap bersama kalsium membentuk kristal kalsium oksalat (CaOx), Penambahan amonium klorida dapat meningkatkan kadar kalsium dan oksalat dalam urin sehingga terjadi peningkatan ekskresi kalsium (hiperkalsiuria) dan oksalat (hiperoksaluria). Kondisi tersebut menyebabkan urin mengalami supersaturasi, supersaturasi urin akan mempercepat pembentukan Kristal CaOx pada saluran ureter (Khan, 2011).

Kristal CaOx yang secara terus menerus mengendap di saluran ureter yang akan menyebabkan obstruksi sehingga proses urinasi akan terganggu dan menimbulkan luka pada saluran ureter. Adanya luka pada saluran ureter menyebabkan inflamasi dan mengaktifkan mediator inflamasi untuk merekrut sel-sel imunitas. Pelepasan sitokin proinflamatori akan mengaktifasi sel-sel inflamasi (monosit dan neutrofil). Sehingga menyebabkan lepasnya *reaktive oxygene spesies* (ROS). Peningkatan ROS didalam tubuh mengakibatkan timbulnya stres oksidatif yang menyebabkan peroksidasi lipid yaitu proses dimana radikal bebas yang bersifat lipofilik merusak membran sel yang terdiri atas *Poly Unsaturated fatty acid* (PUFA). Hal ini akan menyebabkan kerusakan otot, hati, otak dan jaringan yang lain sehingga GFR (*Gromerular filtration rate*) pada ginjal akan menurun dan meningkatkan kadar kreatinin dan keseimbangan elektrolit dalam darah (Nikolic *et al.*, 2003).

Semanggi air (*Marsilea crenata*) merupakan salah satu jenis tanaman yang sering dimanfaatkan sebagai obat herba (Afriastini, 2003). Kandungan kalium pada perasan daun dan tangkai semanggi air berfungsi sebagai pelarut Kristal CaOx, sedangkan kandungan flavonoid berfungsi sebagai antioksidan dan antiinflamasi (Nurjanah dkk., 2012). Tanaman semanggi air diharapkan dapat melancarkan urinasi (diuretik), memperbaiki fungsi saluran kemih dan jaringan lain sehingga kadar kreatinin dalam darah bisa kembali normal dan urolithiasis dapat dicegah.

3.2 Hipotesis Penelitian

Pemberian perasan daun semanggi air dapat mencegah urolithiasis pada hewan model hiperglikemia yang dibuktikan dengan penurunan kadar kreatinin serum dan mencegah kerusakan ureter berdasarkan penurunan jumlah sel radang dan penurunan tebal lapisan epitel pada gambaran histopatologi ureter.



BAB IV METODE PENELITIAN

4.1 Waktu dan Tempat Penelitian

Penelitian dilaksanakan pada tanggal 6 November 2016 hingga 20 Januari 2017, dengan menggunakan beberapa laboratorium untuk penelitian sebagai berikut:

- a. Tahap perawatan dan pemberian perlakuan hewan coba dilaksanakan di laboratorium Farmakologi Universitas Muhammadiyah Malang.
- b. Pembedahan dan pengambilan sampel serum darah dilaksanakan di laboratorium Farmakologi Universitas Muhammadiyah Malang.
- c. Tahap pembuatan Perasan daun & tangkai semanggi air dilakukan di laboratorium Farmakologi Universitas Muhammadiyah Malang
(Lampiran 2.1).
- d. Pengujian urin dilaksanakan di laboratorium Farmakologi Universitas Muhammadiyah Malang.
- e. Pengukuran kadar kreatinin serum dilaksanakan di Laboratorium Patologi Anatomi Fakultas Kedokteran Universitas Brawijaya
- f. Pembuatan preparat histopatologi dilaksanakan di Laboratorium Patologi Anatomi Kessima Medika Malang.
- g. Pengamatan histopatologi ureter dilaksanakan di laboratorium Farmakologi Universitas Muhammadiyah Malang.

4.2 Alat dan Bahan Penelitian

Kandang pemeliharaan terbuat dari dari kotak plastik berbentuk persegi panjang dengan ukuran 30 x 50 x 12 cm sebanyak lima buah kandang beralaskan sekam dan ditutup kawat ram, tempat pakan, tempat minum (*nipple*), sekam, pakan BR2 Comfeed, dan air mineral. Alat dan bahan yang dibutuhkan untuk pembuatan perasan adalah timbangan digital, juicer, beaker glass 100 mL, tabung reaksi 10 mL, spuit 10 mL, *styrofoam*, *icepack*, rak kayu tabung reaksi, sumbat karet tabung reaksi, daun dan tangkai semanggi air, dan *aquabidest*. Alat yang dibutuhkan untuk bahan induksi urolithiasis adalah timbangan digital, tabung erlenmeyer 100 mL, spatula, spuit 10 mL, dan tabung reaksi 10 mL. Alat perlakuan perasan pada hewan model menggunakan sonde lambung (oral gavage). Alat pembedahan pada tikus yaitu Gunting bedah, pinset, jarum pentul, kertas label, eppendoft 2000 uL, vakutainer, alkohol, dan *Phosphate buffer saline* (PBS).

4.3 Tahapan Penelitian

4.3.1 Penetapan Sampel penelitian

Kriteria inklusi hewan model yang digunakan dalam penelitian ini adalah tikus (*Rattus norvegicus*) strain *Wistar*, jenis kelamin jantan berumur 3-4 bulan, dan bobot badan 150-200 gram, kondisi sehat (berambut cerah, aktivitas baik, tidak ada abnormalitas anatomis, dan nafsu makan baik), dan belum pernah digunakan penelitian.

Pengulangan yang diperlukan dalam penelitian dihitung dengan menggunakan rumus (Kusriningrum, 2008):

$$t(n-1) \geq 15$$

$$5(n-1) \geq 15$$

$$5n-5 \geq 15$$

$$5n \geq 20$$

$$n \geq 20/5$$

$$n \geq 4$$

dimana t (jumlah perlakuan) dan n (jumlah ulangan minimal dari tiap perlakuan). Sebelum dilakukan perlakuan pada penelitian ini, hewan uji diaklimatisasikan selama seminggu, diberi pakan standart dan asupan air secara *ad libitum*.

Berdasarkan hasil perhitungan diatas, lima kelompok perlakuan diperlukan jumlah ulangan minimal empat kali dalam setiap kelompok sehingga jumlah seluruh tikus yang diperlukan sebanyak 20 ekor. Selanjutnya dibagi dalam lima kelompok yaitu kelompok P1 kontrol urolithiasis (kelompok tikus yang diinduksi urolithiasis), kelompok P2 kontrol positif hiperglikemia dan urolithiasis (kelompok tikus yang diinduksi hiperglikemia dan urolithiasis), kelompok P3 perlakuan 1 (kelompok tikus yang diinduksi hiperglikemia dan urolithiasis dengan 20% perasan daun dan tangkai semanggi air sebagai prevensi), kelompok P4 perlakuan 2 (kelompok tikus yang diinduksi hiperglikemia dan urolithiasis dengan 40% perasan daun dan tangkai semanggi air sebagai prevensi), dan kelompok P5 perlakuan 3 (kelompok tikus yang diinduksi hiperglikemia dan urolithiasis dengan 60% perasan daun dan tangkai semanggi air sebagai prevensi),

4.3.2 Penetapan Dosis Perasan Daun dan Tangkai Semanggi Air

Dosis perasan tangkai dan daun semanggi air yang digunakan merupakan hasil dari perasan \pm 100 gram yang kemudian diperas dan didapatkan \pm 10 mL perasan murni (segar). Kemudian dibuat konsentrasi bertingkat yaitu 20%, 40%, dan 60% dengan cara pembuatan dapat dilihat pada (**Lampiran 2.1**). Konsentrasi rujukan yang diambil berdasarkan modifikasi dari penelitian yang dilakukan Pradana (2013).

4.3.3 Penetapan Dosis Bahan Induksi

Bahan induksi Hiperglikemia dilakukan dengan pemberian larutan fruktosa 66% dan margarin yang telah dipanaskan sebanyak 1,7 gram selama 15 hari berturut-turut dicampurkan melalui pakan (Rahmawati, 2015). Perhitungan dosis dapat dilihat pada **Lampiran 2.2**.

Bahan induksi urolithiasis dibuat dengan menggunakan etilen glikol 0,75% dalam bentuk cair dan amonium klorida 2% dalam bentuk serbuk dan diberikan peroral dengan sonde lambung sebanyak 2 mL/200g BB per hari. Perhitungan dosis dapat dilihat pada **Lampiran 2.3**. Dosis induksi urolithiasis merujuk pada penelitian Murwani (2013). Keadaan hewan coba sudah di induksi urolithiasis dibuktikan dengan pemeriksaan volume, berat jenis, dan sedimen urin dengan menggunakan *Urine Analyzer* (Sacher *et al*, 2002).

4.3.4 Rancangan Penelitian

Rancangan penelitian yang digunakan adalah Rancangan Acak Lengkap (RAL). Penelitian ini bersifat eksperimental menggunakan *post test only control design*. Hewan model dibagi menjadi lima kelompok yang sebelumnya telah

diinduksi hiperglikemia selama 15 hari. Lima kelompok perlakuan tersebut yaitu kelompok urolithiasis, kelompok kontrol hiperglikemia+urolithiasis, perlakuan 1, perlakuan 2, dan perlakuan 3. Masing-masing kelompok perlakuan terdiri dari empat ekor tikus sebagai ulangan. Rancangan penelitian ditunjukkan dalam **tabel 4.1** sebagai berikut:

Tabel 4.1 Rancangan Penelitian

Kelompok	Perlakuan
P1 (Kontrol urolithiasis)	Pakan standart dan minum ad libitum + induksi EG 0,75 % dan AK 2 % Sebanyak 2 ml/200 gram BB.
P2 (Kontrol Hiperglikemia + Urolithiasis)	Pakan standart dan minum ad libitum + larutan fruktosa 66% dan margarin 1,7 g + induksi EG 0,75 % dan AK 2 % Sebanyak 2 ml/200 gram BB.
P3 (Perlakuan 1)	Pakan standart dan minum ad libitum + larutan fruktosa 66% dan margarin 1,7 g + 20 % perasan daun dan tangkai semanggi air + induksi EG 0,75 % dan AK 2 % Sebanyak 2 ml/200 gram BB.
P4 (Perlakuan 2)	Pakan standart dan minum ad libitum + larutan fruktosa 66% dan margarin 1,7 g + 40 % perasan daun dan tangkai semanggi air + induksi EG 0,75 % dan AK 2 % Sebanyak 2 ml/200 gram BB.
P5 (Perlakuan 3)	Pakan standart dan minum ad libitum + larutan fruktosa 66% dan margarin 1,7 g + 60 % perasan daun dan tangkai semanggi air + induksi EG 0,75 % dan AK 2 % Sebanyak 2 ml/200 gram BB.

Keterangan :

EG : Etilen Glikol

AK : Ammonium Klorida

4.3.5 Variabel Penelitian

Variabel yang diamati dari penelitian ini yaitu :

Variabel bebas : Dosis perasan daun dan tangkai semanggi air

Variabel tergantung : Kadar Kreatinin Serum dan Histopatologi Ureter

Variabel kontrol : strain, jenis kelamin, berat badan mencit, umur mencit, kondisi lingkungan, etilen glikol, amonium klorida, larutan fruktosa dan margarin

4.4 Prosedur Penelitian

4.4.1 Persiapan Hewan Percobaan

Sebelum digunakan dalam penelitian hewan model diadaptasikan terhadap lingkungan selama tujuh hari. Hewan model diberi minum secara *ad libitum* dan pakan sesuai standart sebanyak 20 g atau 10% berat badan setiap pagi dan sore.

Hewan model diletakkan dalam kandang perlakuan yang masing-masing berisi empat ekor tikus pada setiap kandang sebanyak 5 kandang **Lampiran 1**. Lantai kandang menggunakan sekam, lokasinya pada tempat dengan suhu ruang, bebas dari kebisingan dan bebas dari polutan.

4.4.2 Pembuatan Perasan Daun dan Tangkai Semanggi Air

Daun dan tangkai semanggi air diperoleh dari UPT. Materia Medica Batu dan telah mendapat sertifikat determinasi tanaman. Daun dan tangkai semanggi yang segar dan berwarna hijau dilakukan pencucian hingga bersih. Diambil ± 100 g daun dan tangkai untuk mendapatkan konsentrasi 100% sebanyak ± 10 mL. Daun dan tangkai semanggi diblender, dimasukkan dalam tabung reaksi dan

diencerkan secara bertingkat (20%, 40%, 60%) dengan *aquabidest*. Cara pembuatan dapat dilihat pada **Lampiran 2.1**.

4.4.3 Pemberian perlakuan

Induksi Hiperglikemia dilakukan dengan memberikan fruktosa 66 % dan margarin 1,7 gram per ekor yang dicampur pada pakan selama 15 hari, (Rahmawati, 2015) sedangkan Induksi urolithiasis dilakukan dengan cara memberikan etilen glikol dalam bentuk cairan dan ammonium klorida dalam bentuk serbuk yang dilarutkan dalam *aquabidest* dengan konsentrasi masing-masing 0,75 % dan 2 % dengan volume 2 ml/200g BB secara peroral selama 10 hari (Murwani, 2013).

4.4.4 Pengukuran Glukosa Darah

Pengambilan darah untuk pengujian kadar glukosa darah dilakukan sebelum pemberian fruktosa dan margarin sebagai data kadar glukosa darah awal hari ke-7. Pengambilan darah diperoleh dengan cara menusukan bagian ekor hewan coba pada *vena coccygea* menggunakan *blood lancet*. Pengecekan kadar glukosa darah menggunakan glukometer digital. Untuk *glucotest* awal, disiapkan *stick glucometer* dan glukometer digital (*one touch lifescan*) sesuai petunjuk penggunaan. Darah dari ekor ditetaskan pada *stick glucometer* dan ditunggu hasil yang tertera pada layar glukometer digital. Proses pengecekan kadar glukosa selanjutnya dilakukan saat setelah pemberian larutan fruktosa dan margarin, tikus dinyatakan hiperglikemia dengan kadar gula darah ≥ 105 mg/dL (Fahri dkk., 2005) pada hari ke-23. Hasil pengukuran kadar gula darah dapat dilihat pada **Lampiran 5**.

4.4.5 Pemeriksaan Urolithiasis

Pengambilan sampel urin untuk pemeriksaan urolithiasis dilakukan pada hari ke-33 setelah pemberian semanggi air dan bahan induksi urolithiasis (purwono, 2009). Tikus dimasukan ke dalam kandang metabolik untuk menampung urin selama 24 jam. Setiap tampungan urin yang diperoleh dimasukan ke dalam pot urin berukuran 5 mL dan disimpan dalam *ice box*. Hasil pemeriksaan urin dapat dilihat pada **Lampiran 6**.

4.4.6 Pengambilan Sampel Serum Darah

Hari ke-34 setelah dilakukan pengambilan sampel urin semua tikus dieuthanasi melalui dislokasi pada leher, kemudian diambil darahnya sebanyak \pm 2 mL melalui jantung (*intracardial*) setelah dilakukan pembedahan. Sampel darah dimasukkan ke dalam tabung reaksi tanpa antikoagulan diendapkan selama 30 menit pada suhu kamar. Tahap kemudian dipindahkan dalam tabung sentrifuse dan disentrifugasi dengan kecepatan 1500 rpm selama 30 menit. Serum diambil dengan mikropipet sebanyak 100 μ L kemudian dimasukkan ke dalam tabung appendorf lalu dilakukan pengukuran kadar kreatinin.

4.4.7 Pengambilan Sampel Organ Ureter

Hari ke-34 setelah dilakukan pengambilan serum darah. Pengambilan organ ureter, langkah pertama yang dilakukan adalah mendislokasi hewan coba pada bagian leher kemudian dilakukan pembedahan. Pembedahan dilakukan pada bagian peritonium, tikus diletakkan pada posisi rebah dorsal pada papan pembedahan. Bagian ekstremitas difiksasi dengan jarum kemudian bagian peritonium diinsisi, diisolasi dan dipotong. Ureter dari tikus terletak di bagian

tengah antara ginjal dan kandung kemih. Organ ureter mula-mula dibilas dengan NaCl-fisiologis 0,9% dingin. Kemudian organ ginjal dimasukkan dalam larutan formalin 10% yang kemudian akan dibuat preparat histologi.

4.4.8 Pengukuran Kadar Kreatinin

Pengukuran kadar kreatinin dilaksanakan di laboratorium Patologi Anatomi Fakultas Kedokteran Universitas Brawijaya. Dengan menggunakan spektrofotometer UV-Vis dengan menggunakan metode Reaksi antara kreatinin dengan asam pikrat dalam suasana basa akan membentuk kompleks kreatinin-pikrat yang berwarna kuning jingga yang kadarnya dapat diukur dengan spektrofotometer uv visible pada panjang gelombang 546 nm. Prosedur pengukuran dapat dilihat pada **Lampiran 3**.

4.4.9 Pengamatan Histopatologi Ureter

Pengamatan histopatologi ureter dengan menggunakan mikroskop cahaya perbesaran 400x. Pengamatan histopatologi ureter yang diamati adalah lapisan mukosa dan sel epitel serta tanda-tanda adanya sel radang dan kerusakan sel epitel.

4.5 Analisa Data

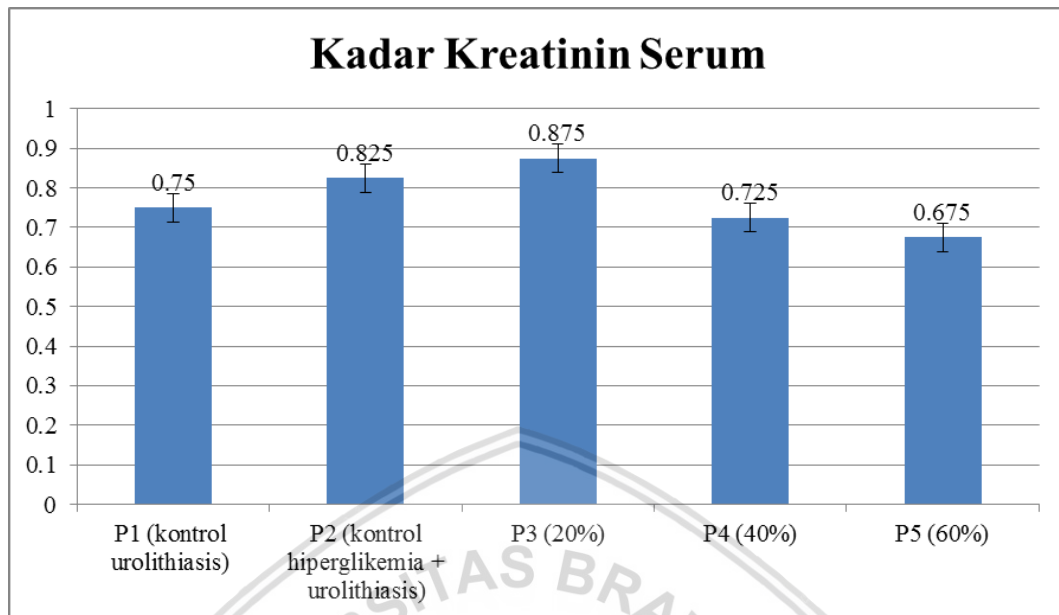
Data penelitian berupa kadar kreatinin dan histopatologi ureter. Kadar kreatinin dianalisis statistika dengan uji *One Way Analysis of Variant* (ANOVA). Uji lanjutan (*Posthoc Test*) menggunakan uji BNJ (Beda Nyata Jujur) atau *Tukey Test* dengan taraf kepercayaan 95% ($\alpha = 0,05$) dan penampang histopatologi ureter dijelaskan secara deskriptif.

BAB 5 HASIL DAN PEMBAHASAN

5.1 Pengaruh Perlakuan Perasan Daun dan Tangkai Semanggi (*Marselia crenata*) Terhadap Kadar Kreatinin Serum

Pada penelitian ini menggunakan hewan coba tikus (*Rattus norvegicus*) yang diinduksi fruktosa dan margarin selama 15 hari untuk membuat tikus dengan keadaan hiperglikemia. Keadaan hiperglikemia pada tikus dapat dilihat dengan pengukuran kadar gula darah tikus ≥ 105 mg/dL yang dapat dilihat pada **Lampiran 5**. Induksi campuran etilen glikol dengan ammonium klorida selama 10 hari dilakukan untuk membuat tikus dalam keadaan urolithiasis. Setelah induksi dilakukan uji sedimentasi urin tikus yang dapat dilihat pada **Lampiran 6**.

Kreatinin merupakan indikator yang sensitif untuk menilai fungsi ginjal dibandingkan ureum, hal ini dikarenakan produksi kreatinin dipengaruhi oleh massa otot yang sedikit sekali mengalami perubahan dibandingkan dengan ureum. Kreatinin terbuat dari zat kreatin fosfat dengan katalisasi enzim kreatin kinase (CK) yang dibentuk ketika terjadi sintesis ATP. Kadar normal kreatinin pada hewan coba tikus (*Rattus norvegicus*) adalah sebesar 0,4 – 0,8 mg/dL, apabila terjadi peningkatan kadar kreatinin akan menandakan terjadi kerusakan dan penurunan fungsi dari ginjal (Meyer, 2004).



Gambar 5.1 Nilai rata-rata kadar kreatinin serum pada semua kelompok penelitian

Berdasarkan **Gambar 5.1** dapat dilihat bahwa nilai kadar kreatinin serum pada P2 (kontrol hiperglikemia+urolithiasis) terdapat peningkatan apabila dibandingkan dengan P1 (kontrol urolithiasis) hal ini sesuai menurut Warrag *et al* (2014) urolithiasis menyebabkan penurunan *Glomerulo Filtration Rate* (GFR) akibat akumulasi kristal pada saluran urinasi sehingga menyebabkan produk sisa yaitu kreatinin menumpuk didalam darah. Sedangkan pada kelompok perlakuan yang diberikan perasan daun dan tangkai semanggi air (*Marsilea crenata*) mengalami penurunan pada setiap kenaikan konsentrasi, namun penurunan nilai rata-rata kadar kreatinin serum yang paling tinggi yaitu pada kelompok perlakuan P5 dengan konsentrasi 60 %.

Hasil uji *one way* ANOVA dan didapatkan hasil bahwa pemberian perasan daun dan tangkai semanggi air pada tikus putih (*Rattus novergicus*) model urolithiasis penderita hiperglikemia dapat mempengaruhi penurunan kadar

kreatinin serum ($p < 0,05$) (**Lampiran 7**). Hal ini dikarenakan pada semanggi air mengandung 937 g/100 mg kalium dan flavonoid (Nurjannah dan Abdullah, 2012). Kalium berfungsi sebagai diuretik sedangkan flavonoid berfungsi sebagai antiinflamasi dan antioksidan. Selanjutnya dilakukan *uji tukey* untuk mengetahui signifikansi masing-masing kelompok perlakuan.

Hasil *uji tukey* didapatkan bahwa adanya perbedaan antara kelompok perlakuan, yang dapat dilihat pada **tabel 5.1** berikut :

Tabel 5.1 Rata-rata nilai kreatinin serum

Kelompok	ulangan	Nilai Rata-rata \pm SD (mg/dl)
Kelompok urolithiasis (P1)	4	0,750 \pm 0,0577 ^{ab}
Kelompok hiperglikemia+urolithiasis (P2)	4	0,825 \pm 0,500 ^{bc}
Kelompok perlakuan semanggi air 20% (P3)	4	0,875 \pm 0,500 ^c
Kelompok perlakuan semanggi air 40% (P4)	4	0,725 \pm 0,500 ^{ab}
Kelompok perlakuan semanggi air 60% (P5)	4	0,675 \pm 0,500 ^a

Keterangan : notasi yang berbeda menunjukkan perbedaan yang signifikan, $p < 0,05$

Pada **tabel 5.1** dapat diketahui bahwa kelompok P3 tidak berbeda nyata terhadap kelompok kontrol positif hiperglikemia dan urolithiasis (P2) namun, hal ini ditunjukkan pada kelompok P3 berada pada satu notasi dengan kontrol positif (P2), pada kelompok P5 berbeda nyata terhadap P3 namun tidak berbeda nyata dengan kelompok perlakuan P4. Hal ini dikarenakan pada kelompok P5 konsentrasi perasan semanggi air yang digunakan cukup tinggi diantara perlakuan lainnya yaitu sebesar 60 %. Hal ini dikarenakan semanggi air mengandung kalium dan flavonoid, dimana kandungan kalium pada perasan daun dan tangkai semanggi air berfungsi sebagai pelarut Kristal CaOx sehingga kristal yang

terdapat pada saluran urinari dapat dipecah dan dapat dikeluarkan dengan mudah, sedangkan kandungan flavonoid berfungsi sebagai antioksidan dimana antioksidan dapat menghambat reaksi oksidasi dengan mengikat radikal bebas serta antiinflamasi dan antiinflamasi sehingga kerusakan pada ginjal dapat dicegah (Nurjanah, 2012).

Nilai rata-rata kadar kreatinin serum kelompok urolithiasis (P1) memiliki nilai kreatinin $0,750 \pm 0,0577$ mg/dL. Hal ini dikarenakan pemberian 0,75 % etilen glikol dan 2 % amonium klorida pada tikus putih (*Rattus novergicus*) selama 10 hari menyebabkan etilen glikol mengalami metabolisme menjadi glikol aldehid oleh alkohol dehidrogenase. Glikol aldehid selanjutnya diubah menjadi glikolat oleh aldehid dehidrogenase pada tahap kedua. Lebih jauh lagi glikolat diubah menjadi gliksilat yang hasil metabolisme selanjutnya adalah oksalat. Senyawa tersebut mengendap bersama kalsium dalam tubuh membentuk kristal kalsium oksalat (Cox dkk., 2004). Kombinasi etilen glikol dengan ammonium klorida sendiri dapat mempercepat terjadinya urolithiasis dalam bentuk kalsium oksalat karena amonium klorida dapat meningkatkan konsentrasi kalsium dan oksalat pada urin. Kondisi tersebut mengakibatkan kerusakan pada ginjal akibat oleh pembentukan Kristal kalsium oksalat pada tubulus ginjal yang menyebabkan GFR (*Glomerulo Filtrate Rate*) menurun sehingga produk sampah yaitu kreatinin, asam urat dan BUN yang seharusnya diekskresikan melalui ginjal terakumulasi dalam darah (warrag *et al*, 2014).

Pada kelompok kontrol hiperglikemia+urolithiasis (P2) nilai rata-rata kadar kreatinin serum lebih tinggi apabila dibandingkan dengan kelompok kontrol

urolithiasis yaitu sebesar $0,825 \pm 0,500$ mg/dL. Hal ini dikarenakan kelompok P2 sebelum diinduksi urolithiasis dilakukan induksi hiperglikemia, dimana kondisi hiperglikemia dapat menyebabkan terbentuknya radikal bebas akibat prose autoglikasi glukosa (Bambang dan Suhartono, 2005), dimana radikal bebas dalam tubuh yang tinggi dan tidak diimbangi dengan konsentrasi antioksidan yang cukup maka akan menyebabkan stress oksidatif akibatnya intensitas proses oksidasi sel-sel tubuh normal menjadi semakin tinggi dan menimbulkan kerusakan yang lebih banyak (Hardyanto, 2013). Sumber utama terjadinya stres oksidatif pada hiperglikemia adalah auto-oksidasi glukosa, produksi *reactive oxygen species* (ROS) yang berlebih di mitokondria dan glikasi nonenzimatik. Glikasi nonenzimatik antara glukosa dan asam amino akan membentuk akumulasi *advanced glycation endproducts* (AGE). Ginjal merupakan organ utama pembuangan akhir produk AGE. Jumlah AGE yang meningkat dalam plasma dapat menginduksi perubahan patologik glomerulus tikus diabetes, yaitu ekspansi matriks mesangial, fibrosis dan peradangan. Ekspansi matriks mesangial menyebabkan penurunan kapiler glomerulus sehingga mengakibatkan penurunan laju filtrasi glomerulus sehingga produk kreatinin menumpuk dalam darah (Ghosh *et al.*, 2009).

Pada kelompok perlakuan (P3) dapat diketahui bahwa kadar kreatinin serum masih tinggi apabila dibandingkan dengan kontrol hiperglikemia+urolithiasis (P2), hal ini dikarenakan dosis preventif pemberian perasan daun dan tangkai semanggi air (*Marsilea crenata*) sebanyak 20% masih belum tercukupi. Namun pada kelompok perlakuan (P4 dan P5) yaitu tikus yang diberikan perasan daun

dan tangkai semanggi air (*Marsilea crenata*) dengan konsentrasi masing-masing 40%, dan 60 % menunjukkan penurunan kadar kreatinin serum dengan nilai $0,725 \pm 0,500$ dan $0,675 \pm 0,500$, lebih rendah apabila dibandingkan dengan kelompok kontrol urolithiasis (P1) maupun kelompok kontrol hiperglikemia+urolithiasis (P2).

Kalium pada semanggi air berfungsi sebagai diuretik. Tingginya kalium di dalam tubuh akan menyebabkan peningkatan kadar ion K^+ didalam cairan intraselular. Ion K^+ akan bergabung dengan senyawa asam oksalat yang merupakan pembentuk kristal dengan membentuk senyawa garam yang mudah larut dalam air, sehingga kristal tersebut akan larut secara bertahap bersama urin. Selain itu kalium juga memiliki mekanisme kerja yaitu membantu meningkatkan absorpsi kalsium dalam tubuh sehingga kadar kalsium dalam urin berkurang. Daya melarutkan kalium terhadap kalsium oksalat maupun fosfat disebabkan oleh letak magnesium dan kalium dalam deret volta sebelum letak kalsium, sehingga kalium akan menyingkirkan kalsium untuk bergabung dengan karbonat, fosfat, oksalat, atau urat dan senyawa kalsium menjadi larut (Joseph *et al*, 2005).

Menurut Ganong (2003), selain memiliki aktivitas diuretikum, flavonoid juga menghambat sekresi vasopresin. Vasopresin berperan dalam menurunkan tekanan osmotik efektif plasma dan meningkatkan volume cairan ekstraseluler. Selain itu, flavonoid juga dapat berperan sebagai antioksidan yang dapat menetralkan zat-zat yang bersifat toksik serta menghambat terjadinya oksidasi sel sehingga dapat mengurangi kerusakan tubulus (Simanjuntak *et al*.2004).

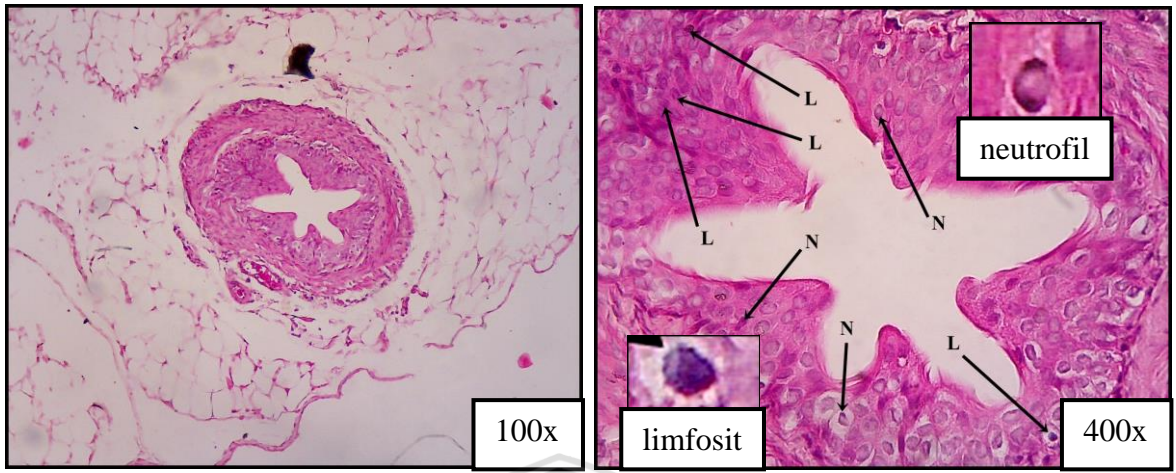
Menurut Hard *et al.*, (2003) flavonoid memiliki fungsi sebagai antioksidan dan melindungi struktur sel epitel tubuh termasuk ginjal. Antioksidan merupakan senyawa yang dapat menetralkan dan melawan bahan yang toksik, serta menghambat terjadinya oksidasi sel sehingga kerusakan sel dapat dikurangi (Simanjuntak *et al.*, 2004). Flavonoid juga memiliki khasiat sebagai antidiabetes dengan kemampuan mengurangi penyerapan glukosa maupun dengan cara meningkatkan toleransi glukosa sehingga dapat menurunkan kejadian hiperglikemia (Brahmachari, 2011).

Berdasarkan kadar kreatinin serum pada penelitian ini maka perasan daun dan tangkai semanggi air efektif untuk mencegah terjadinya urolithiasis pada penderita hiperglikemia

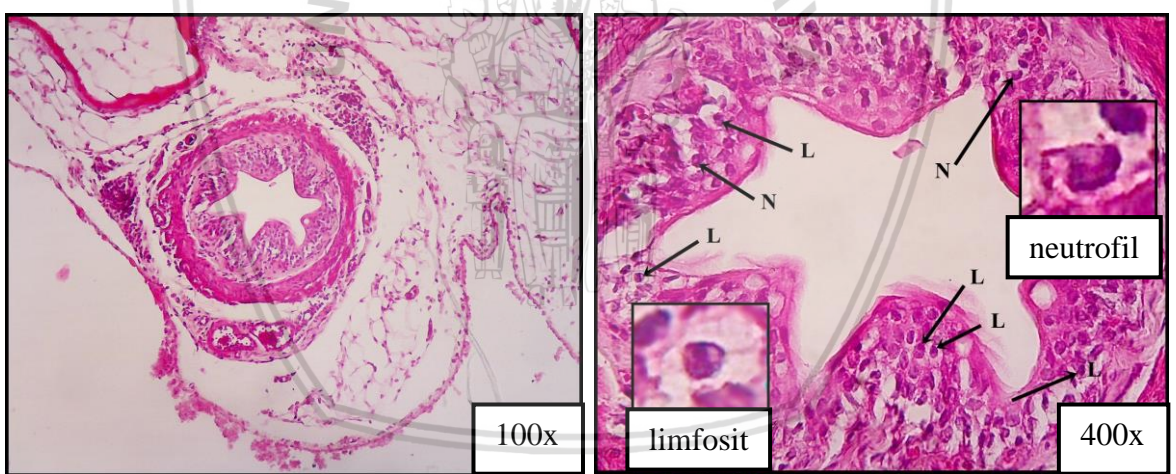
5.2 Pengaruh Perlakuan Perasan Daun Dan Tangkai Semanggi (*Marsilea crenata*) Terhadap Histopatologi Ureter

Komponen yang dilihat dalam pengamatan ureter yaitu jumlah sel radang, ketebalan sel epitel dan kerusakan pada sel ureter. Pencegahan kerusakan ureter dilihat dari berkurangnya infiltrasi sel radang dan tebal lapisan epitel yang mengecil akibat perbaikan sel pada histologi ureter dapat sebagai indikator efek dari perlakuan yang telah diberikan.

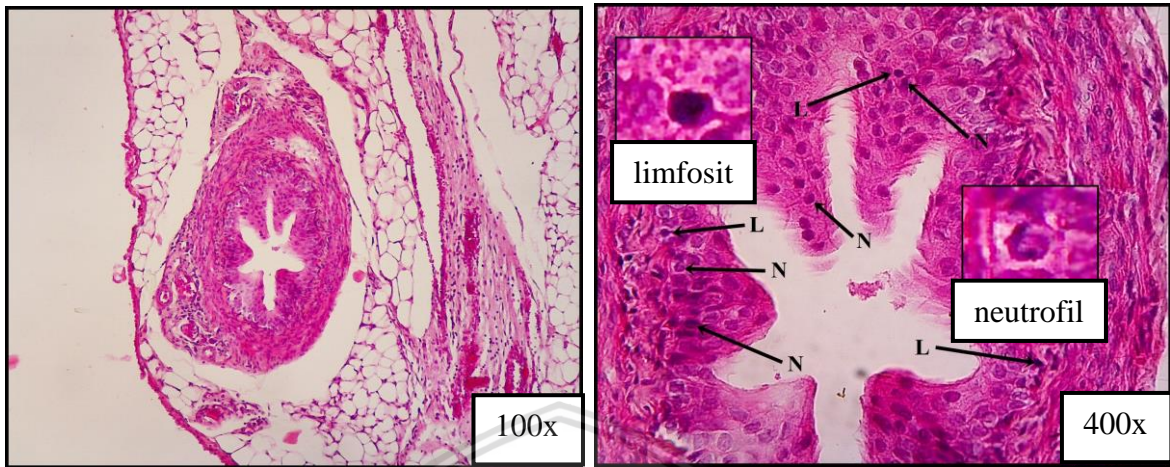
Pemberian etilen glikol dan ammonium klorida pada tikus putih menunjukkan adanya kerusakan epitel dan infiltrasi sel radang yang ditunjukkan pada **Gambar 5.2a dan Gambar 5.2b**:



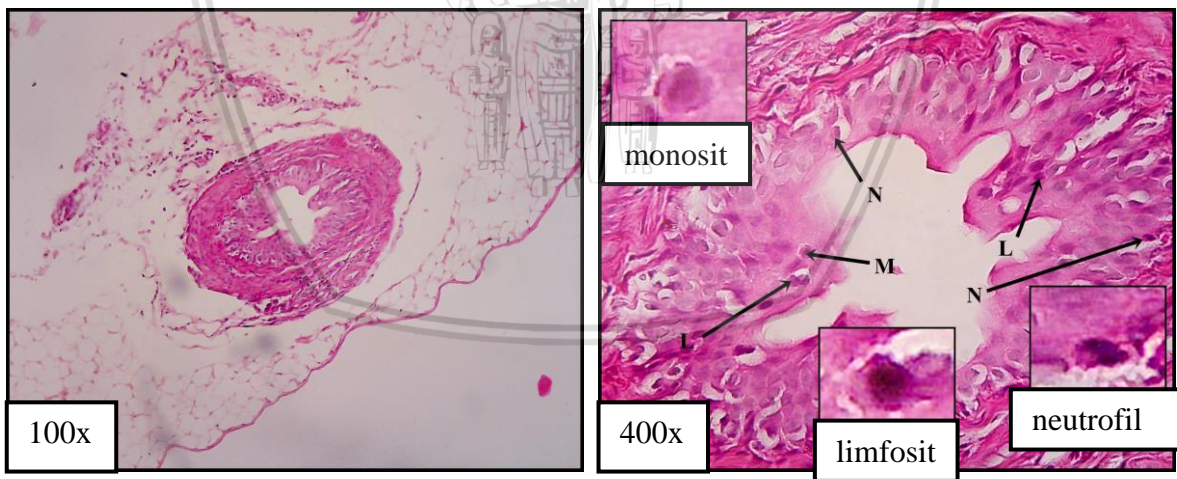
Gambar 5.2a: Penampang histopatologi kelompok kontrol urolithiasis (P1). Tampak adanya kerusakan ureter ditandai dengan adanya infiltrasi sel radang dan edema pada lapisan epitel transisional. Ket: L) Sel Radang MN (limfosit) N) sel radang PMN (neutrofil).



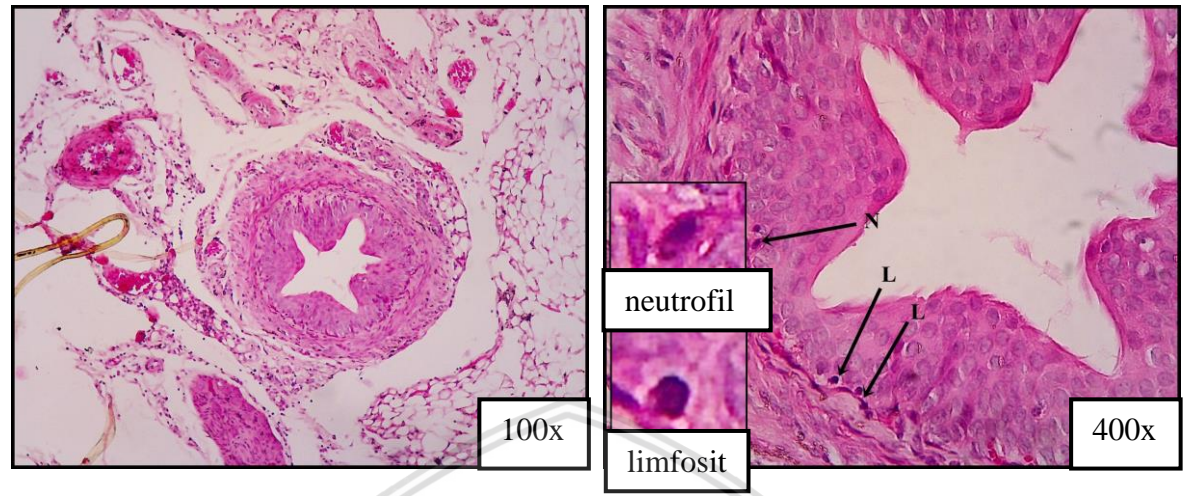
Gambar 5.2b: Penampang histopatologi kelompok kontrol urolithiasis+hiperglikemia (P2). menunjukkan adanya kerusakan ureter ditandai dengan adanya infiltrasi sel radang dan edema yang lebih banyak dibanding kelompok control P1 pada lapisan epitel transisional. Ket: L) Sel Radang MN (limfosit) N) sel radang PMN (neutrofil)



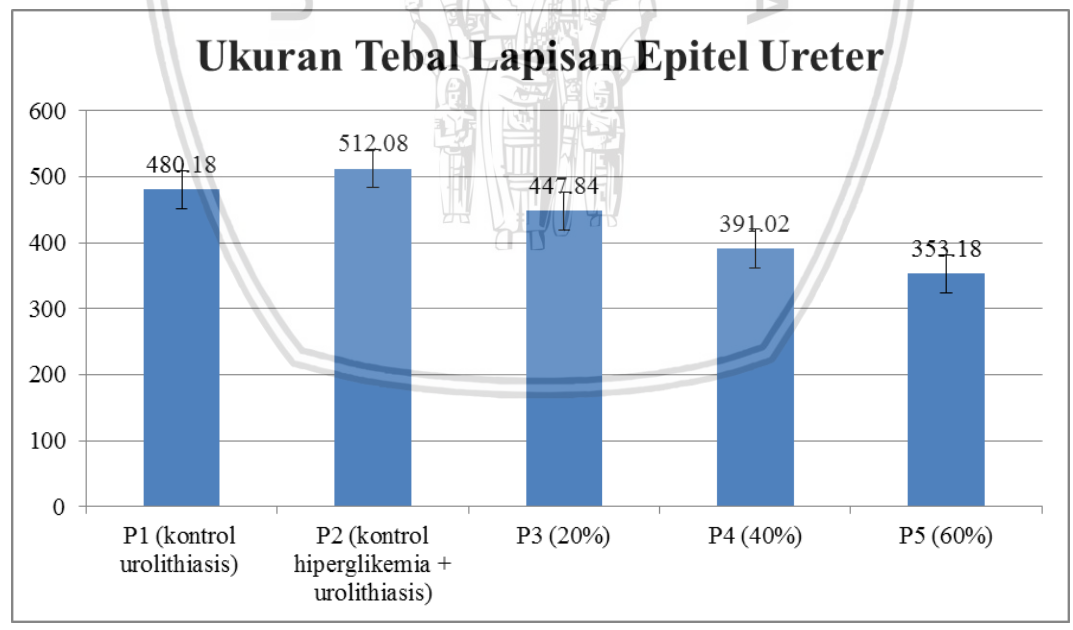
Gambar 5.2c: Histopatologi ureter kelompok perlakuan (P3) pemberian perasan daun dan tangkai semanggi air (*marsilea crenata*) kadar 20%. Menunjukkan masih adanya kerusakan ureter yang ditandai dengan infiltrasi sel radang dikarenakan dosis prevensi yang belum tercukupi. Ket: L) Sel Radang MN (limfosit) N) sel radang PMN (neutrofil).



Gambar 5.2d: Histopatologi ureter kelompok perlakuan (P4) pemberian perasan daun dan tangkai semanggi air (*marsilea crenata*) kadar 40%. Menunjukkan prevensi yang ditunjukkan dengan menurunnya infiltrasi sel radang dibandingkan dengan kelompok kontrol (P1 dan P2). Ket: L) Sel Radang MN (limfosit) M) Sel Radang MN (monosit) N) sel radang PMN (neutrofil).



Gambar 5.2e: Histopatologi ureter kelompok perlakuan (P5) pemberian perasan daun dan tangkai semanggi air (*marsilea crenata*) kadar 60%. Menunjukkan prevensi yang lebih baik ditandai dengan infiltrasi sel radang yang lebih sedikit dibandingkan dengan kelompok kontrol (P1 dan P2) maupun kelompok perlakuan (P3 dan P4). Ket: L) Sel Radang MN (limfosit) N) sel radang PMN (neutrofil).



Gambar 5.2f: Ukuran tebal lapisan epitel ureter (P1) 480,18 µm, (P2) 512,08 µm, (P3) 447,84 µm, (P4) 391,02 µm, (P5) 353,18 µm.

Tabel 5.2 Rata-rata tebal lapisan epitel ureter

Kelompok	ulangan	Nilai Rata-rata ±SD (µm)
Kelompok urolithiasis (P1)	5	480.18±31.0470 ^c
Kelompok hiperglikemia+urolithiasis (P2)	5	512.08±58.0005 ^c
Kelompok perlakuan semanggi air 20% (P3)	5	447.84±33.3301 ^{bc}
Kelompok perlakuan semanggi air 40% (P4)	5	391.02±45.9616 ^{ab}
Kelompok perlakuan semanggi air 60% (P5)	5	353.18±38.4311 ^a

Keterangan : notasi yang berbeda menunjukkan perbedaan yang signifikan, p: < 0,05

Pada **tabel 5.2** dapat diketahui bahwa kelompok P3 tidak berbeda nyata terhadap kelompok kontrol hiperglikemia+urolithiasis (P2), hal ini ditunjukkan pada kelompok P3 berada pada satu notasi dengan kontrol positif P2, pada kelompok perlakuan P5 berbeda nyata terhadap kelompok perlakuan P3 namun tidak berbeda nyata dengan kelompok perlakuan P4. Hal ini dikarenakan pada kelompok P5 mempunyai konsentrasi perasan semanggi air yang digunakan lebih tinggi diantara perlakuan lainnya yaitu sebesar 60%. Hal ini dikarenakan semanggi air mempunyai kandungan kalium sebagai diuretik yang dapat membantu kelancaran proses urinasi sehingga kejadian kristalisasi pada saluran urinasi dapat dicegah.

Hasil pengamatan histopatologi ureter kelompok kontrol urolithiasis (P1) (**Gambar 5.2a**) menunjukkan bahwa terlihat adanya kerusakan histologi ureter yang ditandai dengan adanya infiltrasi sel radang maupun edema pada bagian lapisan epitel transisional. Infiltrasi sel radang akibat dari induksi amonium klorida dan etilen glikol yang menyebabkan obstruksi saluran urinasi akibat dari kristalisasi kalsium oksalat (CaOx) dimana kristal pada saluran ureter akan

menyebabkan luka mekanis sehingga terjadi peradangan serta edema.. hal ini menunjukkan adanya inflamasi pada epitel transisional sehingga sel radang bermigrasi ke daerah inflamasi. Inflamasi merupakan respons protektif setempat yang ditimbulkan oleh cedera atau kerusakan jaringan, yang berfungsi menghancurkan, mengurangi, atau mengurung (sekuestrasi) baik agen pencedera maupun jaringan yang cedera itu (Dorland, 2002).

Pada kelompok kontrol positif hiperglikemia + urolithiasis (P2) (**Gambar 5.2b**) terlihat adanya adanya infiltrasi sel radang pada bagian epitel transisional maupun edema. Rata-rata tebal lapisan ureter (P2) juga menunjukkan ukuran yang lebih besar apabila dibandingkan dengan kontrol urolithiasis (P1), hal ini dikarenakan keadaan hiperglikemia kronis menyebabkan inflamasi ringan pada epitel gastrointestinal yang mengganggu keseimbangan flora normal pada usus dan mekanisme peredaran sirkulasi darah. Inflamasi ini menginduksi peningkatan oksalat dan diare kronis. Peningkatan oksalat pada saluran urinasi yang tinggi tersebut dapat mengakibatkan pengendapan kristalisasi CaOx. Hal ini yang menyebabkan kejadian urolithiasis semakin tinggi (Davarci *et al.*, 2011). Kondisi Hiperglikemia dapat menyebabkan terbentuknya radikal bebas akibat proses autoglikasi glukosa (Bambang dan Suhartono, 2005), dimana radikal bebas dalam tubuh yang tinggi dan tidak diimbangi dengan konsentrasi antioksidan yang cukup maka akan menyebabkan stress oksidatif akibatnya intensitas proses oksidasi sel-sel tubuh normal menjadi semakin tinggi dan menimbulkan kerusakan yang lebih banyak (Hardyanto, 2013).

Pada kelompok perlakuan preventif pemberian perasan tangkai dan daun semanggi air dengan kadar 20 % (P3) (**Gambar 5.2c**) gambaran histopatologi ureter terlihat bahwa pada kelompok ini infiltrasi sel radang masih terlihat. Hal ini dikarenakan dosis perasan semanggi air yang diberikan masih belum tercukupi sehingga masih tampak adanya sel radang yang berkumpul pada suatu daerah inflamasi.

Perbaikan gambaran histopatologi ureter terjadi pada kedua kelompok tikus P4 dan P5 dengan pemberian perasan daun dan tangkai semanggi air (*marsilea crenata*) dengan kadar perasan 40% dan 60%. Kelompok tikus P4 (perasan daun dan tangkai semanggi air 40%) menunjukkan perbaikan gambaran inflamasi sel radang yang berkurang dan tebal ureter yang lebih kecil dibandingkan kelompok P3. Kelompok tikus P5 (perasan daun dan tangkai semanggi air 60%) menunjukkan perbaikan gambaran sel sel radang yang berkurang serta tebal lapisan epitel yang lebih kecil dibandingkan kelompok kontrol.

Hal tersebut menunjukkan bahwa peningkatan dosis preventif perasan daun dan tangkai semanggi air (*Marsilea crenata*) menunjukkan adanya perbaikan gambaran histopatologi ureter yang lebih baik. Dengan ini terbukti bahwa pemberian perasan daun dan tangkai semanggi air memberikan efek terhadap tikus penderita hiperglikemia yang diinduksi urolithiasis. Hal ini dikarenakan Semanggi air (*Marsilea crenata*) mengandung zat aktif yaitu flavonoid sebagai anti inflamasi (Nurjannah dan Abdullah, 2013). Mekanisme Flavonoid sebagai antioksidan yaitu dengan cara mendonorkan satu elektron hidrogen kepada radikal

bebas sehingga radikal bebas dapat stabil serta menghambat terjadinya oksidasi sel sehingga kerusakan sel dapat dikurangi (Simanjuntak *et al*, 2004). Berdasarkan gambaran histopatologi ureter maka dapat dibuktikan bahwa perasan daun dan tangkai semanggi air (*Marsilea crenata*) dapat mencegah kerusakan ureter pada tikus putih (*Rattus novergicus*) urolithiasis penderita hiperglikemia berdasarkan yang terlihat pada pengurangan kerusakan dan infiltrasi sel radang pada histopatologi ureter.



BAB 6 PENUTUP

6.1 Kesimpulan

Berdasarkan hasil penelitian efek preventif perasan daun dan tangkai semanggi air (*Marsilea crenata*) pada tikus (*Rattus norvegicus*) urolithiasis penderita hiperglikemia berdasarkan kadar kreatinin serum dan histopatologi ureter dapat disimpulkan bahwa pemberian perasan daun dan tangkai semanggi air (*Marsilea crenata*) pada pemberian perlakuan kadar 60% berperan sebagai preventif terjadinya urolithiasis pada penderita hiperglikemia yang ditandai dengan penurunan kadar kreatinin serum dan pengurangan kerusakan ureter berupa penurunan inflamasi sel radang dan penurunan tebal lapisan epitel pada histopatologi ureter.

6.2 Saran

Perlu dilakukan penelitian lebih lanjut mengenai efek samping perasan daun dan tangkai semanggi air (*Marsilea crenata*) sehingga dapat diaplikasikan untuk penelitian selanjutnya.

DAFTAR PUSTAKA

- Adiyati P. N. 2011. Ragam jenis ektoparasit pada hewan coba tikus putih (*Rattus norvegicus*) galur Sprague dawley. [Skripsi]. Fakultas Kedokteran Hewan. Institut Pertanian Bogor.
- Afriastini JJ. 2003. *Marsilea crenata C.Presl*. Di dalam: de Winter WP, Amoroso VB, editor. Cryptograms: Ferns and fern allies. Bogor : LIPI
- Anggraeni, S. 2013. Uji Aktivitas Penghambatan Batu Ginjal (Anti Nefrolithiasis) Ekstrak Etanol Dari Herbal Pegagan *Centella asiatica* L. Urban Pada Tikus Jantan. *Scientific Journals of Bogor Agricultural University 2 (1) : 1-5*.
- Apriani N., Suhartono E., Z. Akbar Izaak. 2011. *Korelasi Kadar Glukosa Darah dengan Kadar Advanced Oxidation Protein Products (AOPP) Tulang pada Tikus Putih Model Hiperglikemia*. Bagian Kimia/Biokimia Kelompok Studi Radikal Bebas & Pemanfaatan Bahan Alam, Fakultas Kedokteran, Universitas Lambung Mangkurat, Banjarbaru 70712 Indonesia
- Arifin, M. 2009. *Analisis mikroskopi dan Kandungan Mineral Semanggi Air Marsilea crenata Presl. (Marsileaceae)*. Departemen Teknolgi hasil Perairan. Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan. Institut Pertanian Bogor.
- Arifin. Augusta L., Nanny. Natalia., Kariadi. SHKS. 2011. *Krisis Hiperglikemia Pada Diabetes Melitus*. Bagian Ilmu Penyakit Dalam. Fakultas Kedokteran Universitas Padjajaran. Bandung
- Astuti, F. 2013. *Analisis Fitokimia dan Aktivitas Antibakteri Semanggi Air (Marsilea crenata Presl.)*. Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan. Institut Pertanian Bogor.
- Bambang S. dan Suhartono E. 2005. Stres oksidatif dan peran anti oksidan pada diabetes mellitus. *Maj Kedokt Indonesia*, Volum: 55. No. 2.
- Basuki B, Purnomo. 2011. *Dasar-dasar Urologi*. Sagung Seto: Jakarta.
- Brahmachari, G., 2011, Bio- Flavonoids With Promising Antidiabetic Potentials: A Critical Survey, *Research Signpost*, 187-212
- Buffington, C.A.T. 2001. *Managing common chronic lower urinary tract disorders of cats*. Proceedings of the North American Veterinary Conference. Orlando pages 282-285.
- Cox, R.D. dan Phillips, W.J. 2004. *Ethylene Glycol Toxicity*. *Military Medicine* 169 (8) : 660-663.

- Corwin, Elizabeth J. 2001. *Buku Suku Patofisiologi (hands book of pathophysiology)* Jakarta: EGC.
- Cruzan, G., Corley, R.A., Hard, G.C., Mertens, J.J., McMartin, K.E., Snellings, W.M., Gingell, R., dan Deyo, J.A. 2004. *Subchronic Toxicity of Ethylene Glycol in Wistar and F- 344 Rats Related to Metabolism and Clearance of Metabolites*. *Toxicological Sciences* 81 (2) : 502-511.
- Davarci M, Helvaci MR, Aydin M. 2011 What Is The Relationship Between Type 2 Diabetes Melistus And Urolithiasis?. Medical Faculty of the Mustafa Kemal Ubiversity, Antakya, Turkey.
- Dewi, D dan Anak Agung, N S. Profil Analisis Batu Saluran Kencing Di Instalasi Laboratorium Klinik Rsup Sanglah Denpasar. *Jurnal Penyakit Dalam, Volume 8 Nomor 3 September 2007*.
- Dorland W. A. N. 2002. *Kamus Kedokteran Dorland*. Terjemahan Huriawati. Hartanto. Edisi pertama. Jakarta : EGC
- El-Soud NHA, Khalil MY, Husein JS, Oraby FSH, and Farrag ARH. 2007. *Antidiabetic Gffeets of Fenugreek Alkalioid Extract in Streptozotocin Induced Hypoglicemic rats*. *J. of App. Sci. Research*, 3 (10): 1073-1083.
- Erguder BI, Avci A, Devrim E, Durak I. 2007. *Effects of cooking techniques on antioxidant enzyme activities of some fruits and vegetables*. *Turk J Med Sci* 37.(3):151-156.
- Fahri. C., Sutarno., Listyawati. S. 2005. Kadar Glukosa dan Kolesterol Total Darah Tikus Putih (*Rattus norvegicus L.*) Hiperglikemik setelah Pemberian Ekstrak Metanol Akar Meniran (*Phyllanthus niruri L.*). Jurusan Biologi FMIPA UNS Surakarta. *Jurnal Biofarmasi* 3 (1): 1-6, Pebruari 2005, ISSN: 1693-2242
- Ghosh,N., Kalman,D., Steinmaus,C. Creatinine, Diet, Micronutrients, and Arsenic Methylation in West Bengal, India. *Journal US National Library Of Medicine National Institutes*. 119(9): 1308–1313
- Gugliuci A 2000. *Glycation as the glucose link to diabetic complications*, *JAOA*; 100(10):621-34.
- Hard GC. 2008. Some Aids to Histological Recognition of Hyaline Droplet Nephropathy in Ninety-Day Toxicity Studies. *Journal of Toxicology Pathology*. 36: 1014-1017
- Hardyanto, J., Pratiwi, T dan Djoko, W. 2013. *Efek Perasan Daun dan Tangkai Semanggi Air (Marsilea Crenata) Terhadap Penurunan Kadar Tumor Necrosis Factor Alpha (TNF- α) Dan dan Interleukin 1 Beta (IL - 1 β) pada Tikus Putih (Rattus Norvegicus) Urolithiasis*. *Jurnal Kedokteran hewan*: 1-10

- Hein GG, Wiegand Lehmann R, Stein G, Franke S 2003. *Advanced glycation end-products pentosidine and N"-carboxymethyllysine are elevated in serum of patients with osteoporosis*. *Rheumatology*; 42:1242–46.
- Joseph KC, Parekh BB, Joshi MJ. Inhibition of growth of urinary type calcium hydrogen phosphate dihydrate crystal by tartaric acid and tamarind. *Current Science*.2005;88(8):1232-9.
- Juhriyyah, S. 2008. Gambaran Histopatologi Organ Hati dan Ginjal Tikus pada Intoksikasi Akut Insektisida (Metofluthrin, D-Phenothrin, D-Allethrin) dengan Dosis Bertingkat. *Scientific Journals of Bogor Agricultural University: 1-8*
- Khan, A., Bashir, S., Khan, S.R., dan Gilani, A.H. 2011. *Antiuro lithic Activity of Origanum vulgareis Mediated Through Multiple Pathways*. *BMC Complementary and Alternative Medicine* : 1-16.
- Kusnadi, J, Ramadhana, M.R. 2016. Formulasi Pengembangan Produk Margarin Berbahan Minyak Ikan Tuna (*Thunnus sp*) Dan Stearin Kelapa Sawit. *Jurnal Pangan dan Agroindustri*. 4(2):525-535.
- Kusriningrum R. 2008. *Perancangan Percobaan*. Universitas Airlangga. Surabaya. Hal. 43-51.
- Longo, D. et al., 2011. *Harrison's Principles of Internal Medicine*. 18th ed. New York, NY: McGraw-Hill
- Meyer. 2004. *Pathology Clinical Basic of Medicine*. Marcel Dekker Inc., USA. 1-30, 271-298
- Morawietz G, Ruehl-Fehlert C, Kittel B, et al. 2004. *Revised guides for organ sampling and trimming in rats and mice – Part 3*. A joint publication of the RITA and NACAD groups. *Exp Toxic Pathol* 55: 433–449
- Mughni, A.I. 2013. Uji Aktivitas Ekstrak Etanol 70% Kulit Batang Kapuk Randu (*ceiba pentandra (L.) Gaertn*) Sebagai Penghambat Pembentukan Batu Ginjal Pada Tikus Putih Jantan. *Fakultas Kedokteran dan Ilmu Kesehatan, Program Studi Farmasi. UIN Syarif Hidayatullah Jakarta*.
- Murwani S. 2013. Preventive Effect of Marsilea crenata Leaves and Stalks Juices Against Urolithiasis Showed by Improving of Kidney Function. *American Journal of Animal and Veterinary Sciences* 2016 11 (1): 47.54
- Nikolic J, Cvetkovic T, Sokolovic D. 2003. *Role of quercetin on hepatic urea*. Production in acute renal failure. *Renal Failure* 25: 149-155.
- Nurjanah, A. dan A. Abdullah. 2012. Aktivitas Antioksidan dan Komponen Bioaktif Semanggi Air (*Marsilea crenata*). *Jurnal Inovasi dan Kewirausahaan: 152-158*.

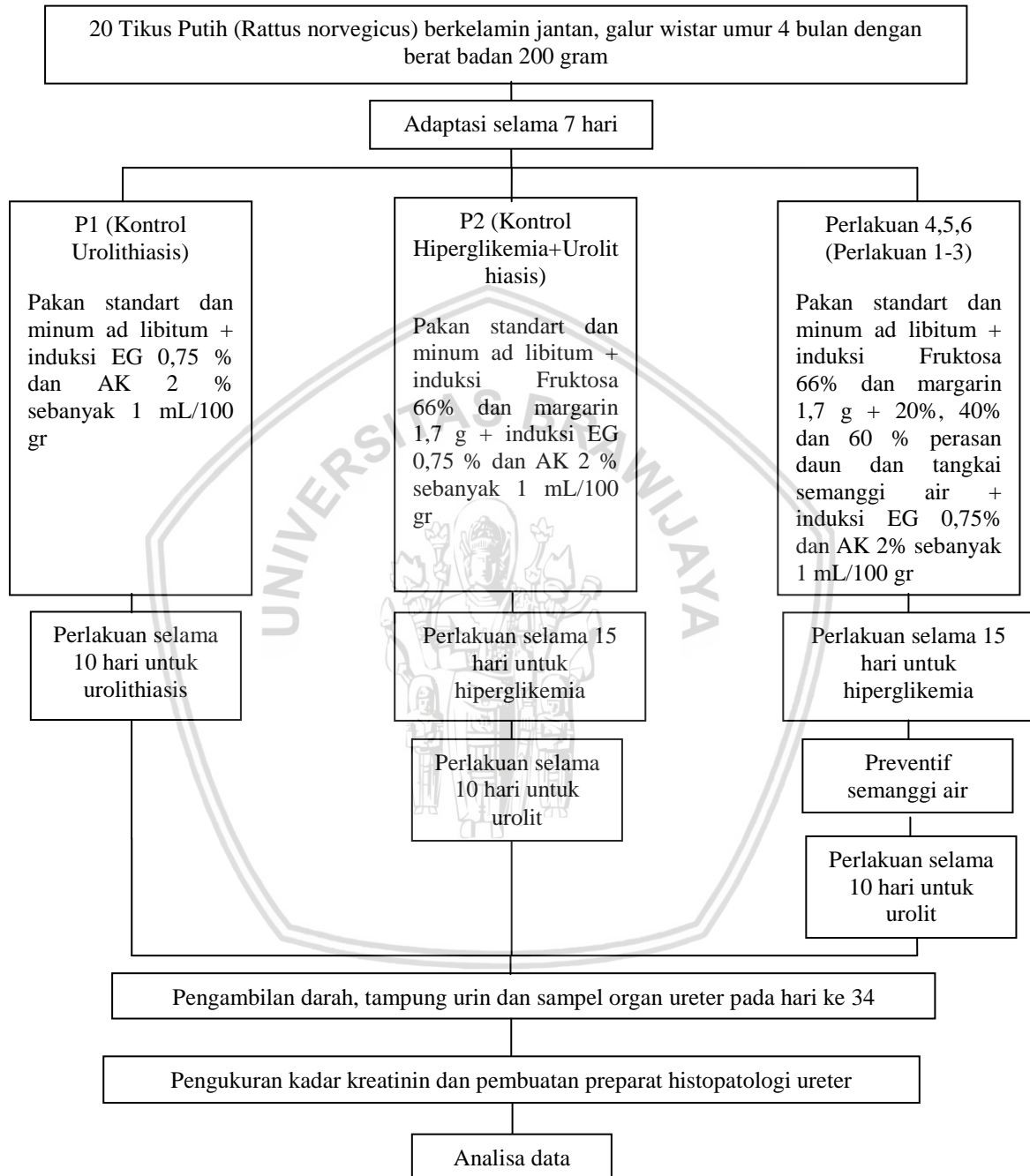
- Prabowo, E., & Pranata, A.E. (2014). *Buku Ajar Asuhan Keperawatan Sistem Perkemihan Pendekatan NANDA, NIC dan NOC*. Yogyakarta: Nuha Medika.
- Pradana B. W. 2013. *Efek Prevensi Perasan daun dan tangkai semanggi air (Marsilea crenata) terhadap kadar Malondialdehid (MDA) dan aktivitas Superoksida dismutase (SOD) pada tikus putih (Rattus norvegicus) Urolithiasis. Jurnal Kedokteran Hewan: 1-9*
- Purwono, R, M. 2009. *Pengaruh Infusum Daun Alpukat (Persea americana Mill) dalam Menghambat Pembentukan Kristal pada Ginjal Tikus. Scientific Journals of Bogor Agricultural University: 1-5*
- Rahmawati, R.D., dan K. Arya Candra. 2015. *Pengaruh Pemberian Sari Buah Belimbing Wuluh (Averrhoa Bilimbi L.) Terhadap Kadar Glukosa Darah Tikus Sprague Dawley. Jurnal Kedokteran Universitas Diponegoro: 1-15*
- Robbins SL, Kumar V, Cotran RS, penyunting. *Ginjal dan Sistem Penyalurnya*. New York: Elsevier; 2007. hlm.602-3.
- Rohman A, Riyanto S. 2005. *Daya antioksidan ekstrak etanol daun kemuning (Murraya paniculata (L) Jack) secara in-vitro*. *Farmasi Indonesia* 16(3):136-140.
- Sacher, R.A., Mc Pherson., dan Richard, A. 2002. *Tinjauan Klinis Hasil Pemeriksaan Laboratorium*. Penerbit Buku Kedokteran EGC. Jakarta.
- Sartono, M.K. 2013. *Efek Preventif Perasan Semanggi Air (Marsilea crenata) Terhadap Gambaran Histopatologi Ginjal dan Vesica Urinaria Tikus Putih (Rattus norvegicus) Model Urolithiasis. Jurnal Kedokteran Hewan: 1-5*
- Simanjuntak P, Parwati T, Lenny LE, Tamat S, Murwani R. 2004. *Isolasi dan Identifikasi Senyawa Antioksidan dari Ekstrak Benalu Teh, Scurrula oortiana (Korth) Danser (Lorantaceae)*. *J Ilmu Kefarmasian Indonesia*. 21: 6-9.
- Sirois, M. 2005. *Laboratory Animal Medicine : Principles and Procedures*. Elsevier. United States of America.
- Stevenson, A.E. 2002. *The Incidence of Urolithiasis in Cats and Dogs and the Influence of Diet in Formation and Prevention of Recurrence*. Institute of Urology and Nephrology. University College London. 29-30.
- Warrag M. N., Eldin T. M., Ahmed M. 2014. *Effect of Cymbopogon proximus (Mahareb) on ethylene glycol-induced nephrolithiasis in rat*. *African Journal of Pharmacy and Pharmacology Vol 8 pp. 443-450*.
- Yacoeb AM, Nurjanah, Arifin M, Sulistiono W, Kristiono SS. 2010. *Deskripsi histologis dan perubahan komposisi kimia daun dan tangkai semanggi*

(Marsilea crenata Presl., Marsileaceae) akibat perebusan. Jurnal Pengolahan Hasil Perikanan Indonesia XII(2):81-95





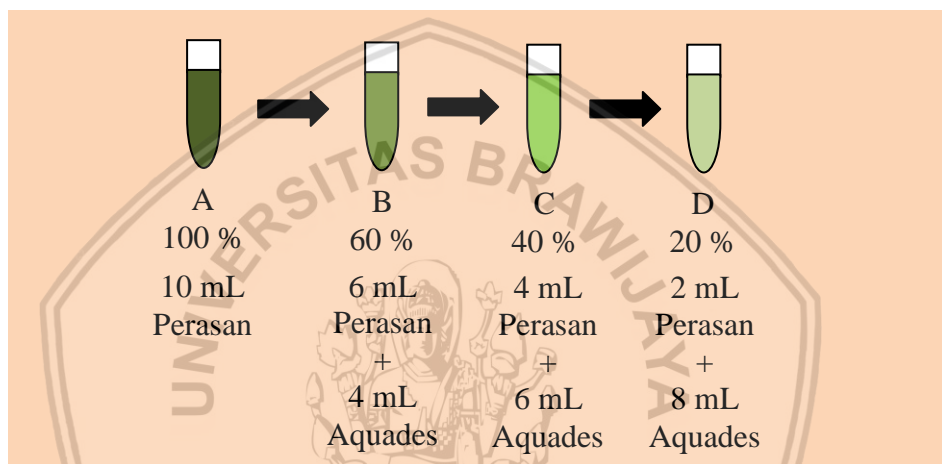
Lampiran 1. Diagram Tahapan Penelitian



Lampiran 2. Prosedur Kerja

2.1 Pembuatan Perasan Daun dan Tangkai Semanggi air (*marsilea crenata*)

1. Daun dan tangkai semanggi air dipilih yang masih segar dan berwarna hijau
2. Daun dan tangkai semanggi air dicuci hingga bersih
3. Daun dan tangkai ditimbang sebanyak ± 100 gram untuk mendapatkan perasan dengan konsentrasi 100% sebanyak ± 10 mL
4. Daun dan tangkai dimasukkan ke dalam alat juicer
5. Perasan diencerkan untuk memperoleh konsentrasi bertingkat 20%, 40%, dan 60%. Proses pengenceran tercantum dalam gambar 3.1



Gambar 3.1 Proses Pengenceran Perasan Daun dan Tangkai Semanggi air (*Marsilea crenata*)

Perhitungan Pengenceran :

$$\frac{x}{10 \text{ ml}} = 20\%$$

$$\frac{x}{10 \text{ ml}} = \frac{20 \text{ ml}}{100 \text{ ml}}$$

$$100 x = 20 \times 10$$

$$= \frac{200}{100}$$

$$= 2 \text{ mL}$$

$$\frac{x}{10 \text{ ml}} = 40\%$$

$$\frac{x}{10 \text{ ml}} = \frac{40 \text{ ml}}{100 \text{ ml}}$$

$$100 x = 40 \times 10$$

$$= \frac{400}{100}$$

$$= 4 \text{ mL}$$

$$\frac{x}{10 \text{ ml}} = 60\%$$

$$\frac{x}{10 \text{ ml}} = \frac{60 \text{ ml}}{100 \text{ ml}}$$

$$100 x = 60 \times 10$$

$$= \frac{600}{100}$$

$$= 6 \text{ mL}$$

$$[] 20\% = 2 \text{ ml } [] 100\% + 8 \text{ mL aquabides}$$

$$[] 40\% = 4 \text{ ml } [] 100\% + 6 \text{ mL aquabides}$$

$$[] 60\% = 6 \text{ ml } [] 100\% + 4 \text{ mL aquabides}$$

2.2 Pembuatan Bahan Induksi Hiperglikemia

Diketahui :

- Pakan 20 g/ekor/hari
- Jumlah tikus yang diinduksi hiperglikemia adalah 12 ekor
- Fruktosa 66% /hari/ekor
- Margarin 1,7 g/hari/ekor

Jadi,

Jumlah pakan 20 g X 12 ekor = 240 g/hari

Larutan yang diperlukan :

$$\frac{66}{100} \times 320 \text{ g} = 158 \text{ g} = 158 \text{ ml/ hari untuk 12 ekor}$$

2.3 Pembuatan Bahan Induksi Urolithiasis

Diketahui :

[] Amonium = 2%

[] Etilen = 0,75 %

Dosis = 2 mL/200g BB per hari

Amonium

$$\frac{2 \text{ gram}}{100 \text{ ml}} = 2\%$$

Untuk mendapatkan amonium klorida 2 % maka dapat dibuat dengan mengambil 2 gram amonium klorida dimasukkan pada labu ukur dan ditambah aquadest sampai volume 100 mL

Etilen

$$\frac{0,75 \text{ ml}}{100 \text{ ml}} = 0,75\%$$

Untuk mendapatkan 0,75 % etilen glikol maka dapat dibuat dengan mengambil 0,75 mL etilen glikol kemudian dimasukkan pada labu ukur dan ditambah aquadest sampai volume 100 mL

Kemudian dari bahan tersebut diambil masing-masing 1 mL dan diinduksikan secara peroral pada tikus.


Lampiran 3. Prosedur pengukuran kreatinin

Kuvet

- Dibuat larutan blanko dengan memasukkan aquadest 50 μL dan ditambah reagen 1 sebanyak 1000 μL (NaOH)
- Diinkubasi selama 5 menit
- Ditambah 250 μL reagen 2 (asam pikrat)
- Ditara dengan blanko dengan panjang gelombang 546 nm di spektrofotometer
- Dibuat larutan standar dengan memasukan kreatinin 50 μL
- Ditambahkan reagen (NaOH) 1 sebanyak 1000 μL
- Diinkubasi selama 5 menit
- Ditambah 250 μL reagen 2 (asam pikrat)
- Diinkubasi selama 1 menit
- Ditara dengan blanko dengan panjang gelombang 546 nm di spektrofotometer
- Dihitung kadar kreatinin yang telah didapatkan pada sampel

Hasil

Lampiran 4. Surat Determinasi dan Layak Etik



DINAS KESEHATAN PROPINSI JAWA TIMUR
UPT MATERIA MEDICA BATU
 Jalan Lahor No.87 Telp. (0341) 593396 Batu (65313)
KOTA BATU

Nomor : 074 / 290 / 101.8 / X / 2016
 Sifat : Biasa
 Perihal : **Determinasi Tanaman Semanggi Air**

Memenuhi permohonan saudara :


Nama / NIM : FRANSISKA IKE KRISTIANI TABUN / 125130100111009
 GURITNA SEPUTRA / 125130102111001
 ALIFATUL FIRDAUSYIAH MAGHFIROH / 125130107111004
 GALLANT GESTUYEV / 125130107111002
 MULAM DIRATNA PARNASUKMA / 125130107111001
 ABDUL WAHID / 125130100111008

Fakultas : FAKULTAS KEDOKTERAN HEWAN, JURUSAN PENDIDIKAN DOKTER HEWAN
 UNIVERSITAS BRAWIJAYA MALANG

- Perihal determinasi tanaman semanggi air
 - Kingdom : Plantae (Tumbuhan)
 - Subkingdom : Tracheobionta (Tumbuhan berpembuluh)
 - Divisi : Pteridophyta (paku-pakuan)
 - Kelas : Pteridopsida
 - Ordo : Salviniiales
 - Famili : Marsileaceae
 - Genus : Marsilea
 - Spesies : *Marsilea crenata* C.Presl.
 - Sinonim : *Marsilea quadrifolia* Bl.; *M. minuta* L.
 - Nama Umum : Semanggi, semanggan, paku tapak itik
 - Kunci determinasi : 1a-17b-18a-1.
- Morfologi : Habitus: Semak, menjalar, panjang ± 25 cm. Batang: Lunak, berupa stolon, hijau kecoklatan. Daun: Majemuk, tiap tangkai terdiri dari empat helai daun, lonjong, tepi rata, pangkal runcing, panjang ± 2 cm, lebar ± 1 cm, hijau. Spora: Sporocarpia terletak dekat pangkal tangkai daun, lepas/ berdiri sendiri, kelopak dua, panjang 3-5 cm, lonjong, hijau, ungu. Akar: serabut, putih kotor.
- Nama simplisia : Marsileae crenatae Herba/ Herba semanggi.
- Kandungan kimia : Daun dan batang *Marsilea crenata* mengandung saponin dan polifenol. Daun dan tangkai semanggi air segar mengandung gula pereduksi, steroid, karbohidrat, dan flavonoid. Daun semanggi juga mengandung isoflavan.
- Penggunaan : Penelitian.
- Daftar pustaka
 - Anonim, <http://www.palntamor.com/semanggi>, diakses tanggal 11 Desember 2010.
 - Anonim, <http://www.warintek.ristek.go.id/semanggi>, diakses tanggal 15 Februari 2007.
 - Syamsuhidayat, Sri Sugati dan Johny Ria Hutapea. 1991. *Inventaris Tanaman Obat Indonesia I*. Departemen Kesehatan Republik Indonesia: Badan Penelitian dan Pengembangan Kesehatan.
 - Van Steenis, CCGJ. 2008. *FLORA: untuk Sekolah di Indonesia*. Pradnya Paramita, Jakarta.

Demikian surat keterangan determinasi ini kami buat untuk dipergunakan sebagaimana mestinya.

Batu, 19 Oktober 2016
 Kepala UPT Materia Medica Batu



Dr. Husin RM, Drs., Apt., M.Kes.
 NIP. 196110021991031003



**KOMISI ETIK PENELITIAN
UNIVERSITAS MUHAMMADIYAH MALANG
KETERANGAN KELAIKAN ETIK
"ETHICAL CLEARANCE"**

NO: E.5.a/180/KEPK-UMM/XI/2016

KOMISI ETIK PENELITIAN UNIVERSITAS MUHAMMADIYAH MALANG

**TELAH MEMPELAJARI SECARA SEKSAMA RANCANGAN PENELITIAN YANG DIUSULKAN,
MAKA DENGAN INI MENYATAKAN BAHWA:**

PENELITIAN BERJUDUL : Efek Preventif Perasan Daun dan Tangkai Semanggi Air
(*Marsilea crenata*) terhadap Urolithiasis pada Tikus Putih
(*Rattus norvegicus*) Penderita Hiperglikemia

PENELITI : Ketua :
Abdul Wahid (125130100111008)
Anggota:
1. Guritna Seputra (125130102111001)
2. Alifatul Firdausyah Maghfiroh (125130107111004)
3. Galant Gestuyev (125130107111002)
4. Mulam Diratna Parnasukma (125130107111001)
5. Fransiska Ike Kristiani Tambun (125130100111009)

UNIT / LEMBAGA / TEMPAT : Laboratorium Farmakologi FK UMM

DINYATAKAN : Laik Etik

Malang, 14 November 2016
Ketua Komisi Etik
Univ. Muhammadiyah Malang



Dr. Djaka Handaja, MPH
NIDN: 07.22.12.430



Lampiran 5. Hasil Pengukuran Kadar Gula Darah 8 jam sesudah makan

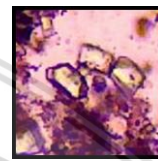
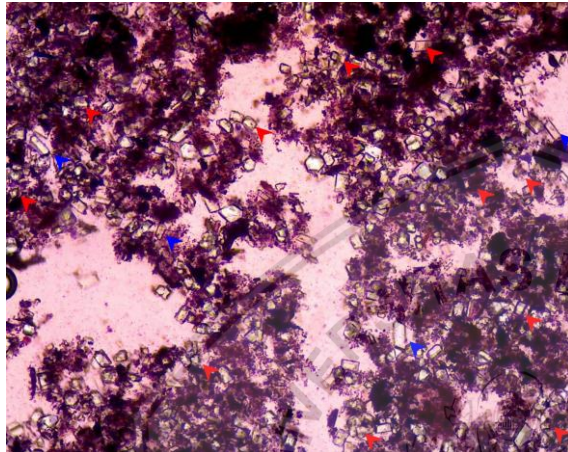
Kelompok	Nilai glukosa darah awal (mg/dL) hari ke-7	Rata-rata	Rata-rata glukosa darah post (mg/dL) hari ke-23	Rata-rata
(P2) Kelompok (+) hiperglikemia + urolithiasis	88	78	162	138
	75		139	
	63		118	
	93		130	
(P3) 20%	73	80	125	135
	85		147	
	71		110	
	91		158	
(P4) 40%	69	82	113	128
	73		128	
	112		140	
	73		132	
(P5) 60%	108	93	282	164
	76		128	
	84		110	
	102		135	

tikus dinyatakan hiperglikemia dengan kadar gula darah ≥ 105 mg/dL (Fahri dkk., 2005)

Lampiran 6. Hasil Uji Urolithiasis

6.1 Pemeriksaan Sedimen Urin

Hasil pemeriksaan sedimen urin dapat dilihat bahwa letak batu kalsium oksalat ditandai dengan panah berwarna merah (↑), letak batu struvit ditandai dengan panah berwarna biru (↑).

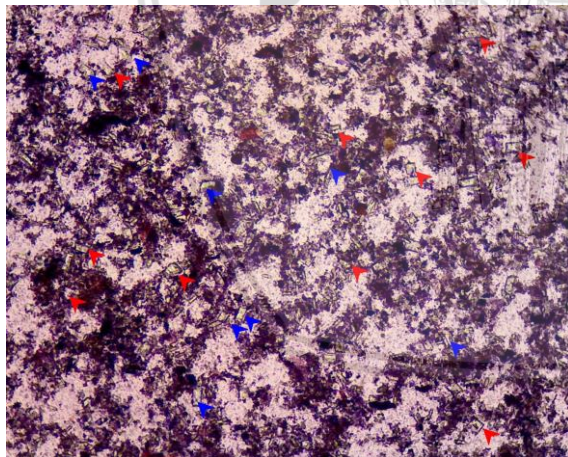


Kalsium
Oksalat

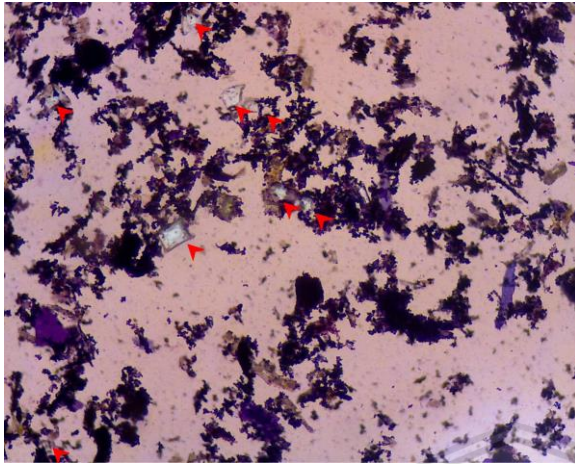


Struvit

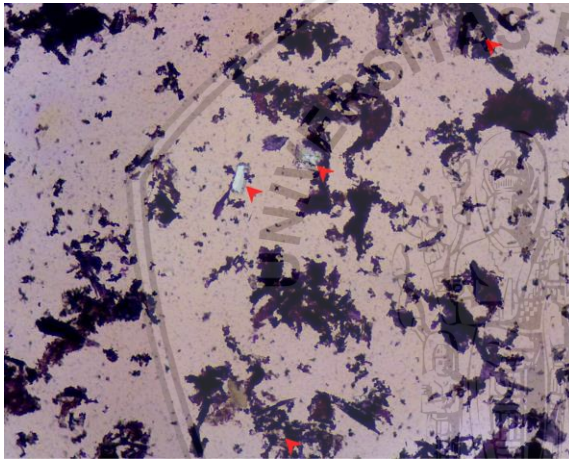
Pemeriksaan Sedimen Urin Kontrol Urolithiasis (P1)



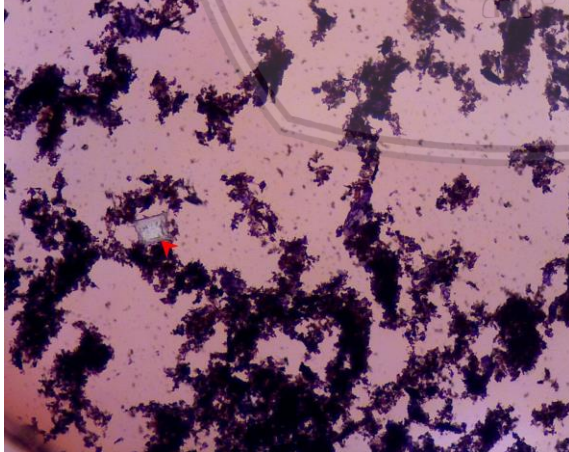
Pemeriksaan Sedimen Urin Kontrol Hiperglikemia+urolithiasis (P2)



Pemeriksaan Sedimen Urin Perlakuan 20% (P3)



Pemeriksaan Sedimen Urin Perlakuan 40% (P4)



Pemeriksaan Sedimen Urin Perlakuan 60% (P5)

6.2 Pemeriksaan Volume dan Berat Jenis Urin

No	Sampel	Volume (mL)	Berat (g)	BJ
1	(P1) kontrol urolithiasis	2,4	0.5181	1.0362000
2	(P2) kontrol hiper+urolit	1,9	0.5190	1.0380000
3	(P3) perlakuan 20%	2,7	0.5159	1.0318000
4	(P4) perlakuan 40%	3,3	0.5076	1.0152000
5	(P5) perlakuan 60%	4	0.4977	0.9954000



Lampiran 7. Hasil Analisa Statistika Kadar Kreatinin Serum

Descriptives

Kreatinin

	N	Mean	Std. Deviation	Std. Error	95% Confidence Interval for Mean		Minimum	Maximum
					Lower Bound	Upper Bound		
					1	4		
2	4	,825	,0500	,0250	,745	,905	,8	,9
3	4	,875	,0500	,0250	,795	,955	,8	,9
4	4	,725	,0500	,0250	,645	,805	,7	,8
5	4	,675	,0500	,0250	,595	,755	,6	,7
Total	20	,770	,0865	,0193	,730	,810	,6	,9

Test of Homogeneity of Variances

Kreatinin

Levene Statistic	df1	df2	Sig.
,250	4	15	,905

ANOVA

Kreatinin

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	,102	4	,026	9,562	,000
Within Groups	,040	15	,003		
Total	,142	19			

Multiple Comparisons

Dependent Variable: Kreatinin

Tukey HSD

(I) Perlakuan	(J) Perlakuan	Mean Difference (I-J)	Std. Error	Sig.	95% Confidence Interval	
					Lower Bound	Upper Bound
1	2	-,0750	,0365	,289	-,188	,038
	3	-,1250*	,0365	,027	-,238	-,012
	4	,0250	,0365	,957	-,088	,138
	5	,0750	,0365	,289	-,038	,188
2	1	,0750	,0365	,289	-,038	,188
	3	-,0500	,0365	,655	-,163	,063
	4	,1000	,0365	,094	-,013	,213
	5	,1500*	,0365	,007	,037	,263
3	1	,1250*	,0365	,027	,012	,238
	2	,0500	,0365	,655	-,063	,163
	4	,1500*	,0365	,007	,037	,263
	5	,2000*	,0365	,001	,087	,313
4	1	-,0250	,0365	,957	-,138	,088
	2	-,1000	,0365	,094	-,213	,013
	3	-,1500*	,0365	,007	-,263	-,037
	5	,0500	,0365	,655	-,063	,163
5	1	-,0750	,0365	,289	-,188	,038
	2	-,1500*	,0365	,007	-,263	-,037
	3	-,2000*	,0365	,001	-,313	-,087
	4	-,0500	,0365	,655	-,163	,063

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

Kreatinin

Tukey HSD^a

Perlakuan	N	Subset for alpha = 0.05		
		1	2	3
5	4	,675		
4	4	,725	,725	
1	4	,750	,750	
2	4		,825	,825
3	4			,875
Sig.		,289	,094	,655

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 4.000.

One-Sample Kolmogorov-Smirnov Test

		Kreatinin
N		20
Normal Parameters ^{a,b}	Mean	,770
	Std. Deviation	,0865
Most Extreme Differences	Absolute	,241
	Positive	,241
	Negative	-,186
Test Statistic		,241
Asymp. Sig. (2-tailed)		,004 ^c

a. Test distribution is Normal.

b. Calculated from data.

c. Lilliefors Significance Correction.

Setelah dilakukan uji statistika dapat dilihat bahwa data tersebut masih belum berdistribusi normal. Maka dari itu dilakukan transformasi data Log10 untuk membuat data berdistribusi normal dengan nilai Sig $\geq 0,05$. Data berdistribusi normal dapat dilihat pada lampiran di bawah ini.

Kadar kreatinin sebelum dan sesudah transformasi data

Perlakuan	Kreatinin	Data Transformasi Kreatinin (Log10)
1	0.7	-0.15
1	0.7	-0.15
1	0.8	-0.1
1	0.8	-0.1
2	0.8	-0.1
2	0.8	-0.1
2	0.9	-0.05
2	0.8	-0.1
3	0.8	-0.1
3	0.9	-0.05
3	0.9	-0.05
3	0.9	-0.05
4	0.7	-0.15
4	0.7	-0.15
4	0.7	-0.15
4	0.8	-0.1
5	0.7	-0.15
5	0.7	-0.15
5	0.6	-0.22
5	0.7	-0.15

Descriptives

Transform_Kreatinin

	N	Mean	Std. Deviation	Std. Error	95% Confidence Interval for Mean		Minimum	Maximum
					Lower Bound	Upper Bound		
					1	4		
2	4	-.0841	.02558	.01279	-.1248	-.0434	-.10	-.05
3	4	-.0585	.02558	.01279	-.0992	-.0178	-.10	-.05
4	4	-.1404	.02900	.01450	-.1865	-.0943	-.15	-.10
5	4	-.1716	.03347	.01674	-.2249	-.1184	-.22	-.15
Total	20	-.1161	.04899	.01095	-.1391	-.0932	-.22	-.05

Test of Homogeneity of Variances

Transform_Kreatinin

Levene Statistic	df1	df2	Sig.
.434	4	15	.782

ANOVA

Transform_Kreatinin

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	.032	4	.008	9.232	.001
Within Groups	.013	15	.001		
Total	.046	19			

Multiple Comparisons

Dependent Variable: Transform_Kreatinin

Tukey HSD

(I) Perlakuan	(J) Perlakuan	Mean Difference (I-J)	Std. Error	Sig.	95% Confidence Interval	
					Lower Bound	Upper Bound
1	2	-.04178	.02095	.315	-.1065	.0229
	3	-.06736*	.02095	.039	-.1321	-.0027
	4	.01450	.02095	.955	-.0502	.0792
	5	.04573	.02095	.238	-.0190	.1104
2	1	.04178	.02095	.315	-.0229	.1065
	3	-.02558	.02095	.740	-.0903	.0391
	4	.05628	.02095	.104	-.0084	.1210
	5	.08752*	.02095	.006	.0228	.1522
3	1	.06736*	.02095	.039	.0027	.1321
	2	.02558	.02095	.740	-.0391	.0903
	4	.08186*	.02095	.010	.0172	.1466
	5	.11309*	.02095	.001	.0484	.1778
4	1	-.01450	.02095	.955	-.0792	.0502
	2	-.05628	.02095	.104	-.1210	.0084
	3	-.08186*	.02095	.010	-.1466	-.0172
	5	.03123	.02095	.583	-.0335	.0959
5	1	-.04573	.02095	.238	-.1104	.0190
	2	-.08752*	.02095	.006	-.1522	-.0228
	3	-.11309*	.02095	.001	-.1778	-.0484
	4	-.03123	.02095	.583	-.0959	.0335

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

Transform_Kreatinin

Tukey HSD^a

Perlakuan	N	Subset for alpha = 0.05		
		1	2	3
5	4	-.1716		
4	4	-.1404	-.1404	
1	4	-.1259	-.1259	
2	4		-.0841	-.0841
3	4			-.0585
Sig.		.238	.104	.740

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 4.000.



Lampiran 8. Hasil Analisa Statistika Tebal Lapisan Epitel Ureter

One-Sample Kolmogorov-Smirnov Test

		tebal ureter
N		25
Normal Parameters ^{a,b}	Mean	436.860
	Std. Deviation	70.6834
Most Extreme Differences	Absolute	.095
	Positive	.085
	Negative	-.095
Test Statistic		.095
Asymp. Sig. (2-tailed)		.200 ^{c,d}

a. Test distribution is Normal.

b. Calculated from data.

c. Lilliefors Significance Correction.

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

Descriptives

tebal ureter

	N	Mean	Std. Deviation	Std. Error	95% Confidence Interval for Mean		Minimum	Maximum
					Lower Bound	Upper Bound		
1	5	480.180	31.0470	13.8846	441.630	518.730	430.2	511.5
2	5	512.080	58.0005	25.9386	440.063	584.097	450.3	582.3
3	5	447.840	33.3301	14.9057	406.455	489.225	399.7	489.5
4	5	391.020	45.9616	20.5546	333.951	448.089	333.4	450.7
5	5	353.180	38.4311	17.1869	305.462	400.898	315.0	408.7
Total	25	436.860	70.6834	14.1367	407.683	466.037	315.0	582.3

Test of Homogeneity of Variances

tebal ureter

Levene Statistic	df1	df2	Sig.
1.537	4	20	.230

ANOVA

tebal ureter

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	83794.396	4	20948.599	11.602	.000
Within Groups	36113.144	20	1805.657		
Total	119907.540	24			

Multiple Comparisons

Dependent Variable: tebal ureter

Tukey HSD

(I) perlakuan	(J) perlakuan	Mean Difference (I-J)	Std. Error	Sig.	95% Confidence Interval	
					Lower Bound	Upper Bound
1	2	-31.9000	26.8749	.759	-112.320	48.520
	3	32.3400	26.8749	.749	-48.080	112.760
	4	89.1600*	26.8749	.025	8.740	169.580
	5	127.0000*	26.8749	.001	46.580	207.420
2	1	31.9000	26.8749	.759	-48.520	112.320
	3	64.2400	26.8749	.159	-16.180	144.660
	4	121.0600*	26.8749	.002	40.640	201.480
	5	158.9000*	26.8749	.000	78.480	239.320
3	1	-32.3400	26.8749	.749	-112.760	48.080
	2	-64.2400	26.8749	.159	-144.660	16.180
	4	56.8200	26.8749	.253	-23.600	137.240
	5	94.6600*	26.8749	.016	14.240	175.080
4	1	-89.1600*	26.8749	.025	-169.580	-8.740
	2	-121.0600*	26.8749	.002	-201.480	-40.640
	3	-56.8200	26.8749	.253	-137.240	23.600
	5	37.8400	26.8749	.630	-42.580	118.260
5	1	-127.0000*	26.8749	.001	-207.420	-46.580
	2	-158.9000*	26.8749	.000	-239.320	-78.480
	3	-94.6600*	26.8749	.016	-175.080	-14.240
	4	-37.8400	26.8749	.630	-118.260	42.580

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

tebal ureter

Tukey HSD^a

perlakuan	N	Subset for alpha = 0.05		
		1	2	3
5	5	353.180		
4	5	391.020	391.020	
3	5		447.840	447.840
1	5			480.180
2	5			512.080
Sig.		.630	.253	.159

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 5.000.



Lampiran 9. Foto Dokumentasi



Pengecekan glukosa darah



Penyondean urolithiasis



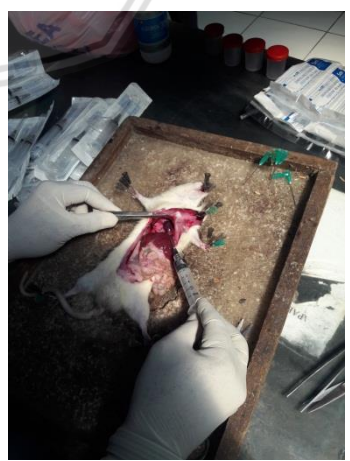
Pengenceran Perasan semanggi



Penyondean semanggi



Pemberian Pakan



Pembedahan dan pengambilan darah dari jantung

