

**EFEKTIFITAS DAUN INSULIN (*Tithonia diversifolia*) TERHADAP  
PENCEGAHAN KERUSAKAN HISTOLOGI GINJAL PADA TIKUS MODEL**

**DIABETES MELITUS**

**TUGAS AKHIR**

Untuk Memenuhi Persyaratan

Memperoleh Gelar Sarjana Farmasi



Oleh:

Weliyatul Auli Sasmita

NIM 175070501111010

**PROGRAM STUDI SARJANA FARMASI**

**FAKULTAS KEDOKTERAN**

**UNIVERSITAS BRAWIJAYA**

**MALANG**

**2021**



HALAMAN PENGESAHAN  
TUGAS AKHIR

EFEKTIFITAS DAUN INSULIN (*Tithonia diversifolia*) TERHADAP PENCEGAHAN  
KERUSAKAN HISTOLOGI GINJAL PADA TIKUS MODEL DIABETES MELITUS

Oleh :

**WELIYATUL AULI SASMITA**

**175070501111010**

Telah diuji pada :

Hari : Kamis

Tanggal : 24 Juni 2021

dan dinyatakan lulus oleh :

Penguji-I

apt. Dr. Valentina Yarina, M.Si  
NIK. 198302092010122001

Pembimbing-I/Penguji-II,

apt. Oktavia Rahayu A. M.Biomed  
NIK. 2016099210192001

Pembimbing-II/Penguji-III,

apt. Uswatun Khasanah, M.Farm.  
NIK. 2011068502181001

Mengetahui,  
Ketua Program Studi Sarjana Farmasi,

apt. Alvan Febrian Shalas, M.Farm.  
NIP. 198502182019031007



skripsi.

8. Terimakasih juga kepada tim penelitian saya yaitu Laili, Firda, Nabila, dan Muta yang selalu bekerja dengan baik selama melakukan penelitian hingga publikasi jurnal.

9. Dan terimakasih untuk diri saya sendiri karena telah bekerja keras, percaya diri, belajar, berusaha dan mampu menyelesaikan tugas akhir dengan baik.

Malang, 07 Juli 2021

Penulis



## ABSTRAK

Sasmita, Weliyatul Auli. 2021. **Efektifitas Daun Insulin (*Tithonia Diversifolia*) Terhadap Pencegahan Kerusakan Histologi Ginjal Pada Tikus Model Diabetes Melitus**. Tugas Akhir. Program Akhir Sarjana Farmasi Fakultas Kedokteran Universitas Brawijaya. Pembimbing: (1) apt.Oktavia Rahayu A, M.Biomed. Apt. (2) apt. Uswatun Khasanah, M.Farm.

Daun Insulin (*Tithonia Diversifolia*) dilaporkan mampu menurunkan glukosa darah pada kondisi hiperglikemia. Diabetes dapat menyebabkan komplikasi pada tubuh termasuk pada ginjal. Penelitian ini ditujukan untuk mengetahui pengaruh pemberian ekstrak daun insulin terhadap kerusakan histologi ginjal yang diinduksi STZ 40 mg/KgBB. Tikus dibagi dalam 6 kelompok perlakuan yakni kelompok normal; negatif (tikus diabetes tanpa terapi); positif (STZ 40 mg/KgBB); P1 (ekstrak daun insulin) dosis 50 mg/KgBB; P2 (ekstrak daun insulin) 100mg/KgBB; P3 (ekstrak daun insulin) 150mg/kgBB dan P4 (glikuidon) dosis 10 mg/KgBB. Penelitian dilakukan selama 42 hari kemudian dibedah, organ ginjal diambil dan dibuat preparat dengan pewarnaan Hematoxylin-Eosin. Parameter yang diamati yaitu *mesangeal expansion* (ME), *glomerular volume* (GV) dan *kidney hypertrophy index* (KHI). Hasil perhitungan dianalisa statistik, hasil uji Kruskal Wallis ME didapatkan nilai signifikansi ( $p=0,000$ ), uji ANNOVA pada GV tidak signifikan dengan nilai  $p=0,489$ , dan pada KHI dengan uji ANNOVA diperoleh nilai  $p=0.000$  yang berarti signifikan. Namun, dari hasil penelitian, ekstrak daun insulin hanya menunjukkan perbaikan pada parameter ME pada dosis 150mg/kgBB dan glikuidon 10mg/kgBB. Maka, pada penelitian ini pemberian ekstrak daun insulin belum didapatkan dosis optimal yang mampu memberikan efek perbaikan pada ketiga parameter yang diamati.

**Kata kunci:** Diabetes Mellitus, Histologi Ginjal, *Mesangeal Expansion*, *Glomerular Volume*, *Kidney Hypertrophy Index*

## ABSTRACT

Sasmita, Weliyatul Auli. 2021. **Effectiveness of Insulin Leaf (*Tithonia Diversifolia*) In Prevention Of Kidney Histological Damage in Diabetes Mellitus Rats**. Thesis. Pharmacy Bachelor of Medical Faculty Brawijaya University. Adviser: (1) apt.Oktavia Rahayu A, M.Biomed. apt. (2) apt. Uswatun Khasanah, M. Farm.

Insulin leaves (*Tithonia Diversifolia*) are reported to be able to lower blood glucose in hyperglycemic conditions. Diabetes can cause complications in the body, including the kidneys. This study was aimed to determine the effect of insulin leaf extract on renal histological damage induced by STZ 40 mg/KgBW. Rats were divided into 6 treatment groups, KN (diabetic mice without therapy); KP (STZ 40 mg/KgBW); P1 (insulin leaf extract) dose of 50 mg/KgBW; P2 (insulin leaf extract) 100mg/KgBB; P3 (insulin leaf extract) 150mg/kgBW and P4 (glyquidone) at a dose of 10mg/KgBW. The study was carried out for 42 days and then dissected, the kidneys were taken and preparations were made with Hematoxylin-Eosin staining. Parameters observed were *mesangeal expansion* (ME), *glomerular volume* (GV) and *kidney hypertrophy index* (KHI). The results of the calculations were analyzed statistically, the results of the Kruskal Wallis ME test obtained a significance value ( $p = 0.000$ ), the ANNOVA test on GV was not significant with a  $p$  value = 0.489, and the KHI with ANNOVA test obtained a  $p$  value = 0.000 which means significant. However, from the results of the study, insulin leaf extract only showed improvement in ME parameters at a dose of 150mg/kgBW and glyquidone 10mg/kgBW. Thus, in this study, the administration of insulin leaf extract has not yet obtained the optimal dose that is able to provide an improvement effect on the three parameters observed.

**Keywords:** Diabetes Mellitus, Kidney Histology, *Mesangeal Expansion*, *Glomerular Volume*, *Kidney Hypertrophy Index*

**DAFTAR ISI**

<b>HALAMAN PENGESAHAN</b> .....	<b>iii</b>
<b>KATA PENGANTAR</b> .....	<b>iv</b>
<b>ABSTRAK</b> .....	<b>vi</b>
<b>ABSTRACT</b> .....	<b>vii</b>
<b>DAFTAR ISI</b> .....	<b>viii</b>
<b>DAFTAR GAMBAR</b> .....	<b>xi</b>
<b>DAFTAR SINGKATAN</b> .....	<b>xii</b>
<b>DAFTAR TABEL</b> .....	<b>xiii</b>
<b>DAFTAR LAMPIRAN</b> .....	<b>xiv</b>
<b>BAB I PENDAHULUAN</b> .....	<b>1</b>
1.1 Latar Belakang Masalah .....	1
1.2 Rumusan Masalah .....	5
1.3 Tujuan Penelitian .....	5
1.3.1 Tujuan Umum .....	5
1.3.2 Tujuan Khusus .....	5
1.4 Manfaat Penelitian .....	5
1.4.1 Manfaat Akademik .....	5
1.4.2 Manfaat Praktis .....	5
<b>BAB II TINJAUAN PUSTAKA</b> .....	<b>6</b>
2.1 Diabetes Melitus .....	6
2.1.1 Definisi .....	6
2.1.2 Epidemiologi .....	6
2.1.3 Patofisiologi .....	7
2.1.4 Diagnosis .....	9
2.1.5 Komplikasi .....	9
2.1.6 Terapi .....	10
2.2 Histologi Ginjal .....	14
2.2.1 Perubahan Ginjal pada Diabetes Nefropati .....	14
2.2.1 Hubungan Histologi Ginjal dengan Diabetes Melitus .....	16





2.2.2	Gambaran Ginjal Normal dan Ginjal Diabetes.....	17
2.3	Daun Insulin ( <i>Tithonia diversifolia</i> ) .....	21
2.3.1	Taksonomi .....	21
2.3.2	Senyawa Fitokimia .....	22
2.3.4	Aktifitas Antidiabetes dari Daun Insulin.....	23
2.4	Pewarnaan Hematoksilin-Eosin (HE) .....	26
<b>BAB III KERANGKA KONSEP DAN HIPOTESA PENELITIAN .....</b>		<b>28</b>
3.1	Kerangka Konsep .....	28
3.2	Hipotesis Penelitian .....	29
<b>BAB IV METODE PENELITIAN .....</b>		<b>30</b>
4.1	Rancangan Penelitian.....	30
4.2	Kriteria dan Teknik Pengambilan Sampel.....	30
4.3	Besaran Sampel.....	31
4.4	Kelompok Penelitian .....	32
4.5	Variabel Penelitian .....	33
4.6	Definisi Operasional.....	33
4.7	Alat dan Bahan.....	34
4.7.1	Persiapan Hewan Coba .....	34
4.7.2	Preparasi Ekstrak .....	35
4.7.3	Preparasi Glikuidon .....	35
4.7.4	Pembuatan Tikus Model Diabetes Melitus dan Pemberian Terapi .....	35
4.8	Lokasi dan Waktu Penelitian .....	36
4.9	Alur penelitian .....	36
4.9.1	Persiapan Hewan Coba .....	36
4.9.2	Preparasi Ekstrak Daun Insulin dan Pencampuran dengan Pelarut CMC-Na .....	37
4.9.3	Preparasi Glikuidon .....	38
4.9.4	Pembuatan Tik us Model Diabetes Melitus dan Pemberian Terapi .....	38
4.9.5	Pembedahan Hewan Coba .....	40
4.9.6	Pengamatan Histologi Ginjal.....	41
4.9.7	Perhitungan <i>Kidney Hipertrophy Index</i> (KHI).....	41
4.9.8	Analisa Statistik .....	42
<b>BAB V HASIL DAN ANALISA DATA.....</b>		<b>44</b>

5.1. Hasil Ekstraksi Simplisia Daun Insulin ( <i>Tithonia diversifolia</i> ).....	44
5.2. Hasil Pengukuran Glukosa Darah.....	45
5.3. Pengamatan Histologi Ginjal.....	45
5.4. Pengaruh Ekstrak Daun Insulin ( <i>Tithonia diversifolia</i> ) terhadap Kerusakan Histologi Ginjal.....	47
5.4.1. <i>Mesangeal Expansion</i> (ME).....	47
5.4.2. <i>Glomerular Volume</i> .....	51
5.4.3. <i>Kidney Hypertrophy Index</i> .....	54
<b>BAB VI PEMBAHASAN.....</b>	<b>60</b>
6.1 Pembahasan Hasil Penelitian.....	60
6.2. Implikasi Terhadap bidang Kefarmasian.....	70
6.3 Keterbatasan Penelitian.....	71
<b>BAB VII KESIMPULAN.....</b>	<b>72</b>
7.1 Kesimpulan.....	72
7.2 Saran.....	72
<b>DAFTAR PUSTAKA.....</b>	<b>73</b>
<b>LAMPIRAN.....</b>	<b>83</b>





DAFTAR GAMBAR

Gambar 2.1 Morfologi Ginjal Normal dan Ginjal Diabetes ..... 16

Gambar 2.2 Perubahan Struktur Ginjal pada Kondisi Diabetes ..... 17

Gambar 2.3 Perbedaan ginjal normal dan diabetes setelah injeksi STZ ..... 19

Gambar 2.4 Diabetes nefropati ..... 20

Gambar 2.6 Struktur senyawa metabolit sekunder pada daun insulin ..... 23

Gambar 2.7 Hasil Pewarnaan HE ..... 21

Gambar 2.5 Tumbuhan daun insulin ..... 21

Gambar 3.1 Kerangka Konsep ..... 26

Gambar 4.1 Euthanasia pada Tikus Tabung yang dialiri gas CO<sub>2</sub> 39 Gambar

Gambar 5.1 Hasil Ekstraksi ..... 47

Gambar 5.2 Histologi Ginjal ..... 48

Gambar 5.3 Grafik tingkat kerusakan glomerulus berdasarkan *mesangeal expansion* ..... 51

Gambar 5.4 Grafik tingkat kerusakan glomerulus berdasarkan *glomerular volume* ..... 55

Gambar 5.5 Ginjal tikus sebelum pembuatan preparat ..... 57

Gambar 5.6 Grafik tingkat kerusakan glomerulus berdasarkan KHI ..... 59

Gambar 6.1 Alur kerusakan ginjal pada tikus model DM ..... 67

**DAFTAR SINGKATAN**

AGE : *Advanced glycation end-product*

DM : *Diabetes melitus*

ESRD : *End stage renal disease*

ETD : *Ekstrak Tithonida Diversifolia*

FP : *foot process*

GFR : *Glomerular filtration rate*

GSH : *Glutathione*

IDF : *International diabetes federation*

MBG : *Membran basal glomerulus*

ND : *Nefropati diabetes*

PGSA : *Penyakit ginjal stadium akhir*

RAGE : *Reseptor advanced glycation end-product*

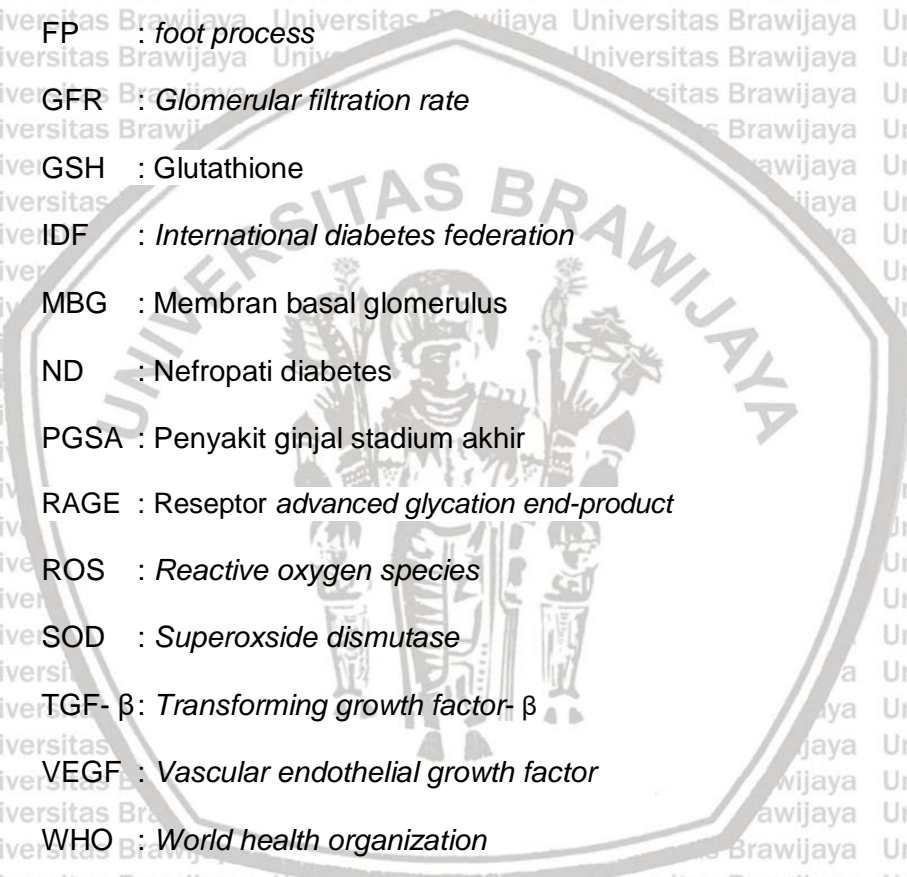
ROS : *Reactive oxygen species*

SOD : *Superoxide dismutase*

TGF- $\beta$  : *Transforming growth factor- $\beta$*

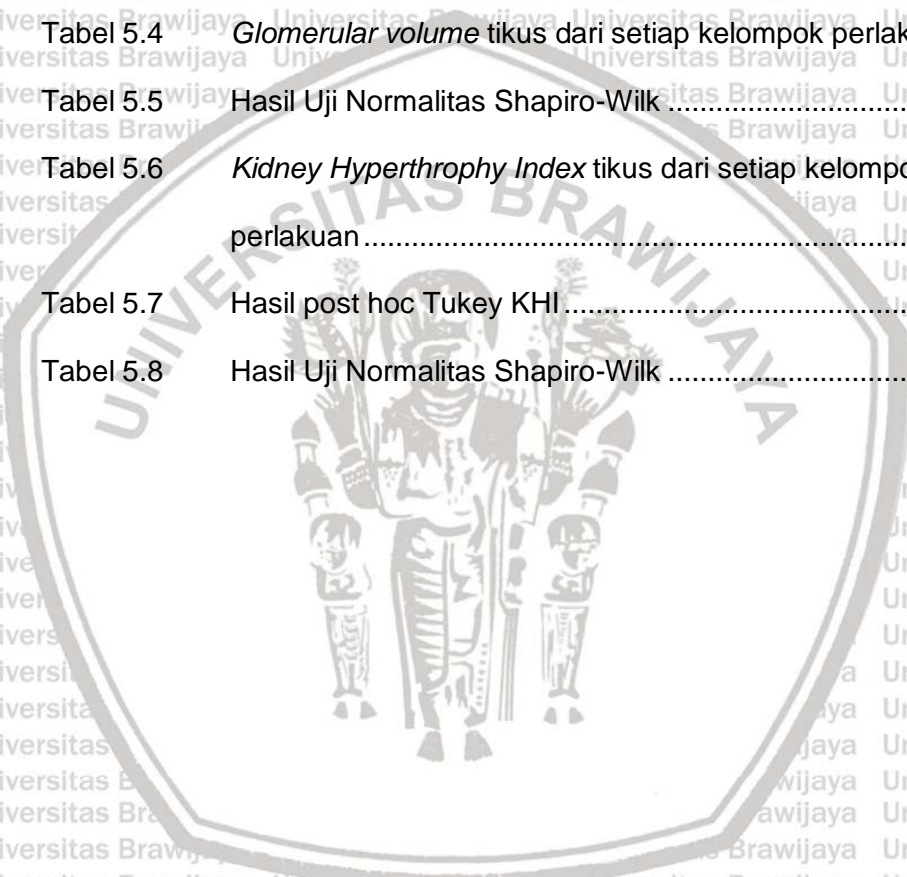
VEGF : *Vascular endothelial growth factor*

WHO : *World health organization*



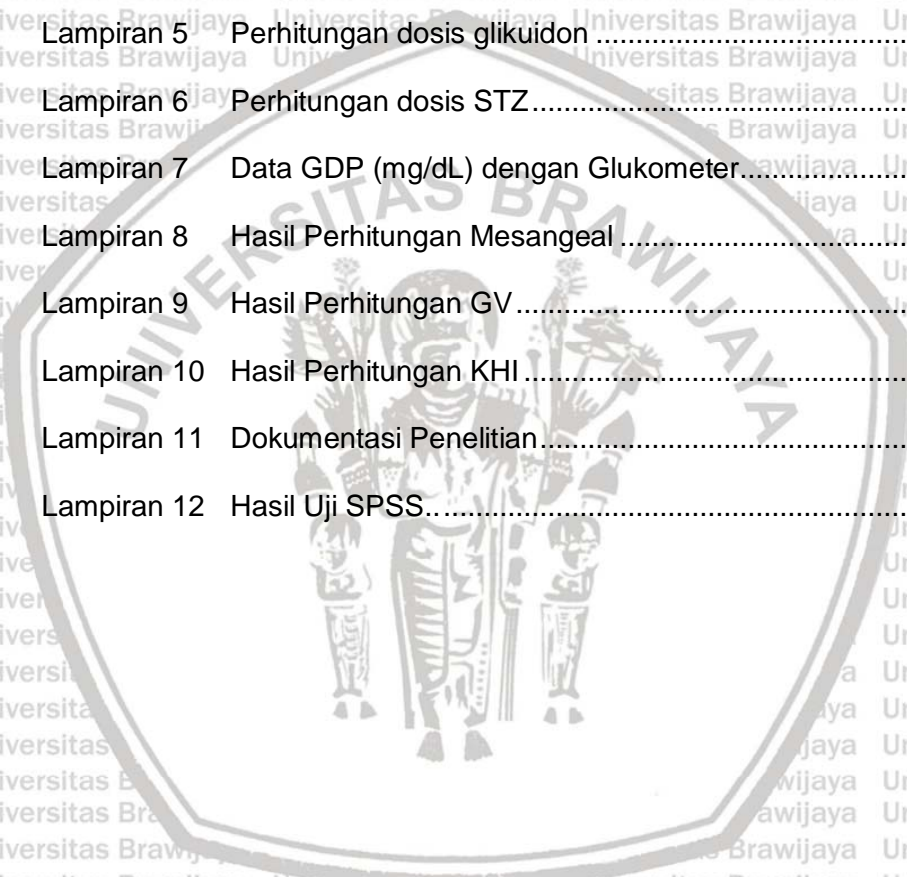
DAFTAR TABEL

Tabel 4.1	Desain Eksperimen dan Hewan Coba Gambar .....	33
Tabel 5.1	<i>Mesangeal expansion</i> dari setiap kelompok perlakuan.....	50
Tabel 5.2	Hasil uji post hoc Mann-Whitney <i>Mesangeal Expansion</i> .....	51
Tabel 5.3	Hasil Uji Normalitas Shapiro-Wilk .....	52
Tabel 5.4	<i>Glomerular volume</i> tikus dari setiap kelompok perlakuan.....	54
Tabel 5.5	Hasil Uji Normalitas Shapiro-Wilk .....	55
Tabel 5.6	<i>Kidney Hyperthrophy Index</i> tikus dari setiap kelompok perlakuan .....	58
Tabel 5.7	Hasil post hoc Tukey KHI .....	59
Tabel 5.8	Hasil Uji Normalitas Shapiro-Wilk .....	60



**DAFTAR LAMPIRAN**

Lampiran 1	Kelaikan etik .....	84
Lampiran 2	Surat determinasi daun insulin .....	85
Lampiran 3	Perhitungan dosis ekstrak daun insulin .....	86
Lampiran 4	Perhitungan larutan CMC-Na 1% .....	87
Lampiran 5	Perhitungan dosis glikuidon .....	88
Lampiran 6	Perhitungan dosis STZ .....	89
Lampiran 7	Data GDP (mg/dL) dengan Glukometer .....	90
Lampiran 8	Hasil Perhitungan Mesangeal .....	93
Lampiran 9	Hasil Perhitungan GV .....	154
Lampiran 10	Hasil Perhitungan KHI .....	155
Lampiran 11	Dokumentasi Penelitian .....	157
Lampiran 12	Hasil Uji SPSS .....	160





## BAB I

### PENDAHULUAN

#### 1.1 Latar Belakang Masalah

Diabetes Melitus (DM) merupakan kelompok penyakit metabolik yang ditandai dengan kondisi hiperglikemia akibat kerusakan sekresi insulin, aktivitas insulin, ataupun keduanya. Hiperglikemia yang kronis dapat menyebabkan kerusakan jangka panjang, disfungsi, dan kegagalan berbagai organ tubuh seperti mata, ginjal, saraf dan pembuluh darah (American Association, 2011).

Sebelum terjadinya diabetes, terdapat kondisi yang dikenal dengan pra-diabetes, keadaan ini menggambarkan adanya gangguan glukosa puasa, gangguan toleransi glukosa atau hemoglobin terglikasi (A1C) dari 6% menjadi 6,4% (Goldenberg *et al.*, 2011).

DM tipe 2 ialah diabetes yang terjadi karena adanya kerusakan dalam proses sekresi insulin. Pada tipe ini menunjukkan adanya obesitas intra-abdominal (*visceral*) yang berkaitan erat dengan adanya resistensi insulin. Selain itu, penyakit penyerta yang sering ditemukan pada DM tipe 2 yaitu hipertensi dan dislipidemia (Baynest, 2015). DM dapat menyebabkan komplikasi makrovaskuler seperti penyakit jantung koroner (PJK) dan komplikasi mikrovaskuler yaitu nefropati diabetik, retinopati dan neuropati (Yuhelma, 2013).

Indonesia merupakan salah satu negara yang memiliki prevalensi penyakit diabetes sebesar 10,9% (Konsensus Perkeni, 2015). Berdasarkan laporan dari Badan Penelitian dan Pengembangan Kesehatan tahun 2018, hasil dari diagnosa dokter untuk prevalensi penderita diabetes melitus pada penduduk dengan usia  $\geq 15$  tahun tertinggi pada daerah DKI Jakarta (3,4%) dan terendah

di daerah NTT (0.9%). Penyakit DM terjadi pada laki-laki maupun perempuan, prevalensi tertinggi di Indonesia terjadi pada perempuan (1,8%) dan laki-laki (1.2%). Berdasarkan rentang usia penderita DM terjadi pada usia 44-54 tahun (3,9%), 55-64 tahun (6,3%), dan usia lebih dari 75 tahun (3,3%) (Risesdas, 2018).

Penyakit diabetes melitus dapat menyebabkan komplikasi ringan maupun kronik. Salah satu komplikasi diabetes melitus yaitu nefropati diabetik (ND) dimana terjadi gangguan pada ginjal serta menjadi penyebab utama kematian dan kecacatan DM. Nefropati diabetik adalah bagian dari komplikasi mikrovaskular yang terjadi 20-40% pada pasien diabetes dengan penyakit ginjal tahap akhir (Anggraini *et al*, 2018). Di amerika serikat, 50% pasien gagal ginjal tahap akhir dipicu oleh Nefropati Diabetik dan 60% pasien hipertensi dan diabetes di Asia menderita Nefropati Diabetik (ES *et al.*, 2018).

Patologi dari DN merupakan salah satu efek dari hiperglikemia yang mengarah ke pembentukan *advanced glycation end-product* (AGE) yang biasanya ditemukan dalam jaringan ginjal pada IgA dan lupus nefritis, hipertensi nefropati, fibrosis renal dan penolakan tranplantasi ginjal. AGE merupakan produk protein glikasi non-enzimatik yang memiliki beragam struktur kimia. Ginjal merupakan organ yang memetabolisme AGE dan tempat akumulasi kerusakan yang disebabkan oleh AGE sehingga memicu diabetik nefropati (Anggraini *et al*, 2018). Nefropati diabetik ditandai dengan abnormalnya nilai albumin pada urin dengan kadar  $\geq 300$  mg/hari atau  $20 \mu\text{g}/\text{menit}$ , hal tersebut menunjukkan adanya mikroalbuminuria yang mengarah kepada penyakit nefropati yang baru saja terjadi (American Diabetes Association, 2004).

Pada kondisi nefropati diabetik terdapat manifestasi klinis yang khas yaitu ekspansi mesangial, dimana terjadi peningkatan material ekstraseluler pada mesangium sehingga lebar antar ruang menjadi lebih luas. Apabila terjadi perbesaran mesangium, maka dapat menyebabkan kerusakan kapiler glomerulus dan mengurangi permukaan filtrasi kapiler (Tervaert, *et al.*, 2010). Kapiler glomerulus berfungsi sebagai penghalang proses distribusi protein plasma besar seperti albumin dan IgM ke dalam urin. Pada ginjal normal, hanya sejumlah kecil protein besar seperti albumin dan IgM yang disaring, yang sebagian besar terdegradasi oleh epitel tubulus proksimal. Protein yang muncul dalam urin diakibatkan oleh kerusakan filtrasi glomerulus. Jika filtrasi glomerulus rusak maka akan berdampak pula pada kerusakan tubulus proksimal yang berfungsi untuk mengeluarkan protein, sehingga terjadi peningkatan protein dalam urin (Ford, 2014).

Terapi untuk DN diantaranya yaitu: a) *Angiotensin-Converting Enzyme Inhibitor* (ACEI) yang berfungsi untuk penyakit albuminuria namun memiliki efek samping (ES) seperti menurunkan aldosteron dan meningkatkan konsentrasi kalium dalam darah, b) sulfonilurea merupakan agen antidiabetik pada pasien DM2 yang tidak terkontrol, namun memiliki kekurangan yaitu obat ini hanya berkhasiat jika didalam tubuh seseorang masih memproduksi insulin sebagian, c) metformin (biguanida) merupakan antidiabetik oral yang digunakan pada pasien dengan keadaan ginjal normal. Obat ini tidak boleh diberikan pada pasien dengan penyakit hati berat, penyakit ginjal (uremia), dan penyakit jantung kongestif (Swastika, 2007).

Daun insulin (*Tithonia diversifolia*) merupakan tanaman yang banyak tumbuh di daerah Indonesia. Tumbuhan ini diketahui memiliki senyawa aktif yang

dapat mengobati penyakit diabetes. Penggunaan obat-obat antidiabetik dapat menyebabkan beberapa efek samping. Berbagai efek samping obat kimia sintetik dan memerlukan biaya yang relatif mahal menyebabkan pengobatan tradisional menjadi pilihan masyarakat dan menjadi alternatif pengobatan. Menurut Sasmita *et al* (2017) ekstrak *Tithonia diversifolia* mengandung dua komponen utama yang memiliki peran antidiabetik dan paling banyak dibagian daun yaitu flavonoid dan sesquiterpen. Salah satu komplikasi dari DM yaitu dapat merusak ginjal atau biasa dikenal dengan nefropati diabetik. Salah satu mekanisme terjadinya nefropati diabetik yaitu dengan peningkatan *reactive oxygen species* (ROS) yang mampu menginduksi kerusakan ginjal melalui peroksidasi membrane sel, oksidasi protein dan vasokonstriksi ginjal (Tavafi, 2013). Daun insulin (*Tithonia diversifolia*) mengandung senyawa fitokimia seperti flavonoid yang memiliki potensi aktivitas antidiabetes dengan cara menurunkan kadar glukosa darah dan peningkatan kadar *superoxide dismutase* (SOD). Peningkatan SOD terbukti menurunkan stres oksidatif dan apoptosis neuron pada tikus sehingga dapat mencegah terjadinya diabetes nefropati (Jaramilo, 2014). Oleh sebab itu, penggunaan daun insulin diharapkan dapat mencegah terjadinya DN dengan menunjukkan perbaikan pada ginjal seperti mencegah terjadinya ekspansi mesangial. Penelitian ini dilakukan pada hewan coba tikus Wistar jantan model DM. Diharapkan dengan eksperimen ini, dapat mendukung penelitian lebih lanjut untuk daun insulin dijadikan obat fitoterapi antidiabetes di Indonesia.



## 1.2 Rumusan Masalah

Rumusan masalah yang diangkat pada penelitian ini adalah apakah ekstrak daun insulin (*Tithonia diversifolia*) dapat mencegah kerusakan histologi ginjal pada tikus model diabetes melitus ?

## 1.3 Tujuan Penelitian

### 1.3.1 Tujuan Umum

Membuktikan efektifitas ekstrak daun insulin (*Tithonia diversifolia*) untuk mencegah rusaknya histologi ginjal pada tikus model diabetes.

### 1.3.2 Tujuan Khusus

1. Mengetahui efek ekstrak daun insulin terhadap perubahan *mesangial expansion*
2. Mengetahui efek ekstrak daun insulin terhadap perubahan *glomerular volume*
3. Mengetahui efek ekstrak daun insulin terhadap perubahan *kidney hypertrophy index*

## 1.4 Manfaat Penelitian

### 1.4.1 Manfaat Akademik

Dapat digunakan sebagai bahan referensi untuk proses pengembangan obat non-konvensional yang berasal dari tanaman khususnya pada penyakit diabetes melitus.

### 1.4.2 Manfaat Praktis

Memberikan informasi tambahan mengenai manfaat daun insulin (*Tithonia diversifolia*) apabila akan dikembangkan menjadi obat fitoterapi untuk terapi diabetes melitus di Indonesia.



## BAB II

### TINJAUAN PUSTAKA

#### 2.1 Diabetes Melitus

##### 2.1.1 Definisi

Diabetes melitus (DM) merupakan keadaan yang menggambarkan sekelompok penyakit metabolik di mana seseorang memiliki kadar glukosa darah tinggi (gula darah), baik karena insulin produksi tidak mencukupi atau karena sel-sel tubuh tidak merespons insulin dengan baik, ataupun keduanya. Penderita diabetes melitus biasanya akan mengalami poliuria (sering buang air kecil), polidipsia (sering merasa haus) dan polifagia (sering merasa lapar) (Lal, 2016).

DM biasanya juga dikenal dengan hiperglikemia yang mengakibatkan kelainan metabolik akibat gangguan hormonal, menyebabkan kelainan metabolisme karbohidrat, protein, dan lemak serta menimbulkan berbagai komplikasi kronis pada organ tubuh (Aini dan Aridiana, 2016).

##### 2.1.2 Epidemiologi

Diabetes melitus tipe 2 (DMT2) meliputi lebih 90% dari semua populasi diabetes. Prevalensi DMT2 pada bangsa kulit putih berkisar antara 3-6% pada populasi dewasa. *International Diabetes Federation* (IDF) pada tahun 2011 mengumumkan 336 juta orang di seluruh dunia mengidap DMT2 dan penyakit ini menyebabkan kematian mencapai 4,6 juta setiap tahunnya, atau satu kematian setiap tujuh detik. Penyakit ini mengenai 12% populasi dewasa di Amerika Serikat dan lebih dari 25% pada penduduk usia lebih dari 65 tahun. *World Health Organization* (WHO) memprediksi kenaikan jumlah penyandang DM di Indonesia dari 8,4 juta pada tahun 2000 menjadi sekitar 21,3 juta pada tahun 2030. IDF

memprediksi adanya kenaikan jumlah penyandang DM di Indonesia dari 9,1 juta pada tahun 2014 menjadi 14,1 juta pada tahun 2035. Berdasarkan data dari IDF 2014, Indonesia menempati peringkat ke-5 di dunia, atau naik dua peringkat dibandingkan dengan tahun 2013 dengan 7,6 juta orang penyandang DM. Penelitian epidemiologi yang dilakukan hingga tahun 2005 menyatakan bahwa prevalensi DM di Jakarta pada tahun 1982 sebesar 1,6%, tahun 1992 sebesar 5,7%, dan tahun 2005 sebesar 12,8%. Pada tahun 2005 di Padang didapatkan prevalensi DMT2 sebesar 5,12% (Decroli, 2019).

### 2.1.3 Patofisiologi

Dua patofisiologi utama yang mendasari terjadinya kasus DMT2 secara genetik adalah resistensi insulin dan defek fungsi sel  $\beta$  pankreas. Resistensi insulin merupakan kondisi umum bagi orang-orang dengan berat badan *overweight* atau obesitas. Insulin tidak dapat bekerja secara optimal di sel otot, lemak, dan hati sehingga memaksa pankreas mengkompensasi untuk memproduksi insulin lebih banyak. Ketika produksi insulin oleh sel  $\beta$  pankreas tidak adekuat guna mengkompensasi peningkatan resistensi insulin, maka kadar glukosa darah akan meningkat, pada saatnya akan terjadi hiperglikemia kronik. Hiperglikemia kronik pada DMT2 semakin merusak sel  $\beta$  di satu sisi dan memperburuk resistensi insulin di sisi lain, sehingga penyakit DMT2 semakin progresif. Secara klinis, makna resistensi insulin adalah adanya konsentrasi insulin yang lebih tinggi dari normal yang dibutuhkan untuk mempertahankan normoglikemia. Pada tingkat seluler, resistensi insulin menunjukkan kemampuan yang tidak adekuat dari insulin signaling mulai dari pre reseptor, reseptor, dan post reseptor. Secara molekuler beberapa faktor yang diduga terlibat dalam

patogenesis resistensi insulin antara lain, perubahan pada protein kinase B, mutasi protein *insulin receptor substrate* (IRS), peningkatan fosforilasi serin dari protein IRS, Phosphatidylinositol 3 Kinase (PI3 Kinase), protein kinase C, dan mekanisme molekuler dari inhibisi transkripsi gen insulin receptor (IR). Yang kedua yaitu disfungsi sel  $\beta$  pankreas. Pada perjalanan penyakit DMT2 terjadi penurunan fungsi sel  $\beta$  pankreas dan peningkatan resistensi insulin yang berlanjut sehingga terjadi hiperglikemia kronik dengan segala dampaknya.

Hiperglikemia kronik juga berdampak memperburuk disfungsi sel  $\beta$  pankreas. Sel  $\beta$  pankreas merupakan sel yang sangat penting diantara sel lainnya seperti sel  $\alpha$ , sel  $\delta$ , dan sel jaringan ikat pada pankreas. Disfungsi sel  $\beta$  pankreas terjadi akibat kombinasi faktor genetik dan faktor lingkungan. Jumlah dan kualitas sel  $\beta$  pankreas dipengaruhi oleh beberapa hal antara lain proses regenerasi dan kelangsungan hidup sel  $\beta$  itu sendiri, mekanisme selular sebagai pengatur sel  $\beta$ , kemampuan adaptasi sel  $\beta$  ataupun kegagalan mengkompensasi beban metabolik dan proses apoptosis sel. Efek hiperglikemia terhadap sel  $\beta$  pankreas dapat muncul dalam beberapa bentuk. Pertama yaitu gangguan sementara sel  $\beta$  yang dirangsang oleh hiperglikemia yang berulang. Keadaan ini akan kembali normal bila glukosa darah dinormalkan. Kedua adalah kerusakan sel  $\beta$  pankreas merupakan kelainan yang masih reversibel dan terjadi lebih dini dibandingkan glukotoksisitas. Ketiga adalah kerusakan sel  $\beta$  yang menetap. Pada DMT2, sel  $\beta$  pankreas pada kondisi hiperglikemia akan memproduksi ROS sehingga menyebabkan kerusakan sel  $\beta$  pankreas. Hiperglikemia kronik merupakan keadaan yang dapat menyebabkan berkurangnya sintesis dan sekresi insulin di satu sisi dan merusak sel  $\beta$  secara bertahap (Decroli, 2019).

#### 2.1.4 Diagnosis

Kadar normal dari gula darah yaitu antara 70-120 mg/dL. Seseorang dikatakan diabetes apabila kadar gula darah puasa  $\geq 126$  mg/dL, gula darah acak  $\geq 200$  mg/dL, gula darah 2 jam pos pandrial  $\geq 200$  mg/dL, serta HbA1c  $\geq 6,5\%$ . Sebaiknya tes dilakukan berulang pada hari yang berbeda (Kumar dkk., 2015).

#### 2.1.5 Komplikasi

Komplikasi DM dibagi menjadi 2 yaitu makrovaskuler dan mikrovaskuler. Komplikasi *makrovaskuler* adalah terjadinya penyumbatan pada pembuluh darah besar seperti di jantung dan otak yang sering mengakibatkan kematian serta penyumbatan pembuluh darah besar di ekstremitas bawah yang mengakibatkan *ganggren* dikaki sehingga banyak penderita DM yang harus kehilangan kaki karena harus diamputasi, sedangkan komplikasi *mikrovaskuler* adalah terjadinya penyumbatan pada pembuluh darah kecil seperti di ginjal yang dapat menyebabkan penderita mengalami gangguan ginjal dan di mata dapat mengakibatkan penderita mengalami gangguan penglihatan bahkan kebutaan (Yuhelma *et al*, 2015).

Komplikasi *makrovaskuler* yang umum berkembang pada penderita DM adalah trombotik otak (pembekuan darah pada sebagian otak), penyakit jantung koroner (PJK), gagal jantung kongestif dan stroke, sedangkan untuk komplikasi *mikrovaskuler* adalah *hiperglikemia* yang persisten dan pembentukan protein terglifikasi yang menyebabkan dinding pembuluh darah semakin lemah dan terjadinya penyumbatan pada pembuluh darah kecil, seperti nefropati diabetik, retinopati (kebutaan) dan neuropati (Smeltzer and Bare, 2010).

Angka prevalensi komplikasi DM didaerah China yang berupa gangguan kardiovaskuler mencapai 30,1%, serebrovaskular 6,8%, neuropati 17,8%, nefropati 10,7%, lesi okuler 14,8% dan masalah kaki 0,8% (Zhaolan *et al* (2010) dalam Yuhelma *et al*, 2015). Di Indonesia terdapat 1785 penderita DM yang mengalami komplikasi yakni 16% komplikasi makrovaskuler, 27,6% komplikasi mikrovaskuler, 63,5% neuropati, 42% retinopati diabetes dan 7,3% nefropati (Soewondo *et al* (2010) dalam Yuhelma *et al*, 2015).

### 2.1.6 Terapi

Terapi pada pasien DM dianjurkan dengan mengatur pola makan dan latihan jasmani dan diimbangi dengan pengobatan secara farmakologi. Terapi farmakologi terdiri dari obat oral dan injeksi.

- **Terapi Oral**

Berdasarkan cara kerjanya, obat anti-hiperglikemia oral dibagi menjadi 5 golongan yaitu (PERKENI, 2015) :

- a. Pemacu Sekresi Insulin (*Insulin Secretagogue*)

- **Sulfonilurea**

Sulfonilurea merupakan obat yang memiliki efek utama dalam meningkatkan sekresi insulin oleh sel  $\beta$  pankreas. Penggunaan obat golongan ini pada pasien dengan resiko tinggi hipoglikemia (orang tua, gangguan faal hati, dan ginjal). glibenclamide, glipizide, gliquidone, glimepirid, gliclazide adalah contoh obat dari golongan sulfonilurea.

- **Glinid**

Glinid dan sulfonileura merupakan obat dengan cara kerja yang sama, yaitu terjadinya peningkatan sekresi insulin yang disebabkan oleh penekanan pada fase pertama. Repaglinid (derivat asam benzoat) dan nateglinid (derivat fenilalanin) termasuk dalam golongan obat ini, yang diabsorpsi cepat didalam hati. Obat ini mampu mengatasi hiperglikemia post prandial tetapi juga memiliki efek samping seperti terjadinya kadar glukosa darah rendah (hipoglikemia).

- b. Peningkat Sensivitas terhadap Insulin

- **Metformin (Biguanida)**

Metformin merupakan obat lini pertama pada pasien DMT2 yang bekerja dengan cara mengurangi produksi glukosa hati (glukoneogenesis). Metformin tidak boleh diberikan pada beberapa keadaan seperti: GFR  $< 30$  mL/menit/1,73m<sup>2</sup>, adanya gangguan hati berat, serta pasien-pasien dengan kecenderungan hipoksemia (misalnya penyakit serebrovas-kular, sepsis, renjatan, PPOK, gagal jantung [NYHA FC III-IV]). Efek samping dari obat ini yaitu gangguan saluran pencernaan seperti halnya gejala dispepsia. Selain itu juga diketahui dapat menyebabkan laktat asidosis akut yang memiliki prevalensi terbesar pada pasien dengan disfungsi hati atau gagal ginjal karena terjadi penurunan fungsi ekskresi (Blough *et al*, 2015)

- **Tiazolidindion (TZD)**

Tiazolidindion merupakan obat antidiabetes golongan agonis dari Peroxisome Proliferator Activated Receptor Gamma (PPAR-gamma), yang merupakan suatu reseptor inti yang terdapat antara lain di sel otot, lemak, dan hati. Golongan ini mempunyai efek menurunkan resistensi insulin dengan meningkatkan jumlah protein pengangkut glukosa, sehingga meningkatkan ambilan glukosa di jaringan perifer. Tiazolidindion meningkatkan retensi cairan tubuh sehingga dikontraindikasikan pada pasien dengan gagal jantung (NYHA FC III-IV) karena dapat memperberat edema/retensi cairan.

Obat ini perlu dilakukan pemantauan secara berkala pada pasien dengan gangguan hati. Contoh obat dari golongan ini yaitu pioglitazone.

- c. Penghambat Absorpsi Glukosa di Saluran Pencernaan

- **Penghambat  $\alpha$  Glukosidase**

Obat ini bekerja dengan memperlambat absorpsi glukosa dalam usus halus, sehingga mempunyai efek menurunkan kadar glukosa darah sesudah makan. Contoh obat dari golongan ini yaitu akarbosa dan miglitol.

- d. Penghambat *Dipeptidyl Peptidase IV* (DPP-IV)

Obat golongan penghambat DPP-IV menghambat kerja enzim DPP-IV sehingga *glucose like peptide-1* (GLP-1) tetap dalam konsentrasi yang tinggi dalam bentuk aktif. Peningkatan hormon insulin dan penekan sekresi glukagon bergantung kadar glukosa darah



(glucose dependent) merupakan aktivitas dari GLP-1. Obat yg termasuk dalam golongan ini adalah sitagliptin dan linagliptin.

e. Penghambat *Sodium Glucose Cotransporter 2* (SGLT-2)

Obat golongan penghambat SGLT-2 merupakan obat antidiabetes oral jenis baru yang bekerja dengan cara menghambat absorpsi glukosa di tubuli distal ginjal dengan cara menghambat kinerja transporter glukosa SGLT-2. Obat yang termasuk golongan ini antara lain: canagliflozin, empagliflozin, dapagliflozin, ipragliflozin.

• **Terapi Injeksi**

Obat anti-hiperglikemia yang diberikan secara injeksi yaitu insulin, agonis GLP-1 dan kombinasi insulin dan agonis GLP-1.

a. Insulin

Penggunaan insulin dapat digunakan ketika HbA1c > 9% (normal 4-6,5%) dengan kondisi dekomensasi metabolik, penurunan berat badan yang cepat, hiperglikemia berat yang disertai ketosis, gagal dengan kombinasi obat hiperglikemik oral (OHO) dosis optimal, stres berat (infeksi sistemik, operasi besar, infark miokard akut, stroke), kehamilan dengan DM/Diabetes melitus gestasional yang tidak terkendali dengan perencanaan makan, gangguan fungsi ginjal atau hati yang berat, kontraindikasi dan atau alergi terhadap OHO.

Berdasarkan cara kerja, insulin terbagi menjadi 5 jenis yakni :

- Insulin kerja cepat (Rapid-acting insulin)
- Insulin kerja pendek (Short-acting insulin)
- Insulin kerja menengah (Intermediateacting insulin)
- Insulin kerja panjang (Long-acting insulin)

- Insulin kerja ultra panjang (Ultra longacting insulin)

#### b. Agonis GLP-1/Incretin Mimetic

Mekanisme kerja dari obat golongan ini yaitu bekerja pada sel- $\beta$  sehingga terjadi peningkatan pelepasan insulin, mempunyai efek menurunkan berat badan, menghambat pelepasan glukagon, dan menghambat nafsu makan. Adanya penurunan BB merupakan salah satu tujuan terapi pada pasien DM yang mengalami obesitas. Pada suatu percobaan terhadap hewan, obat ini terbukti dapat memperbaiki cadangan sel  $\beta$  pankreas. Selain itu, obat ini memiliki efek samping antara lain rasa sebah dan muntah. Obat yang termasuk golongan ini adalah: liraglutide, exenatide, albiglutide, dan lixisenatide (PERKENI, 2015).

## 2.2 Histologi Ginjal

### 2.2.1 Perubahan Ginjal pada Diabetes Nefropati

Nefropati diabetik pada dasarnya melibatkan semua sel ginjal dengan ekspansi matriks mesangial yang mewakili komponen utama. Sebagian besar diakibatkan oleh peningkatan kadar glukosa dengan aktivasi protein kinase C, pembentukan *advanced glycosylation end* (AGE) dan *receptor advanced glycosylation end* (RAGE), peningkatan jalur poliol dan heksosamin, dan adanya peningkatan ROS (Schlondorff dan Banas, 2009).

Kerusakan ginjal pada kondisi hiperglikemia berawal dari hilangnya podosit pada glomerulus. Podosit merupakan sel yang unik yaitu sel terminal yang berdiferensiasi tinggi di glomerulus ginjal. Selain itu, pada kondisi hiperglikemia diketahui terjadi kondisi downregulasi dari nefrin, yaitu protein penting pada slit

diafragma (SD) yang bersifat anti apoptosis. Hilangnya nefrin menyebabkan pendataran *foot process* (FP) dari podosit dan peningkatan proteinuria. Mediator utama supresi nefrin adalah angiotensin II (ANG II) yang dapat mengaktifkan jalur-jalur sitokin lain seperti *transforming growth factor- $\beta$*  (TGF- $\beta$ ) dan *vascular endothelial growth factor* (VEGF). TGF- $\beta$  menyebabkan peningkatan deposit matriks mesangial dan penebalan MBG dan dapat mengakibatkan apoptosis atau pelepasan podosit. Akibatnya, MBG yang gundul melekat pada ruang Bowman, dan menjadi titik awal dari proses glomerulosklerosis. Integritas fungsional podosit diperlukan untuk *intact size* dan *charge barrier*, mempertahankan bentuk kapiler, menetralkan tekanan intraglomerular, sintesis dan pemeliharaan MBG serta produksi dan sekresi VEGF yang dibutuhkan untuk integritas sel endotel glomerulus. Adanya kerusakan pada podosit menyebabkan perubahan fungsi dari podosit dan terjadi pendataran atau hilangnya FP (Bandiara,2011).

Hilangnya sel podosit dapat mengakibatkan proliferasi sel mesangial yang diketahui merupakan salah satu penyebab terjadinya ekspansi mesangial. Ekspansi mesangial merupakan kondisi dimana luas dari matriks menjadi lebih lebar dan dapat menyebabkan hilangnya beberapa lumen kapiler. Pelebaran dari mesangial juga dipicu oleh sekresi yang berlebih serta penumpukan komponen matriks ekstraseluler. Secara bertahap, fungsi ginjal akan menurun dan mengakibatkan peningkatan volume glomerulus, peningkatan IgG dan IgM, komplemen C dan kebocoran fibrin di glomerulus. Selain itu, ekspansi mesangial menyebabkan adanya sedimen di *extracellular matrix* (ECM) serta merangsang terjadinya proliferasi membran basal. Penebalan ECM dapat disebabkan oleh sekresi kolagen IV, fibronektin dan laminin. (Pourghasem *et al.*, 2015).

AGE merupakan molekul proinflamasi yang memicu keadaan stres oksidatif intraseluler dan peradangan setelah mengikat reseptor membran sel (RAGE). AGEs dibentuk oleh reaksi nonenzimatik ireversibel antara gula pereduksi, seperti glukosa, dan gugus amino dalam protein, lipid, dan asam nukleat. Interaksi antara AGE dan reseptor untuk AGE (RAGE) diperkirakan pada akhirnya menyebabkan stres oksidatif. Kondisi hiperglikemia dapat memperburuk pembentukan AGE, karena sumber utama AGE endogen adalah hasil autoksidasi glukosa yang bersirkulasi. Pembentukan AGEs juga menginduksi produksi spesies oksigen reaktif (ROS), yang berkontribusi terhadap stres oksidatif (Bloemer,2014).

### 2.2.1 Hubungan Histologi Ginjal dengan Diabetes Melitus

Diabetes melitus adalah kelainan metabolisme akibat disfungsi pankreas dalam sekresi dan respons insulin. Menurut Federasi Diabetes Internasional (FDI), prevalensinya diproyeksikan meningkat dari 285 juta orang pada 2010 menjadi 439 juta pada 2030, suatu peningkatan sekitar 50%. Pada tahun 2009, dilaporkan bahwa ND adalah penyebab 44% dari semua kasus penyakit ginjal stadium akhir (PGSA) di Amerika Serikat. Kedua jenis diabetes melitus berkontribusi besar terhadap biaya perawatan kesehatan dan kematian karena tingginya insiden nefropati yang mengarah pada ESRD, dan dijelaskan bahwa penyakit tersebut adalah penyebab utama dialisis dan transplantasi ginjal.

Beberapa faktor yang berkaitan dengan ND termasuk efek kerentanan genetik, glukosa tinggi, aktivasi jalur poliol, aktivasi sistem renin-angiotensin, ROS, aktivasi jalur protein kinase C, peningkatan *advance glycation end-product* (AGE) dan hiperfiltrasi glomerulus. Diyakini bahwa perubahan histologis awal nefropati

diabetik dapat dideteksi 2 tahun setelah diabetes didiagnosis (Phourghasem *et al.*, 2015).

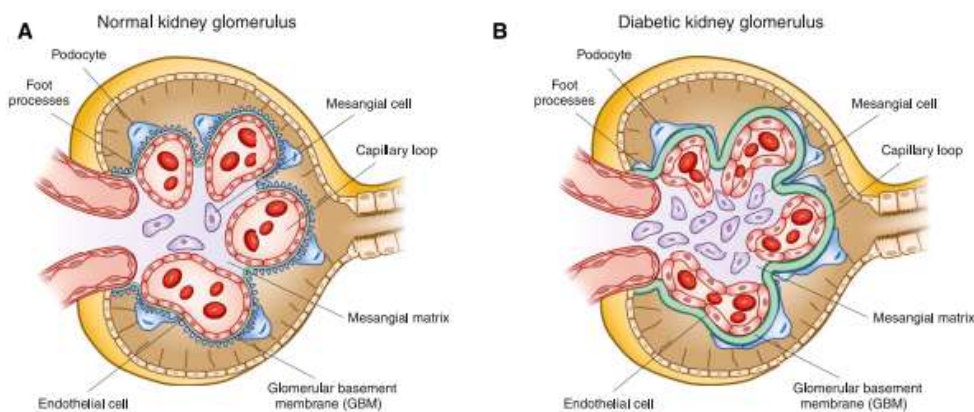
Gagal ginjal akibat DM disebut juga nefropati diabetika. Pada pasien DN terjadi perubahan pada membran basalis glomerulus yaitu proliferasi dari sel-sel mesangium. Hal ini menyebabkan glomerulosklerosis dan berkurangnya aliran darah sehingga terjadi perubahan permeabilitas membran basalis glomerulus yang ditandai dengan timbulnya albuminuria. Selain itu, akhir-akhir ini penelitian klinis mendapatkan adanya sklerosis dan gagal ginjal, yang mana dapat berkontribusi terhadap kematian (N, *et al.* 2014).

### 2.2.2 Gambaran Ginjal Normal dan Ginjal Diabetes

Pada pasien DM dengan komplikasi kerusakan ginjal atau biasa disebut dengan nefropati diabetes menimbulkan lesi pada glomerulus. Klasifikasi dari lesi tersebut diantaranya yaitu : kelas I: penebalan membran dasar glomerulus; kelas IIa: ekspansi mesangial ringan; kelas IIb: ekspansi mesangial parah; kelas III: sklerosis nodular dan kelas IV: glomerulosklerosis global pada > 50% glomeruli (Phourghasem,2015).

Glomerulus adalah kapiler khusus yang berfungsi sebagai filter tempat terjadinya ultrafiltrasi plasma. Dinding kapiler glomerulus terdiri dari 3 lapisan yaitu sel endotel, MBG, dan sel epitel. Di antara kapiler glomerulus terdapat mesangium (yang terdiri dari matriks dan sel mesangium) yang membentuk bagian medial dinding kapiler dan berfungsi mendukung dinding kapiler glomerulus (Pardede, 2016). Sel mesangial adalah sel epitel yang terletak di antara kapiler glomerulus, sel ini berperan sebagai sel penyokong pada glomerulus dan matriks mesangial. Matriks mesangial ini merupakan ruang yang

tersisa antara sel mesangial dan membran basal glomerulus. Matriks ini terdiri dari berbagai macam protein seperti kolagen tipe III, IV, V dan VI, proteoglikan heparan sulfat dan protein serat elastis seperti fibronektin, laminin, entaktin, dan fibrilin-1. Perubahan bentuk mesangial pada ginjal merupakan ciri khas penyakit tertentu seperti nefropati diabetik. Kondisi ini ditandai dengan adanya sklerosis glomerulus akibat penumpukan matriks mesangial dan penebalan membran basal glomerulus (Maezawa *et al.*, 2013). Perbedaan ginjal normal dan diabetes dapat dilihat pada gambar 2.1.

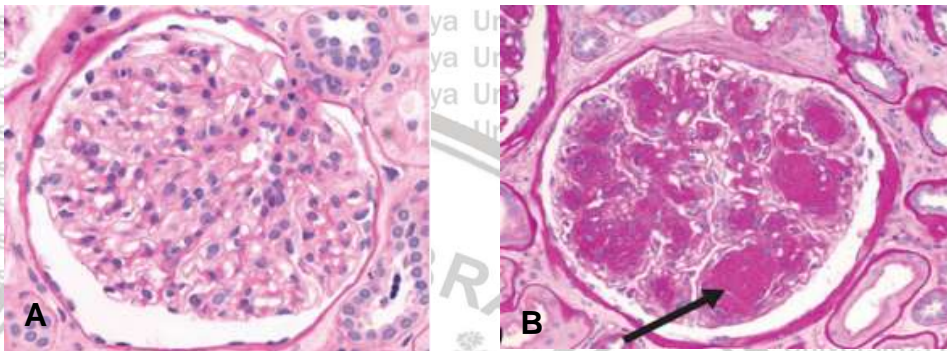


Gambar 2.1 Morfologi Ginjal Normal (A) dan Ginjal Diabetes (B) (Alicic *et al.*, 2017)

Pada gambar tersebut dapat dilihat bahwa diabetes dapat menginduksi perubahan struktur seperti penebalan pada *glomerular basement membrane* (GBM), terjadi fusi pada *foot process*, hilangnya beberapa sel podosit yang disertai dengan penebalan sel endotel dan pelebaran matriks mesangial (Alicic *et al.*, 2017). Hilangnya sel podosit dapat mengakibatkan proliferasi sel mesangial, apabila hal tersebut terjadi maka menyebabkan fusi pada *foot process* dan proteinuria. Pada kondisi DM juga terjadi penebalan membran basal pada glomerulus dan tubulus serta akumulasi secara progresif pada komponen matriks ekstraseluler. Hal tersebut terjadi akibat adanya peningkatan ekspresi gen dan

sintesis protein kolagen IV, laminin, dan fibronektin yang mengakibatkan peningkatan massa pada ginjal (Pourghasem *et al.*, 2015).

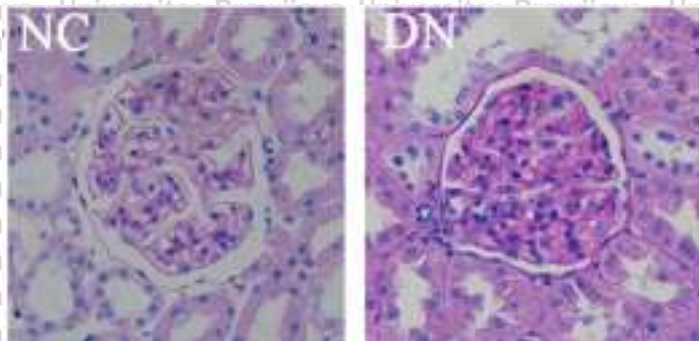
Perubahan struktur ginjal juga dapat dilihat melalui pengamatan histologi seperti pada **gambar 2.2**.



**Gambar 2.2** Perubahan Struktur Ginjal pada Kondisi Diabetes. Ginjal Normal (A), Ginjal Diabetes (B) (Alicic *et al.*, 2017)

Berdasarkan gambar tersebut dapat dilihat bahwa pada kondisi diabetes terjadi akumulasi matriks mesangial yang membentuk nodul yang disebut dengan Kimmelstiel-Wilson. Jika dibandingkan dengan ginjal normal, matriks mesangial masih dapat terlihat jelas bentuknya dan tidak mengalami penumpukan (Alicic *et al.*, 2017).

Penelitian yang dilakukan Wang *et al* pada tahun 2018 menyatakan bahwa tikus yang diinjeksi dengan STZ melalui intraperitoneal dengan dosis 30 mg/kgBB mengakibatkan peningkatan gula darah yang dan adanya ekspansi mesangial. Perubahan tersebut dapat dilihat pada **gambar 2.3**.

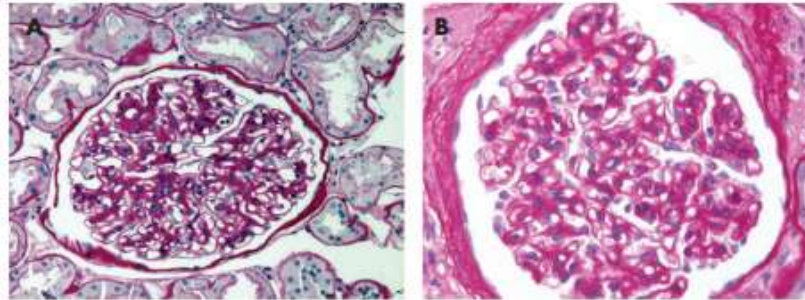


Gambar 2.3 Perbedaan ginjal normal dan diabetes setelah injeksi STZ

Berdasarkan gambar tersebut ginjal dari dari kelompok kontrol menunjukkan glomerulus normal yang dikelilingi oleh kapsul Bowman, proksimal dan distal tubulus tanpa adanya perubahan yang disebabkan oleh adanya inflamasi. Pada kelompok DN, glomerulus menunjukkan adanya atrofi tubulus ginjal, penebalan basement membran serta adanya ekspansi mesangial. Penelitian tersebut diamati lebih lanjut menggunakan pewarnaan imunohistokimia dan Masson, hasil dari pewarnaan tersebut menunjukkan adanya akumulasi maksimum kolagen IV (Col IV) dan fibronektin (FN) di korteks ginjal (Wang *et al*, 2018). Selain itu, review jurnal mengenai ekspansi mesangial pada tikus model diabetes melitus juga dilakukan oleh Alsaad dan Herzenber (2007). Pada jurnal tersebut dijelaskan bahwa tanda awal terjadinya diabetes nefropati yakni adanya perubahan struktur pada glomerulus seperti penebalan MBG yang melebar (**gambar 2.4A**). Kemudian terjadi progresivitas penyakit yang menyebabkan perubahan struktur dan berkontribusi pada peningkatan deposisi kolagen tipe IV dan penurunan matriks ekstraseluler yang berlebih sehingga terjadi ekspansi mesangial (**gambar 2.4B**). Oleh karena itu, terjadi penurunan podosit yang mengarah pada penurunan rasio podosit per glomerulus sehingga menyebabkan hilangnya FP. Apabila FP dari glomerulus mengalami pelepasan, maka terjadi peningkatan aliran plasma melewati MBG dan menyebabkan



kebocoran protein melalui slit podosit sehingga kadar protein dalam urin menjadi tinggi (Pardede, 2016).



Gambar 2.4 (A) Penebalan MBG pada glomerulus. (B) Ekspansi mesangial pada glomerulus

## 2.3 Daun Insulin (*Tithonia diversifolia*)

### 2.3.1 Taksonomi

- Kingdom : Plantae
- Sub Kingdom : Viridiplantae
- Divisi : Tracheophyta
- Sub divisi : Spermatophytina
- Kelas : Magnoliopsida
- Ordo : Asterales
- Famili : Asteraceae
- Genus : *Tithonia*
- Spesie : *Tithonia diversifolia* (Sapoetro, 2018)



Gambar 2.5 Tumbuhan Daun Insulin (Amanatie, 2015)

### 2.3.2 Senyawa Fitokimia

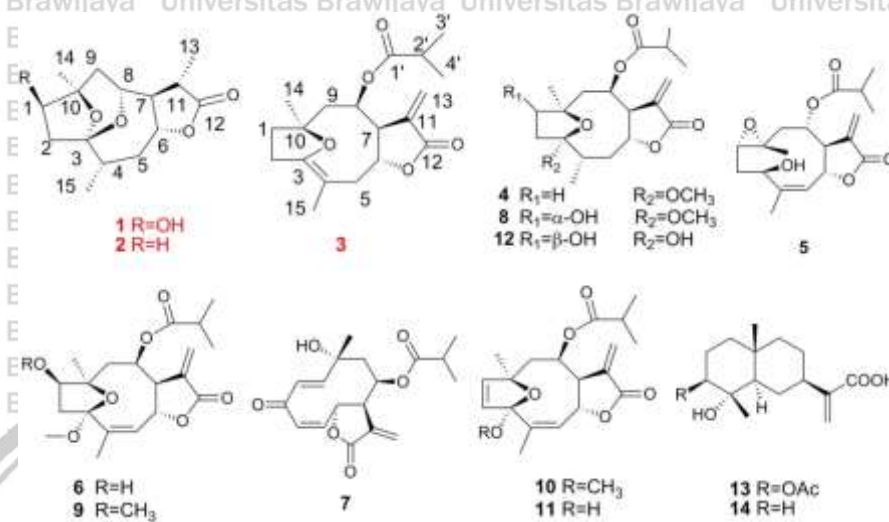
Daun Insulin (*Tithonia diversifolia*) memiliki nama lokal lain seperti daun kembang wulan, rondo semayu, kirinyu atau kayu paik (Setiomulyo, 2016). Daun *T. diversifolia* mengandung senyawa alkaloid, terpenoid, flavonoid, saponin, tanin, polifenol, dan golongan seskuiterpen. *T. diversifolia* merupakan tanaman yang digunakan masyarakat China untuk antidiabetes. Dosis penggunaan daun *T. diversifolia* oleh masyarakat adalah 5 lembar setara 2 gram simplisia (Sasmita, 2017).

Berdasarkan pengujian yang lain, uji fitokimia dari ekstrak air daun *tithoniadiversifolia* adalah positif mengandung flavonoid, alkaloid, tanin. Sedangkan hasil GCMS menunjukkan 12 puncak, ditunjukkan, yaitu, yang diperkirakan senyawa itu adalah senyawa Camphene 0,6 % (SI9,53),  $\beta$ -pinene 10,9 % (SI8,9), Myrcene 0.8% (SI9,92), 1,8-Cineole : 0,91% (SI 1,03),  $\beta$ -Caryophyllene: 2,08% (SI 1,419),  $\beta$ -Gurjunene 0.4 % (SI1,428),  $\alpha$ -Humulene 1.6 % (SI 1,454) Germacrene D 12,6 % (SI 1,481) (Amanatie, 2015).

Terdapat pula kandungan 3 germacrane sesquiterpen **(1),(2),(3)**, dan 7 senyawa sesquiterpen lainnya yaitu tirotundin-3-O-metil eter **(4)**, deacetylvguiestin **(5)**,  $1\beta$ -hydroxydiversifolin-3-O-methyl eter **(6)**, tagitinin C **(7)**,  $1\beta$ -hydroxytirotundin-3-O-methyl ether **(8)**,  $1\beta$ -hydroxytirotundin-1,3-O-dimethyl ether **(9)**, tagitinin F-3-O-methyl ether **(10)**, tagitinin F **(11)**, tagitinin A **(12)**,  $3\beta$ -acetoxy-4 $\alpha$ -hydroxyeduesm-11,-en-12-oic acid **(13)** dan asam salisilat **(14)**.

Senyawa-senyawa tersebut memiliki aktifitas sebagai anti-hiperglikemia dengan cara uptake glukosa pada adiposit 3T3-L1. Dari hasil penelitian menemukan bahwa 3 germacrane sesquiterpen,  $1\beta$ -hydroxydiversifolin-3-O-methyl eter, dan

1 $\beta$ -hydroxytirotondin-3-O-methyl ether dapat bekerja secara signifikan dalam uptake glukosa tanpa adanya efek toksisitas (Zhao *et al.*, 2012).



Gambar 2.6 Struktur Senyawa Metabolit Sekunder pada Daun Insulin (Zhao *et al.*, 2012)

#### 2.3.4. Aktifitas Antidiabetes dari Daun Insulin

Daun insulin (*Tithonia diversifolia*) memiliki aktivitas farmakologi diantaranya yaitu anti-inflamasi, antimalaria, antidiabetik, antifungal, antibacterial, antiviral, antioksidan dan antikanker (Tagne *et al.*, 2018). Berdasarkan hasil penelitian dari (Solfanie *et al.*, 2019), penggunaan daun insulin (*Tithonia diversifolia*) pada tikus yang diinduksi menggunakan streptozotocin (STZ) dengan dosis 60 mg/kg BB selama 7 hari menunjukkan bahwa pemberian ekstrak etanol daun kembang bulan mempunyai efek menurunkan kadar gula darah (glukosa) pada kelompok tikus perlakuan. Hasil perlakuan secara per oral ekstrak daun kembang bulan dosis 100 mg/kg mampu menurunkan kadar glukosa dari 226,62 mg/dl (kelompok D1) menjadi 203,75 mg/dl (D2). Ekstrak daun insulin (*Tithonia diversifolia*) terbukti menurunkan kadar glukosa pada tikus putih, B pada penelitian ini mengindikasikan ekstrak *Tithonia diversifolia* menurunkan kadar glukosa dan mencegah diabetes yang diinduksi STZ. Aktivitas

hipoglikemik ekstrak daun kembang bulan terjadi setelah proses metabolisme berjalan selama induksi STZ dan perlakuan ekstrak selama 7 hari. Pada percobaan ini diketahui bahwa ekstrak dari daun insulin dapat menurunkan kadar glukosa darah dan peningkatan kadar SOD, yaitu enzim antioksidan yang berperan menjadi katalis dalam dismutase anion superoksida yang radikal menjadi hidrogen peroksida dan molekul oksigen. SOD memiliki peran dalam melindungi kerusakan sel dan jaringan yang disebabkan oleh ROS. Selain itu, SOD merupakan antioksidan yang berperan melawan superoksida, baik di ginjal yang berisiko terhadap terjadinya diabetes nefropati ataupun di jaringan mata yang berisiko terhadap terjadinya diabetes retinopati. Hasil dari penelitian ini menunjukkan bahwa ekstrak daun insulin (*Tithonia diversifolia*) dapat menstimulasi aktivitas anti radikal bebas untuk menghambat stress oksidatif yang dihasilkan induksi diabetes dengan STZ. Peningkatan kadar SOD terbukti menurunkan stress oksidatif dan apoptosis neuron pada tikus, sehingga mencegah diabetes.

Daun insulin mengandung dua komponen utama yang memiliki peran antidiabetik atau antihiperglikemik yaitu flavonoid dan seskuiterpen. Komponen flavonoid dan seskuiterpen paling banyak pada bagian daun. Flavonoid diketahui memiliki aktifitas antioksidan yang berkaitan dengan aktifitas antidiabetes (Jagtap & Bapat, 2010). Flavonoid diketahui memiliki aktifitas antioksidan yang diyakini mampu melindungi tubuh terhadap kerusakan yang disebabkan spesies oksigen reaktif, sehingga mampu menghambat terjadinya penyakit degeneratif seperti DM (Marianne *et al.*, 2011). Terkait mekanisme penyembuhan penyakit diabetes, flavonoid diduga berperan secara signifikan meningkatkan aktivitas enzim antioksidan dan mampu meregenerasi sel-sel  $\beta$  pankreas yang rusak sehingga

defisiensi insulin dapat diatasi. Flavonoid yang terkandung di dalam tumbuhan diduga juga dapat memperbaiki sensitifitas reseptor insulin. Dengan adanya flavonoid memberikan efek yang menguntungkan pada keadaan DM (Abdelmoaty *et al.*, 2010). Aktivitas antioksidan ini mampu menurunkan stress oksidatif sehingga mengurangi ROS. Menurut Widowati (2008) sumber stress oksidasi diabetes terjadi akibat perpindahan keseimbangan reaksi redoks karena perubahan metabolisme karbohidrat dan lipid yang akan meningkatkan pembentukan ROS dari reaksi glikasi dan oksidasi lipid, sehingga dapat menurunkan sistem pertahanan antioksidan. Flavonoid dapat mencegah komplikasi atau progresifitas DM dengan cara membersihkan radikal bebas yang berlebihan, memutuskan rantai reaksi radikal bebas, mengikat ion logam (*chelating*) dan memblokir jalur poliol dengan menghambat enzim aldose reduktase. Flavonoid juga memiliki efek penghambatan terhadap enzim  $\alpha$ -glukosidase melalui ikatan hidrosilasi dan substitusi pada cincin  $\beta$ . Prinsip penghambatan ini serupa dengan acarbose yang selama ini digunakan sebagai obat untuk penanganan diabetes melitus, yaitu dengan menghasilkan penundaan hidrolisis karbohidrat, disakarida dan absorpsi glukosa serta menghambat metabolisme sukrosa menjadi glukosa dan fruktosa (Ridwan *et al.*, 2012; Taufiqrohman, 2015). Flavonoid merupakan senyawa inhibitor yang kuat terhadap enzim  $\alpha$ -amilase yang berfungsi untuk pemecahan karbohidrat. Daya inhibisi enzim ini menyebabkan proses pemecahan dan absorpsi karbohidrat akan terganggu, sehingga kadar gula darah dapat diturunkan (Yulianty *et al.*, 2015).

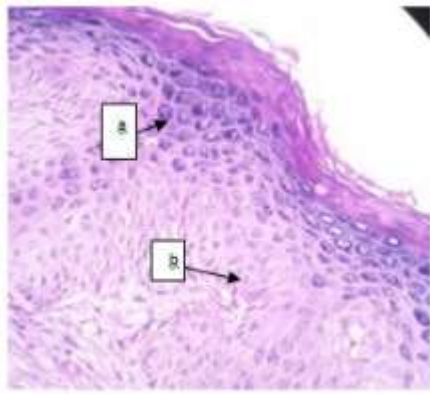
*Tithonia diversifolia* juga memiliki komponen yang disebut seskuipterpen yang berfungsi meningkatkan sensitifitas terhadap insulin. Seskuipterpen secara

signifikan mampu meningkatkan metabolisme glukosa tanpa efek toksik pada adiposit (Zhao *et al.*, 2012). Seskuitерpen dapat menghambat faktor inflamasi pada sel mesangial ginjal manusia dalam kondisi hiperglikemik. Seskuitерpen yang diisolasi dari ekstrak daun *T. diversifolia* dilaporkan memiliki daya sebagai agen fitoterapetik melawan infeksi bakteri pada organ. Seskuitерpen yang diisolasi dari tanaman menunjukkan aktivitas penghambat  $\alpha$ -glukosidase yang signifikan. Seskuitерpen juga bisa menghambat ekspresi induksi glukosa tinggi pada inflamasi sitokin pada sel mesangial manusia (Sasmita *et al.* 2017).

#### 2.4 Pewarnaan Hematoksilin-Eosin (HE)

Tahap akhir pembuatan preparat histologi adalah *staining*. *Staining* merupakan proses pewarnaan jaringan. *Staining* bertujuan untuk memudahkan pengamatan menggunakan mikroskop dan membedakan bagian-bagian jaringan yang akan diamati seperti inti sel, sitoplasma, dan lain-lain. Hematoxylin-Eosin merupakan salah satu jenis pewarnaan jaringan umum digunakan (Ellyawati, 2018).

Haematoksilin-Eosin bersifat basa yang khusus mewarnai unsur asam pada sel sehingga tampak kebiruan, karena unsur yang paling asam ialah asam deoksiribonukleat (DNA) dan asam ribonukleat (RNA), maka inti dan lingkungan sitoplasma yang banyak terdapat pada ribosom akan tampak berwarna biru tua, sehingga disebut basofilik. Eosin bersifat asam yang mewarnai unsur basa dari sel sehingga tampak merah muda, karena banyak bagian sitoplasma bersifat basa, pada daerah tertentu sitoplasma terwarna merah muda, unsur-unsur ini disebut asidofilik (eosinofilik) (Setiawan,2016). Pewarnaan yang baik akan menghasilkan warna biru terang pada inti sel, warna merah (*eosin*) pada sitoplasma dan jaringan ikat (**Gambar 2.7**) (Ariyadi *et a.l.*, 2017).



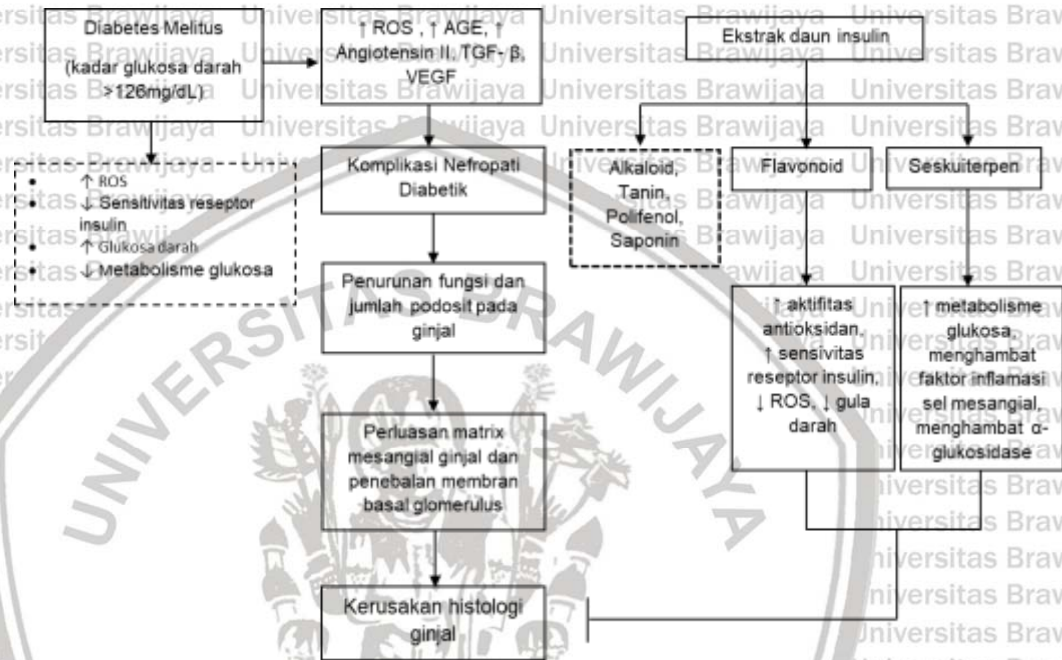
Gambar 2.7 Hasil Pewarnaan HE (a). Biru terang pada inti sel (b). Warna merah (eosin) pada jaringan ikat dan sitoplasma (Ariyadi *et al*, 2017).



### BAB III

## KERANGKA KONSEP DAN HIPOTESIS PENELITIAN

### 3.1 Kerangka Konsep



Gambar 3.1 Kerangka Konsep

Keterangan :

: Variabel yang diteliti

: Variabel yang tidak diteliti

→ : Variabel yang tidak diteliti

→ : Mempengaruhi

| : Menghambat



Tikus diabetes yang telah diinduksi STZ dan memiliki kadar glukosa darah >126 mg/dL, mengakibatkan terjadinya peningkatan glukosa darah, proteinuria, serum kreatinin, dan *blood urea nitrogen* (BUN). Selain itu terjadi peningkatan kadar ROS, AGE, VEGF, TGF- $\beta$  dan angiotensin II dimana kelima senyawa tersebut merupakan faktor yang dapat mengakibatkan komplikasi DM yaitu nefropati diabetik. Pada kondisi tersebut menyebabkan penurunan fungsi dan jumlah podosit ginjal. Akibatnya, terjadi pelebaran pada sel mesangial yang dapat mengubah bentuk matriks, terjadi ekspansi matriks mesangial, dan kegagalan fungsi ginjal barier filtrasi diantaranya membran basal glomerulus yang ditandai dengan adanya penebalan.

Ekstrak daun insulin memiliki kandungan metabolit sekunder seperti tanin, alkaloid, polifenol, saponin, flavonoid dan seskuiterpen. Dari kelima senyawa tersebut, yang diketahui memiliki aktifitas sebagai antidiabetik yakni flavonoid dan seskuiterpen. Flavonoid dan seskuiterpen bekerja dengan cara menurunkan kadar glukosa darah, meningkatkan aktifitas antioksidan, meningkatkan sensitifitas insulin dan meningkatkan kadar SOD yang berperan dalam melindungi kerusakan sel dan jaringan yang disebabkan oleh ROS. Berdasarkan mekanisme tersebut, ekstrak daun insulin memiliki potensi sebagai antidiabetes, mencegah komplikasi nefropati diabetik yang mengarah terjadinya kerusakan histologi ginjal.

### 3.2 Hipotesis Penelitian

Ekstrak daun insulin dapat mencegah pelebaran ekspansi mesangeal, peningkatan volume glomerulus, dan peningkatan kidney hypertrophy index.

## BAB IV

### METODOLOGI PENELITIAN

#### 4.1 Rancangan Penelitian

Desain penelitian dalam penelitian ini yaitu desain *true experimental* yang dilakukan pada beberapa sampel tikus galur wistar (*Rattus norvegicus*) yang diinduksi agen diabetogenik streptozotocin (STZ) dan diberikan terapi ekstrak daun insulin (*Tithonia diversifolia*) untuk mengetahui aktifitas farmakologi yang dapat mencegah kerusakan histologi ginjal pada tikus.

#### 4.2 Kriteria dan Teknik Pengambilan Sampel

Penelitian menggunakan hewan coba tikus galur wistar jantan yang harus memenuhi kriteria inklusi dan eksklusi. Teknik pengambilan yang dilakukan yaitu dengan metode rancangan acak kelompok. Berikut merupakan kriteria tikus yang digunakan pada penelitian ini :

Kriteria Inklusi :

- a. Tikus putih (*Rattus norvegicus*) galur Wistar
- b. Jantan
- c. Usia 6-8 minggu
- d. Berat badan  $\pm$  160-200 gram
- e. Sehat, ditandai dengan bergerak aktif

Kriteria Eksklusi :

- a. Memiliki kelainan anatomi atau cacat fisik

### 4.3 Besaran Sampel

Jumlah kelompok pada penelitian ini yaitu sebanyak enam kelompok, dua kelompok merupakan kelompok kontrol (positif dan negatif) dan empat kelompok adalah kelompok perlakuan. Jumlah sampel yang digunakan untuk setiap kelompok dihitung dengan rumus Federer (Federer, 1995) :

$$B(t-1)(r-1) \geq 15$$

$$B(6-1)(r-1) \geq 15$$

$$5r-5 \geq 15$$

$$5r \geq 20$$

$$r \geq 4$$

Keterangan:

t : jumlah perlakuan

r : jumlah replikasi atau ulangan

Berdasarkan hasil perhitungan, jumlah replikasi atau pengulangan untuk masing-masing kelompok minimal 4 ekor tikus. Untuk menghindari adanya hewan coba yang *drop out* selama penelitian dilakukan replikasi dengan perkiraan proporsi kira-kira  $f = 10\%$ . Rumus perhitungan koreksi besar sampel (Sastroasmoro & Ismael, 2011) sebagai berikut :

$$n' = [n/1-f]$$

$$n' = \frac{4}{1-0.1} = 4.44 \sim 5$$

Keterangan :

$n'$  = jumlah sampel penelitian

$n$  = besar sampel yang dihitung

$f$  = perkiraan proporsi drop out, kira-kira 10% ( $f = 0,1$ )

Selanjutnya dihitung tikus cadangan (Prihanti, 2016) yang digunakan pada setiap kelompok dengan rumus :

$$\begin{aligned} \text{Cadangan tikus} &= n' - n \\ &= 5 - 4 \\ &= 1 \end{aligned}$$

Jadi, total jumlah tikus yang digunakan pada penelitian ini :

$$\begin{aligned} \text{Total sampel} &= \text{Jumlah sampel setiap kelompok} \times \text{jumlah replikasi} \\ &= 6 \times 6 \\ &= 36 \text{ tikus.} \end{aligned}$$

#### 4.4 Kelompok Penelitian

Terdiri dari 36 ekor tikus yang dibagi menjadi 6 kelompok yang dibagi secara acak (KN, KP, P1, P2, P3, P4) dengan ketentuan sebagai berikut :

**Tabel 4.1 Desain Eksperimen dan Hewan Coba**

Kelompok	Jumlah	Perlakuan
Kontrol negatif (KN)	6	
Kontrol positif (KP)	6	STZ dalam buffer sitrat (i.p) <sup>a</sup>
Perlakuan 1 (P1)	6	STZ dalam buffer sitrat (i.p) <sup>a</sup> + ETD 50 mg/kgBB (p.o) <sup>b</sup>
Perlakuan 2 (P2)	6	STZ dalam buffer sitrat (i.p) <sup>a</sup> + ETD 100 mg/kgBB (p.o) <sup>c</sup>
Perlakuan 3 (P3)	6	STZ dalam buffer sitrat (i.p) <sup>a</sup> + ETD 150 mg/kgBB (p.o) <sup>d</sup>
Perlakuan 4 (P4)	6	STZ dalam buffer sitrat (i.p) <sup>a</sup> + glikuidon (p.o) <sup>e</sup>

Keterangan :

<sup>a</sup>: 40 mg/kgBB STZ dalam buffer sitrat 0,1 M pH 4,5 1 mL/kgBB injeksi intraperitoneal (i.p)

<sup>b</sup>: 50 mg/kgBB ekstrak *Tithonia diversifolia* dalam CMC Na 1%, pemberian per oral (p.o)

<sup>c</sup>: 100 mg/kgBB ekstrak *Tithonia diversifolia* dalam CMC Na 1%, pemberian per oral (p.o)

<sup>d</sup>: 150 mg/kgBB ekstrak *Tithonia diversifolia* dalam CMC Na 1%, pemberian per oral (p.o)

<sup>e</sup>: 10 mg/kgBB glikuidon dalam CMC Na 1%, pemberian per oral (p.o)

#### 4.5 Variabel Penelitian

Variabel bebas dalam penelitian ini adalah variasi konsentrasi ekstrak daun insulin (*Tithonia diversifolia*) dan glikuidon, sedangkan variabel bebas yakni STZ. Adapun variabel terikat dalam penelitian ini adalah *kidney hypertrophy index* (KHI), *glomerular volume* (GV) dan *mesangial expansion* (ME).

#### 4.6 Definisi Operasional

1. Tikus galur wistar (*Rattus norvegicus*) adalah tikus yang dipilih untuk dijadikan model penelitian berusia 6-8 minggu dengan bobot 160-200 gram. Surat kelaikan etik disajikan pada lampiran 1.
2. Tikus model diabetes melitus merupakan tikus yang telah diinduksi dengan STZ dan memiliki kadar glukosa darah  $\geq 126$  mg/dL.
3. Streptozotocin (STZ) merupakan agen diabetogenik yang memiliki mekanisme cara membentuk radikal bebas sangat reaktif yang dapat menimbulkan kerusakan pada membran sel, protein, dan deoxyribonucleic acid (DNA) dan menyebabkan gangguan produksi insulin (Saputra, 2018). Dosis yang digunakan yaitu 40 mg/KgBB (Wu & Huan, 2008).
4. Ekstrak daun insulin (*Tithonia diversifolia*) diekstraksi menggunakan metode maserasi dengan ethanol 70%. Simplisia dari *Tithonia diversifolia* diperoleh dari Balai Materia Medika (BMM) Kota Batu. Surat determinasi disajikan pada lampiran 2.
5. Glikuidon merupakan obat antidiabetes golongan sulfonilurea dengan mekanisme kerja meningkatkan sensitivitas jaringan perifer terhadap insulin dan digunakan sebagai obat pembanding dengan dosis 10 mg/KgBB (Tan *et al.*, 2014).

6. *Mesangeal expansion* (ME) merupakan presentase pelebaran matriks mesangeal pada tikus. Perhitungan dilakukan dengan cara mengambil secara acak 20 glomerulus setiap tikus yang dilihat pada mikroskop dengan perbesaran total 4000x dan dianalisa dengan *software* ImageJ. Kemudian dihitung ME dengan rumus = (Mesangeal area / glomerular area) x 100%.

7. *Kidney Hypertrophy Index* (KHI) merupakan data yang mempresentasikan adanya perbesaran organ ginjal akibat diabetes. IHG dihitung dengan rumus bobot ginjal (gram) / bobot tikus (gram) (Jiza, 2016).

8. *Glomerular volume* adalah salah satu parameter yang menggambarkan luas permukaan filtrasi glomerulus didalam ginjal (Han *et al.*, 2016). *Glomerular volume* dihitung dengan rumus  $GV=1,2545 \times GA$  (Wu & Huan, 2008).

#### 4.7 Alat dan Bahan

##### 4.7.1 Persiapan Hewan Coba

a. Alat :

- Timbangan
- Batu
- Baskom
- Galon + pompa
- 1 set kandang
- Wadah untuk menimbang tikus
- Spidol permanen
- Batu
- Handscoon

b. Bahan :

- Sekam
- Pakan + tepung

- Air minum
- Label kandang

#### 4.7.2 Preparasi Ekstrak

##### a. Alat :

- Gelas beaker 1 liter
- Toples kaca 3 liter dan 2 liter
- Timbangan
- Gelas ukur 1 liter
- *Overhead stirer*
- Sendok penyu
- Corong buchner
- Cawan porselen
- *Rotatory evaporator*
- Jerigen
- Oven
- Gelas ukur 10 ml

##### b. Bahan

- Kertas saring
- CMC-Na
- Etanol 70%
- Aquadest

#### 4.7.3 Preparasi Glikuidon

##### a. Alat :

- Gelas ukur
- Batang pengaduk
- Timbangan

##### b. Bahan

- Ekstrak Daun Insulin
- CMC-Na
- Aquades

#### 4.7.4 Pembuatan Tikus Model Diabetes Melitus dan Pemberian Terapi

##### a. Alat

- S spuit 3 ml
- Timbangan
- Wadah organ
- Kandang metabolik

- 1 set kandang tikus - Glukometer

- Strip glukometer

b. Bahan :

- STZ - Glikuidon

- Buffer sitrat pH 4.5 - Ekstrak daun insulin

#### 4.8 Lokasi dan Waktu Penelitian

Penelitian dilakukan di Laboratorium Farmasi Divisi Farmasi Bahan Alam FKUB, Laboratorium Hewan FKG UB, dan Laboratorium Patologi Anatomi FKUB.

Jangka waktu penelitian ini selama 4 bulan dari Juni-November 2020.

#### 4.9 Alur penelitian

##### 4.9.1 Persiapan Hewan Coba

Sampel penelitian adalah model tikus putih galur wistar (*Rattus norvegicus*) jantan usia 6–8 minggu dengan berat 160–200 gram.

1. 36 ekor tikus yang diperoleh, ditimbang untuk mengetahui bobot yang sesuai kriteria.
2. Tikus dirandomisasi dengan metode rancangan acak kelompok (RAK) dan dibagi menjadi 6 kelompok. Masing-masing kelompok sebanyak 6 ekor tikus.
3. Masing-masing tikus dimasukkan kedalam kandang yang telah diberi label dan berisi sekam.
4. Setiap ekor tikus ditandai menggunakan spidol permanen dengan berbagai macam warna untuk mempermudah proses penelitian.



5. Tikus diberi makan berupa pelet yang ditimbang setiap harinya dan diberi minum berupa air mineral.
6. Botol air minum tikus dicuci setiap satu minggu sekali.
7. Sisa pakan ditimbang setiap hari untuk mengetahui asupan tikus setiap harinya.
8. Bobot tikus ditimbang setiap minggu.

#### 4.9.2 Preparasi Ekstrak Daun Insulin dan Pencampuran dengan Pelarut

##### CMC-Na

Daun insulin diekstraksi menggunakan metode maserasi. Sebanyak 1 kg serbuk simplisia daun dimaserasi dengan 10 liter etanol 70% selama 72 jam. Filtrat dipisahkan dengan filtrasi menggunakan corong Buchner dan maserasi diulangi sebanyak 3 kali. Filtrat dipekatkan menggunakan *rotary evaporator* dan oven (Fauziah *et al.*, 2018).

1. Pembuatan ekstrak dibagi menjadi 2 bagian, yang pertama sebanyak 500 gram serbuk simplisia dimaserasi dengan 5 liter etanol 70% selama 72 jam.
2. Ditimbang 500 gram serbuk simplisia menggunakan gelas beaker.
3. Serbuk simplisia dipindahkan kedalam toples kaca berukuran 3 liter lalu ditambah etanol 70% sebanyak 3 liter → Ekstrak A
4. Diaduk menggunakan overhead stirer 200-400 rpm selama 30 menit.
5. Ekstrak A didiamkan pada suhu ruang selama 24 jam.
6. Ekstrak A disaring menggunakan corong buchner → (Residu 1).
7. Filtrat yang telah tersaring ditampung dalam toples kaca berukuran 2 liter (Filtrat 1).

8. Residu 1 ditambahkan 1,5 liter etanol 70%. Kemudian dilakukan proses yang sama seperti prosedur 4-6 → (filtrat 2 + residu 2).
9. Residu 2 ditambahkan 1,5 liter etanol 70%. Kemudian dilakukan proses yang sama seperti prosedur 4-6 → (filtrat 3).
10. Filtrat 1,2,dan 3 dicampur menjadi 1 ditampung dalam jerigen → (Filtrat A).
11. Filtrat A diuapkan untuk mendapatkan ekstrak kental menggunakan rotatory evaporator pada suhu 40°C, 80 rpm.
12. Ekstak kental ditampung pada cawan porselen yang telah ditimbang.
13. Ekstak kental dioven pada suhu 40°C sampai beratnya menjadi konstan atau perubahan bobot tidak melebihi 0.25% (FI V). Dihitung pula rendemen ekstrak menggunakan rumus sebagai berikut :
 
$$\% \text{ Rendemen ekstrak} = \frac{\text{Bobot rendemen ekstrak yang didapat}}{\text{Bobot serbuk simplisia yang diekstrak}} \times 100\%$$
14. Dibuat larutan CMC-Na dengan konsentrasi 1%. Perhitungan pembuatan larutan terdapat pada lampiran 4.
15. Masing-masing ekstrak daun insulin yang telah ditimbang dan sesuai dosis yang diperlukan dilarutkan dalam 1 ml CMC-Na 1%.

#### 4.9.3 Preparasi Glikuidon

1. Dosis glikuidon yang digunakan adalah 10 mg/kgBB.
2. Ditimbang berat badan tikus untuk mengetahui dosis yang dibutuhkan.
3. Glikuidon dilarutkan dalam 1ml CMC-Na 1%. Perhitungan dosis glikuidon terdapat pada lampiran 5.

#### 4.9.4 Pembuatan Tik us Model Diabetes Melitus dan Pemberian Terapi

Pemberian ekstrak daun insulin dan glikuiodon diberikan setiap hari selama 42 hari.

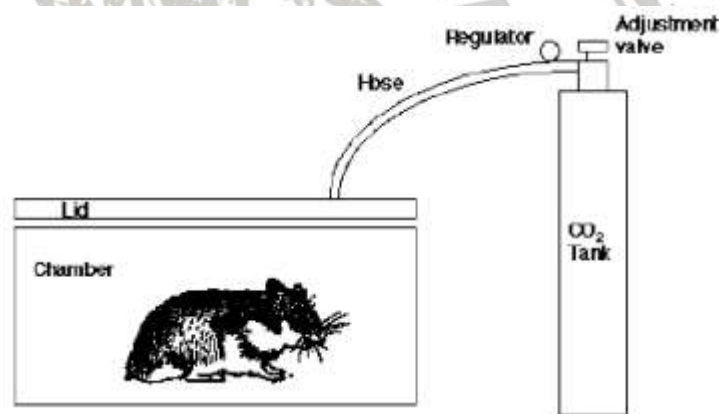
1. 36 tikus yang telah di aklimatisasi selama 7 hari, pada hari ke-8 tikus dipuaskan dan diukur gula darah dengan cara menusuk ujung ekor menggunakan jarum pada spuit.
2. Pada hari ke-8 kelompok tikus KP, P1, P2, P3, dan P4 di injeksi STZ sebanyak 40 mg/kgBB yang dilarutkan dalam buffer sitrat 50mM pada pH 4.5 melalui intraperitoneal (i.p). perhitungan dosis STZ terdapat pada lampiran 6.
3. Pada hari ke-10 tikus dipindahkan ke kandang metabolik untuk penampungan urin.
4. Hari ke-11 atau h+3 setelah induksi STZ, dilakukan pengukuran kadar glukosa darah menggunakan glukometer dan pengukuran kadar protein urin. Tikus dinyatakan diabetes apabila kadar gula darah  $\geq 126$  mg/dL (Kumar dkk., 2015).
5. Pada hari ke-12 kelompok tikus perlakuan P1, P2, dan P3 diberikan terapi ekstrak daun insulin (*Tithonia diversifolia*) dan P4 diberikan Glikuidon setiap hari selama 42 hari.
6. Bobot tikus ditimbang setiap minggu yaitu hari ke-1, ke-7, ke-14, dan ke-28, ke-35 dan ke-42.
7. Kadar glukosa tikus dilakukan setiap minggu terhitung sejak pemberian awal STZ.
8. Hari ke-42 setelah pemberian terapi, tikus dipindahkan ke kandang metabolik untuk menampung urin.
9. Hari ke-43 dilakukan pembedahan tikus untuk pengambilan sampel ginjal serta pengukuran kadar glukosa darah menggunakan glukometer.

#### 4.9.5 Pembedahan Hewan Coba

Proses pembedahan dilakukan pada hari ke-43 setelah proses terapi selama 42 hari. STZ dapat menimbulkan komplikasi ND dalam 3-8 minggu sehingga penelitian dilakukan selama 42 hari (Noshajr *et al.*, 2020). Sebelum proses pembedahan, tikus di eutanasia dengan metode euthanasia kimia.

Euthanasia kimia yaitu memasukkan agen toksin kedalam tubuh dengan suntikan atau inhalasi. Agen yang diperbolehkan antara lain *halothane, enflurane, methoxyflurane, nitrous, carbondioxide, derivat barbiturar, magenisumsulfat, KCl.*

Sedangkan agen yang tidak boleh digunakan yaitu *chloroform, gas hydrogen sianida, CO, chloral hidran, dan strikinin* (Siregar,2017).



**Gambar 4.1. Euthanasia pada Tikus Tabung yang Dialiri gas CO<sub>2</sub>**

Teknik ini umum dilakukan untuk euthanasia burung, mencit atau tikus dalam jumlah banyak dengan jalan meletakkan hewan pada kotak yang tertutup plastik yang dialiri gas CO<sub>2</sub> secara bertahap (Siregar,2017). Tikus dieutanasia menggunakan gas CO<sub>2</sub>, kemudian dibedah. Spesimen organ ginjal dicuci dengan saline dingin, ditimbang, difoto, kemudian dimasukkan ke dalam buffer formalin fosfat 10% dan diberi label.

#### 4.9.6 Pengamatan Histologi Ginjal

Sampel ginjal difiksasi dengan buffer formalin 10%. Kemudian sampel didehidrasi secara berurutan menggunakan alkohol 70%, 80%, dan 90%, alkohol absolut I dan alkohol absolut II selama dua jam pada masing masing konsentrasi alkohol. Tahap selanjutnya yaitu *clearing* yang merupakan proses menghilangkan alkohol dari dalam jaringan dengan cara direndam pada senawa *xylene*. Dilanjutkan dengan proses *embedding* dimana jaringan diinfiltrasi dengan senyawa *paraffin* sehingga jaringan yang awalnya lunak menjadi keras dan mudah saat proses pemotongan. Jaringan diiris dengan ketebalan 4-5  $\mu\text{m}$  dan diletakkan diatas gelas objek kemudian diwarna dengan hematoksilin eosin (HE) (Kamaliani,2019). Pengamatan dilakukan menggunakan mikroskop cahaya dengan perbesaran 400 kali. Sebanyak 20 glomerulus per lapang pandang diambil secara acak untuk penentuan *glomerular area* (GA) dan *mesangial area* (MA) menggunakan *software* ImageJ 1.80. *Glomerular volume* dihitung dengan rumus  $GV=1,2545 \times GA$  (Wu & Huan, 2008). *Mesangial expansion* dipresentasikan dalam bentuk persentase dengan rumus  $ME = (MA/GA) \times 100\%$ .

#### 4.9.7 Perhitungan *Kidney Hipertrophy Index* (KHI)

Ginjal tikus yang digunakan yaitu ginjal kanan dan ginjal kiri kemudian dihitung rata-rata bobot ginjal setiap tikus  $[(\text{bobot ginjal kanan} + \text{bobot ginjal kiri}) / 2]$ . Kemudian dilakukan perhitungan indeks hipertrofi ginjal kanan dan kiri menggunakan rumus :  $\text{bobot ginjal (gram)} / \text{bobot tikus (gram)}$  (Jiza,2016). Kemudian dari kedua ginjal dihitung rata-rata KHI dengan rumus  $KHI = [(KHI \text{ ginjal kanan} + KHI \text{ ginjal kiri}) / 2]$ .

## 4.9.8 Analisa Statistik

### 4.8.6.1 Uji Normalitas

Uji normalitas bertujuan untuk mengetahui apakah suatu variabel terdistribusi normal atau tidak. Data yang terdistribusi normal adalah salah satu syarat dilakukannya uji statistik parametrik. Data yang terdistribusi normal berarti mempunyai sebaran normal. Dengan profil data seperti ini, data dapat dianggap mewakili populasi. Signifikansi dari tes ini adalah:

Signifikan ( $p < 0,05$ ) = distribusi data tidak normal

Tidak signifikan ( $p > 0,05$ ) = distribusi data normal

Jika distribusi data normal, maka pengujian yang dilakukan adalah statistic parametrik. Jika distribusi data tidak normal, maka pengujian yang dilakukan adalah statistic non parametrik (Mulyatiningsih, 2011).

### 4.8.6.2 Uji Homogenitas

Uji homogenitas variansi dilakukan untuk mengetahui apakah kedua kelompok data memiliki varians yang homogen atau tidak. Pengujian homogenitas variansi dilakukan dengan uji Lavene, dimana apabila nilai signifikansi lebih besar dari  $\alpha = 0,05$ , maka hipotesis nol diterima (Mulyatiningsih, 2011).

### 4.8.6.3 Uji *One-way Analysis of Variance* (ANOVA)

Uji ANOVA merupakan uji parametrik yang digunakan apabila variabel independennya memiliki satu faktor saja. Uji ANOVA memiliki beberap asumsi yaitu :

1. Individu-individu dalam sampel harus diambil secara random, secara terpisah satu sama lain dari masing-masing populasinya (sampel bersifat independen).
2. Distribusi gejala yang diselidiki dalam masing-masing populasi itu adalah normal. Jika belum diketahui apakah sampel telah mengikuti distribusi normal atau tidak, dapat dilakukan pengujian normalitas (*test of normality*).
3. Varians dari masing-masing populasi tidak menunjukkan perbedaan yang signifikan satu sama lain. Apabila belum diketahui harus dihitung terlebih dahulu dengan melakukan pengujian terhadap varians (*test of variance*).

Data diasumsikan signifikan jika memiliki nilai  $p < 0.05$ . Apabila sampel tidak memenuhi tiga hal tersebut, dapat dilakukan Uji Non-Parametrik Kruskal-Wallis (Sirait, 2001).

#### 4.8.6.4 Post Hoc Tukey

Uji Post Hoc Tukey digunakan untuk menilai perbedaan spesifik antara tiga atau lebih rata-rata kelompok perlakuan pada suatu penelitian dan hasil uji analisis varians (ANOVA) signifikan dengan nilai  $p < 0.05$ . Jika uji ANOVA secara keseluruhan tidak signifikan, maka tidak perlu mencari perbedaan spesifik pada kelompok perlakuan (Allen, 2017).

## BAB V

## HASIL DAN ANALISA DATA

5.1. Hasil Ekstraksi Simplisia Daun Insulin (*Tithonia diversifolia*)

Proses ekstraksi dibagi menjadi dua bagian, masing-masing dengan bobot 500 gram simplisia dalam 5 liter ethanol 70%. Masing-masing ekstrak setelah dilakukan maserasi, kemudian dikentalkan dengan rotatory evaporator dan di oven sampai bobot stabil. Kemudian dihitung rendemen ekstrak dengan rumus (bobot ekstrak yang diperoleh/bobot simplisia) x 100%. Ekstraksi pertama diperoleh rendemen ekstrak dengan perhitungan sebagai berikut :

$$= \frac{\text{bobot ekstrak yang diperoleh}}{\text{bobot simplisia}} \times 100\%$$

$$= \frac{24,5 \text{ gram}}{286,714 \text{ gram}} \times 100\%$$

$$= 12,075\%.$$

Untuk ekstraksi yang kedua, diperoleh rendemen ekstraksi sebesar :

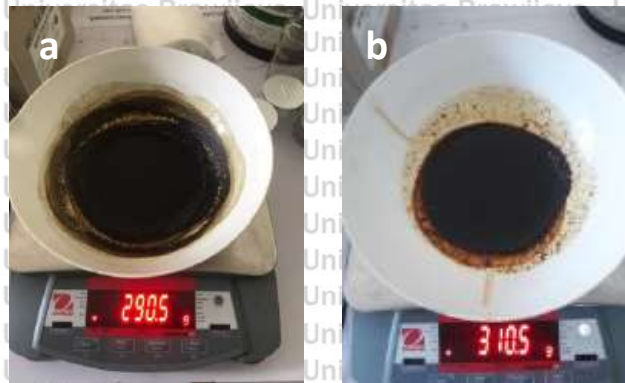
$$= \frac{\text{bobot ekstrak yang diperoleh}}{\text{bobot simplisia}} \times 100\%$$

$$= \frac{52,5 \text{ gram}}{285,714 \text{ gram}} \times 100\%$$

$$= 10,3\%.$$

Dari perhitungan tersebut diperoleh rata-rata rendemen ekstrak sebesar 11,2%.





Gambar 5.1 Hasil ekstraksi ; A. Ekstraksi 1 ; B. Ekstraksi 2

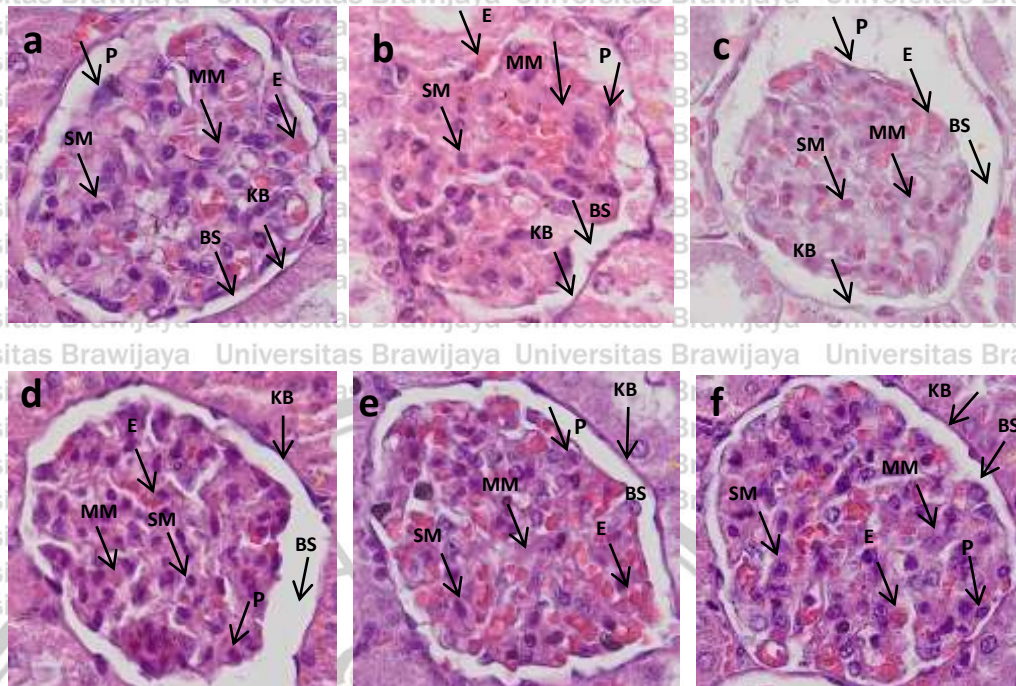
## 5.2. Hasil Pengukuran Glukosa Darah

Setelah dilakukan injeksi dengan STZ, glukosa darah tikus diukur menggunakan glukometer setiap minggu untuk melihat perubahan glukosa sebelum dan sesudah diberikan terapi. Pemeriksaan dilakukan pada minggu ke 0, 7, 14, 21, 28, 35, dan 42. STZ hanya diberikan pada kelompok perlakuan KP, P1, P2, P3 dan P4, sehingga kadar glukosa darah pada kelompok tersebut berbeda jauh dengan kelompok normal. Tikus normal memiliki kadar glukosa darah dalam rentang 83-101 mg/dL, sedangkan tikus yang diinjeksi dengan STZ memiliki kadar glukosa darah sebesar 300-500 mg/dL. Hasil pemeriksaan glukosa darah terdapat pada **lampiran 7** (Khoirunnisa, 2021).

## 5.3. Pengamatan Histologi Ginjal

Sampel ginjal yang telah diwarnai dengan Hematoksilin-Eosin diamati dibawah mikroskop cahaya dengan perbesaran 400x. Sebanyak 20 glomerulus diambil secara acak per lapang pandang kemudian dihitung *mesangial area* (MA) dan *glomerular area* (GA) menggunakan software ImageJ 1.80. **Gambar**

**5.2** merupakan gambar glomerulus dari setiap kelompok perlakuan :



Gambar 5.2. histologi ginjal; A = Kelompok kontrol negatif; B = Kelompok kontrol positif; C = Kelompok perlakuan ETD 50mg/kg/hari; D = Kelompok perlakuan ETD 100mg/kg/hari; E = Kelompok perlakuan ETD 150mg/kg/hari; F = Kelompok perlakuan glikuidon 10mg/kg/hari.  
Keterangan = SM: sel mesangial, MM: matriks mesangial, P: podosit, E = eritrosit, KB: Kapsula Bowman, BS: bowman space.

Berdasarkan hasil percobaan pada pengamatan histologi ginjal, tampak bahwa kelompok normal memiliki struktur yang berbeda dengan kelompok perlakuan KP, P1, P2, P3, dan P4. Hal tersebut dikarenakan kelompok perlakuan diinduksi STZ yang menyebabkan kerusakan sel beta pankreas sehingga terjadi peningkatan glukosa darah. Adanya peningkatan glukosa darah menyebabkan kerusakan histologi ginjal. Dari gambar 5.2 juga dapat dilihat bahwa kelompok kontrol positif memiliki luas area mesangial yang lebih lebar dibandingkan dengan kelompok kontrol negatif. Selain itu, pada kelompok kontrol positif, tampak jumlah sel podosit dan sel mesangial lebih sedikit dibandingkan dengan kelompok kontrol negatif. Secara histologi, kelompok yang mendapatkan terapi yaitu P1, P2, dan P3, tampak mengalami perbaikan glomerulus dimana mesangial area tidak mengalami pelebaran seperti kelompok kontrol positif dan

juga jumlah sel podosit dan sel mesangial lebih banyak dibandingkan dengan kelompok kontrol positif. Berdasarkan hasil tersebut, dapat disimpulkan bahwa kelompok tikus yang diberikan terapi mengalami perbaikan pada histologi ginjal dibandingkan dengan kelompok tikus kontrol positif.

#### 5.4. Pengaruh Ekstrak Daun Insulin (*Tithonia diversifolia*) terhadap Kerusakan Histologi Ginjal

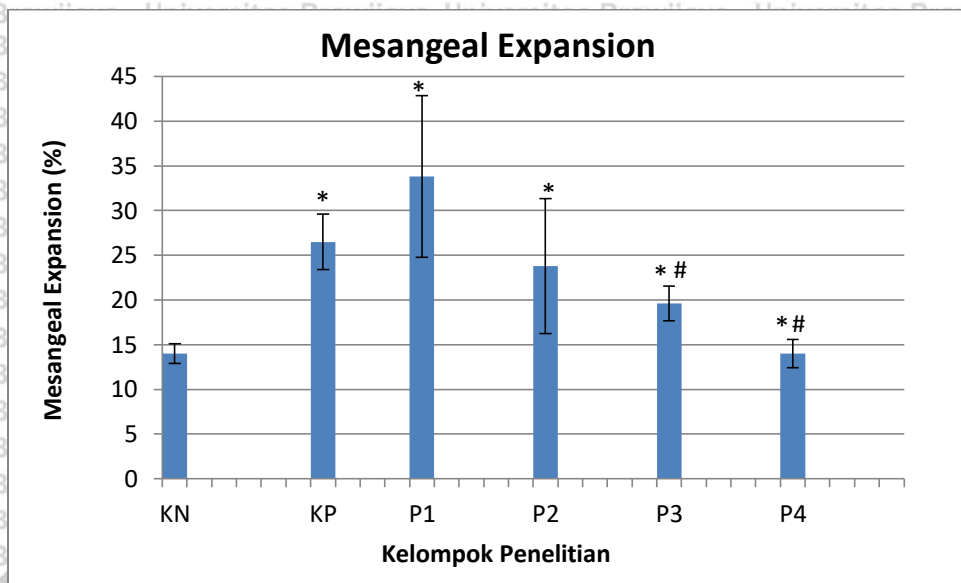
##### 5.4.1. Mesangial Expansion (ME)

Salah satu parameter yang dapat dilihat dari kerusakan ginjal yaitu adanya ekspansi mesangial. ME dihitung menggunakan rumus (Mesangial Area (MA) / Glomerular Area (GA)) x 100% (Wu & Huan, 2008). **Tabel 5.1** menunjukkan hasil ME dari setiap kelompok perlakuan. Berdasarkan data yang diperoleh, diketahui bahwa kelompok positif memiliki nilai presentase lebih besar dibandingkan dengan kelompok normal. Hal tersebut juga dapat dilihat pada **gambar 5.3.** yang menunjukkan grafik dari rata-rata ekspansi mesangial dari masing-masing tikus. Hasil perhitungan lengkap berada pada **lampiran 8.**

Tabel 5.1 Mesangeal expansion dari setiap kelompok perlakuan

Kelompok Percobaan	Sampel	Rata-rata Mesangeal Area	Rata-rata Glomerular Area	Mesangeal Expansion (%)	Rata-Rata	SD
KONTROL NEGATIF n=6	KN 1	24576,1	182988,05	14	14	1,10
	KN 2	23741,15	169845,25	14		
	KN 3	27359,2	202860,4	14		
	KN 4	27878,15	188995,65	15		
	KN 5	26445,55	176072,3	15		
	KN 6	20836,8	170011	12		
KONTROL POSITIF n=4	KP 1	46600,2	46600	24	26,5	3,11
	KP 2	52742,2	52742	25		
	KP 4	45174,45	45175	26		
	KP 5	64671,65	64677	31		
PERLAKUAN 1 n=5	P1-1	63250	153259	42	33,8	9,04
	P1-2	51119	184208	29		
	P1-3	50403	181096	28		
	P1-5	82973	184466	45		
	P1-6	42143	172768	25		
PERLAKUAN 2 n=5	P2-1	35950	157950	24	23,8	7,56
	P2-2	196151	70110	36		
	P2-3	46728	198655	24		
	P2-4	27112	163644	17		
	P2-5	32463	181987	18		
PERLAKUAN 3 n=5	P3-1	38216	186096	21	19,6	1,95
	P3-2	32007	168162	19		
	P3-4	35560	203989	17		
	P3-5	37610	171398	22		
PERLAKUAN 4 n=5	P4-1	35870	226088	16	14	1,58
	P4-2	24957	176709	14		
	P4-4	20836	163867	13		
	P4-5	24169	175823	15		
	P4-6	21246	183001	12		

Keterangan: KN = Kelompok kontrol negatif; KP = Kelompok kontrol positif; P1 = Kelompok perlakuan ETD 50mg/kg/hari; P2 = Kelompok perlakuan ETD 100mg/kg/hari ; P3 = Kelompok perlakuan ETD 150mg/kg/hari ; P4 = Kelompok perlakuan glikuidon 10mg/kg/hari.



Gambar 5.3. Grafik tingkat kerusakan glomerulus berdasarkan *mesangial expansion* (ket: \*P<0.05 terhadap KN, #P<0.05 terhadap KP)

Tabel 5.2 Hasil uji post hoc Mann-Whitney *Mesangial Expansion*

P	KN	KP	P1	P2	P3	P4
KN		0.009*	0.006*	0.005*	0.005*	1.000
KP	0.009*		0.176	0.213	0.014*	0.014*
P1	0.006*	0.176		0.047*	0.009*	0.009*
P2	0.005*	0.213	0.047*		0.399	0.009*
P3	0.005*	0.014*	0.009*	0.399		0.009*
P4	1.000	0.014*	0.009*	0.009*	0.009*	

Berdasarkan hasil analisa data, diperoleh hasil signifikansi pengaruh ekstrak daun insulin terhadap ekspansi mesangial seperti pada **tabel 5.2**.

Sebelum dilakukan uji tersebut, analisa data diawali dengan melakukan uji pendahuluan yaitu uji normalitas dan uji homogenitas. Berdasarkan hasil analisa, data ME terdistribusi normal ( $p>0,05$ ). Hasil uji normalitas menggunakan uji Shapiro-Wilk masing-masing kelompok ditunjukkan pada **tabel 5.3**.

Tabel 5.3 Hasil Uji Normalitas Shapiro-Wilk

Kelompok	p-value
KN	0,196
KP	0,251
P1	0,758
P2	0,967
P3	0,078
P4	0,240

Keterangan: KN = Kelompok kontrol negatif; KP = Kelompok kontrol positif; P1 = Kelompok perlakuan ETD 50mg/kg/hari; P2 = Kelompok perlakuan ETD 100mg/kg/hari ; P3 = Kelompok perlakuan ETD 150mg/kg/hari ; P4 = Kelompok perlakuan glikuidon 10mg/kg/hari.

Setelah itu dilakukan uji homogenitas *Levene Test Homogeneity of Variance* menunjukkan nilai signifikansi sebesar 0.001 ( $p > 0.05$ ) yang berarti data signifikan. Nilai tersebut menunjukkan bahwa data tidak homogen. Berdasarkan hasil uji normalitas dan homogenitas, data tidak memenuhi syarat untuk dilakukan uji parametrik. Uji lanjutan yang dapat digunakan yaitu jenis uji non-parametrik seperti uji komparasi Kruskal-Wallis dan uji post hoc Mann-Whitney.

Hasil uji komparasi Kruskal-Wallis tampak nilai Sig = 0.000 ( $p < 0,05$ ). Berdasarkan hasil uji statistik, dapat disimpulkan bahwa terdapat perbedaan yang signifikan antara kelompok kontrol dan kelompok perlakuan terhadap presentase ekspansi mesangeal hewan coba.

Dari hasil uji post hoc Mann-Whitney, dapat disimpulkan bahwa terdapat perbedaan signifikan antara kelompok kontrol negatif dengan kelompok kontrol positif dengan nilai  $p = 0.009$ . Selain itu, kelompok kontrol negatif tidak berbeda signifikan dengan kelompok terapi P4 karena memiliki nilai signifikansi 1.000 ( $p < 0.005$ ). Hal ini disebabkan karena keduanya memiliki rata-rata ME yang sama yaitu 14%. Selanjutnya, kelompok kontrol negatif hanya berbeda signifikan

dengan kelompok terapi P3 yaitu dosis ETD 150 mg/kgBB dan P4 yaitu glikuidon 10 mg/kgBB. Selain itu, semua kelompok terapi berbeda signifikan dengan kelompok P4 dimana kelompok tersebut merupakan kelompok kontrol pembandingan dimana hewan coba diberikan terapi glikuidon yang merupakan obat golongan sulfonilurea, oleh karena itu hasil menunjukkan perbedaan yang signifikan jika dibandingkan dengan semua kelompok terapi. Berdasarkan hasil tersebut, dapat disimpulkan bahwa kelompok tikus yang mengalami perbaikan *mesangial expansion* ginjal yaitu kelompok P3 dengan pemberian terapi dosis ekstrak daun insulin 150 mg/KgBB dan kelompok P4 dengan glikuidon 10 mg/KgBB.

#### 5.4.2. *Glomerular Volume*

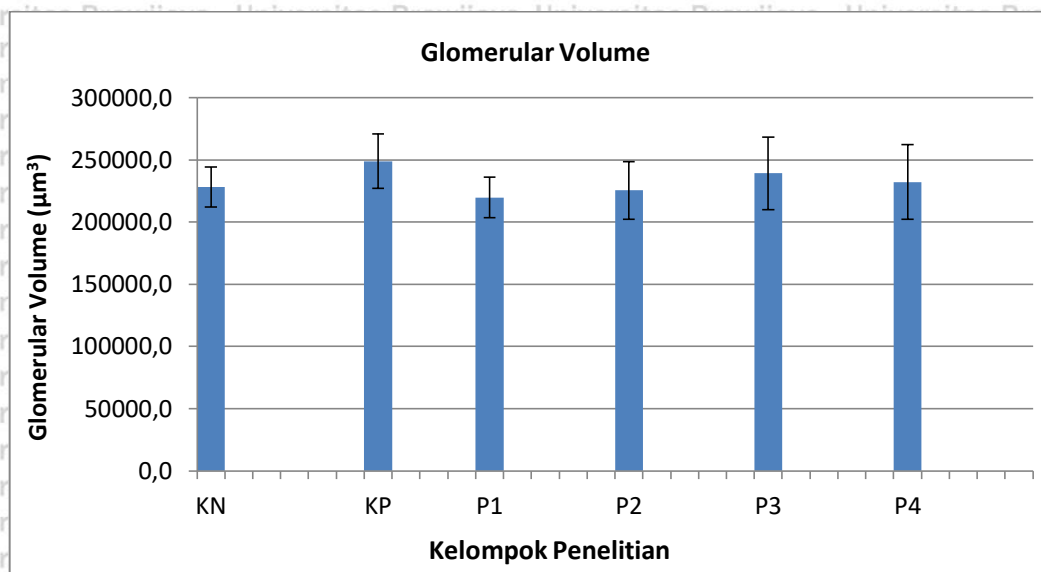
Parameter lain yang dapat diamati yaitu *glomerular volume* (GV). GV adalah salah satu tanda kerusakan ginjal akibat penyakit DM yang ditandai dengan adanya peningkatan volume glomerulus. Selain itu, GV dapat mencerminkan luas permukaan dari filtrasi glomerulus yang terdapat pada suatu ginjal. Penentuan nilai GV dihitung menggunakan rumus  $GV = 1,2545 \times GA$  (Wu dan Huan, 2008). **Tabel 5.4** menunjukkan hasil GV dari masing-masing tikus hewan coba, perhitungan lengkap berada pada **lampiran 9**.

Tabel 5.4 *Glomerular volume* tikus dari setiap kelompok perlakuan

Kelompok Percobaan	Sampel	Glomerular Area	Glomerular Volume ( $\mu\text{m}^3$ )	Rata-rata GV	SD
KONTROL NEGATIF (n=6)	KN 1	24576,1	229558,5	228062,4	15981,29
	KN 2	23741,15	213070,9		
	KN 3	27359,2	254488,4		
	KN 4	27878,15	237095,0		
	KN 5	26445,55	220882,7		
	KN 6	20836,8	213278,8		
KONTROL POSITIF (n=4)	KP 1	46600,2	243685,6	248927,3	21740,93
	KP 2	52742,2	265674,1		
	KP 4	45174,45	220328,7		
	KP 5	64671,65	266020,9		
PERLAKUAN 1 (n=5)	P1-1	63250	192262,8	219737,6	16465,92
	P1-2	51119	231089,3		
	P1-3	50403	227185,4		
	P1-5	82973	231412,8		
	P1-6	42143	216737,6		
PERLAKUAN 2 (n=5)	P2-1	35950	198148,1	225405,0	23183,06
	P2-2	196151	246071,0		
	P2-3	46728	249213,0		
	P2-4	27112	205290,8		
	P2-5	32463	228302,1		
PERLAKUAN 3 (n=5)	P3-1	38216	233457,9	239158,8	29138,04
	P3-2	32007	210959,3		
	P3-4	35560	255904,2		
	P3-5	37610	215019,0		
	P3-6	42636	280453,5		
PERLAKUAN 4 (n=5)	P4-1	35870	283627,4	232204,8	30027,79
	P4-2	24957	221681,3		
	P4-4	20836	205571,3		
	P4-5	24169	220569,4		
	P4-6	21246	229574,7		

Keterangan: KN = Kelompok kontrol negatif; KP = Kelompok kontrol positif; P1 = Kelompok perlakuan ETD 50mg/kg/hari; P2 = Kelompok perlakuan ETD 100mg/kg/hari; P3 = Kelompok perlakuan ETD 150mg/kg/hari; P4 = Kelompok perlakuan glikuidon 10mg/kg/hari.





Gambar 5.4. Grafik tingkat kerusakan glomerulus berdasarkan *glomerular volume*

Analisa data pada parameter ini juga dilakukan uji normalitas dan homogenitas sebagai syarat untuk melakukan uji komparasi. **Tabel 5.5** menunjukkan bahwa setiap kelompok memiliki nilai signifikansi ( $p > 0,05$ ) sehingga data dapat dinyatakan terdistribusi normal.

Tabel 5.5 Hasil Uji Normalitas Shapiro-Wilk

Kelompok	p-value
KN	0,078
KP	0,240
P1	0,196
P2	0,251
P3	0,758
P4	0,967

Keterangan: KN = Kelompok kontrol negatif; KP = Kelompok kontrol positif; P1 = Kelompok perlakuan ETD 50mg/kg/hari; P2 = Kelompok perlakuan ETD 100mg/kg/hari ; P3 = Kelompok perlakuan ETD 150mg/kg/hari ; P4 = Kelompok perlakuan glikuidon 10mg/kg/hari;

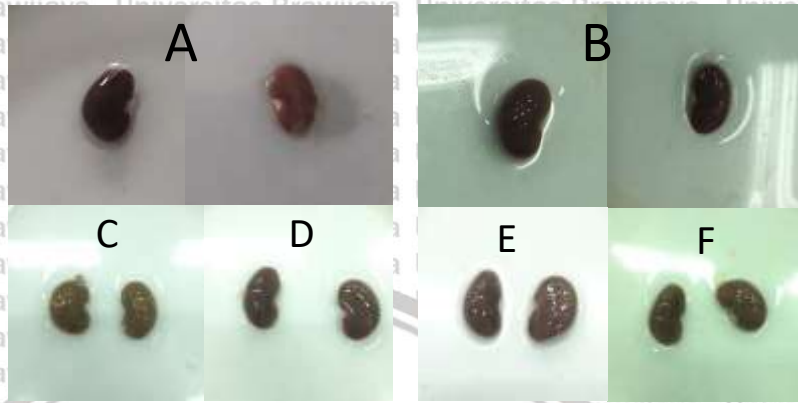
Selanjutnya dilakukan uji homogenitas *Levene Test Homogeneity of Variance*. Setelah dilakukan analisa, didapatkan nilai signifikansi 0.622 ( $p > 0,05$ )

yang artinya variasi data homogen. Oleh karena data terdistribusi normal dan bervariasi homogen, maka dilakukan uji komparasi parametrik menggunakan Uji *One-Way ANNOVA*.

Setelah dilakukan analisa, didapatkan nilai signifikansi 0,489 ( $p < 0,05$ ) yang berarti tidak terdapat perbedaan volume glomerulus yang signifikan antar kelompok hewan coba. Oleh karena itu, data GV tidak dilakukan uji lanjutan seperti pada analisa sebelumnya.

#### 5.4.3. *Kidney Hypertrophy Index*

Perubahan struktur pada ginjal menggambarkan adanya kerusakan yang disebabkan oleh beberapa penyakit seperti DM. Salah satu parameter yang dapat diamati untuk mengetahui terjadinya hipertrofi yaitu massa pada ginjal. Sebelum dilakukan pembuatan preparat, ginjal kanan dan kiri ditimbang dan difoto seperti pada **gambar 5.5**. KHI dihitung menggunakan rumus bobot ginjal (g) / bobot tikus (g). Pada penelitian ini, dapat diketahui bahwa kelompok yang diinduksi dengan STZ yaitu KP, P1, P2, P3, dan P4 mengalami perubahan massa ginjal dibandingkan dengan kelompok kontrol negatif. **Tabel 5.6** merupakan KHI dari setiap kelompok perlakuan, hasil perhitungan secara lengkap berada pada **lampiran 9**.



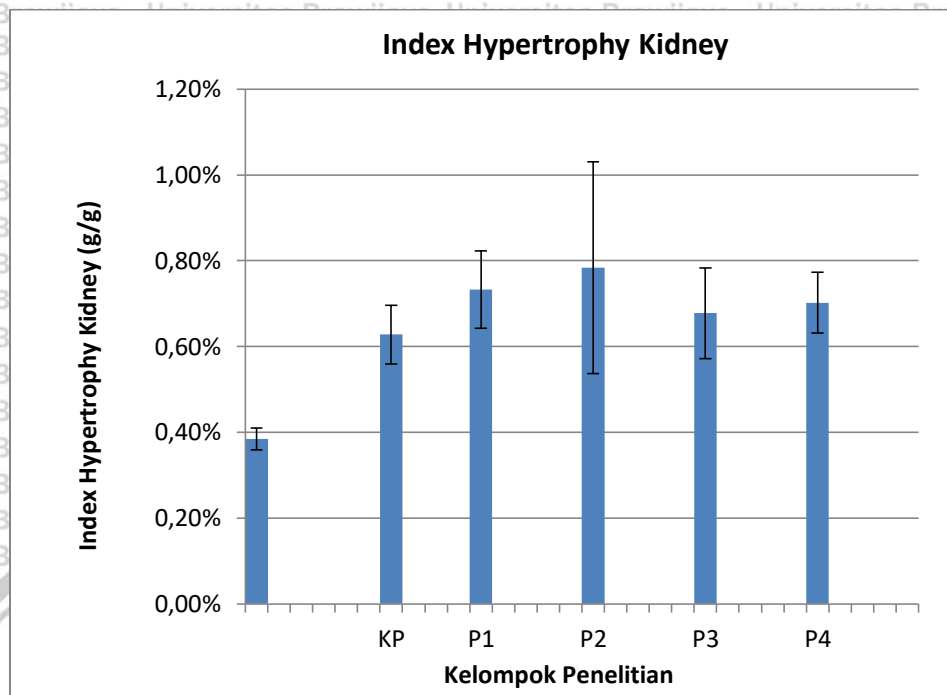
Gambar 5.5 Ginjal tikus sebelum pembuatan preparat. Ket; A: kontrol negatif; B:kontrol positif; C: P1 (ETD 50mg/kgBB); D: P2 (ETD 100mg/kgBB); E: (ETD 150mg/kgBB); F: glukuidon 10mg/kgBB



Tabel 5.6 *Kidney Hypertrophy Index* tikus dari setiap kelompok perlakuan

Kelompok Percobaan	Sampel	Rata-rata Bobot Ginjal (g)	Bobot tikus (g)	KHI (%)	Rata-rata KHI (%)	SD
KONTROL NEGATIF (n=6)	KN 1	1,01	268	0,38%	0,38	0,03
	KN 2	0,93	250	0,37%		
	KN 3	1,01	279	0,36%		
	KN 4	0,95	259	0,37%		
	KN 5	1,15	266	0,43%		
	KN 6	0,85	215	0,40%		
KONTROL POSITIF (n=4)	KP 1	1,09	171	0,64%	0,63	0,07
	KP 2	1,03	178	0,58%		
	KP 4	1,17	163	0,72%		
	KP 5	0,94	165	0,57%		
PERLAKUAN 1 n=5	P1-1	1,05	158	0,66%	0,73	0,09
	P1-2	0,98	117	0,83%		
	P1-3	1,29	158	0,82%		
	P1-5	0,88	139	0,63%		
	P1-6	1,09	152	0,72%		
PERLAKUAN 2 n=5	P2-1	1,15	160	0,72%	0,78	0,25
	P2-2	1,01	151	0,67%		
	P2-3	1,97	162	1,21%		
	P2-4	1,12	154	0,73%		
	P2-5	0,79	135	0,58%		
PERLAKUAN 3 n=5	P3-1	1,31	259	0,51%	0,68	0,11
	P3-2	1,06	137	0,77%		
	P3-4	0,96	139	0,69%		
	P3-5	0,97	145	0,67%		
	P3-6	1,01	135	0,75%		
PERLAKUAN 4 n=5	P4-1	1,13	144	0,79%	0,70	0,07
	P4-2	0,93	154	0,60%		
	P4-4	0,96	129	0,74%		
	P4-5	0,96	135	0,71%		
	P4-6	0,83	125	0,67%		

Keterangan: KN = Kelompok kontrol negatif; KP = Kelompok kontrol positif; P1 = Kelompok perlakuan ETD 50mg/kg/hari; P2 = Kelompok perlakuan ETD 100mg/kg/hari ; P3 = Kelompok perlakuan ETD 150mg/kg/hari ; P4 = Kelompok perlakuan glikuidon 10mg/kg/hari;



Gambar 5.6. Grafik tingkat kerusakan glomerulus berdasarkan KHI

Tabel 5.7 Hasil post hoc Tukey KHI

P	KN	KP	P1	P2	P3	P4
KN		0,005*	0,000*	0,000*	0,000*	0,000*
KP	0,005*		0,609	0,529	0,979	0,816
P1	0,000*	0,609		1,000	0,931	0,999
P2	0,000*	0,221	0,917		0,754	0,917
P3	0,000*	0,462	0,979	0,885		0,993
P4	0,000*	0,816	0,999	0,995	0,993	

Berdasarkan hasil uji post hoc pada **tabel 5.7**, tampak beberapa kelompok menunjukkan hasil yang signifikan. Sebelum melakukan uji tersebut, sama halnya seperti parameter yang lainnya, dilakukan uji normalitas dan uji homogenitas. Hasil uji normalitas dari IHK terangkum pada **tabel 5.8** dengan nilai signifikansi ( $p > 0,05$ ) yang berarti data terdistribusi normal.

Tabel 5.8 Hasil Uji Normalitas Shapiro-Wilk

Kelompok	p-value
KN	0,494
KP	0,389
P1	0,401
P2	0,243
P3	0,466
P4	0,878

Keterangan: KN = Kelompok kontrol negatif; KP = Kelompok kontrol positif; P1 = Kelompok perlakuan ETD 50mg/kg/hari; P2 = Kelompok perlakuan ETD 100mg/kg/hari ; P3 = Kelompok perlakuan ETD 150mg/kg/hari ; P4 = Kelompok perlakuan S glikuidon 10mg/kg/hari.

Uji homogenitas dilakukan dengan *Levene's test* ( $p > 0.05$ ). Setelah dilakukan analisa, didapatkan nilai Sig. = 0.265 yang berarti variasi data homogen. Setelah dilakukan kedua uji tersebut, maka dilanjutkan dengan uji komparasi parametrik karena data terdistribusi normal dan homogen. Jenis uji yang digunakan yaitu uji *One-Way ANNOVA*. Hasil data menunjukkan nilai signifikansi 0.000 ( $p < 0,05$ ) yang berarti terdapat perbedaan data yang signifikan antara kelompok kontrol negatif dengan kelompok perlakuan.

Selanjutnya dilakukan uji lanjutan untuk mengetahui kelompok mana saja yang memiliki perbedaan yang signifikan. Jenis uji yang digunakan yaitu uji post hoc Tukey. Berdasarkan data tersebut, dapat disimpulkan bahwa kelompok kontrol negatif memiliki indeks hipertrofi ginjal yang berbeda signifikan ( $p < 0,05$ ) jika dibandingkan dengan kelompok kontrol positif. Hal tersebut menandakan bahwa STZ dapat menyebabkan peningkatan massa ginjal pada tikus diabetes. Namun, kontrol negatif juga memiliki perbedaan yang signifikan terhadap kelompok terapi P1, P2, P3, dan P4 dengan masing-masing nilai signifikansi secara berurutan yaitu 0.000, 0.000, 0.000, 0.000. Pada penelitian ini juga

ditunjukkan bahwa kelompok kontrol positif (KP) jika dibandingkan dengan kelompok terapi yaitu P1, P2, P3, dan P4 tidak ada satupun data yang signifikan karena nilai dari p-value  $>0,05$ . Adanya perbedaan yang tidak signifikan pada penelitian ini dikarenakan perbedaan KHI dari setiap kelompok tidak berbeda jauh.





## BAB VI

### PEMBAHASAN

#### 6.1 Pembahasan Hasil Penelitian

Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui efek ekstrak daun insulin (*Tithonia diversifolia*) terhadap kerusakan histologi ginjal pada tikus model diabetes mellitus secara in vivo. Parameter yang diamati pada penelitian ini yaitu ekspansi mesangial, glomerular volume, dan indeks hipertrofi ginjal. Ketiga parameter tersebut merupakan parameter yang dapat menilai kerusakan ginjal akibat induksi dari agen diabetes.

Penelitian ini dilakukan selama 42 hari karena diketahui bahwa STZ dapat menimbulkan komplikasi ND dalam 3-8 minggu sehingga penelitian dilakukan selama 42 hari (Noshajr et al., 2020). Kondisi hiperglikemia pada tikus disebabkan oleh induksi dari agen diabetes yaitu STZ dengan dosis 40 mg/kgBB. STZ merupakan senyawa yang diproduksi oleh bakteri *streptomyces achromogenes*. Senyawa ini merupakan senyawa sitotoksik analog glukosa dan bersifat sitotoksik terhadap sel beta pankreas. STZ sudah umum digunakan dalam berbagai macam penelitian untuk menginduksi terjadinya diabetes pada hewan coba (Eleazu et al., 2013). STZ bekerja dengan cara membentuk radikal bebas sangat reaktif yang dapat menimbulkan kerusakan pada membran sel, protein, dan deoxyribonucleic acid (DNA), sehingga menyebabkan gangguan produksi insulin oleh sel beta langerhans pancreas. STZ juga mampu memasuki sel beta langerhans pankreas melalui glucose transporter 2 (GLUT 2) dan menyebabkan alkilasi (Saputra et al, 2018). Transporter GLUT 2 tidak hanya diekspresikan pada sel beta pancreas, namun juga pada hepatosit dan sel



tubular ginjal. Hal ini menjelaskan mengapa pada hewan coba yang diinduksi oleh STZ juga mengalami kerusakan pada liver dan ginjal (Eleazu et al.,2013).

Ginjal merupakan salah satu organ yang terkena efek toksisitas jika tubuh terpapar oleh antinutrisi dan mudah mengalami kelainan sehingga berampak secara morfologis dan fungsional sehingga terjadi kerusakan. Kerusakan dapat , proliferasi sel ,infiltrasi sel radang dan lain lain (Kes et al, 2018). Pada ginjal terdapat beberapa sel seperti sel mesangial yang berada pada matriks mesangium dimana komponennya terdiri dari berbagai macam protein seperti kolagen tipe III, IV, V dan VI, proteoglikan heparan sulfat dan protein serat elastis seperti fibronectin, laminin, entaktin, dan fibrilin-1. Perubahan bentuk mesangial pada ginjal merupakan ciri khas penyakit tertentu seperti nefropati diabetik. Kondisi ini ditandai dengan adanya sklerosis glomerulus akibat penumpukan matriks mesangial dan penebalan membran basal glomerulus (Maezawa et al., 2013). Sel mesangial memiliki peran penting dalam mempertahankan fungsi glomerulus, bersama dengan podosit dan sel endotel untuk membentuk unit filtrasi fungsional (Marciano,2019). Selain itu, sel mesangial berperan sebagai sel penyokong pada glomerulus dan matriks mesangial. Sel mesangial dapat menghasilkan interleukin 1 dengan demikian, sel mesangial tidak hanya dapat mengontrol filtrasi glomerulus, tetapi juga dapat terlibat dalam respon terhadap cedera lokal, termasuk proliferasi sel dan remodeling membran basal (Maezawa et al., 2013).

Berdasarkan hasil penelitian ini, ginjal tikus pada kelompok kontrol positif mengalami ekspansi mesangial yang ditandai dengan pelebaran matriks, hal tersebut didukung dari hasil gambaran histologi ginjal dan presentase ekspansi mesangial dari kelompok tikus diabetes sebesar 27% sedangkan kelompok

normal hanya 14%. Seperti yang dilakukan oleh peneliti sebelumnya, yaitu oleh Samsu *et al* (2020), kondisi hiperglikemia dapat menyebabkan kerusakan ginjal seperti ekspansi mesangial. Pada penelitian tersebut dijelaskan bahwa tikus wistar yang diinjeksi STZ 40 mg/kg BB mampu menyebabkan ekspansi mesangial. Pada tikus normal, presentase ekspansi mesangial sebesar 75% sedangkan pada tikus diabetes presentase ekspansi mesangial sebesar 85% ( $p < 0.05$ ).

Adanya pelebaran matriks dapat dipicu oleh tingginya gula darah melalui beberapa mekanisme seperti aktivasi protein kinase C, pembentukan *advanced glycosylation end* (AGE) dan *receptor advanced glycosylation end* (RAGE), dan adanya peningkatan ROS (Schlondorff dan Banas, 2009). Menurut Bandiara *et al* (2011), kerusakan ginjal pada kondisi hiperglikemia berawal dari hilangnya podosit pada glomerulus. Selain itu, pada penelitian yang dilakukan oleh Alicic *et al* (2017), menunjukkan bahwa terjadi perubahan struktur ginjal pada tikus diabetes salah satunya yaitu ekspansi mesangial yang diakibatkan oleh kondisi hiperglikemia. Adanya ekspansi mesangial tersebut dapat diakibatkan oleh hiperplasia dari sel mesangial dan seksresi yang berlebih dari komponen ECM (Pourghasem *et al.*, 2015).

Dari hasil *mesangial expansion*, dosis ekstrak daun insulin menunjukkan efek terapi pada dosis 150 mg/KgBB dan glikuidon pada dosis 10 mg/kgBB. Hasil ini sesuai dengan hasil penelitian oleh Kes *et al* (2018) menunjukkan bahwa ekstrak daun insulin pada dosis 150 mg/kgBB memiliki efek terhadap pencegahan kerusakan ginjal pada tikus mencit jantan yang ditandai dengan tidak adanya fibrosis glomerulus, atrofi glomerulus dan radang interstitial. Begitupula penelitian yang dilakukan oleh Tian *et al* (2018) pada tikus KKAY

model diabetes nefropati dengan *high fat compound feed* menunjukkan bahwa glikuidone dapat meningkatkan fungsi ginjal yang ditunjukkan dengan adanya penurunan protein urin, nitrogen urea darah, kreatinin dan trigliserida serum nitrogen urea darah, kreatinin dan trigliserida serum. Selain itu, Ke *et al* (2014) dalam penelitiannya menjelaskan bahwa terapi obat antidiabetik glikuidon dapat menurunkan kadar glukosa darah, kadar albumin dan proteinuria pada tikus diabetes. Tikus yang digunakan yaitu Goto-Kakizaki (*GK*), dimana tikus tersebut merupakan tikus model diabetes tipe 2 non-obesitas dan non-hipertensi (Badole *et al*, 2015) dan diberikan makan tipe *high-fat diet*. Pada penelitian tersebut dijelaskan bahwa glikuidone memiliki mekanisme dapat menurunkan ekspresi dari RAGE pada kapiler glomerulus, penurunan aktifitas Protein Kinase C $\beta$  (PKC $\beta$ ) dan peningkatan Protein Kinase A (PKA), dan peningkatan reabsorpsi oleh tubulus.

Parameter yang kedua yakni mengenai volume glomerulus. Glomerulus merupakan salah satu unit ginjal yang berfungsi sebagai sistem penyaringan yang disusun oleh kumpulan dari beberapa kapiler yang dilindungi oleh kapsula bowman (Pollak *et al*, 2014). Salah satu perubahan struktural pertama pada nefropati diabetes yaitu terjadi pembesaran ginjal. Perubahan ini ditunjukkan dengan adanya hipertrofi ginjal pada sel glomerulus dan tubulus proksimal. Di sisi lain, perubahan ginjal juga dapat menyebabkan atrofi yang dipicu oleh hilangnya nefron atau perubahan fungsi nefron yang tidak normal, akibatnya fungsi ginjal menjadi turun (Habib S.L., 2018).

Berdasarkan hasil penelitian, glomerular volume pada tikus kelompok kontrol positif memiliki nilai paling tinggi dibandingkan dengan kelompok kontrol negatif dan kelompok terapi P1 (ETD 50 mg/kgBB), P2 (ETD 100 mg/kgBB), P3

(ETD 150 mg/kgBB) dan P4 (glikuidon 10mg/kgBB). Penyebab adanya peningkatan volume glomerulus dapat diakibatkan karena kondisi diabetes/hiperglikemia sehingga mengakibatkan perubahan besar pada struktur ginjal (Habib, 2018). Pada penelitian ini juga ditunjukkan bahwa tidak terjadi perbedaan yang signifikan antara kelompok kontrol positif dengan kelompok terapi P1 (ETD 50 mg/kgBB), P2 (ETD 100mg/kgBB), P3 (ETD 150 mg/kgBB) dan P4 (glikuidon 10mg/kgBB).

Peningkatan volume glomerulus pada kelompok tikus kontrol positif merupakan manifestasi klinis dari penyakit diabetes mellitus akibat dari adanya ekspansi mesangial. Hal tersebut karena ekspansi mesangial menyebabkan hilangnya beberapa lumen kapiler yang secara bertahap dapat hilang secara keseluruhan sehingga terjadi peningkatan volume glomerulus, peningkatan IgG dan IgM, komplemen C dan kebocoran fibrin di glomerulus (Pourghasem *et al.*, 2015).

Peningkatan *glomerular volume* pada hasil penelitian ini, sesuai dengan penelitian sebelumnya yang telah dilakukan oleh Li *et al* (2004) mengenai efek diabetes terhadap hemodinamik glomerulus pada tikus Munich Wistar model diabetes yang diinduksi oleh STZ dengan dosis 65 mg/kgBB menunjukkan adanya peningkatan volume glomerulus pada tikus diabetes dibandingkan dengan tikus normal. Pengukuran volume glomerulus dilakukan pada hari ke-4 dan ke-28 dan terdapat perbedaan yang signifikan ( $p < 0.001$ ) pada volume glomerulus tikus diabetes, yang berarti volume glomerulus semakin meningkat seiring berjalannya waktu tanpa diberi terapi apapun. Perubahan rata-rata volume glomerulus yaitu pada hari ke-4 berkisar  $1,4 \times 10^3 \mu\text{m}^3$  menjadi  $2,4 \times 10^3 \mu\text{m}^3$ . Adapun penelitian lainnya yang dilakukan oleh Samsu *et al* (2020) terhadap

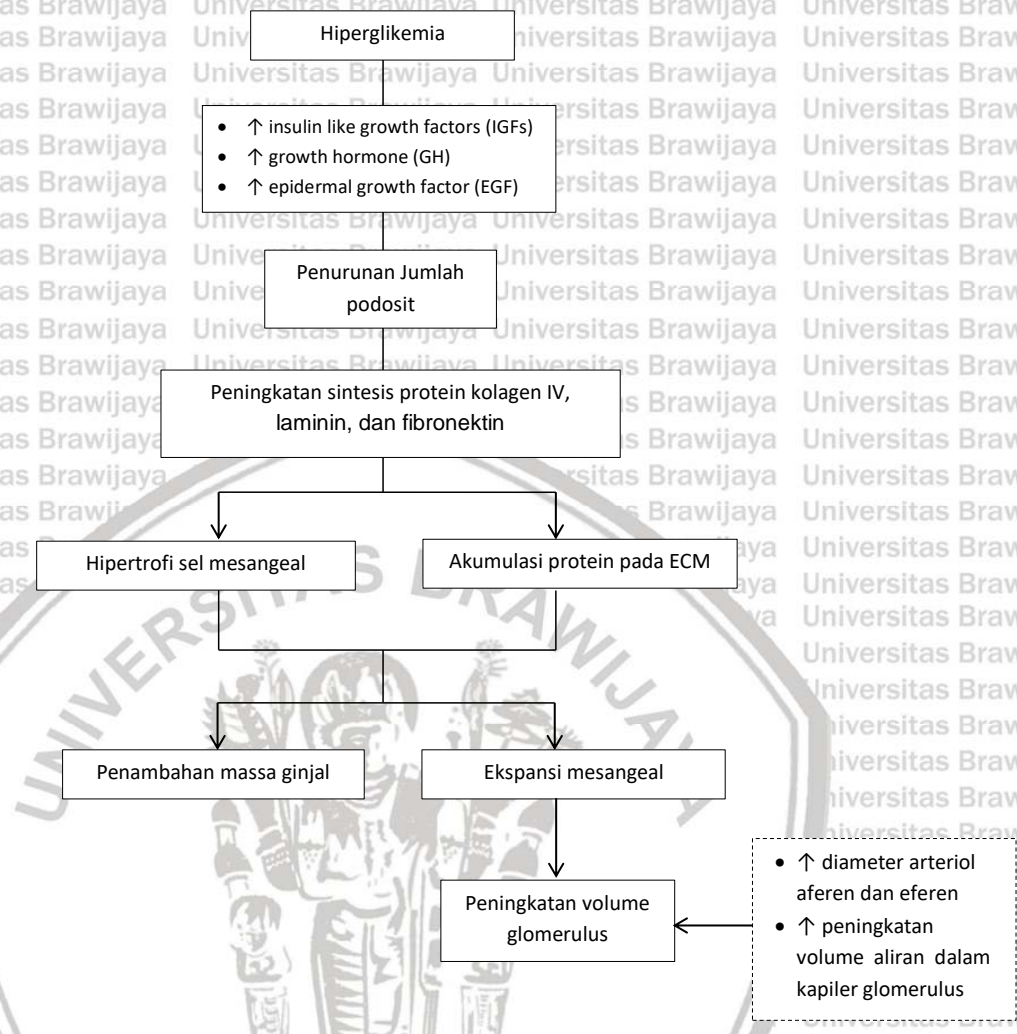
tikus wistar model diabetes melitus yang diinduksi dengan STZ 40 mg/kgBB, dari penelitian tersebut menunjukkan bahwa kondisi diabetes mampu meningkatkan volume glomerulus. Pada tikus normal, volume glomerulus berkisar pada rentang nilai  $800 \times 10^5 \mu\text{m}^3$ , sedangkan pada tikus diabetes volume glomerulus berkisar pada rentang  $1300 \times 10^5 \mu\text{m}^3$ . Namun, efek pemberian terapi dengan ekstrak daun insulin belum menunjukkan hasil yang signifikan. Hal tersebut dapat diakibatkan oleh kurangnya dosis yang digunakan untuk mengurangi volume glomerulus pada tikus diabetes.

Parameter yang ketiga yaitu *Kidney Hypertrophy Index* (KHI). KHI merupakan data yang mempresentasikan adanya perbesaran organ ginjal akibat diabetes. Salah satu faktor penambahan massa pada ginjal yaitu adanya pengaruh keseimbangan antara akumulasi protein baru dan degradasi protein yang ada. Selain itu, stimulasi dari sintesis protein dapat menyebabkan pembesaran sel dan peningkatan kandungan protein seluler total yang nantinya akan menyebabkan hipertrofi seluler (Habib S.L, 2018).

Berdasarkan hasil penelitian ini, kondisi hiperglikemia juga mengakibatkan adanya hipertrofi pada ginjal yang ditandai dengan penambahan massa pada ginjal. Hasil analisa data KHI menunjukkan bahwa kelompok kontrol negatif memiliki perbedaan yang signifikan terhadap kelompok kontrol positif dan kelompok terapi P1 (ETD 50 mg/kgBB), P2 (ETD 100 mg/kgBB), P3 (ETD 150 mg/kgBB) dan P4 (glikuidon 10mg/kgBB). Rata-rata KHI pada kelompok kontrol negatif yaitu 0,0058 g/g, sedangkan KHI pada kelompok kontrol positif yaitu 0.0096 g/g. Pada penelitian ini tidak ditunjukkan perbedaan KHI yang signifikan dari setiap kelompok terapi, hal tersebut menandakan belum adanya perbaikan pada tikus model diabetes setelah diberikan terapi ekstrak daun insulin.

Hasil dari penelitian ini sama dengan penelitian yang dilakukan oleh Tzeng *et al* (2013) yang menggunakan tikus wistar jantan dan diinduksi dengan STZ 60 mg/kgBB. Pada penelitian tersebut menunjukkan bahwa, terjadi peningkatan massa ginjal pada tikus diabetes. Tikus normal memiliki nilai *kidney hypertrophy index* (KHI) sebesar 3.8 mg/g, sedangkan pada tikus diabetes nilai KHI mencapai 12.2 mg/g. Kedua data tersebut memiliki perbedaan yang signifikan ( $p < 0.01$ ). Penelitian lain juga dilakukan oleh Zafar *et al* (2010), pemberian STZ dosis 45 mg/kgBB pada tikus albino menunjukkan adanya perubahan pada massa ginjal. Pada tikus normal, KHI tikus sebesar 2.5 g/kg sedangkan pada tikus diabetes yang diinduksi STZ selama 12 minggu dan tidak diberikan terapi yaitu sebesar 3.76 g/kg. Pada penelitian tersebut juga mencantumkan data bahwa STZ mampu meningkatkan massa hati dan pankreas. Namun, efek pemberian terapi dengan ekstrak daun insulin belum menunjukkan perbedaan yang signifikan dalam mengurangi indeks hipertrofi pada ginjal. Hal tersebut dikarenakan dosis yang digunakan belum optimal untuk mengurangi indeks hipertrofi ginjal pada tikus diabetes.

Berdasarkan dari ketiga parameter tersebut, dapat disimpulkan bahwa STZ dapat menginduksi hiperglikemia yang mengakibatkan kerusakan ginjal yang ditandai dengan adanya ekspansi mesangial, peningkatan volume glomerulus dan penambahan massa pada ginjal. Adanya penambahan massa merupakan salah satu tanda dari hipertrofi ginjal yang dapat diakibatkan oleh akumulasi protein yang berlebih karena adanya disfungsi, serta merupakan tanda awal dari adanya perubahan struktur pada ginjal. Kesimpulan dari ketiga parameter juga dapat dilihat pada **gambar 6.1**.



**Gambar 6.1. Alur kerusakan ginjal pada tikus model DM**

Berdasarkan gambar tersebut dapat dijelaskan bahwa kondisi hiperglikemia mampu meningkatkan beberapa protein seperti IGF, GH, dan EGF.

Kondisi tersebut berkontribusi terhadap kerusakan ginjal (Zafar *et al*, 2010).

Adanya peningkatan gula darah dapat menyebabkan penurunan jumlah podosit

dimana hal tersebut merupakan tanda awal terjadinya disfungsi pada ginjal

(Bandiara, 2011). Akibatnya, terjadi peningkatan sintesis protein berlebih seperti

kolagen IV, fibronektin dan laminin oleh sel mesangial dan menyebabkan adanya

penumpukan pada ekstraseluler matriks. Oleh karena itu, hal tersebut diduga

menjadi pemicu terjadinya ekspansi mesangial dan penambahan massa ginjal

yang biasanya terjadi karena hipertrofi dari sel-sel ginjal seperti sel mesangial dan sel endotel (Qian *et al*, 2008). Selain itu, menurut Phourgasem *et al* (2015) menyatakan bahwa, adanya ekspansi mesangial merupakan salah satu faktor pemicu penyebab peningkatan volume pada glomerulus. Adapun faktor lain yakni adanya peningkatan volume aliran dalam kapiler glomerulus, perubahan diameter arteriol aferen dan arteriol eferen, peningkatan *glomerular erythrocyte velocity* (GEV), dan *bowman erythrocyte velocity* (BEV) (Li *et al*, 2004).

Menurut Lambers *et al* (2014), beberapa responden yang menderita diabetes ditandai dengan adanya hipertrofi ginjal dan dapat berkembang menjadi ekspansi mesangial. Oleh karenanya, sekitar 40%-50% responden menderita proteinuria dimana pada kondisi tersebut terdapat area ekspansi mesangial yang memiliki derajat keparahan cukup tinggi atau biasa disebut dengan nodul Kimmelstiel-Wilson (ekspansi mesangial nodular). Kondisi tersebut akan mengarah pada salah satu komplikasi diabetes yaitu diabetes nefropati (DN). Salah satu tanda dari DN yakni glomerulosklerosis yang disebabkan oleh akumulasi protein matriks ekstraseluler di ruang interstisial mesangial yang mengakibatkan fibrosis sehingga menyebabkan perubahan pada nodular. Protein matriks yang paling umum terdeteksi adalah kolagen tipe I, III, IV dan fibronektin. Protein-protein tersebut mengalami akumulasi karena adanya peningkatan sintesis oleh sel mesangial dan penurunan degradasi oleh matriks metaloproteinase mesangial (Qian *et al*, 2008). Berdasarkan penjelasan tersebut, ketiga parameter yang diamati saling berkaitan. Jika terjadi peningkatan massa ginjal, maka terdapat kemungkinan terjadi ekspansi pada mesangial sehingga volume glomerulus juga meningkat.



Berdasarkan hasil penelitian, tidak adanya efek perbaikan pada parameter volume glomerulus dan indeks hipertrofi ginjal diduga karena kerusakan histologi ginjal masih berada di tahap awal. Hal ini juga sesuai dengan hasil penelitian Laili (2021) dimana kadar BUN tidak ada perbedaan baik pada kelompok kontrol positif dan kelompok kontrol negatif. Untuk mengetahui kerusakan ginjal seharusnya juga dilakukan pengukuran skor nekrosis pada ginjal dengan menggunakan skala 0-4. Kerusakan ginjal total untuk setiap sampel diselidiki dengan melihat kerusakan tubulus proksimal (dilatasi dan atrofi tubulus proksimal, hilangnya brush border, nekrosis tubulus proksimal), kerusakan tubulus distal (dilatasi/atrofi tubulus distal dan nekrosis tubulus distal), kerusakan glomerulus (basement glomerulus, penebalan membran), kerusakan interstisial (fibrosis interstisial, perdarahan, dan filtrasi sel mononuklear) dan kerusakan vaskular (kongesti interstisial). Semua parameter tersebut dievaluasi dan diberi skor sebagai berikut: 0 = tidak ada (<10%), 1 = minimal (10–25%), 2 = ringan (25–40%), 3 = sedang (40–55%), 4: parah (>50%) dengan skor maksimum 40 untuk setiap sampel ginjal (Kumas *et al*, 2019).

Untuk mendapatkan dosis optimal dari penggunaan ekstrak daun insulin, perlu memperhatikan dosis maksimum yang dapat digunakan untuk terapi DM. Penelitian sebelumnya meneliti toksisitas daun *Tithonia diversifolia* dan diperoleh hasil bahwa ekstrak air daun *Tithonia diversifolia* memiliki LD<sub>50</sub> (lethal dose) 120 mg/kg BB dan dosis toleransi maksimum 100 mg/kg BB (Oyewole, Magaji, & Awoyinka, 2007 dalam Fauziyah *et al*, 2018). Selanjutnya uji toksisitas ekstrak etanol 70% daun *Tithonia diversifolia* membuktikan bahwa ekstrak etanol 70% daun *Tithonia diversifolia* dosis tunggal 400-1600 mg/kg BB merupakan dosis toksik yang mengakibatkan kerusakan ginjal dan hati, sedangkan dosis berulang

400 mg/kg BB menyebabkan kerusakan permanen pada ginjal dan hati (Elufioye, Alatise, Fakoya, Agbedahunsi, & Houghton, 2009 dalam Fauziah *et al*, 2018).

Penelitian lain menegaskan bahwa dosis aman ekstrak air *Tithonia diversifolia* adalah pada dosis di bawah 100 mg/kg BB (Passoni, Oliveira, Chagas-Paula, Gobbo-Neto, & Da Costa, 2013 dalam Fauziah *et al*, 2018).

## 6.2. Implikasi Terhadap bidang Kefarmasian

Pada penelitian ini, tikus yang diinjeksi dengan STZ 40 mg/kgBB dan diberi terapi ekstrak daun insulin (*Tithonia diversifolia*) pada dosis 50, 100, dan 150 mg/kgBB menunjukkan perbaikan pada salah satu parameter yaitu ekspansi mesangial pada dosis 150 mg/kgBB. Selain itu, perbaikan pada mesangial juga ditunjukkan pada kelompok tikus yang diberi terapi glikuidon 10 mg/kgBB. Pada dua parameter lainnya, yakni volume glomerulus dan indeks hipertrofi ginjal, hanya diketahui bahwa kelompok kontrol positif memiliki nilai lebih tinggi dibandingkan dengan kelompok kontrol negatif. Berdasarkan hasil analisa data, belum ditemukan dosis yang tepat untuk menunjukkan perbaikan pada kedua parameter tersebut. Hasil tersebut dapat dimungkinkan karena kurangnya dosis dari ekstrak daun insulin sehingga perlu dilakukan penelitian lanjutan mengenai dosis yang optimal untuk mencegah kerusakan histologi pada ginjal ataupun mencegah komplikasi diabetes nefropati. Peneliti juga dapat mengamati toksisitas pada daun insulin untuk mengetahui batas maksimum dosis yang dapat digunakan untuk terapi alternatif diabetes. Selanjutnya, penelitian lanjutan juga dapat melakukan uji pre-klinis, uji-klinis (fase I-IV), hingga uji kualitas farmasetika untuk dikembangkan menjadi terapi herbal tingkat fitofarmaka dan dapat dimanfaatkan oleh masyarakat terutama di Indonesia.

### 6.3 Keterbatasan Penelitian

Penelitian ini memiliki keterbatasan pada saat pelaksanaannya yaitu:

1. Terdapat beberapa tikus yang mati pada beberapa kelompok sehingga jumlah sampel tidak merata.
2. Kondisi fisik tikus melemah sampai akhir penelitian sehingga sulit untuk mengamati efektivitas ekstrak daun insulin.
3. Tidak dilakukan autopsi pada tikus yang mati sehingga tidak diketahui penyebab kematian tikus.
4. Penelitian tidak dilakukan di ruangan yang memiliki suhu optimal, tidak diketahui kelembapannya sehingga dapat mempengaruhi kondisi fisik pada tikus hewan coba.

## BAB VII

### KESIMPULAN

#### 7.1 Kesimpulan

Berdasarkan dari hasil penelitian efektifitas daun insulin terhadap ketiga parameter tersebut, dapat disimpulkan bahwa :

1. Ekstrak daun insulin memiliki efek terapi untuk mencegah terjadinya ekspansi mesangial pada tikus model diabetes melitus pada dosis 150 mg/kgBB.
2. Ekstrak daun insulin tidak memberikan efek terapi untuk mencegah peningkatan volume glomerulus.
3. Ekstrak daun insulin tidak memberikan efek terapi untuk mencegah peningkatan indeks hipertrofi ginjal.

#### 7.2 Saran

Adapun saran untuk penelitian ini yaitu :

1. Peneliti selanjutnya dapat mencari dosis ekstrak daun insulin untuk mendapatkan efek terapi yang optimal.
2. Peneliti selanjutnya dapat mencari tahu dosis maksimum yang dapat digunakan untuk terapi DM menggunakan daun insulin.
3. Peneliti selanjutnya dapat melakukan uji lanjutan mengenai uji pre-klinis, uji klinis (fase I-IV), uji farmakokinetika, uji toksisitas, dan efek samping dari ekstrak daun insulin.

## DAFTAR PUSTAKA

Abdelmoaty, M.A., Ibrahim, M.A., Ahmed, N.S., and Abdelaziz, M. A. 2010.

Confirmatory Studies on the Antioxidant and Antidiabetic Effect of Quercetin in Rats. *Indian Journal of Clinical Biochemistry*, 25(2) pp.188-192.

Alicic, R. Z., Rooney, M. T., & Tuttle, K. R. (2017). Diabetic kidney disease: challenges, progress, and possibilities. *Clinical Journal of the American Society of Nephrology*, 12(12), 2032-2045.

Allen, M. (2017). *The sage encyclopedia of communication research methods* (Vols. 1-4). Thousand Oaks, CA: SAGE Publications, Inc doi: 10.4135/9781483381411

Alsaad, K. O., & Herzenberg, A. M. (2007). Distinguishing diabetic nephropathy from other causes of glomerulosclerosis: an update. *Journal of clinical pathology*, 60(1), 18-26.

Amanatie, Eddy Sulistyowati. 2015. Structure Elucidation of The Leaf of *Tithonia diversifolia* (Hemsl) Gray. *Journal Sains dan Matematika*, Volume 23 (4) : 101-106

American Diabetes Association. 2011. *Diagnosis and Classification of Diabetes Mellitus*. *Diabetes Care* 28, Volume 34, Supplement 1, Hal : S62-S69

Anggraini, Debie., et al. 2017. Correlation of Advanced Glycation End Products with Urinary Albumin Creatinin Ratio in Patients with Type 2 Diabetes Mellitus. *Indonesian Journal of Clinical Pathology Medical Laboratory* 23(2) : 107-110

Ariyadi, T., & Suryono, H. (2017). Kualitas Sediaan Jaringan Kulit dan Conventional Histoprocessing Pewarnaan Hematoxylin Eosin. *Jurnal Labora Medika Vol, 1(1)*, 7-11.

Ayodele .O.E ,Alebiosu,C.O,Salako B.L 2004,Diabetic Nephropathy a review of natural history,burden,risk factors and treatment in *Journal Medical Ass:1445-54* 4.

Azwanida. (2015) A Review on the Extraction Methods Use in Medicinal Plants, Principle, Strength and Limitation. *Medicinal Aromat Plants*, 2015, 4(3): 196-202.

Badole, S. L., & Jangam, G. B. (2015). Animal Models of Diabetic Cardiomyopathy. *Glucose Intake and Utilization in Pre-Diabetes and Diabetes*, 181-190.

Baynest, Habtamu Wondifraw. 2015. *Classification, Pathophysiology, Diagnosis and Management of Diabetes Mellitus*. Volume 6 Issue 5

Bloemer, J. J. (2014). Impaired insulin signaling and mechanisms of memory loss. Dalam J. B. Bloemer, *Progress in Molecular Biology and Translational Science* (Vol. 121, hal. 413-449). Elsevier.

Blough, B., Moreland, A., & Mora Jr, A. (2015, January). Metformin-induced lactic acidosis with emphasis on the anion gap. In *Baylor University Medical Center Proceedings* (Vol. 28, No. 1, pp. 31-33). Taylor & Francis

Brownlee, M. (2005). The Patobiology of Diabetic Complication A Unifying Mechanism. *Diabetes Journal*. 54(6): 1615-1625.

Chobanian AV. 2003. National High Blood Pressure Education Program. The Seventh Report of the Joint National Committee on Prevention,

Detection, Evaluation, and Treatment of High Blood Pressure (JNC-VII).  
National Institutes of Health, National Heart, Lung, and Blood Institute.

Daroux, M., Prévost, G., Maillard-lefebvre, H., Gaxatte, C. 2010. Advanced Glycation End Products : Implications for Diabetic and Non-diabetic Nephropathies. *Diabetes & Metabolism*, 36, 1–10.

Decroli, Eva. 2019. *Diabetes Melitus Tipe 2*. Padang : Pusat Penerbitan Bagian Ilmu Penyakit Dalam Fakultas Kedokteran Universitas Andalas

Ellyawati, E. (2018). Penentuan Waktu Yang Tepat Pada Proses Staining Dalam Pembuatan Preparat Histologis Hati. *Jurnal Temapela*, 1(1), 28-30.

*Endokrin dengan Pendekatan NANDA NIC NOC*. Jakarta : Salemba Medika.

ES, Harie Satria., et al. 2018. *Faktor Resiko Pasien Nefropati Diabetik yang Dirawat di Bagian Penyakit Dlam RSUP Dr. M. Djamil Padang*. Jurnal Kesehatan Andalas Volume 7 No.2

Fauziah, Y., Sunarti, Hanoum, I.F., Wahyuningsih, M.S.H. (2018). Ethanol Extract of *Tithonia diversifolia* (Hemsley) A Gray Standardized Ameliorates Hyperglycemia, Polyphagia, and Weight Loss in Diabetic Rats. *Molekul*, 13(1), 72 – 79.

Ford, S. L., Polkinghorne, K. R., Longano, A., Dowling, J., Dayan, S., Kerr, P. G., ... & Summers, S. A. (2014). Histopathologic and clinical predictors of kidney outcomes in ANCA-associated vasculitis. *American Journal of Kidney Diseases*, 63(2), 227-235.

Goldenberg, Ronald., et al. 2013. *Definition, Classification and Diagnosis of Diabetes, Prediabetes and Metabolic Syndrome*. Can J Diabetes Volume 37.

Habib, S. L. (2018). Kidney atrophy vs hypertrophy in diabetes: which cells are involved?. *Cell Cycle*, 17(14), 1683-1687.

Hann, B. D., Baldelomar, E. J., Charlton, J. R., & Bennett, K. M. (2016). Measuring the intrarenal distribution of glomerular volumes from histological sections. *American Journal of Physiology-Renal Physiology*, 310(11), F1328-F1336.

Jagtap, U.B. and Bapat, V.A. 2010. Artocarpus: A review of its traditional uses, phytochemistry and pharmacology. *Journal of Ethnopharmacology*, 129 (2010) pp.142–166.

Jaramillo, P.L., Arbeláez, D., G., López, J.L., López, C.L., Ortega, J.M., Rodríguez, A.G., and Cubillos, S.T. (2014). The role of Leptin/Adiponektin Ratio in Metabolic Syndrome and Diabetes. *Horm Mol Biol Clin Invest* 18(1): 37–45. DOI 10.1515/hmbci-2013-0053.

Jazi, M. F., Biglari, A., Mazloomzadeh, S., Kingston, P., Ramazani, A., Bazzaz, J. T., & Eskandari, M. (2016). Recombinant fibromodulin has therapeutic effects on diabetic nephropathy by down-regulating transforming growth factor- $\beta$ 1 in streptozotocin-induced diabetic rat model. *Iranian journal of basic medical sciences*, 19(3), 265.

Kamble, B., Gupta, A., Moothedath, I., Khatal, L., Janrao, S., Jadhav, A., Duraiswamy, B. 2016. Effects of *Gymnema sylvestre* Extract on The Pharmacokinetics and Pharmacodynamics of Glimperide in



Streptozotocin Induced Diabetic Rats. *Chemico-Biological Interactions*,  
245, 30-8.

Kes, S. M. (2018). Pengaruh Pemberian Ekstra Ethanol Daun Tithonia  
Diversifolia, Ekstra Allium Sativum Dan Campuran Ekstra Allium Sativum  
Terhadap Kerusakan Histologi Ginjal Dan Hati Mencit Hiperglikemia.

*Wahana: Tridharma Perguruan Tinggi*, 70(1), 57-62.

Kumar, Vinay., Abbas, Abul K., dan Aster, Jon C. (2015). *Pathologic Basis of  
Disease*. Philadelphia : Elsevier.

Kumaş, M., Eşrefoğlu, M., Karataş, E., Duymaç, N., Kanbay, S., Ergün, I. S., ... &  
Koçyiğit, A. (2019). Investigation of dose-dependent effects of berberine  
against renal ischemia/reperfusion injury in experimental diabetic  
rats. *Nefrología (English Edition)*, 39(4), 411-423.

Lal, B Suresh. (2016). DIABETES: CAUSES, SYMPTOMS AND TREATMENTS.

Lambers Heerspink, Hidjo J. (2014). *National Kidney Foundation Primer on  
Kidney Diseases || Pathogenesis, Pathophysiology, and Treatment of  
Diabetic Nephropathy*. , (), 222–234. doi:10.1016/b978-1-4557-4617-  
0.00025-x.

Li, B., Yao, J., Kawamura, K., Oyanagi-Tanaka, Y., Hoshiyama, M., Morioka, T.,  
... & Oite, T. (2004). Real-time observation of glomerular hemodynamic  
changes in diabetic rats: Effects of insulin ARB. *Kidney  
international*, 66(5), 1939-1948.

Lim, Andy KH. 2014. *Diabetic Nephropathy – Complications and Treatment*.  
International Journal of Nephrology and Renovascular Volume 7 Hal :  
361-381

Marciano, D. K. (2019) 'Mesangial cells: The tuft guys of glomerular development', *Journal of the American Society of Nephrology*, 30(9), pp.

1551–1553. doi: 10.1681/ASN.2019070724.

Marianne, Yuandani and Rosnani. 2011. Antidiabetic Activity From Ethanol Extract Of Kluwih's Leaf (*Artocarpus camansi*). *Jurnal Natural*, 11(2) pp.64-68.

Mulyatiningsing, Endang. Riset Terapan Bidang Pendidikan dan Teknik. UNY Press, Yogyakarta, 2011.

N, Sari., Hisyam. 2014. Hubungan Antara Diabetes Melitus Tipe II dengan Kejadian Gagal Ginjal Kronik di Rumah Sakit PKU Muhammadiyah Yogyakarta Periode Januari 2011-Oktober 2012.

National Kidney Foundation. Kidney Disease Outcomes Quality Initiative. *Am J Kidney Dis*, 2002; 39:1-246.

National Kidney Foundation. Kidney Disease: Improving Global Outcomes. *Kidney Int*, 2013;39 (supl 1):1-163.

Noshahr, Z. S., Salmani, H., Khajavi Rad, A., & Sahebkar, A. (2020). Animal Models of Diabetes-Associated Renal Injury. *Journal of diabetes research*, 2020.

Pardede, S. O. (2016). Nefropati diabetik pada anak. *Sari Pediatri*, 10(1), 8-17.

Pardede, S. O. (2016). Podosit dan Slit Diafragma serta Perannya. *Sari Pediatri*, 6(3), 119-24.

PERKENI. (2015). *Konsensus Pengelolaan dan Pencegahan Diabetes Melitus Tipe 2 di Indonesia Tahun 2015*. Jakarta : PB PERKENI

PERKENI. 2015. *Konsensus Pengelolaan dan Pencegahan Diabetes Mellitus Tipe 2 di Indonesia*. Jakarta : PB PERKENI

Pollak, M. R., Quaggin, S. E., Hoenig, M. P., & Dworkin, L. D. (2014). The glomerulus: the sphere of influence. *Clinical journal of the American Society of Nephrology*, 9(8), 1461-1469.

Pourghasem M, Shafi H, Babazadeh Z. Histological changes of kidney in diabetic nephropathy *Caspian J Intern Med* 2015; 6(3):120-127.

Pourghasem, Mohsen., et al. 2015. Historical Changes of Kidney in Diabetic Nephropathy. *Caspian J Intern Med*, 6(3) : 120-127

Prihanti, G. S., & Ked, M. (2016). *Pengantar Biostatistik*. UMM Press.

Ridwan, A., Astrian, R. T. and Barlian, A. 2012. Pengukuran efek antidiabetes polifenol (polyphenon 60) berdasarkan kadar glukosa darah dan histologi pankreas mencit (*Mus musculus*) s.w. jantan yang dikondisikan diabetes mellitus. *Jurnal Matematika dan Sains*, 17(2) pp.78-82.

RISKESDAS. 2018. Badan Penelitian dan Pengembangan Kesehatan Kementrian Kesehatan Republik Indonesia.

[http://kesmas.kemkes.go.id/assets/upload/dir\\_519d41d8cd98f00/files/Hasil-riskesdas-2018\\_1274.pdf](http://kesmas.kemkes.go.id/assets/upload/dir_519d41d8cd98f00/files/Hasil-riskesdas-2018_1274.pdf). Diakses pada 20 April 2020.

Rivandi, Janis., Ade Yonata. 2015. Hubungan Diabetes Mellitus dengan Kejadian Gagal Ginjal Kronik. *Major*. Volume 4 Nomor 9.

Samsu, N., Soeharto, S., Rifai, M., & Rudijanto, A. (2020). The superiority of rosmarinic acid over vitamin e in preventing development and inhibiting

progression of diabetic nephropathy in rats. *Asian Journal of Pharmaceutical Research*, 10(3), 131-139.

Sapoetro, Tri Seno. Uji Potensi Kipahit (*Tithonia diversifolia* A. Gray) sebagai Insektisida Botani terhadap Larva *Spodoptera litura* F. di Laboratorium.

Bandar Lampung : Fakultas Pertanian Universitas Lampung

Sasmita, Fithri Wening., et al. 2017. Efek Ekstrak Daun Kembang Bulan (*Tithonia diversifolia*) terhadap Kadar Glukosa Darah Tikus Wistar (*Rattus norvegicus*) yang Diinduksi Alloxan. *Biosfera*, Volume 34 No 1 22-31

Setiomulyo, Mila Karmila Sri. (2016). Pengaruh Air Rebusan Daun Insulin (*Tithonia diversifolia* (Hemsl) A.Gray) terhadap Kadar Glukosa Darah Tikus Jantan Galur Wistar yang Terbebani Glukosa. Universitas Sanata Dharma Yogyakarta

Sulaiman, Mahaboob Khan. 2019. Diabetic Nephropathy : Recent Advances in Pathophysiology and Challaneges in Dietary Management. *Diabetology & Metabolic Syndrome*. 11 : 7

Sunaryanto, A. (2010). Penatalaksanaan Penderita dengan Diabetik Nefropathy. Tinjauan Kasus. Denpasar: Fakultas Kedokteran Universitas Udayana. (Online). [http://andikunud.files.wordpress.com/.../diabetik\\_nefropathy.pdf](http://andikunud.files.wordpress.com/.../diabetik_nefropathy.pdf), diakses 15 April 2020).

Swastika, M. R. D. (2007). Evaluasi Pengobatan pada Kasus Diabetes Melitus dengan Komplikasi Nefropati Diabetik di Instalasi Rawat Inap Rumah Sakit BETHESDA YOGYAKARTA Periode Tahun 2005. Undergraduate thesis, Universitas Sanata Dharma Yogyakarta.

Tagne, A. M., Marino, F., & Cosentino, M. (2018). *Tithonia diversifolia* (Hemsl.) A.

Gray as a medicinal plant: A comprehensive review of its ethnopharmacology, phytochemistry, pharmacotoxicology and clinical relevance. *Journal of ethnopharmacology*, 220, 94-116.

Tan, Z., Xu, Z., Gui, Q., Wu, W., & Yang, Y. (2014). Gliquidone versus metformin:

differential effects on aorta in streptozotocin induced diabetic rats. *Chinese medical journal*, 127(7), 1298-1303.

Taufiqrohman. 2015. Indonesian Bay Leaves as Antidiabetic for Type 2

Diabetes Mellitus. *J. MAJORITY*, 4(3) pp.101-108.

Tavafi, M. (2013) 'Diabetic nephropathy and antioxidants', *Journal of*

*Nephropathology*, 2(1), pp. 20–27. doi: 10.5812/nephropathol.9093.

Tervaert, T. W. C., Mooyaart, A. L., Amann, K., Cohen, A. H., Cook, H. T.,

Drachenberg, C. B., ... & Bruijn, J. A. (2010). Pathologic classification of diabetic nephropathy. *Journal of the American Society of Nephrology*, 21(4), 556-563.

Tian, H., Yang, J., Xie, Z., & Liu, J. (2018). Gliquidone alleviates diabetic

nephropathy by inhibiting notch/snail signaling pathway. *Cellular Physiology and Biochemistry*, 51(5), 2085-2097.

Tzeng, T. F., Liou, S. S., Chang, C. J., & Liu, I. M. (2013). The ethanol extract of

Zingiber zerumbet attenuates streptozotocin-induced diabetic nephropathy in rats. *Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine*, 2013.

Widowati, W. 2008. Potensi Antioksidan sebagai Antidiabetes. *Jurnal Kedokteran*

*Marantana*, 7(2).

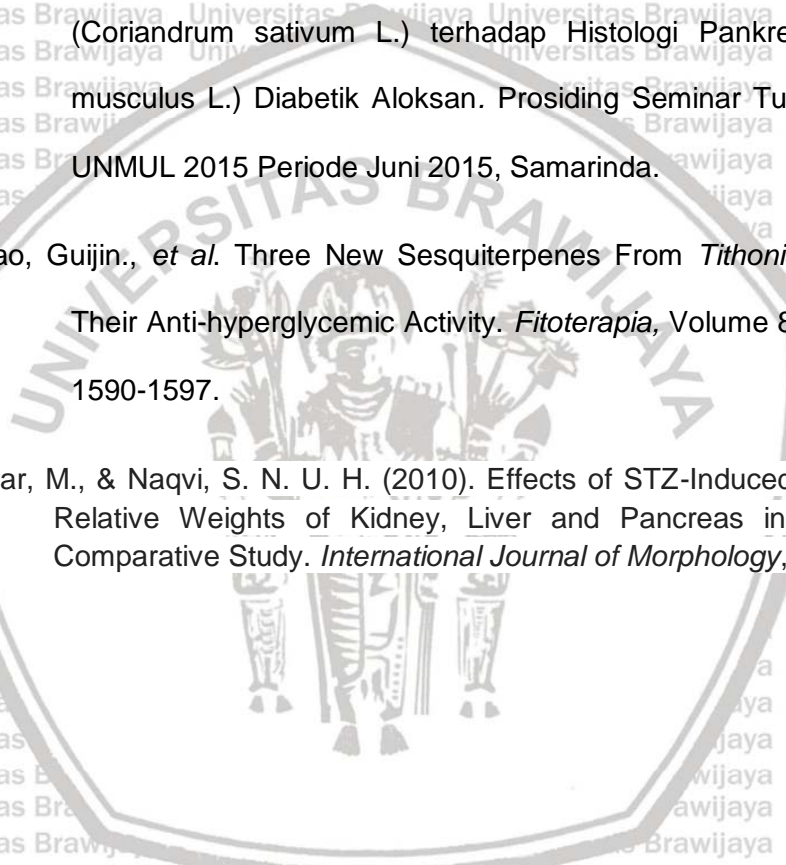
Wu, K.K., Huan, Y. (2008). Streptozotocin-induced Diabetic Models in Mice and Rats. *Curr Protoc Pharmacol*, 40, 5.47.1–5.47.14.

Yuhelma, Y. H., & Nauli, F. A. (2013). Identifikasi dan Analisis Komplikasi Makrovaskuler dan Mikrovaskuler Pada Pasien Diabetes Melitus. *Riau: Program Studi Ilmu Keperawatan: Universitas Riau*.

Yulianty, O., Sudiastuti, and Nugroho, R. A. 2015. Efek Ekstrak Biji Ketumbar (*Coriandrum sativum L.*) terhadap Histologi Pankreas Mencit (*Mus musculus L.*) Diabetik Aloksan. Prosiding Seminar Tugas Akhir FMIPA UNMUL 2015 Periode Juni 2015, Samarinda.

Zhao, Guijin., *et al.* Three New Sesquiterpenes From *Tithonia diversifolia* and Their Anti-hyperglycemic Activity. *Fitoterapia*, Volume 83 Issue 8, Page : 1590-1597.

Zafar, M., & Naqvi, S. N. U. H. (2010). Effects of STZ-Induced Diabetes on the Relative Weights of Kidney, Liver and Pancreas in Albino Rats: A Comparative Study. *International Journal of Morphology*, 28(1).



LAMPIRAN

Lampiran 1. Surat Kelaikan Etik



KEMENTERIAN PENDIDIKAN DAN KEBUDAYAAN  
UNIVERSITAS BRAWIJAYA  
FAKULTAS KEDOKTERAN

Jalan Veteran Malang – 65145, Jawa Timur - Indonesia  
Telp. (0341) 551611 Pes. 213.214; 569117, 567192 – Fax. (62) (0341) 564755  
http://www.fk.ub.ac.id e-mail : sekr.fk@ub.ac.id

KETERANGAN KELAIKAN ETIK  
("ETHICAL CLEARANCE")

No. 126 / EG / KEPK / 06 / 2020

KOMISI ETIK PENELITIAN KESEHATAN FAKULTAS KEDOKTERAN UNIVERSITAS BRAWIJAYA, SETELAH MEMPELAJARI DENGAN SEKSAMA RANCANGAN PENELITIAN YANG DIUSULKAN, DENGAN INI MENYATAKAN BAHWA PENELITIAN DENGAN

**JUDUL** : Efektivitas Ekstrak Daun Insulin (*Tithonia diversifolia*) terhadap Penurunan Nefropati Diabetik pada Tikus Model Diabetes Melitus

**PENELITI UTAMA** : Oktavia Rahayu Adianingsih, S.Farm., M.Biomed., Apt.

**ANGGOTA** : Uswatun Khasanah, S.Farm., M.Farm, Apt.  
Firda Kholrunnisa  
Lailita Fahrin Nisa  
Mutia Khalrunnisa Sya'bani  
Nabila Rifdati Fawwazia  
Weliyatul Auli Sasmita

**UNIT / LEMBAGA** : Fakultas Kedokteran - Universitas Brawijaya Malang.

**TEMPAT PENELITIAN** : Laboratorium Percobaan Hewan Coba dan Laboratorium Biomedik Fakultas Kedokteran Universitas Brawijaya, Laboratorium Sentral Rumah Sakit Dr. Saiful Anwar Malang.

DINYATAKAN LAIK ETIK.



Prof. Dr. dr. Moch. Istiadjidd ES, SpS, SpBS(K), SH, M.Hum, Dr(HK)  
NIPK. 20180246051611001

**Catatan :**

Keterangan Laik Etik Ini Berlaku 1 (Satu) Tahun Sejak Tanggal Dikeluarkan Pada Akhir Penelitian, Laporan Hasil Penelitian Wajib Diserahkan Kepada KEPK-FKUB Dalam Bentuk Hard Copy. Jika Ada Perubahan Protokol Dan / Atau Perpanjangan Penelitian, Harus Mengajukan Kembali Permohonan Kajian Etik Penelitian (Amandemen Protokol).

## Lampiran 2. Surat determinasi daun insulin



**PEMERINTAH PROVINSI JAWA TIMUR**  
**DINAS KESEHATAN**  
**UPT LABORATORIUM HERBAL MATERIA MEDICA BATU**  
Jalan Lahor No.87 Telp. (0341) 593396  
**KOTA BATU 65313**

Nomor : 074/338A/102.7/2020  
Sifat : Biasa  
Perihal : Determinasi Tanaman Paitan

Memenuhi permohonan saudara :

Nama : OKTAVIA RAHAYU ADIANINGSIH, S.Farm., M.Biomed., Apt.  
NIK : 2016099210192001  
Fakultas : FAKULTAS KEDOKTERAN, UNIVERSITAS BRAWIJAYA MALANG

### 1. Perihal determinasi tanaman paitan

Kingdom : Plantae (Tumbuhan)  
Super Divisi : Spermatophyta (Menghasilkan biji)  
Divisi : Magnoliophyta (Tumbuhan berbunga)  
Kelas : Magnoliopsida (berkeping dua / dikotil)  
Sub Kelas : Asteridae  
Ordo : Asterales  
Famili : Asteraceae  
Genus : *Tithonia*  
Spesies : *Tithonia diversifolia* (Hemsl.) Gray

Nama umum : Daun insulin, paitan, rondosemoyo, kembang bulan, kayu paik, kipsait, harsaga.  
Kunci determinasi : 1b-2b-3b-4b-6b-7b-9b-10b-11b-12b-13b-14a-15a-109b-119b-120a-121a-122a.

2. Morfologi : Habitus: semak, dengan tinggi mencapai 2-3 m. Batang: berkayu. Daun: bulat telur menjari, bergerigi, kasar, panjang 10 sampai 40 cm, agak berkelenjar, dan bagian bawah keabu-abuan. Bunga: majemuk, berwarna kuning, lebar 5-15 cm dan panjang  $\pm$  10cm, memiliki bunga bentuk pita dan tabung. Biji: benih achenes, kecil, kering, atau pecah dengan dinding tipis, 4-siku, dan panjang  $\pm$  5mm.

3. Bagian yang digunakan : Daun.  
4. Penggunaan : Penelitian.  
5. Daftar Pustaka

- Syamsuhidayat, Sri Sugati dan Hutapea, Johnny Ria. 1991. *Inventaris Tanaman Obat Indonesia 1*. Departemen Kesehatan Republik Indonesia: Badan Penelitian dan Pengembangan Kesehatan.
- Van Steenis, CGGJ. 2008. *FLORA: untuk Sekolah di Indonesia*. Pradnya Paramita, Jakarta.

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

Batu, 30 April 2020

Kepala UPT Laboratorium Herbal  
Materia Medica Batu,



## Lampiran 3. Perhitungan dosis ekstrak daun insulin

- Misal : Bobot tikus 200 gr

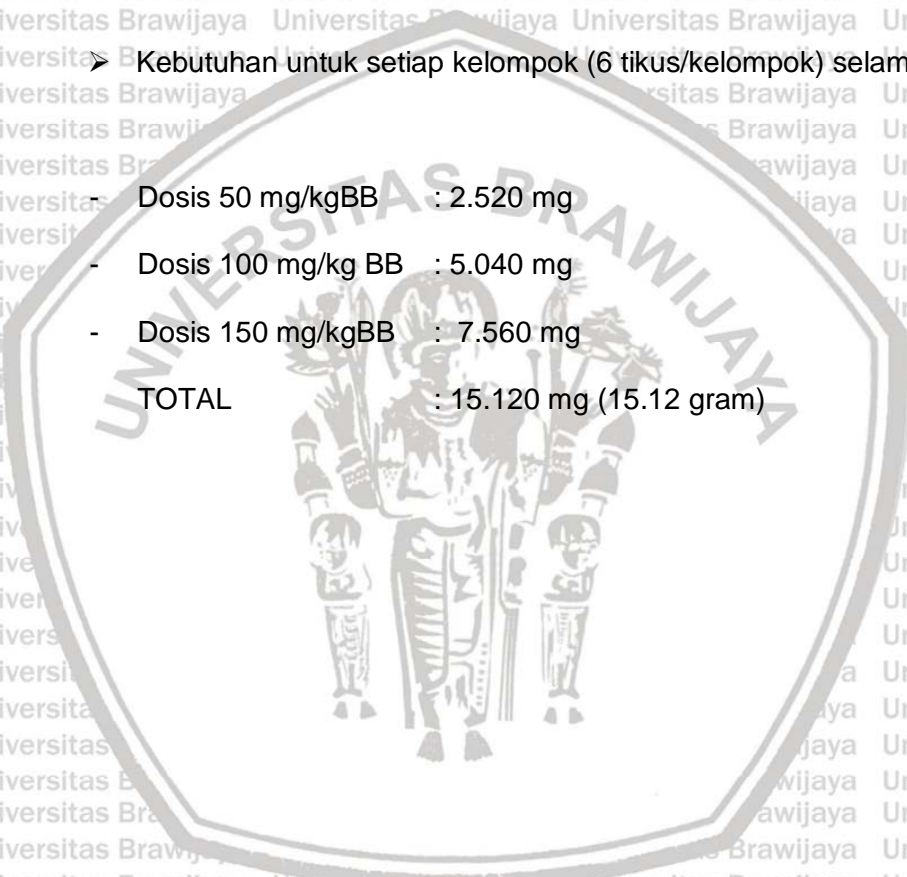


**Volume lambung tikus 3-5 ml (Santi, 2013)**

- a. Dosis ekstrak :
  - 50 mg/kgBB : 10 mg/200 gr
  - 100 mg/kgBB : 20 mg/200 gr
  - 150 mg/kgBB : 30 mg/200 gr

➤ Kebutuhan untuk setiap kelompok (6 tikus/kelompok) selama 42 hari :

- Dosis 50 mg/kgBB : 2.520 mg
- Dosis 100 mg/kg BB : 5.040 mg
- Dosis 150 mg/kgBB : 7.560 mg
- TOTAL : 15.120 mg (15.12 gram)



**Lampiran 4. Perhitungan larutan CMC-Na 1%**

**Volume maximum oral tikus = 10ml/kg BB = 2ml/200 gram (IACUC,2018)**

**Pada penelitian ini digunakan ketentuan 5ml/kgBB = 1 ml/200 gram**

- Dilarutkan 1 gram CMC-Na dalam 100 ml aquadest atau 500 mg dalam

50 ml

- Dosis 50 mg/kgBB dilarutkan dalam 1 ml CMC-Na 1%

- Dosis 100 mg/kg BB dilarutkan dalam 1 ml CMC-Na 1%

- Dosis 150 mg/kgBB dilarutkan dalam 1 ml CMC-Na 1%

- Dosis 10 mg/kgBB glikuidon dilarutkan dalam 1 ml CMC-Na 1%

➤ Kebutuhan pelarut untuk 4 kelompok tikus

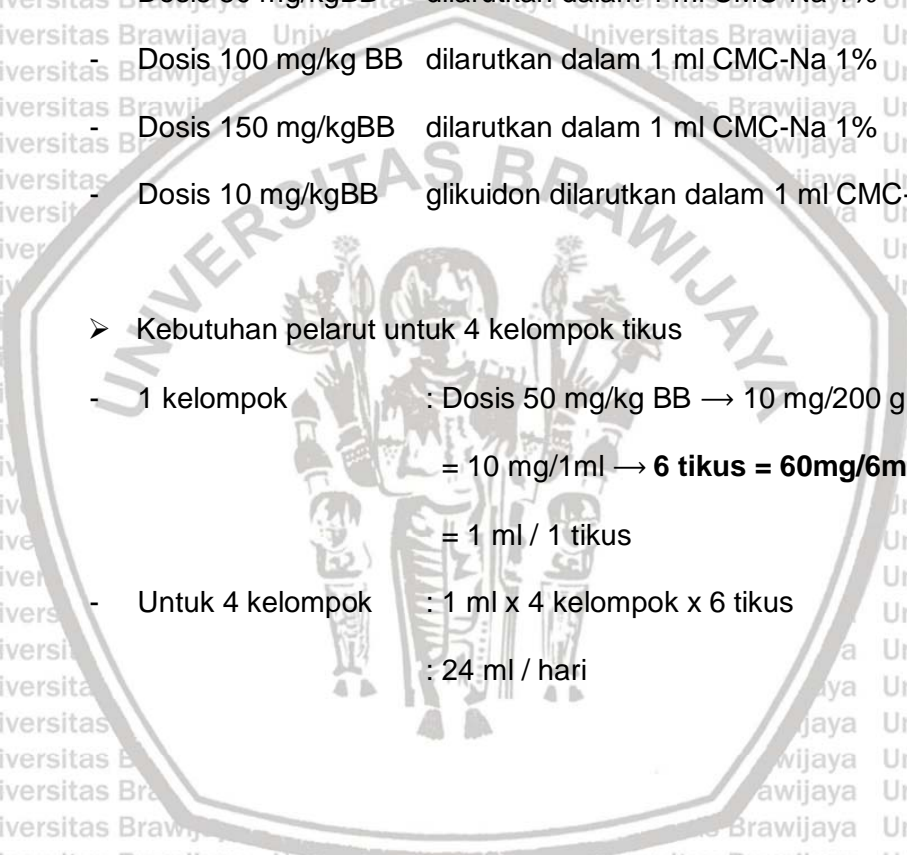
- 1 kelompok : Dosis 50 mg/kg BB → 10 mg/200 gram x 6 tikus

= 10 mg/1ml → **6 tikus = 60mg/6ml**

= 1 ml / 1 tikus

- Untuk 4 kelompok : 1 ml x 4 kelompok x 6 tikus

: 24 ml / hari



### Lampiran 5. Perhitungan Glikuidon

- 10 mg/kg BB  $\rightarrow$  2 mg/200 gram

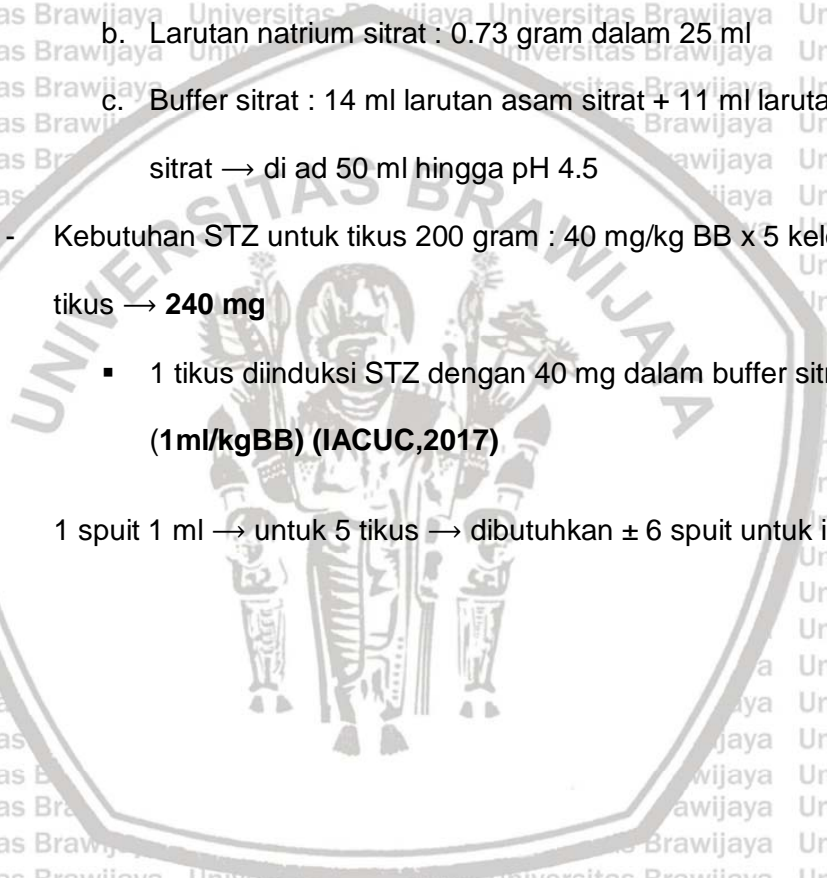
- Untuk 6 tikus perhari = 2 mg x 6 tikus = 12 mg/hari

- Untuk 6 tikus, selama 42 hari = 2 x 6 x 42 = 504 mg



### Lampiran 6. Perhitungan Dosis STZ

- STZ dosis 40 mg/kg BB (Wu & Huan, 2008).
  - 40 mg/kgBB dengan BB tikus misal 200gr = 8mg/200gr
  - Pelarut buffer sitrat 50 mM pH 4.5
  - Larutan buffer sitrat :
    - a. Larutan asam sitrat : 0.52 gram dalam 25 ml
    - b. Larutan natrium sitrat : 0.73 gram dalam 25 ml
    - c. Buffer sitrat : 14 ml larutan asam sitrat + 11 ml larutan natrium sitrat → di ad 50 ml hingga pH 4.5
  - Kebutuhan STZ untuk tikus 200 gram : 40 mg/kg BB x 5 kelompok x 6 tikus → **240 mg**
    - 1 tikus diinduksi STZ dengan 40 mg dalam buffer sitrat 0.2 ml **(1ml/kgBB) (IACUC,2017)**
- 1 spuit 1 ml → untuk 5 tikus → dibutuhkan ± 6 spuit untuk injeksi STZ



Lampiran 7. Data GDP (mg/dL) dengan Glukometer (Khoirunnisa, F., 2021)

Kelompok	Hewan Sebelum Uji	H0	H7	H14	H21	H28	H35	H42	
KN	2	71	91	95	94	83	93	90	83
	3	113	110	108	108	93	122	83	95
	4	100	89	74	82	93	93	98	101
	5	87	91	95	82	83	77	83	90
	1	102	398	600	600	600	525	53	419
KP	2	110	356	349	263	355	313	138	371
	4	94	380	397	509	563	430	467	558
	5t	104	456	600	461	533	467	479	521
	1t	163	477	466	595	551	457	262	409
	2ya	100	327	541	533	553	600	361	600
P1	3ya	100	402	533	547	493	485	407	565
	6ya	118	426	529	600	529	499	323	361



	1t	104	600	598	600	553	457	407	561
P2	2	102	367	556	600	493	541	485	595
	3t	129	402	479	600	574	45	427	557
	4	73	438	422	600	210	397	389	515
	2	96	346	474	451	467	479	433	505
P3	4	87	402	357	365	445	479	117	568
	5t	104	520	445	582	467	215	427	492
	6	104	340	432	505	551	475	283	357
	1	110	386	600	600	600	600	493	357
P4	2	91	600	452	565	479	600	407	523
	4	110	472	473	600	600	600	263	337
	5t	115	428	480	457	541	162	547	566



Kadar GDP Rata-Rata ± SEM (mg/dL)										
Hari ke-	Sebelum Induksi	H0	H7	H14	H21	H28	H35	H42		
<b>KN</b>	92.75 ± 8.9849	95.25 ± 4.9392 <sup>a</sup>	93 ± 7.0356 <sup>a</sup>	91.5 ± 6.1847 <sup>a</sup>	88 ± 2.8868 <sup>a</sup>	96.25 ± 9.3753 <sup>a</sup>	88.5 ± 3.5707	92.25 ± 3.8161 <sup>a</sup>		
<b>KP</b>	102,5 ± 3.304	397,5 ± 21.3131 <sup>b</sup>	486,5 ± 66.2577 <sup>b</sup>	458,25 ± 71.1798 <sup>bc</sup>	512,75 ± 54.339 <sup>b</sup>	433,75 ± 44.7463 <sup>b</sup>	284,25 ± 110,375	467,25 ± 43.5093 <sup>b</sup>		
<b>P1</b>	120,25 ± 14.8682	408 ± 31.201 <sup>b</sup>	517,25 ± 17.2645 <sup>bc</sup>	568,75 ± 16.8739 <sup>bc</sup>	531,5 ± 13.9374 <sup>b</sup>	510,25 ± 31.1646 <sup>b</sup>	338,25 ± 30.674	483,75 ± 58.2886 <sup>b</sup>		
<b>P2</b>	102 ± 11.4528	451,75 ± 51.4982 <sup>b</sup>	513,75 ± 39.2734 <sup>b</sup>	600 ± 0,0 <sup>bd</sup>	457,5 ± 84.266 <sup>b</sup>	360 ± 109,073 <sup>b</sup>	427 ± 20.8327	557 ± 16.3911 <sup>b</sup>		
<b>P3</b>	97.75 ± 4.0492	402 ± 41.7373 <sup>b</sup>	427 ± 24.9299 <sup>bd</sup>	475,75 ± 45.6643 <sup>bh</sup>	482,5 ± 23.4147 <sup>b</sup>	412 ± 65.6734 <sup>b</sup>	315 ± 74.552	480,5 ± 44.3856 <sup>b</sup>		
<b>P4</b>	106,5 ± 5.2994	471,5 ± 46.2917 <sup>b</sup>	501,25 ± 33.4499 <sup>b</sup>	555,5 ± 33.8539 <sup>b</sup>	555 ± 28.8993 <sup>b</sup>	490,5 ± 109,5 <sup>b</sup>	427,5 ± 61.9482	445,75 ± 57.8293 <sup>b</sup>		
<b>Rata-Rata</b>	103,62 ± 3.7168	371 ± 29.4464	423,12 ± 34.077	458,29 ± 38.3004	437,88 ± 36.88974	383,79 ± 38.79536	313,42 ± 32.6233	421,08 ± 35.0431		

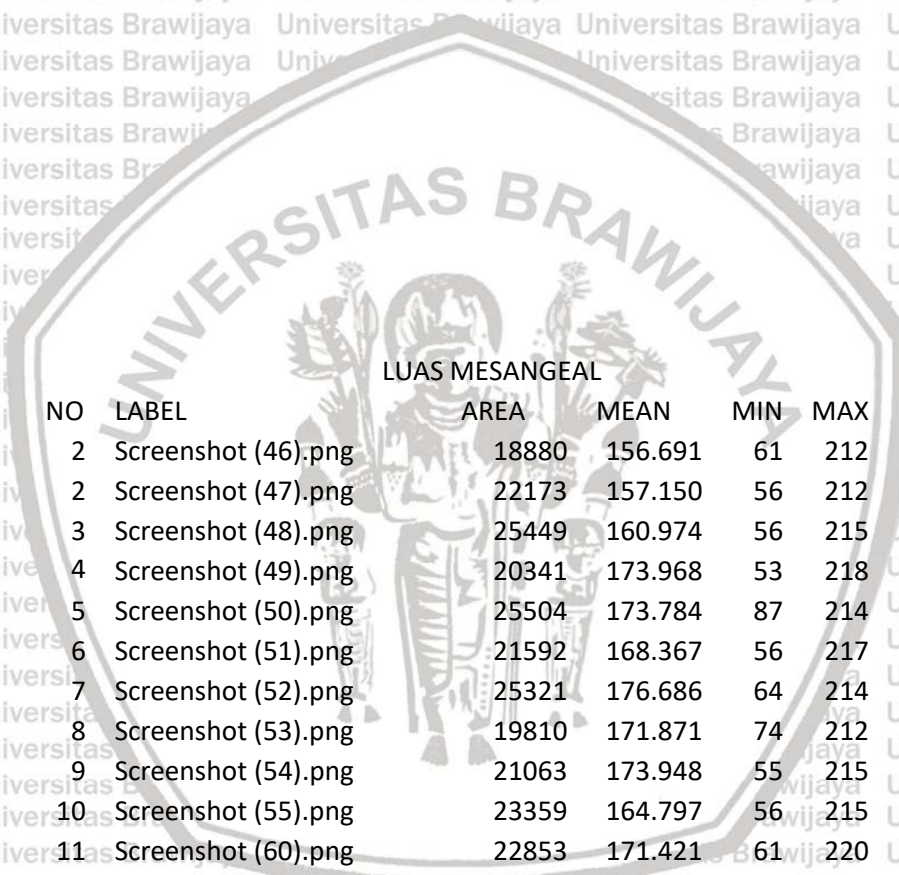
## Lampiran 8. Hasil Perhitungan Mesangeal

### - Kelompok Normal

NO	LABEL	LUAS GLOMERULUS AREA	MEAN	MIN	MAX
1	Screenshot (46).png	181684	146.593	49	214
2	Screenshot (47).png	222699	144.443	49	216
3	Screenshot (48).png	192103	148.175	53	217
4	Screenshot (49).png	202581	168.081	46	223
5	Screenshot (50).png	158765	168.628	60	219
6	Screenshot (51).png	150348	158.293	49	219
7	Screenshot (52).png	210245	170.653	60	220
8	Screenshot (53).png	119485	166.761	58	219
9	Screenshot (54).png	133716	166.753	45	221
KN 1	10 Screenshot (55).png	198546	155.332	50	217
	11 Screenshot (59).png	163580	169.237	55	224
	12 Screenshot (60).png	187896	167.300	57	223
	13 Screenshot (68).png	159269	153.191	48	217
	14 Screenshot (69).png	163353	181.834	60	226
	15 Screenshot (749).png	184459	162.358	48	217
	16 Screenshot (752).png	209015	161.537	59	219
	17 Screenshot (751).png	247674	161.401	52	218
	18 Screenshot (750).png	151141	158.639	49	219
	19 Screenshot (754).png	208846	157.960	50	217
	20 Screenshot (755).png	214356	182.601	53	229
	RATA-RATA	182988,1			







LUAS MESANGEAL

NO	LABEL	AREA	MEAN	MIN	MAX	ME	GV
2	Screenshot (46).png	18880	156.691	61	212	10%	227922,6
2	Screenshot (47).png	22173	157.150	56	212	10%	279375,9
3	Screenshot (48).png	25449	160.974	56	215	13%	240993,2
4	Screenshot (49).png	20341	173.968	53	218	10%	254137,9
5	Screenshot (50).png	25504	173.784	87	214	16%	199170,7
6	Screenshot (51).png	21592	168.367	56	217	14%	188611,6
7	Screenshot (52).png	25321	176.686	64	214	12%	263752,4
8	Screenshot (53).png	19810	171.871	74	212	17%	149893,9
9	Screenshot (54).png	21063	173.948	55	215	16%	167746,7
10	Screenshot (55).png	23359	164.797	56	215	12%	249076,0
11	Screenshot (60).png	22853	171.421	61	220	14%	205211,1
12	Screenshot (59).png	29525	175.262	68	215	16%	235715,5
13	Screenshot (68).png	24113	159.951	60	206	15%	199803,0
14	Screenshot (69).png	25607	182.528	67	215	16%	204926,3
15	Screenshot (749).png	22630	171.251	53	213	12%	231403,8
4	Screenshot (752).png	27489	166.274	84	205	13%	262209,3
17	Screenshot (751).png	36625	167.315	57	210	15%	310707,0
16	Screenshot (750).png	23806	169.194	61	209	16%	189606,4
19	Screenshot (754).png	21748	164.991	58	208	10%	261997,3
20	Screenshot (755).png	33634	189.910	62	223	16%	268909,6
	RATA-RATA	24576,1				14%	229558,5

SD 2% 40724,4

# UNIVERSITAS BRAWIJAYA

## LUAS GLOMERULUS

NO	LABEL	AREA	MEAN	MIN	MAX
1	Screenshot (70).png	188355	132.993	56	229
2	Screenshot (71).png	152482	155.994	59	218
3	Screenshot (73).png	181346	151.766	41	230
4	Screenshot (74).png	149357	144.166	43	227
5	Screenshot (75).png	201985	152.302	54	220
6	Screenshot (76).png	245186	156.190	57	219
7	Screenshot (77).png	170373	153.721	38	228
8	Screenshot (78).png	139072	147.696	52	231
9	Screenshot (80).png	201078	147.850	47	224
KN 2	10 Screenshot (83).png	160901	145.499	43	225
11	Screenshot (84).png	182451	146.174	48	232
12	Screenshot (79).png	193914	144.930	45	227
13	Screenshot (87).png	112591	158.226	59	229
14	Screenshot (88).png	157088	159.852	47	229
15	Screenshot (90).png	177989	158.186	36	230
16	Screenshot (91).png	222269	158.008	45	255
17	Screenshot (93).png	163747	143.335	0	245
18	Screenshot (95).png	133097	144.273	53	230
19	Screenshot (96).png	152082	146.513	53	230
20	Screenshot (97).png	111542	144.920	53	225
	Rata-rata	169845,3			





UNIVERSITAS BRAWIJAYA

LUAS GLOMERULUS

NO	LABEL	AREA	MEAN	MIN	MAX	ME	GV
1	Screenshot (70).png	21516	140.968	64	211	11%	236291,3
2	Screenshot (71).png	15456	163.385	89	211	10%	191288,7
3	Screenshot (73).png	26272	161.011	67	218	14%	227498,6
4	Screenshot (74).png	24992	155.326	64	216	17%	187368,4
5	Screenshot (75).png	25168	160.777	56	209	12%	253390,2
6	Screenshot (76).png	37252	165.517	65	208	15%	307585,8
7	Screenshot (77).png	24402	165.495	43	221	14%	213732,9
8	Screenshot (78).png	20763	155.414	64	213	15%	174465,8
9	Screenshot (80).png	21691	153.456	64	214	11%	252252,4
10	Screenshot (83).png	22762	155.938	51	217	14%	201850,3
11	Screenshot (84).png	22679	154.926	59	221	12%	228884,8
12	Screenshot (79).png	30457	155.863	77	218	16%	243265,1
13	Screenshot (87).png	20597	167.636	62	224	18%	141245,4
14	Screenshot (88).png	30533	170.463	79	222	19%	197066,9
15	Screenshot (90).png	24585	165.197	44	220	14%	223287,2
16	Screenshot (91).png	25024	167.272	61	219	11%	278836,5
17	Screenshot (93).png	25113	149.815	68	223	15%	205420,6
18	Screenshot (95).png	19647	156.412	72	215	15%	166970,2
19	Screenshot (96).png	21507	155.814	54	220	14%	190786,9
20	Screenshot (97).png	14407	152.853	70	222	13%	139929,4
		23741,15				14%	213070,9
						SD 2%	42691,9

# UNIVERSITAS BRAWIJAYA

## LUAS GLOMERULUS

NO	LABEL	AREA	MEAN	MIN	MAX
1	Screenshot (103).png	210373	145.184	48	227
2	Screenshot (104).png	226500	156.012	63	224
3	Screenshot (105).png	217299	151.368	53	227
4	Screenshot (106).png	204038	140.685	54	255
5	Screenshot (107).png	200317	148.572	47	234
6	Screenshot (109).png	213820	146.446	51	255
7	Screenshot (114).png	189064	150.157	43	234
8	Screenshot (112).png	207658	150.396	59	226
9	Screenshot (110).png	174084	149.776	28	231
KN 3	10 Screenshot (120).png	134652	149.025	56	224
11	Screenshot (119).png	265807	157.035	49	228
12	Screenshot (117).png	273417	166.529	46	227
13	Screenshot (116).png	206865	151.896	62	224
14	Screenshot (101).png	133406	138.960	57	230
15	Screenshot (111).png	135827	152.262	54	227
16	Screenshot (113).png	221913	161.929	42	231
17	Screenshot (775).png	260458	147.641	44	235
18	Screenshot (774).png	207834	151.404	40	231
19	Screenshot (776).png	189212	139.948	40	227
20	Screenshot (100).png	184664	142.131	50	230
		202860,4			





UNIVERSITAS BRAWIJAYA

LUAS GLOMERULUS

NO	LABEL	AREA	MEAN	MIN	MAX	ME	GV
1	Screenshot (103).png	29839	148.194	54	207	14%	263912,9
2	Screenshot (104).png	25425	163.235	80	212	11%	284144,3
3	Screenshot (105).png	33659	156.288	81	218	15%	272601,6
4	Screenshot (106).png	26892	146.388	77	216	13%	255965,7
5	Screenshot (107).png	23815	152.876	63	204	12%	251297,7
6	Screenshot (109).png	23435	155.323	71	219	11%	268237,2
7	Screenshot (114).png	26464	158.794	45	222	14%	237180,8
8	Screenshot (112).png	25499	155.502	65	220	12%	260507,0
9	Screenshot (110).png	23999	154.620	47	230	14%	218388,4
10	Screenshot (120).png	20407	151.145	68	214	15%	168920,9
11	Screenshot (119).png	36201	149.030	65	218	14%	333454,9
12	Screenshot (116).png	39073	154.708	66	216	14%	343001,6
13	Screenshot (117).png	24673	160.087	63	216	12%	259512,1
14	Screenshot (119).png	19201	149.030	65	218	14%	167357,8
15	Screenshot (111).png	21970	146.070	72	216	16%	170395,0
16	Screenshot (113).png	32144	168.209	69	220	14%	278389,9
17	Screenshot (774).png	36755	152.986	63	216	14%	326744,6
18	Screenshot (775).png	24553	151.538	68	215	12%	260727,8
19	Screenshot (776).png	27833	146.072	61	217	15%	237366,5
20	Screenshot (100).png	25347	140.705	64	224	14%	231661,0
		27359,2				14%	254488,4
						0,0	49130,8



LUAS GLOMERULUS

NO	LABEL	AREA	MEAN	MIN	MAX
1	Screenshot (124).png	234063	157,703	42	224
2	Screenshot (125).png	136729	149,365	53	226
3	Screenshot (126).png	182223	151,524	58	225
4	Screenshot (127).png	154867	148,575	44	230
5	Screenshot (129).png	143025	153,607	46	224
6	Screenshot (130).png	192341	154,734	45	230
7	Screenshot (131).png	234702	156,9	37	230
8	Screenshot (132).png	220969	154,121	35	224
9	Screenshot (133).png	73633	149,418	45	225
KN 4	10 Screenshot (134).png	167740	151,514	34	226
11	Screenshot (135).png	202278	152,777	33	233
12	Screenshot (136).png	199397	156,209	25	255
13	Screenshot (137).png	220711	164,169	23	221
14	Screenshot (139).png	210949	156,393	48	225
15	Screenshot (140).png	199004	152,151	36	229
16	Screenshot (143).png	194650	159,179	38	228
17	Screenshot (144).png	251117	160,69	54	229
18	Screenshot (145).png	160511	151,368	44	229
19	Screenshot (146).png	197512	157,695	46	223
20	Screenshot (148).png	203492	158,876	55	226
		188995,7			





UNIVERSITAS BRAWIJAYA

LUAS GLOMERULUS

NO	LABEL	AREA	MEAN	MIN	MAX	ME	GV
1	Screenshot (124).png	31666	156.012	57	219	14%	293632,0
2	Screenshot (125).png	22086	153.675	60	215	16%	171526,5
3	Screenshot (126).png	23894	153.098	74	210	13%	228598,8
4	Screenshot (127).png	23794	160.126	62	219	15%	194280,7
5	Screenshot (129).png	24109	160.878	64	221	17%	179424,9
6	Screenshot (130).png	29130	159.998	60	214	15%	241291,8
7	Screenshot (131).png	35794	159.904	49	218	15%	294433,7
8	Screenshot (132).png	30723	157.236	64	217	14%	277205,6
9	Screenshot (133).png	11676	157.366	70	204	16%	92372,6
10	Screenshot (134).png	29053	159.779	47	219	17%	210429,8
11	Screenshot (135).png	28885	152.302	42	218	14%	253757,8
12	Screenshot (136).png	30795	154.983	47	211	15%	250143,5
13	Screenshot (137).png	26158	153.904	73	215	12%	276881,9
14	Screenshot (139).png	34566	164.154	61	206	16%	264635,5
15	Screenshot (140).png	32851	171.474	53	218	17%	249650,5
16	Screenshot (143).png	29052	161.629	61	213	15%	244188,4
17	Screenshot (144).png	23918	161.747	66	216	10%	315026,3
18	Screenshot (145).png	28470	160.944	54	218	18%	201361,0
19	Screenshot (146).png	27165	164.506	48	219	14%	247778,8
20	Screenshot (148).png	33778	157.437	70	212	17%	255280,7
		27878,15				15%	237095,0
				SD		2%	51344,5



LUAS GLOMERULUS

NO	LABEL	AREA	MEAN	MIN	MAX	
1	Screenshot (152).png	128984	138.646	47	236	
2	Screenshot (155).png	228298	147.266	48	233	
3	Screenshot (159).png	182618	150.566	44	234	
4	Screenshot (160).png	240895	152.270	34	236	
5	Screenshot (154).png	149763	142.886	26	233	
6	Screenshot (162).png	196145	147.591	34	231	
7	Screenshot (163).png	164785	144.632	35	224	
8	Screenshot (164).png	192481	148.403	41	238	
9	Screenshot (165).png	196240	145.879	29	231	
KN 5	10	Screenshot (167).png	126550	143.316	53	226
11	Screenshot (168).png	253491	152.032	36	243	
12	Screenshot (169).png	141924	153.285	55	228	
13	Screenshot (170).png	104153	152.666	43	227	
14	Screenshot (171).png	234529	153.609	46	240	
15	Screenshot (172).png	193499	159.282	40	232	
16	Screenshot (174).png	118788	153.040	44	227	
17	Screenshot (175).png	198098	153.762	46	232	
18	Screenshot (777).png	160058	145.329	45	226	
19	Screenshot (778).png	114928	139.618	46	227	
20	Screenshot (779).png	195219	145.961	29	231	

176072,3







LUAS GLOMERULUS

NO	LABEL	AREA	MEAN	MIN	MAX	ME	GV
1	Screenshot (152).png	21018	147.198	55	229	16%	161810,4
2	Screenshot (154).png	23294	154.764	58	214	10%	286399,8
3	Screenshot (155).png	26786	154.608	64	217	15%	229094,3
4	Screenshot (159).png	39842	156.434	52	220	17%	302202,8
5	Screenshot (160).png	32034	146.541	59	222	21%	187877,7
6	Screenshot (162).png	30081	147.093	53	211	15%	246063,9
7	Screenshot (163).png	22972	154.493	48	224	14%	206722,8
8	Screenshot (164).png	23057	149.338	73	220	12%	241467,4
9	Screenshot (165).png	23842	145.770	62	221	12%	246183,1
10	Screenshot (167).png	19777	145.094	74	209	16%	158757,0
11	Screenshot (168).png	45115	155.771	45	222	18%	318004,5
12	Screenshot (169).png	26412	159.479	59	210	19%	178043,7
13	Screenshot (170).png	19812	156.031	69	215	19%	130659,9
14	Screenshot (171).png	36720	156.174	59	240	16%	294216,6
15	Screenshot (172).png	25390	159.642	51	217	13%	242744,5
16	Screenshot (174).png	22086	159.793	45	215	19%	149019,5
17	Screenshot (175).png	22093	150.605	70	217	11%	248513,9
18	Screenshot (777).png	22666	150.336	60	214	14%	200792,8
19	Screenshot (778).png	20430	145.259	56	215	18%	144177,2
20	Screenshot (779).png	25484	145.380	40	214	13%	244902,2
		26445,55				15%	220882,7
						SD 3%	55897,3

# UNIVERSITAS BRAWIJAYA

## LUAS GLOMERULUS

NO	LABEL	AREA	MEAN	MIN	MAX	
1	Screenshot (177).png	240254	156.731	45	235	
2	Screenshot (178).png	151597	159.514	31	235	
3	Screenshot (179).png	137058	153.120	37	235	
4	Screenshot (181).png	170138	146.221	29	228	
5	Screenshot (182).png	164754	144.056	38	228	
6	Screenshot (184).png	211780	148.132	39	226	
7	Screenshot (185).png	151879	139.931	41	218	
8	Screenshot (186).png	118906	154.464	48	226	
9	Screenshot (187).png	163931	155.364	44	222	
KN 6	10	Screenshot (188).png	252388	154.862	43	225
	11	Screenshot (189).png	157839	155.321	38	229
	12	Screenshot (191).png	233659	150.300	51	231
	13	Screenshot (192).png	78838	150.795	51	223
	14	Screenshot (194).png	87284	158.571	38	219
	15	Screenshot (195).png	139220	149.904	43	230
	16	Screenshot (196).png	136556	148.080	44	216
	17	Screenshot (197).png	217344	147.999	41	226
	18	Screenshot (198).png	234714	157.670	40	255
	19	Screenshot (200).png	157483	156.200	50	221
	20	Screenshot (202).png	194598	143.623	36	228

170011



UNIVERSITAS BRAWIJAYA

LUAS GLOMERULUS

NO	LABEL	AREA	MEAN	MIN	MAX	ME	GV
1	Screenshot (177).png	23992	159.155	60	217	10%	301398,6
2	Screenshot (178).png	18571	166.185	44	214	12%	190178,4
3	Screenshot (179).png	14763	154.633	49	215	11%	171939,3
4	Screenshot (181).png	29814	156.777	41	218	18%	213438,1
5	Screenshot (182).png	13064	160.619	58	209	8%	206683,9
6	Screenshot (184).png	29089	157.862	50	212	14%	265678,0
7	Screenshot (185).png	15045	144.200	63	203	10%	190532,2
8	Screenshot (186).png	15322	159.828	64	208	13%	149167,6
9	Screenshot (187).png	24294	160.542	62	210	15%	205651,4
10	Screenshot (188).png	33334	163.113	63	213	13%	316620,7
11	Screenshot (189).png	12471	151.869	59	218	8%	198009,0
12	Screenshot (191).png	27306	157.974	61	209	12%	293125,2
13	Screenshot (192).png	12504	165.406	64	210	16%	98902,3
14	Screenshot (194).png	10203	171.305	57	213	12%	109497,8
15	Screenshot (195).png	12536	153.066	56	217	9%	174651,5
16	Screenshot (196).png	19042	157.311	50	199	14%	171309,5
17	Screenshot (197).png	22432	159.463	62	209	10%	272658,0
18	Screenshot (198).png	31311	162.035	64	212	13%	294448,7
19	Screenshot (200).png	21412	166.053	67	210	14%	197562,4
20	Screenshot (202).png	30231	153.477	52	211	16%	244123,2
		20836,8				12%	213278,8
					SD	3%	62065,2

- **Kelompok Positif**

NO	LABEL	LUAS GLOMERULUS		MEAN	MIN	MAX
		AREA				
1	Screenshot (204).png	169007		150.268	40	234
2	Screenshot (205).png	221788		147.730	46	255
3	Screenshot (206).png	147253		147.106	45	231
4	Screenshot (207).png	174555		143.791	46	229
5	Screenshot (208).png	153986		140.312	46	229
6	Screenshot (209).png	202603		144.368	49	231
7	Screenshot (210).png	181733		156.378	44	255
8	Screenshot (212).png	197084		156.459	53	233
9	Screenshot (213).png	226440		147.079	46	232
KP 1	10 Screenshot (214).png	167948		147.100	46	224
	11 Screenshot (216).png	189672		146.308	35	231
	12 Screenshot (217).png	194204		147.719	43	231
	13 Screenshot (218).png	223159		143.910	42	233
	14 Screenshot (219).png	136017		147.377	59	228
	15 Screenshot (220).png	227796		146.670	58	230
	16 Screenshot (221).png	217644		149.778	44	233
	17 Screenshot (222).png	209241		143.337	43	225
	18 Screenshot (223).png	222847		150.621	13	228
	19 Screenshot (224).png	208733		132.498	42	236
	20 Screenshot (225).png	213273		135.633	50	229
		194249,15				



LUAS GLOMERULUS							
NO	LABEL	AREA	MEAN	MIN	MAX	ME	GV
1	Screenshot (204).png	54682	152.329	61	225	32%	212019,3
2	Screenshot (205).png	54658	154.439	62	222	25%	278233,0
3	Screenshot (206).png	38768	154.614	60	212	26%	184728,9
4	Screenshot (207).png	56644	141.247	55	219	32%	218979,2
5	Screenshot (208).png	34647	146.928	50	210	23%	193175,4
6	Screenshot (209).png	51840	147.288	56	209	26%	254165,5
7	Screenshot (210).png	40424	161.732	48	221	22%	227984,0
8	Screenshot (212).png	45044	160.204	65	225	23%	247241,9
9	Screenshot (213).png	48882	149.154	61	220	22%	284069,0
10	Screenshot (214).png	46607	152.689	55	224	28%	210690,8
11	Screenshot (216).png	41134	147.539	54	228	22%	237943,5
12	Screenshot (217).png	52011	152.990	56	219	27%	243628,9
13	Screenshot (218).png	50678	148.438	56	223	23%	279953,0
14	Screenshot (219).png	32210	156.560	67	221	24%	170633,3
15	Screenshot (220).png	45182	151.142	63	223	20%	285770,1
16	Screenshot (221).png	46478	152.777	61	212	21%	273034,4
17	Screenshot (222).png	50496	143.394	54	214	24%	262492,8
18	Screenshot (223).png	50772	153.899	58	216	23%	279561,6
19	Screenshot (224).png	45463	137.685	53	221	22%	261855,5
20	Screenshot (225).png	45384	141.620	67	221	21%	267551,0
		46600,2				24%	243685,6
					SD	3%	35377,83



LUAS GLOMERULUS

NO	LABEL	AREA	MEAN	MIN	MAX
1	Screenshot (227).png	165073	160.132	34	237
2	Screenshot (228).png	289363	148.867	37	240
3	Screenshot (229).png	221605	156.289	45	231
4	Screenshot (230).png	216692	163.643	46	233
5	Screenshot (231).png	142722	156.813	41	230
6	Screenshot (232).png	276239	157.685	45	232
7	Screenshot (233).png	202632	159.618	54	234
8	Screenshot (234).png	220413	154.169	42	237
9	Screenshot (235).png	216893	163.367	49	255
KP 2	10 Screenshot (236).png	154804	154.440	58	231
11	Screenshot (237).png	105703	156.143	45	229
12	Screenshot (238).png	199551	157.126	51	237
13	Screenshot (239).png	259273	149.906	34	244
14	Screenshot (240).png	240889	155.590	59	226
15	Screenshot (241).png	173285	155.045	48	231
16	Screenshot (242).png	263793	154.955	28	239
17	Screenshot (243).png	244005	154.886	29	236
18	Screenshot (244).png	175079	155.415	39	233
19	Screenshot (245).png	272316	155.081	46	240
20	Screenshot (246).png	195207	157.369	51	237
		211776,85			



LUAS GLOMERULUS							
NO	LABEL	AREA	MEAN	MIN	MAX	ME	GV
1	Screenshot (227).png	36448	145.248	47	226	22%	207084,1
2	Screenshot (228).png	58911	148.119	46	228	20%	363005,9
3	Screenshot (229).png	56372	143.338	63	227	25%	278003,5
4	Screenshot (230).png	59404	146.686	46	215	27%	271840,1
5	Screenshot (231).png	36770	149.039	60	217	26%	179044,7
6	Screenshot (232).png	55605	145.402	71	225	20%	346541,8
7	Screenshot (233).png	46916	153.427	59	226	23%	254201,8
8	Screenshot (234).png	55686	154.567	45	226	25%	276508,1
9	Screenshot (235).png	48327	162.265	54	225	22%	272092,3
10	Screenshot (236).png	39440	156.789	71	222	25%	194201,6
11	Screenshot (237).png	31787	163.501	60	217	30%	132604,4
12	Screenshot (238).png	54019	161.824	57	233	27%	250336,7
13	Screenshot (239).png	51218	151.553	51	233	20%	325258,0
14	Screenshot (240).png	59850	153.411	64	223	25%	302195,3
15	Screenshot (241).png	59345	155.755	50	224	34%	217386,0
16	Screenshot (242).png	68541	153.532	39	238	26%	330928,3
17	Screenshot (243).png	71348	158.473	33	230	29%	306104,3
18	Screenshot (244).png	50546	156.270	57	224	29%	219636,6
19	Screenshot (245).png	65515	150.679	61	227	24%	341620,4
20	Screenshot (246).png	48796	161.613	60	225	25%	244887,2
		52742,2				25%	265674,1
					SD	4%	61520,1



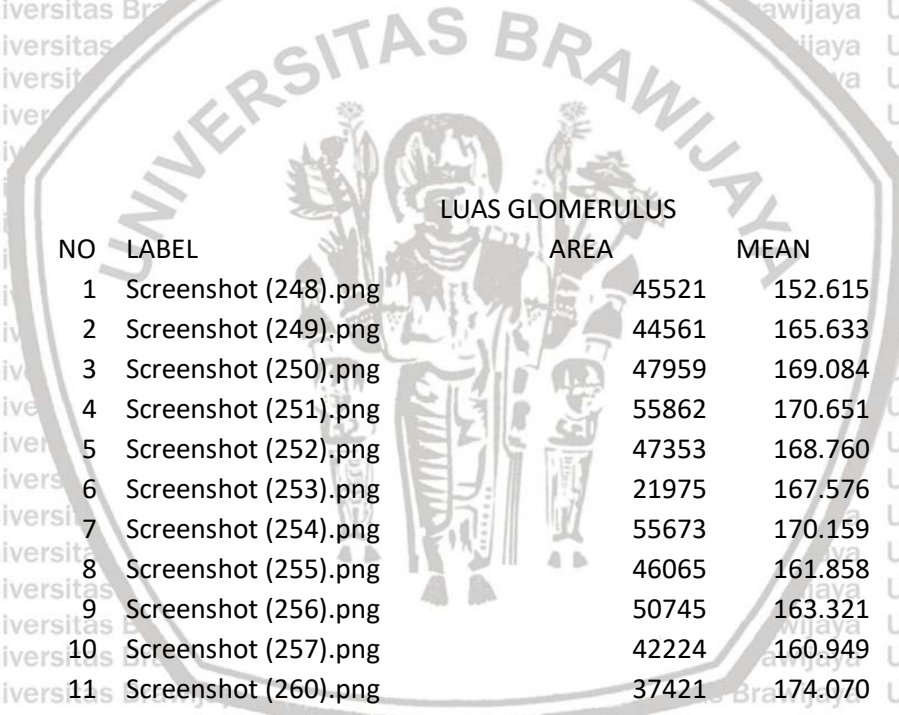
LUAS GLOMERULUS

NO	LABEL	AREA	MEAN	MIN	MAX
1	Screenshot (248).png	229404	152.297	28	239
2	Screenshot (249).png	202722	166.764	63	232
3	Screenshot (250).png	168571	167.193	51	238
4	Screenshot (251).png	178624	165.603	46	239
5	Screenshot (252).png	170479	165.314	47	237
6	Screenshot (253).png	112324	162.759	49	234
7	Screenshot (254).png	184778	164.269	50	230
8	Screenshot (255).png	182600	157.637	46	235
9	Screenshot (256).png	176794	165.646	68	231
KP 4	10 Screenshot (257).png	156846	160.873	56	230
11	Screenshot (260).png	132730	165.867	59	226
12	Screenshot (261).png	212588	169.129	56	227
13	Screenshot (262).png	195123	165.409	55	233
14	Screenshot (263).png	181737	164.406	68	231
15	Screenshot (264).png	145467	161.365	58	229
16	Screenshot (265).png	176696	159.833	60	229
17	Screenshot (267).png	223532	166.969	51	237
18	Screenshot (268).png	202776	170.607	56	232
19	Screenshot (269).png	158528	170.067	46	229
20	Screenshot (270).png	120294	154.684	51	232

175630,65







		LUAS GLOMERULUS						
NO	LABEL	AREA	MEAN	MIN	MAX	ME	GV	
1	Screenshot (248).png	45521	152.615	45	226	20%	287787,3	
2	Screenshot (249).png	44561	165.633	76	221	22%	254314,7	
3	Screenshot (250).png	47959	169.084	55	233	28%	211472,3	
4	Screenshot (251).png	55862	170.651	59	234	31%	224083,8	
5	Screenshot (252).png	47353	168.760	47	223	28%	213865,9	
6	Screenshot (253).png	21975	167.576	66	223	20%	140910,5	
7	Screenshot (254).png	55673	170.159	58	230	30%	231804,0	
8	Screenshot (255).png	46065	161.858	63	226	25%	229071,7	
9	Screenshot (256).png	50745	163.321	78	221	29%	221788,1	
10	Screenshot (257).png	42224	160.949	60	224	27%	196763,3	
11	Screenshot (260).png	37421	174.070	61	223	28%	166509,8	
12	Screenshot (261).png	42584	173.676	61	221	20%	266691,6	
13	Screenshot (262).png	57636	164.772	61	224	30%	244781,8	
14	Screenshot (263).png	40192	168.004	85	215	22%	227989,1	
15	Screenshot (264).png	29161	159.808	74	225	20%	182488,4	
16	Screenshot (265).png	56582	161.465	69	210	32%	221665,1	
17	Screenshot (267).png	57781	167.229	51	228	26%	280420,9	
18	Screenshot (268).png	61610	169.223	73	219	30%	254382,5	
19	Screenshot (269).png	36251	167.166	69	217	23%	198873,4	
20	Screenshot (270).png	26333	160.491	64	214	22%	150908,8	
		45174,45				26%	220328,7	
						4%	39801,71	



LUAS GLOMERULUS

NO	LABEL	AREA	MEAN	MIN	MAX
1	Screenshot (271).png	226751	183.418	112	221
2	Screenshot (272).png	170734	185.595	86	228
3	Screenshot (274).png	201232	193.569	92	221
4	Screenshot (276).png	203802	182.597	84	222
5	Screenshot (277).png	266370	181.002	87	228
6	Screenshot (278).png	192485	183.879	73	223
7	Screenshot (279).png	238575	186.226	88	221
8	Screenshot (280).png	178320	187.165	85	223
9	Screenshot (281).png	228624	185.977	73	223
KP 5T	10 Screenshot (282).png	204299	183.475	76	222
11	Screenshot (283).png	158156	183.332	69	220
12	Screenshot (284).png	191620	186.163	69	221
13	Screenshot (285).png	214454	183.223	70	223
14	Screenshot (286).png	223924	183.938	71	225
15	Screenshot (287).png	215493	183.096	89	222
16	Screenshot (289).png	239636	183.956	77	226
17	Screenshot (290).png	218918	184.469	70	223
18	Screenshot (291).png	209563	179.319	74	225
19	Screenshot (292).png	206446	181.746	88	219
20	Screenshot (273).png	251665	192.304	96	224

212053,35





LUAS GLOMERULUS							
NO	LABEL	AREA	MEAN	MIN	MAX	ME	GV
1	Screenshot (271).png	58274	183.075	115	213	26%	284459,1
2	Screenshot (272).png	51930	186.331	127	219	30%	214185,8
3	Screenshot (273).png	50501	190.543	102	222	25%	252445,5
4	Screenshot (274).png	60581	193.793	93	215	30%	255669,6
5	Screenshot (276).png	64316	183.211	119	215	24%	334161,2
6	Screenshot (277).png	61149	179.628	106	220	32%	241472,4
7	Screenshot (278).png	59009	181.571	111	220	25%	299292,3
8	Screenshot (279).png	64443	186.079	123	218	36%	223702,4
9	Screenshot (280).png	60116	185.922	85	223	26%	286808,8
10	Screenshot (281).png	78216	187.206	97	216	38%	256293,1
11	Screenshot (282).png	60768	182.672	87	222	38%	198406,7
12	Screenshot (283).png	65001	181.046	70	217	34%	240387,3
13	Screenshot (284).png	62355	184.585	118	218	29%	269032,5
14	Screenshot (285).png	68076	182.466	74	220	30%	280912,7
15	Screenshot (286).png	62769	183.568	73	217	29%	270336,0
16	Screenshot (287).png	67303	181.918	120	222	28%	300623,4
17	Screenshot (289).png	83278	184.911	96	221	38%	274632,6
18	Screenshot (290).png	66470	181.513	84	217	32%	262896,8
19	Screenshot (291).png	74474	180.948	93	217	36%	258986,5
20	Screenshot (292).png	74404	182.596	97	216	30%	315713,7
		64671,65				31%	266020,9
					SD	5%	33456,1

- **Kelompok Perlakuan 1 ETD 50 mg/kgBB  
P1**

no.	Label	Area	Mean	Min	Max
1	Screenshot (293).png	153214	177,089	0	245
2	Screenshot (295).png	162681	172,083	60	229
3	Screenshot (298).png	151635	176,843	47	231
4	Screenshot (299).png	160080	170,607	49	224
5	Screenshot (301).png	164510	169,396	48	226
6	Screenshot (302).png	133071	166,682	61	225
7	Screenshot (303).png	172953	173,698	83	227
8	Screenshot (304).png	121805	173,292	91	233
9	Screenshot (305).png	158541	173,098	53	233
10	Screenshot (307).png	198027	173,466	70	223
11	Screenshot (308).png	175997	167,094	73	224
12	Screenshot (309).png	168909	177,738	53	228
13	Screenshot (312).png	141527	174,325	68	232
14	Screenshot (313).png	123738	177,245	67	229
15	Screenshot (314).png	128168	178,733	61	226
16	Screenshot (315).png	182369	178,562	71	230
17	Screenshot (316).png	154930	178,9	104	229
18	Screenshot (318).png	118931	176,321	58	227
19	Screenshot (319).png	141470	171,915	62	231
20	Screenshot (320).png	152614	172,765	52	234

153259





MA							
no.	Label	Area	Mean	Min	Max	GV	ME %
1	Screenshot (293).png	74308	181,366	0	228	192207,0	48%
2	Screenshot (295).png	52783	175,978	93	217	204083,3	32%
3	Screenshot (298).png	67755	180,35	109	225	190226,1	45%
4	Screenshot (299).png	53414	171,693	57	224	200820,4	33%
5	Screenshot (301).png	64587	173,309	100	220	206377,8	39%
1	Screenshot (302).png	62564	170,586	83	224	166937,6	47%
1	Screenshot (303).png	59363	177.814	83	224	216969,5	34%
2	Screenshot (304).png	43413	175.444	111	223	152804,4	36%
3	Screenshot (305).png	49746	174.153	80	228	198889,7	31%
4	Screenshot (307).png	71857	174.897	99	218	248424,9	36%
5	Screenshot (308).png	70988	168.177	73	221	220788,2	40%
6	Screenshot (309).png	53887	180.616	115	224	211896,3	32%
7	Screenshot (312).png	78990	179.660	71	222	177545,6	56%
8	Screenshot (313).png	65614	182.102	97	227	155229,3	53%
9	Screenshot (314).png	63842	183.573	97	226	160786,8	50%
10	Screenshot (315).png	79302	181.147	106	230	228781,9	43%
11	Screenshot (316).png	78459	181.902	113	229	194359,7	51%
12	Screenshot (318).png	39632	177.725	66	219	149198,9	33%
13	Screenshot (319).png	54735	175.650	71	231	177474,1	39%
14	Screenshot (320).png	79767	176.674	60	226	191454,3	52%

P1-2

GA					
no.	Label	Area	Mean	Min	Max
1	Screenshot (321).png	209929	149,597	47	229
2	Screenshot (322).png	177997	153,142	63	226
3	Screenshot (323).png	187255	155,501	52	235
4	Screenshot (324).png	171838	149,511	42	228
5	Screenshot (326).png	88496	139,228	40	226
6	Screenshot (327).png	145225	150,753	50	229
7	Screenshot (328).png	183592	149,917	32	243
8	Screenshot (329).png	169445	146,154	41	232
9	Screenshot (330).png	118423	144,428	51	227
10	Screenshot (331).png	251549	153,038	45	232
11	Screenshot (332).png	190142	152,185	43	233
12	Screenshot (333).png	192015	152,751	36	236
13	Screenshot (334).png	256296	153,593	48	230
14	Screenshot (335).png	207623	145,092	43	234
15	Screenshot (336).png	267108	144,672	37	234
16	Screenshot (337).png	180829	147,515	46	228
17	Screenshot (339).png	177640	145,755	48	226
18	Screenshot (340).png	240207	147,774	51	228
19	Screenshot (341).png	168354	150,327	38	228
20	Screenshot (342).png	100203	146,848	49	230

Rata-rata 184208





MA					
no.	Label	Area	Mean	Min	Max
1	Screenshot (321).png	65815	157.271	55	219
2	Screenshot (322).png	61967	159.943	68	218
3	Screenshot (323).png	48785	160.054	76	224
4	Screenshot (324).png	49480	155.497	66	218
5	Screenshot (326).png	32479	155.303	50	226
1	Screenshot (327).png	39745	149.583	64	221
2	Screenshot (328).png	58256	154.834	35	231
3	Screenshot (329).png	55257	153.568	48	226
4	Screenshot (330).png	37520	155.558	62	220
5	Screenshot (331).png	62494	156.854	56	226
6	Screenshot (332).png	54997	153.788	53	225
7	Screenshot (333).png	31618	156.333	56	228
8	Screenshot (335).png	45314	152.089	47	219
9	Screenshot (336).png	66083	148.081	51	228
10	Screenshot (337).png	47317	153.783	55	220
11	Screenshot (339).png	53733	150.502	50	223
12	Screenshot (340).png	83843	153.185	54	226
13	Screenshot (341).png	39025	157.137	49	215
14	Screenshot (342).png	31296	152.917	60	224
15	Screenshot (321).png	57363	154.846	53	217

GV	ME %
263355,9	31%
223297,2	35%
234911,4	26%
215570,8	29%
111018,2	37%
182184,8	27%
230316,2	32%
212568,8	33%
148561,7	32%
315568,2	25%
238533,1	29%
240882,8	16%
321523,3	18%
260463,1	32%
335087,0	18%
226850,0	30%
222849,4	47%
301339,7	16%
211200,1	19%
125704,7	57%

P13

GA

no.	Label	Area	Mean	Min	Max
1	Screenshot (343).png	134127	159,708	53	231
2	Screenshot (344).png	171025	155,939	43	233
3	Screenshot (345).png	225722	156,351	45	233
4	Screenshot (346).png	232241	148,854	35	235
5	Screenshot (347).png	172804	149,636	35	228
6	Screenshot (348).png	153610	151,672	36	232
7	Screenshot (349).png	201318	148,185	41	233
8	Screenshot (351).png	193882	150,551	38	231
9	Screenshot (352).png	91658	148,873	58	230
10	Screenshot (353).png	166786	146,565	40	241
11	Screenshot (354).png	152991	150,629	44	231
12	Screenshot (355).png	203009	150,729	42	233
13	Screenshot (356).png	213224	155,266	31	243
14	Screenshot (357).png	213458	161,967	32	233
15	Screenshot (358).png	163714	152,956	49	227
16	Screenshot (359).png	167641	153,02	41	235
17	Screenshot (360).png	165376	151,004	46	232
18	Screenshot (361).png	177584	147,428	44	228
19	Screenshot (362).png	206178	148,481	41	235
20	Screenshot (363).png	215580	151,979	46	231





UNIVERSITAS BRAWIJAYA

MA

	Label	Area	Mean	Min	Max
1	Screenshot (343).png	51458	165.195	53	229
2	Screenshot (344).png	43484	161.891	46	224
3	Screenshot (345).png	58374	154.487	49	227
4	Screenshot (346).png	56588	155.368	51	235
5	Screenshot (347).png	58255	162.868	45	228
1	Screenshot (348).png	51495	159.550	43	225
2	Screenshot (349).png	47630	152.736	41	225
3	Screenshot (351).png	60868	154.078	45	226
4	Screenshot (352).png	26130	154.278	58	226
5	Screenshot (353).png	41438	150.838	56	224
6	Screenshot (354).png	38554	149.603	46	215
7	Screenshot (355).png	46141	152.673	51	218
8	Screenshot (356).png	67371	161.393	32	228
9	Screenshot (357).png	46451	161.408	40	222
10	Screenshot (358).png	41964	154.901	68	221
11	Screenshot (359).png	59365	154.687	42	231
12	Screenshot (360).png	46834	154.470	53	228
13	Screenshot (361).png	54350	149.357	56	221
14	Screenshot (362).png	60818	159.287	60	226
15	Screenshot (363).png	50488	160.168	51	222

GV	ME%
168262,3	38%
214550,9	25%
283168,2	26%
291346,3	24%
216782,6	34%
192703,7	34%
252553,4	24%
243225,0	31%
114985,0	29%
209233,0	25%
191927,2	25%
254674,8	23%
267489,5	32%
267783,1	22%
205379,2	26%
210305,6	35%
207464,2	28%
222779,1	31%
258650,3	29%
270445,1	23%

P1-5

GA					
no.	Label	Area	Mean	Min	Max
1	Screenshot (387).png	224993	163,863	59	224
2	Screenshot (388).png	182988	167,27	64	228
3	Screenshot (389).png	225899	165,055	65	225
4	Screenshot (390).png	137261	180,762	80	227
5	Screenshot (391).png	241066	182,905	83	227
6	Screenshot (392).png	182886	175,482	107	223
7	Screenshot (393).png	180337	170,381	72	230
8	Screenshot (394).png	172364	177,214	60	228
9	Screenshot (396).png	111568	186,984	102	223
10	Screenshot (397).png	216774	188,291	70	223
1	Screenshot (398).png	189198	182,218	89	226
2	Screenshot (399).png	135504	183,316	61	228
3	Screenshot (400).png	193574	187,49	100	220
4	Screenshot (401).png	198192	175,885	62	228
5	Screenshot (402).png	186786	160,992	63	227
6	Screenshot (403).png	175108	162,018	51	228
7	Screenshot (404).png	202031	153,117	47	228
8	Screenshot (405).png	173591	176,898	87	225
9	Screenshot (406).png	159636	186,944	85	225
10	Screenshot (409).png	199567	159,32	50	234





MA					
no.	Label	Area	Mean	Min	Max
1	Screenshot (387).png	77178	161.175	81	223
2	Screenshot (388).png	67154	168.806	73	227
3	Screenshot (389).png	71232	167.734	91	219
4	Screenshot (390).png	57423	182.282	88	226
5	Screenshot (391).png	120634	184.195	99	226
6	Screenshot (392).png	90786	177.349	113	220
7	Screenshot (393).png	84360	173.340	89	226
8	Screenshot (394).png	79207	179.420	60	227
9	Screenshot (396).png	56327	188.640	111	221
10	Screenshot (397).png	90978	188.823	93	223
11	Screenshot (398).png	99402	185.580	94	221
12	Screenshot (399).png	58507	185.350	70	222
13	Screenshot (400).png	111379	189.023	116	218
14	Screenshot (401).png	99616	177.892	88	222
15	Screenshot (402).png	77791	162.932	87	224
16	Screenshot (403).png	87398	165.844	51	228
17	Screenshot (404).png	81179	158.952	47	223
18	Screenshot (405).png	71527	180.947	100	216
19	Screenshot (406).png	86796	189.173	90	225
20	Screenshot (409).png	90578	162.352	77	234

GV	ME %
282253,7	34%
229558,4	37%
283390,3	32%
172193,9	42%
302417,3	50%
229430,5	50%
226232,8	47%
216230,6	46%
139962,1	50%
271943,0	42%
237348,9	53%
169989,8	43%
242838,6	58%
248631,9	50%
234323,0	42%
219673,0	50%
253447,9	40%
217769,9	41%
200263,4	54%
250356,8	45%

P1-6

GA					
no.	Label	Area	Mean	Min	Max
1	Screenshot (364).png	161897	153,035	47	224
2	Screenshot (365).png	150087	152,924	36	226
3	Screenshot (366).png	228349	154,786	44	229
4	Screenshot (367).png	204265	157,541	48	226
5	Screenshot (368).png	161109	155,774	46	225
6	Screenshot (369).png	178068	157,25	49	227
7	Screenshot (370).png	93301	156,872	48	226
8	Screenshot (371).png	179821	156,476	49	225
9	Screenshot (372).png	140942	156,088	42	226
10	Screenshot (373).png	169458	160,14	48	227
11	Screenshot (374).png	209900	157,61	42	226
12	Screenshot (375).png	170005	162,066	42	228
13	Screenshot (376).png	186966	159,394	42	227
14	Screenshot (377).png	159482	168,087	43	228
15	Screenshot (378).png	199658	171,25	42	255
16	Screenshot (379).png	187381	165,889	51	227
17	Screenshot (380).png	107829	160,474	45	221
18	Screenshot (381).png	170769	153,218	50	228
19	Screenshot (382).png	206157	170,09	36	234
20	Screenshot (385).png	189919	162,285	46	232



MA					
no.	Label	Area	Mean	Min	Max
1	Screenshot (364).png	37291	156.489	55	224
2	Screenshot (365).png	44150	151.154	48	218
3	Screenshot (366).png	47055	156.085	48	220
4	Screenshot (367).png	50934	152.597	58	226
5	Screenshot (368).png	37718	156.047	52	218
6	Screenshot (369).png	47112	160.491	63	217
7	Screenshot (370).png	24688	159.310	56	223
8	Screenshot (371).png	36969	156.984	60	217
9	Screenshot (372).png	37808	159.011	56	222
10	Screenshot (373).png	37399	158.816	55	223
11	Screenshot (374).png	50660	158.242	55	216
12	Screenshot (375).png	40822	162.626	42	223
13	Screenshot (376).png	46485	158.400	46	219
14	Screenshot (377).png	44740	170.566	47	222
15	Screenshot (378).png	36601	169.589	68	220
16	Screenshot (379).png	36367	160.162	56	219
17	Screenshot (380).png	32785	165.821	56	217
18	Screenshot (381).png	42821	161.087	56	218
19	Screenshot (382).png	65483	169.451	36	228
20	Screenshot (385).png	44973	159.257	47	224

GV	ME %
203099,8	23%
188284,1	29%
286463,8	21%
256250,4	25%
202111,2	23%
223386,3	26%
117046,1	26%
225585,4	21%
176811,7	27%
212585,1	22%
263319,6	24%
213271,3	24%
234548,8	25%
200070,2	28%
250471,0	18%
235069,5	19%
135271,5	30%
214229,7	25%
258624,0	32%
238253,4	24%

- **Kelompok Perlakuan P2 ETD 100 mg/kgBB  
P2-1**

GA					
no.	Label	Area	Mean	Min	Max
1	Screenshot (410).png	168965	179,782	47	230
2	Screenshot (412).png	126180	182,556	63	227
3	Screenshot (413).png	159504	180,561	46	228
4	Screenshot (414).png	161579	177,732	61	229
5	Screenshot (415).png	148281	183,578	62	226
6	Screenshot (416).png	178406	180,399	85	228
7	Screenshot (417).png	139426	178,533	60	230
8	Screenshot (418).png	192051	175,96	78	229
9	Screenshot (419).png	125821	175,16	105	230
10	Screenshot (420).png	158114	174,775	62	238
11	Screenshot (421).png	129061	174,628	56	235
12	Screenshot (422).png	168426	174,951	82	232
13	Screenshot (423).png	209765	174,618	61	229
14	Screenshot (424).png	177600	177,05	69	229
15	Screenshot (426).png	190596	178,448	54	226
16	Screenshot (427).png	133185	179,634	45	228
17	Screenshot (428).png	183812	173,282	60	229
18	Screenshot (429).png	141901	179,162	64	235
19	Screenshot (430).png	148637	174,425	67	233
20	Screenshot (431).png	117687	174,429	79	230





MA						GV	ME %
no.	Label	Area	Mean	Min	Max		
1	Screenshot (410).png	40455	183.760	80	223	211966,6	24%
2	Screenshot (412).png	36263	182.134	85	223	158292,8	29%
3	Screenshot (413).png	42050	182.699	102	221	200097,8	26%
4	Screenshot (414).png	33273	180.326	101	224	202700,9	21%
5	Screenshot (414).png	36286	180.306	101	224	186018,5	24%
6	Screenshot (415).png	34435	189.447	138	217	223810,3	19%
7	Screenshot (416).png	41932	182.794	115	220	174909,9	30%
8	Screenshot (417).png	31090	180.737	113	222	240928,0	16%
9	Screenshot (418).png	33504	171.793	101	221	157842,4	27%
10	Screenshot (419).png	28530	174.197	110	221	198354,0	18%
11	Screenshot (420).png	32066	177.877	62	221	161907,0	25%
12	Screenshot (421).png	31460	183.900	69	223	211290,4	19%
13	Screenshot (422).png	31491	175.052	104	221	263150,2	15%
14	Screenshot (423).png	35854	172.111	81	224	222799,2	20%
15	Screenshot (424).png	35073	178.326	103	222	239102,7	18%
16	Screenshot (426).png	40543	182.953	61	223	167080,6	30%
17	Screenshot (427).png	32618	177.351	45	221	230592,2	18%
18	Screenshot (428).png	37089	170.634	63	225	178014,8	26%
19	Screenshot (429).png	40022	183.992	128	225	186465,1	27%
20	Screenshot (430).png	44961	174.618	71	227	147638,3	38%

**P2-2**

no.	Label	Area	Mean	Min	Max
1	Screenshot (433).png	217083	133,55	51	229
2	Screenshot (434).png	195649	145,669	55	234
3	Screenshot (435).png	185546	153,216	48	228
4	Screenshot (436).png	167044	154,657	55	230
5	Screenshot (437).png	235122	144,221	53	231
6	Screenshot (438).png	201253	143,22	48	235
7	Screenshot (439).png	179793	145,555	36	234
8	Screenshot (441).png	182429	137,697	54	231
9	Screenshot (442).png	139144	132,043	53	227
10	Screenshot (443).png	213453	139,149	52	229
11	Screenshot (444).png	185295	145,575	51	229
12	Screenshot (445).png	185759	150,341	45	232
13	Screenshot (446).png	195119	148,137	39	231
14	Screenshot (447).png	212868	146,493	46	229
15	Screenshot (448).png	249359	149,882	53	226
16	Screenshot (449).png	226891	140,054	54	226
17	Screenshot (450).png	175323	139,525	47	227
18	Screenshot (451).png	214650	150,233	37	234
19	Screenshot (452).png	202095	144,67	40	229
20	Screenshot (453).png	159138	142,473	50	227





MA					
no.	Label	Area	Mean	Min	Max
1	Screenshot (433).png	83108	141.070	61	226
2	Screenshot (434).png	67350	147.325	63	234
3	Screenshot (435).png	56108	157.130	59	226
4	Screenshot (436).png	52266	155.309	75	225
5	Screenshot (437).png	83456	148.394	54	227
6	Screenshot (438).png	67821	152.033	55	227
7	Screenshot (439).png	67614	153.655	47	227
8	Screenshot (441).png	68810	138.704	59	224
9	Screenshot (442).png	63949	135.131	57	218
10	Screenshot (443).png	78548	143.182	52	225
11	Screenshot (444).png	67203	149.259	58	223
12	Screenshot (445).png	57452	150.595	51	222
13	Screenshot (446).png	82876	155.066	39	228
14	Screenshot (447).png	75699	152.115	49	223
15	Screenshot (448).png	71570	152.302	71	217
16	Screenshot (449).png	92406	145.331	57	221
17	Screenshot (450).png	70472	147.304	58	223
18	Screenshot (451).png	68823	150.871	65	222
19	Screenshot (452).png	68623	149.362	41	226
20	Screenshot (453).png	58042	149.707	50	224

GV	ME %
272330,6	38%
245441,7	34%
232767,5	30%
209556,7	31%
294960,5	35%
252471,9	34%
225550,3	38%
228857,2	38%
174556,1	46%
267776,8	37%
232452,6	36%
233034,7	31%
244776,8	42%
267042,9	36%
312820,9	29%
284634,8	41%
219942,7	40%
269278,4	32%
253528,2	34%
199638,6	36%

**P2-3**

GA					
no.	Label	Area	Mean	Min	Max
1	Screenshot (454).png	181758	155,775	49	234
2	Screenshot (455).png	122546	158,907	61	228
3	Screenshot (456).png	162836	154,765	48	231
4	Screenshot (457).png	136863	157,353	31	231
5	Screenshot (459).png	159546	151,312	45	232
6	Screenshot (461).png	158020	155,983	36	231
7	Screenshot (462).png	261175	150,729	43	231
8	Screenshot (463).png	289857	150,382	42	235
9	Screenshot (465).png	241147	158,251	55	229
10	Screenshot (466).png	183941	155,512	50	233
11	Screenshot (467).png	226026	150,151	41	228
12	Screenshot (468).png	199347	143,619	45	229
13	Screenshot (469).png	215701	156,37	37	234
14	Screenshot (470).png	205330	154,582	41	232
15	Screenshot (471).png	190357	158,565	55	227
16	Screenshot (472).png	169547	154,765	57	227
17	Screenshot (473).png	198196	155,324	47	231
18	Screenshot (475).png	243616	150,461	43	229
19	Screenshot (476).png	181777	148,832	55	232
20	Screenshot (477).png	245519	156,356	38	232



MA					
no.	Label	Area	Mean	Min	Max
1	Screenshot (454).png	41466	154.222	57	232
2	Screenshot (455).png	34455	157.246	61	222
3	Screenshot (456).png	58960	162.314	53	223
4	Screenshot (457).png	43255	161.997	43	225
5	Screenshot (459).png	44845	156.288	46	217
6	Screenshot (461).png	44176	155.150	75	225
7	Screenshot (462).png	45232	150.884	53	226
8	Screenshot (463).png	71105	147.557	59	229
9	Screenshot (465).png	40652	152.819	73	221
10	Screenshot (466).png	41992	155.888	65	225
11	Screenshot (467).png	59333	151.850	59	219
12	Screenshot (468).png	54862	147.298	45	219
13	Screenshot (469).png	45248	155.088	46	225
14	Screenshot (470).png	41219	151.154	54	220
15	Screenshot (471).png	52219	158.037	62	224
16	Screenshot (472).png	47488	160.943	76	217
17	Screenshot (473).png	40788	149.718	56	219
18	Screenshot (475).png	40230	145.253	54	220
19	Screenshot (476).png	42254	146.864	63	219
20	Screenshot (477).png	44772	152.233	63	225

GV	ME %
228015,4	23%
153734,0	28%
204277,8	36%
171694,6	32%
200150,5	28%
198236,1	28%
327644,0	17%
363625,6	25%
302518,9	17%
230754,0	23%
283549,6	26%
250080,8	28%
270596,9	21%
257586,5	20%
238802,9	27%
212696,7	28%
248636,9	21%
305616,3	17%
228039,2	23%
308003,6	18%

P2-4

GA					
no.	Label	Area	Mean	Min	Max
1	Screenshot (478).png	154792	156,466	50	218
2	Screenshot (479).png	189675	160,698	47	220
3	Screenshot (480).png	129730	149,825	40	225
4	Screenshot (481).png	103403	150,309	43	223
5	Screenshot (482).png	131806	150,718	45	223
6	Screenshot (482).png	133635	150,99	45	224
7	Screenshot (483).png	149666	153,058	47	221
8	Screenshot (484).png	167583	157,141	47	217
9	Screenshot (485).png	155737	157,512	49	230
10	Screenshot (486).png	166555	160,465	58	222
11	Screenshot (487).png	158043	156,384	44	223
12	Screenshot (489).png	158391	165,709	46	230
13	Screenshot (491).png	177153	162,187	43	233
14	Screenshot (492).png	229931	164,387	52	230
15	Screenshot (493).png	149511	164,922	57	229
16	Screenshot (494).png	182970	152,898	54	222
17	Screenshot (495).png	179309	151,096	43	229
18	Screenshot (496).png	179490	156,168	46	229
19	Screenshot (497).png	188365	165,2	48	224
20	Screenshot (498).png	187126	163,176	52	223





MA					
no.	Label	Area	Mean	Min	Max
1	Screenshot (478).png	29735	165.067	54	205
2	Screenshot (479).png	31802	169.407	61	209
3	Screenshot (480).png	29843	155.145	58	222
4	Screenshot (481).png	20787	158.074	43	220
5	Screenshot (481).png	23908	161.169	54	217
6	Screenshot (482).png	28209	160.297	51	214
7	Screenshot (483).png	31101	161.201	56	210
8	Screenshot (484).png	29469	164.867	65	213
9	Screenshot (485).png	20141	164.895	50	210
10	Screenshot (486).png	29916	167.615	78	215
11	Screenshot (487).png	25584	161.942	57	219
12	Screenshot (488).png	22299	169.000	73	221
13	Screenshot (489).png	23651	175.021	54	220
14	Screenshot (491).png	31951	170.056	43	217
15	Screenshot (492).png	31356	165.029	71	221
16	Screenshot (493).png	23968	169.696	64	225
17	Screenshot (494).png	22379	158.746	58	208
18	Screenshot (495).png	31919	158.570	56	211
19	Screenshot (495).png	30149	158.602	48	220
20	Screenshot (496).png	24081	165.594	80	212

GV	ME %
194186,6	19%
237947,3	17%
162746,3	23%
129719,1	20%
165350,6	18%
167645,1	21%
187756,0	21%
210232,9	18%
195372,1	13%
208943,2	18%
198264,9	16%
198701,5	14%
222238,4	13%
288448,4	14%
187561,5	21%
229535,9	13%
224943,1	12%
225170,2	18%
236303,9	16%
234749,6	13%

P2-5

GA					
no.	Label	Area	Mean	Min	Max
1	Screenshot (499).png	166295	151,062	52	230
2	Screenshot (500).png	173252	158,586	48	226
3	Screenshot (501).png	107434	153,699	48	231
4	Screenshot (502).png	154385	145,789	43	233
5	Screenshot (503).png	188154	150,508	42	229
6	Screenshot (504).png	212702	155,089	49	227
7	Screenshot (505).png	166125	138,614	44	227
8	Screenshot (506).png	185376	145,684	46	230
9	Screenshot (507).png	238169	140,883	48	236
10	Screenshot (508).png	170011	146,68	50	225
11	Screenshot (509).png	168535	147,713	37	236
12	Screenshot (510).png	169542	151,103	48	233
13	Screenshot (511).png	177582	149,715	56	230
14	Screenshot (512).png	151221	145,078	36	234
15	Screenshot (513).png	205959	145,414	46	255
16	Screenshot (514).png	165976	145,572	41	232
17	Screenshot (515).png	212497	154,956	38	230
18	Screenshot (516).png	213055	150,477	42	236
19	Screenshot (517).png	252620	152,854	56	233
20	Screenshot (519).png	160841	143,445	40	233





MA					
no.	Label	Area	Mean	Min	Max
1	Screenshot (499).png	30213	153.804	68	215
2	Screenshot (500).png	27943	161.312	49	219
3	Screenshot (501).png	22726	152.762	52	220
4	Screenshot (502).png	35338	148.087	52	215
5	Screenshot (503).png	35632	153.928	56	215
6	Screenshot (504).png	49158	156.804	54	216
7	Screenshot (505).png	23987	140.698	51	221
8	Screenshot (506).png	27891	144.237	53	217
9	Screenshot (507).png	34747	141.618	54	222
10	Screenshot (508).png	30357	146.753	78	211
11	Screenshot (509).png	28593	152.330	46	227
12	Screenshot (510).png	23314	150.282	48	218
13	Screenshot (511).png	34894	150.823	61	215
14	Screenshot (512).png	30348	144.260	52	223
15	Screenshot (513).png	42515	144.920	59	224
16	Screenshot (514).png	34582	151.608	41	224
17	Screenshot (515).png	36422	161.451	51	222
18	Screenshot (516).png	29055	149.207	48	223
19	Screenshot (517).png	41274	145.982	57	216
20	Screenshot (519).png	30264	143.666	58	217

GV	ME %
208617,1	18%
217344,6	16%
134776,0	21%
193676,0	23%
236039,2	19%
266834,7	23%
208403,8	14%
232554,2	15%
298783,0	15%
213278,8	18%
211427,2	17%
212690,4	14%
222776,6	20%
189706,7	20%
258375,6	21%
208216,9	21%
266577,5	17%
267277,5	14%
316911,8	16%
201775,0	19%

- **Kelompok Perlakuan P3 ETD Dosis 150 mg/kgBB  
P3-1**

GA					
no.	Label	Area	Mean	Min	Max
1	Screenshot (520).png	182806	173,809	45	235
2	Screenshot (522).png	215185	170,782	69	239
3	Screenshot (523).png	159024	168,631	62	232
4	Screenshot (524).png	177324	167,054	68	235
5	Screenshot (526).png	182383	167,956	61	239
6	Screenshot (527).png	198015	172,998	42	231
7	Screenshot (529).png	208224	171,798	62	231
8	Screenshot (530).png	185826	174,302	50	235
9	Screenshot (531).png	166597	173,967	37	238
10	Screenshot (532).png	168950	174,496	72	231
11	Screenshot (533).png	156150	167,067	64	231
12	Screenshot (534).png	152604	164,914	75	233
13	Screenshot (535).png	193905	162,267	53	235
14	Screenshot (536).png	202304	165,002	54	229
15	Screenshot (539).png	215146	168,578	70	236
16	Screenshot (540).png	155196	172,772	59	233
17	Screenshot (541).png	219391	169,836	43	238
18	Screenshot (542).png	173793	166,592	48	238
19	Screenshot (543).png	223433	164,877	56	230
20	Screenshot (544).png	185672	173,673	58	235







MA					
no.	Label	Area	Mean	Min	Max
1	Screenshot (520).png	39217	182.951	45	220
2	Screenshot (522).png	41872	183.938	91	227
3	Screenshot (523).png	41093	177.163	88	224
4	Screenshot (524).png	40730	175.300	86	232
5	Screenshot (526).png	42364	179.138	71	225
6	Screenshot (527).png	36179	184.098	47	222
7	Screenshot (529).png	43102	181.143	74	222
8	Screenshot (530).png	46958	182.809	96	230
9	Screenshot (531).png	34911	181.997	65	230
10	Screenshot (532).png	45496	181.608	103	224
11	Screenshot (533).png	32429	175.400	113	227
12	Screenshot (534).png	37302	169.308	86	211
13	Screenshot (535).png	35080	167.669	60	218
14	Screenshot (536).png	40806	173.440	57	220
15	Screenshot (539).png	32594	176.699	92	223
16	Screenshot (540).png	26219	179.464	92	218
17	Screenshot (541).png	32777	178.584	49	230
18	Screenshot (542).png	28822	172.501	82	226
19	Screenshot (543).png	47714	172.422	103	219
20	Screenshot (544).png	38654	184.987	122	229

GV	ME %
229330,1	21%
269949,6	19%
199495,6	26%
222453,0	23%
228799,5	23%
248409,8	18%
261217,0	21%
233118,7	25%
208995,9	21%
211947,8	27%
195890,2	21%
191441,7	24%
243253,8	18%
253790,4	20%
269900,7	15%
194693,4	17%
275226,0	15%
218023,3	17%
280296,7	21%
232925,5	21%

**P3-2**

GA					
no.	Label	Area	Mean	Min	Max
1	Screenshot (546).png	208962	151,035	36	235
2	Screenshot (547).png	85149	148,69	35	239
3	Screenshot (548).png	172870	148,664	44	232
4	Screenshot (549).png	196096	152,195	36	235
5	Screenshot (550).png	181320	155,72	43	232
6	Screenshot (551).png	211765	154,396	54	229
7	Screenshot (552).png	162931	155,578	42	229
8	Screenshot (553).png	156275	158,653	46	230
9	Screenshot (554).png	148020	150,293	50	226
10	Screenshot (555).png	184860	149,662	47	233
11	Screenshot (556).png	164794	140,521	43	236
12	Screenshot (557).png	123185	137,21	40	229
13	Screenshot (558).png	180128	147,039	40	237
14	Screenshot (559).png	234625	154,886	39	232
15	Screenshot (560).png	198183	145,783	38	232
16	Screenshot (561).png	156530	149,335	40	230
17	Screenshot (562).png	147890	153,852	48	232
18	Screenshot (563).png	179395	157,187	39	232
19	Screenshot (564).png	168685	147,272	54	229
20	Screenshot (565).png	101578	142,518	47	237



MA					
no.	Label	Area	Mean	Min	Max
1	Screenshot (546).png	42408	153.002	49	225
2	Screenshot (547).png	16740	151.791	50	221
3	Screenshot (548).png	31855	151.172	60	228
4	Screenshot (549).png	51178	153.082	48	222
5	Screenshot (550).png	30095	151.697	51	220
6	Screenshot (551).png	43730	153.522	57	220
7	Screenshot (552).png	30187	153.106	63	217
8	Screenshot (553).png	29003	162.839	61	218
9	Screenshot (554).png	25577	150.314	56	223
10	Screenshot (555).png	37200	149.139	65	220
11	Screenshot (556).png	27626	136.159	45	219
12	Screenshot (557).png	31337	143.685	53	216
13	Screenshot (558).png	26594	148.356	56	216
14	Screenshot (559).png	29824	144.843	51	219
15	Screenshot (560).png	40042	144.193	51	222
16	Screenshot (561).png	27464	149.593	44	216
17	Screenshot (562).png	20403	154.015	64	214
18	Screenshot (563).png	40640	154.427	67	217
19	Screenshot (564).png	31388	148.936	71	220
20	Screenshot (565).png	26851	146.674	65	213

GV	ME %
262142,8	20%
106819,4	20%
216865,4	18%
246002,4	26%
227465,9	17%
265659,2	21%
204396,9	19%
196047,0	19%
185691,1	17%
231906,9	20%
206734,1	17%
154535,6	25%
225970,6	15%
294337,1	13%
248620,6	20%
196366,9	18%
185528,0	14%
225051,0	23%
211615,3	19%
127429,6	26%

P3-4

GA					
no.	Label	Area	Mean	Min	Max
1	Screenshot (567).png	223050	155,416	27	255
2	Screenshot (568).png	236086	157,482	25	240
3	Screenshot (570).png	191589	156,307	35	230
4	Screenshot (571).png	158577	152,653	32	226
5	Screenshot (572).png	153111	151,386	26	233
6	Screenshot (573).png	223322	154,647	32	235
7	Screenshot (574).png	186607	152,341	27	224
8	Screenshot (575).png	204137	152,667	37	229
9	Screenshot (576).png	170961	150,345	37	234
10	Screenshot (577).png	197113	153,358	38	235
11	Screenshot (578).png	225816	157,702	35	231
12	Screenshot (579).png	201088	147,124	27	236
13	Screenshot (580).png	203833	160,801	43	229
14	Screenshot (581).png	183771	158,487	41	238
15	Screenshot (582).png	225035	160,312	39	234
16	Screenshot (583).png	245054	160,114	33	233
17	Screenshot (584).png	219271	161,07	39	231
18	Screenshot (585).png	214342	159,615	43	233
19	Screenshot (586).png	195199	164,325	44	232
20	Screenshot (587).png	221818	163,673	52	237



MA					
no.	Label	Area	Mean	Min	Max
1	Screenshot (567).png	44891	162.797	44	226
2	Screenshot (568).png	39488	160.651	39	233
3	Screenshot (570).png	27515	159.751	48	222
4	Screenshot (571).png	28875	154.488	45	220
5	Screenshot (572).png	21360	154.728	35	228
6	Screenshot (573).png	28611	153.652	46	218
7	Screenshot (574).png	39375	156.283	41	211
8	Screenshot (575).png	38043	156.449	40	219
9	Screenshot (576).png	21976	157.784	50	215
10	Screenshot (577).png	26238	156.969	51	223
11	Screenshot (578).png	37287	158.871	48	220
12	Screenshot (580).png	26369	160.961	44	220
13	Screenshot (581).png	27787	164.830	53	220
14	Screenshot (582).png	37778	163.578	39	222
15	Screenshot (583).png	49751	165.678	50	221
16	Screenshot (584).png	49554	164.892	62	216
17	Screenshot (585).png	38024	163.459	52	222
18	Screenshot (586).png	48474	167.280	49	225
19	Screenshot (587).png	36093	165.180	75	227
20	Screenshot (567).png	43709	164.486	41	227

GV	ME %
279816,2	20%
296169,9	17%
240348,4	14%
198934,8	18%
192077,7	14%
280157,4	13%
234098,5	21%
256089,9	19%
214470,6	13%
247278,3	13%
283286,2	17%
252264,9	13%
255708,5	14%
230540,7	21%
282306,4	22%
307420,2	20%
275075,5	17%
268892	23%
244877,1	18%
278270,7	20%

**P3-5**

no.	Label	Area	Mean	Min	Max
1	Screenshot (589).png	145323	176,184	48	222
2	Screenshot (593).png	168719	180,873	49	231
3	Screenshot (594).png	150678	180,645	70	225
4	Screenshot (595).png	156052	175,878	51	228
5	Screenshot (596).png	162417	178,409	41	230
6	Screenshot (597).png	209318	174,894	50	230
7	Screenshot (598).png	206496	177,671	62	230
8	Screenshot (599).png	156851	175,08	59	229
9	Screenshot (600).png	145270	179,71	60	230
10	Screenshot (601).png	163827	180,936	44	227
11	Screenshot (602).png	181955	180,523	45	230
12	Screenshot (603).png	148498	181,19	60	221
13	Screenshot (604).png	200779	175,481	44	227
14	Screenshot (605).png	118002	177,721	48	228
15	Screenshot (606).png	194378	176,66	90	229
16	Screenshot (607).png	210079	179,126	38	228
17	Screenshot (608).png	225410	180,116	57	233
18	Screenshot (609).png	110685	179,777	45	231
19	Screenshot (610).png	179815	182,617	62	229
20	Screenshot (611).png	193412	178,259	54	229





no.	Label	Area	Mean	Min	Max
1	Screenshot (589).png	23714	178.406	62	213
2	Screenshot (593).png	37352	183.549	58	219
3	Screenshot (594).png	40707	184.839	99	221
4	Screenshot (595).png	28105	183.166	111	226
5	Screenshot (596).png	30809	179.646	115	220
6	Screenshot (597).png	40884	173.059	53	221
7	Screenshot (598).png	37590	176.241	100	223
8	Screenshot (599).png	37310	176.188	92	218
9	Screenshot (600).png	36531	183.460	103	227
10	Screenshot (601).png	30378	181.615	55	220
11	Screenshot (602).png	47300	180.022	45	219
12	Screenshot (603).png	51847	183.921	84	219
13	Screenshot (604).png	44399	180.078	74	218
14	Screenshot (605).png	26493	182.653	92	221
15	Screenshot (606).png	43224	173.199	94	225
16	Screenshot (607).png	40094	177.327	45	218
17	Screenshot (608).png	41478	178.742	93	221
18	Screenshot (609).png	30198	183.982	51	218
19	Screenshot (610).png	39874	185.121	88	220
20	Screenshot (611).png	43902	180.264	91	224

**P3-6**

no.	Label	Area	Mean	Min	Max
1	Screenshot (612).png	209136	158,961	51	228
2	Screenshot (613).png	225098	161,972	53	225
3	Screenshot (614).png	233074	164,41	57	226
4	Screenshot (615).png	205866	160,976	50	255
5	Screenshot (616).png	245939	159,552	48	226
6	Screenshot (617).png	203108	162,385	50	220
7	Screenshot (618).png	197574	160,708	49	221
8	Screenshot (619).png	225466	155,855	51	255
9	Screenshot (620).png	226903	158,463	51	223
10	Screenshot (621).png	227627	150,604	49	228
11	Screenshot (622).png	185415	155,523	49	223
12	Screenshot (623).png	244578	160,724	44	225
13	Screenshot (624).png	215183	161,448	53	222
14	Screenshot (625).png	235406	173,338	46	229
15	Screenshot (628).png	223569	167,248	46	230
16	Screenshot (629).png	214447	158,511	30	228
17	Screenshot (630).png	203655	163,35	36	232
18	Screenshot (631).png	241374	158,258	54	232
19	Screenshot (632).png	229587	166,758	50	226
20	Screenshot (633).png	278155	162,356	51	228







no.	Label	Area	Mean	Min	Max
1	Screenshot (612).png	39295	152.845	54	220
2	Screenshot (613).png	34348	151.841	53	225
3	Screenshot (614).png	42006	149.409	60	223
4	Screenshot (615).png	35106	150.382	61	213
5	Screenshot (616).png	39968	147.635	55	219
6	Screenshot (617).png	59277	157.584	58	217
7	Screenshot (618).png	50880	155.441	60	217
8	Screenshot (619).png	55211	148.768	52	219
9	Screenshot (620).png	59573	154.873	57	210
10	Screenshot (621).png	48284	154.545	52	227
11	Screenshot (622).png	40397	152.146	55	212
12	Screenshot (623).png	52632	151.392	60	217
13	Screenshot (624).png	38855	152.919	58	213
14	Screenshot (625).png	50195	167.486	51	219
15	Screenshot (628).png	29442	157.634	66	222
16	Screenshot (629).png	30346	156.161	53	222
17	Screenshot (630).png	42741	156.829	63	227
18	Screenshot (631).png	32858	148.602	65	223
19	Screenshot (632).png	34661	151.985	55	214
20	Screenshot (633).png	36648	155.153	55	221

GV	ME %
262361,1	19%
282385,4	15%
292391,3	18%
258258,9	17%
308530,5	16%
254799	29%
247856,6	26%
282847,1	24%
284649,8	26%
285558,1	21%
232603,1	22%
306823,1	22%
269947,1	18%
295316,8	21%
280467,3	13%
269023,8	14%
255485,2	21%
302803,7	14%
288016,9	15%
348945,4	13%

- **Kelompok Perlakuan P4 Glikuidon 10 mg/kgBB  
P41**

no.	Label	Area	Mean	Min	Max
1	Screenshot (634).png	248573	142.788	32	235
2	Screenshot (635).png	242442	141.421	38	235
3	Screenshot (636).png	249314	140.081	21	241
4	Screenshot (637).png	212460	142.117	26	237
5	Screenshot (638).png	216982	138.436	38	234
6	Screenshot (639).png	184817	142.324	21	235
7	Screenshot (640).png	171074	141.704	38	235
8	Screenshot (641).png	254544	143.944	29	235
9	Screenshot (642).png	240757	145.499	32	239
10	Screenshot (643).png	217126	143.540	36	231
11	Screenshot (644).png	243734	146.051	24	238
12	Screenshot (645).png	213578	143.324	36	231
13	Screenshot (646).png	232455	146.105	39	234
14	Screenshot (647).png	281079	143.572	28	237
15	Screenshot (648).png	187384	146.852	41	236
16	Screenshot (649).png	256589	142.070	23	243
17	Screenshot (651).png	247721	141.122	36	245
18	Screenshot (653).png	212350	138.698	27	235
19	Screenshot (654).png	196434	138.864	28	237
20	Screenshot (655).png	212347	142.407	32	239





no.	Label	Area	Mean	Min	Max	GV	ME %
1	Screenshot (634).png	39349	149.580	41	220	311834,8	16%
2	Screenshot (635).png	29990	147.257	60	221	304143,5	12%
3	Screenshot (636).png	55272	145.336	42	217	312764,4	22%
4	Screenshot (637).png	34176	142.648	58	230	266531,1	16%
5	Screenshot (638).png	32671	145.108	44	231	272203,9	15%
6	Screenshot (639).png	24420	150.792	58	223	231852,9	13%
7	Screenshot (640).png	21947	147.206	60	225	214612,3	13%
8	Screenshot (641).png	46558	146.218	47	218	319325,4	18%
9	Screenshot (642).png	30387	144.743	49	214	302029,7	13%
10	Screenshot (643).png	30841	145.545	39	217	272384,6	14%
11	Screenshot (644).png	46210	148.620	35	231	305764,3	19%
12	Screenshot (645).png	27570	142.938	52	217	267933,6	13%
13	Screenshot (646).png	28933	151.409	42	216	291614,8	12%
14	Screenshot (647).png	57523	140.108	41	231	352613,6	20%
15	Screenshot (648).png	24604	146.170	53	225	235073,2	13%
16	Screenshot (649).png	42296	146.071	38	233	321890,9	16%
17	Screenshot (651).png	38979	145.563	60	219	310766	16%
18	Screenshot (653).png	41370	142.821	60	227	266393,1	19%
19	Screenshot (654).png	25923	139.521	51	220	246426,5	13%
20	Screenshot (655).png	38385	146.475	49	222	266389,3	18%

**P4-2**

no.	Label	Area	Mean	Min	Max
1	Screenshot (656).png	182060	162.685	39	239
2	Screenshot (657).png	175222	160.921	39	236
3	Screenshot (658).png	146450	167.583	37	234
4	Screenshot (659).png	197566	162.888	38	241
5	Screenshot (660).png	179817	165.389	42	234
6	Screenshot (661).png	192891	170.347	39	242
7	Screenshot (662).png	200589	168.806	37	239
8	Screenshot (663).png	186317	170.682	42	238
9	Screenshot (664).png	158829	170.232	44	240
10	Screenshot (665).png	152483	167.813	41	240
11	Screenshot (666).png	178801	162.891	35	237
12	Screenshot (667).png	161813	162.769	29	237
13	Screenshot (668).png	141892	162.896	35	242
14	Screenshot (670).png	179992	170.037	47	240
15	Screenshot (671).png	163301	166.999	40	241
16	Screenshot (672).png	197955	168.775	38	237
17	Screenshot (673).png	123020	165.480	38	241
18	Screenshot (676).png	223036	165.043	40	244
19	Screenshot (677).png	160755	171.969	35	237
20	Screenshot (678).png	231388	174.681	45	236





no.	Label	Area	Mean	Min	Max	GV	ME %
1	Screenshot (656).png	25372	166.152	58	231	228394,3	14%
2	Screenshot (657).png	17573	158.370	63	227	219816	10%
3	Screenshot (658).png	14905	165.969	69	225	183721,5	10%
4	Screenshot (659).png	22740	164.941	48	221	247846,5	12%
5	Screenshot (660).png	26129	169.754	50	219	225580,4	15%
6	Screenshot (661).png	31962	175.101	53	226	241981,8	17%
7	Screenshot (662).png	28796	173.277	41	225	251638,9	14%
8	Screenshot (663).png	24532	174.506	63	224	233734,7	13%
9	Screenshot (664).png	20725	172.995	55	222	199251	13%
10	Screenshot (665).png	29516	172.047	48	223	191289,9	19%
11	Screenshot (666).png	23940	163.100	48	230	224305,9	13%
12	Screenshot (667).png	24192	163.812	51	235	202994,4	15%
13	Screenshot (668).png	17129	163.277	64	221	178003,5	12%
14	Screenshot (670).png	27019	172.141	55	236	225800	15%
15	Screenshot (671).png	24895	168.721	49	227	204861,1	15%
16	Screenshot (672).png	28779	163.732	47	223	248334,5	15%
17	Screenshot (673).png	21708	167.555	51	223	154328,6	18%
18	Screenshot (676).png	35714	166.629	43	233	279798,7	16%
19	Screenshot (677).png	24733	177.414	59	229	201667,1	15%
20	Screenshot (678).png	28789	175.514	58	230	290276,2	12%

**P4-4**

no.	Label	Area	Mean	Min	Max
1	Screenshot (679).png	153226	149.845	45	229
2	Screenshot (680).png	166350	153.904	50	229
3	Screenshot (681).png	166369	154.193	60	228
4	Screenshot (682).png	145568	150.880	48	232
5	Screenshot (683).png	188627	150.197	49	228
6	Screenshot (684).png	132311	140.777	43	231
7	Screenshot (685).png	146599	152.147	43	229
8	Screenshot (686).png	165485	156.285	41	235
9	Screenshot (687).png	165094	161.793	45	231
10	Screenshot (688).png	223901	149.465	40	237
11	Screenshot (689).png	123544	152.437	42	231
12	Screenshot (690).png	205241	161.046	43	234
13	Screenshot (691).png	172837	162.981	38	230
14	Screenshot (692).png	135373	160.231	35	232
15	Screenshot (693).png	174454	154.492	28	238
16	Screenshot (694).png	151442	155.253	38	233
17	Screenshot (695).png	194485	159.203	37	234
18	Screenshot (696).png	134949	150.911	36	233
19	Screenshot (698).png	154198	154.908	42	235
20	Screenshot (699).png	177289	155.112	30	233





no.	Label	Area	Mean	Min	Max	GV	ME %
1	Screenshot (679).png	19770	154.603	59	216	192222,0	13%
2	Screenshot (680).png	17795	154.729	75	218	208686,1	11%
3	Screenshot (681).png	13990	158.784	62	218	208709,9	8%
4	Screenshot (682).png	20118	149.412	59	226	182615,1	14%
5	Screenshot (683).png	48932	149.966	49	224	236632,6	26%
6	Screenshot (684).png	18419	144.893	60	227	165984,1	14%
7	Screenshot (685).png	23578	159.378	57	216	183908,4	16%
8	Screenshot (686).png	28192	161.527	41	222	207600,9	17%
9	Screenshot (687).png	21609	156.894	52	217	207110,4	13%
10	Screenshot (688).png	27169	157.043	55	220	280883,8	12%
11	Screenshot (689).png	16509	154.782	71	217	154985,9	13%
12	Screenshot (690).png	18703	163.084	82	219	257474,8	9%
13	Screenshot (691).png	20978	163.238	60	222	216824,0	12%
14	Screenshot (692).png	15793	156.565	59	219	169825,4	12%
15	Screenshot (693).png	22549	158.447	51	225	218852,5	13%
16	Screenshot (694).png	15228	153.517	53	220	189984,0	10%
17	Screenshot (695).png	16392	158.664	57	216	243981,4	8%
18	Screenshot (696).png	13156	151.736	58	216	169293,5	10%
19	Screenshot (698).png	15555	154.919	58	213	193441,4	10%
20	Screenshot (699).png	22297	152.932	57	220	222409,1	13%

**P4-5**

no.	Label	Area	Mean	Min	Max
1	Screenshot (700).png	217310	178,721	38	234
2	Screenshot (707).png	177666	175,155	30	241
3	Screenshot (708).png	170368	162,949	42	233
4	Screenshot (709).png	220661	166,292	26	234
5	Screenshot (711).png	178379	169,979	39	236
6	Screenshot (712).png	171307	174,869	46	236
7	Screenshot (713).png	190418	175,625	61	238
8	Screenshot (714).png	190316	173,268	75	236
9	Screenshot (715).png	142583	171,487	72	235
10	Screenshot (716).png	201922	169,263	59	238
11	Screenshot (717).png	263346	168,177	47	233
12	Screenshot (718).png	212737	169,832	37	243
13	Screenshot (719).png	86812	164,486	70	232
14	Screenshot (720).png	186775	164,282	48	238
15	Screenshot (721).png	105587	164,267	69	238
16	Screenshot (722).png	210545	168,791	68	236
17	Screenshot (723).png	86812	164,486	70	232
18	Screenshot (724).png	186775	164,282	48	238
19	Screenshot (726).png	105587	164,267	69	238
20	Screenshot (727).png	210545	168,791	68	236







no.	Label	Area	Mean	Min	Max	GV	ME %
1	Screenshot (700).png	14643	176.149	89	220	272615,4	7%
2	Screenshot (707).png	27113	167.124	57	215	222882	15%
3	Screenshot (708).png	23293	174.205	53	223	213726,7	14%
4	Screenshot (709).png	19744	182.230	103	228	276819,2	9%
5	Screenshot (711).png	23890	178.755	89	226	223776,5	13%
6	Screenshot (712).png	26208	176.255	48	224	214904,6	15%
7	Screenshot (713).png	23012	164.994	90	224	238879,4	12%
8	Screenshot (714).png	41387	164.856	48	234	238751,4	22%
9	Screenshot (715).png	18557	169.226	59	219	178870,4	13%
10	Screenshot (716).png	15940	174.062	103	225	253311,1	8%
11	Screenshot (717).png	29181	172.474	71	220	330367,6	11%
12	Screenshot (718).png	20455	172.579	84	223	266878,6	10%
13	Screenshot (719).png	28372	168.868	86	218	108905,7	33%
14	Screenshot (720).png	26843	169.300	76	229	234309,2	14%
15	Screenshot (721).png	25086	163.659	87	226	132458,9	24%
16	Screenshot (722).png	31276	165.260	44	223	264128,7	15%
17	Screenshot (723).png	20023	170.845	87	214	108905,7	23%
18	Screenshot (724).png	32053	161.798	89	230	234309,2	17%
19	Screenshot (726).png	14208	164.409	81	235	132458,9	13%
20	Screenshot (727).png	22089	163.922	85	227	264128,7	10%

**P4-6**

no.	Label	Area	Mean	Min	Max
1	Screenshot (728).png	160260	158,76	43	233
2	Screenshot (729).png	174149	154,96	49	230
3	Screenshot (730).png	210377	149,35	23	240
4	Screenshot (731).png	138182	148,505	24	231
5	Screenshot (732).png	178511	146,764	23	238
6	Screenshot (733).png	199393	154,915	42	234
7	Screenshot (734).png	206123	154,58	45	235
8	Screenshot (736).png	212238	150,169	45	240
9	Screenshot (737).png	178448	157,107	27	242
10	Screenshot (738).png	180365	155,238	35	240
11	Screenshot (739).png	183461	155,163	40	232
12	Screenshot (740).png	200696	155,013	41	234
13	Screenshot (741).png	180936	159,628	34	238
14	Screenshot (742).png	178028	157,186	52	227
15	Screenshot (743).png	167731	159,666	51	229
16	Screenshot (744).png	166202	155,754	43	232
17	Screenshot (745).png	232835	159,41	48	233
18	Screenshot (746).png	153137	154,785	32	234
19	Screenshot (747).png	202683	165,762	55	229
20	Screenshot (748).png	156264	163,854	51	233





no.	Label	Area	Mean	Min	Max	GV	ME %
1	Screenshot (728).png	15719	153.441	56	224	201046,2	10%
2	Screenshot (729).png	16158	148.763	76	209	218469,9	9%
3	Screenshot (730).png	24862	154.154	43	221	263917,9	12%
4	Screenshot (731).png	12379	154.488	61	228	173349,3	9%
5	Screenshot (732).png	23514	153.247	48	230	223942	13%
6	Screenshot (733).png	18018	156.409	72	216	250138,5	9%
7	Screenshot (734).png	22191	149.294	61	227	258581,3	11%
8	Screenshot (736).png	22751	154.899	57	223	266252,6	11%
9	Screenshot (737).png	30042	155.950	43	218	223863	17%
10	Screenshot (738).png	17879	159.900	53	218	226267,9	10%
11	Screenshot (739).png	21183	152.270	61	207	230151,8	12%
12	Screenshot (740).png	20447	152.600	53	212	251773,1	10%
13	Screenshot (741).png	18142	155.208	71	217	226984,2	10%
14	Screenshot (742).png	22262	157.965	71	210	223336,1	13%
15	Screenshot (743).png	22995	162.083	82	216	210418,5	14%
16	Screenshot (744).png	21002	158.083	76	228	208500,4	13%
17	Screenshot (745).png	25530	152.277	71	219	292091,5	11%
18	Screenshot (746).png	27441	158.781	58	227	192110,4	18%
19	Screenshot (747).png	23689	165.395	74	218	254265,8	12%
20	Screenshot (748).png	18706	162.982	65	220	196033,2	12%

RATA-RATA NILAI ME±SD

KELOMPOK	SAMPEL	NILAI ME (%)	RATA-RATA	SD
KN	KN 1	14	14	1,10
	KN 2	14		
	KN 3	14		
	KN 4	15		
	KN 5	15		
	KN 6	12		
KP	KP 1	24	26,5	3,11
	KP 2	25		
	KP 4	26		
	KP 5t	31		
P1	P1-1t	42	33,8	9,04
	P1-2	29		
	P1-3	28		
	P1-5t	45		
	P1-6	25		

KELOMPOK	SAMPEL	NILAI ME (%)	RATA-RATA	SD
P2	P2-1t	24	23,8	7,56
	P2-2	36		
	P2-3t	24		
	P2-4	17		
	P2-5t	18		
P3	P3-1	21	19,6	1,95
	P3-2	19		
	P3-4	17		
	P3-5t	22		
	P3-6	19		
P4	P4-1	16	14	1,58
	P4-2	14		
	P4-4	13		
	P4-5t	15		
	P4-6	12		



Lampiran 9. Hasil Perhitungan GV

KELOMPOK	SAMPEL	GV	Mean	SD
KN	KN 1	229558,5	228062,4	15981,29
	KN 2	213070,9		
	KN 3	254488,4		
	KN 4	237095,0		
	KN 5	220882,7		
	KN 6	213278,8		
KP	KP 1	243685,6	248927,3	21740,93
	KP 2	265674,1		
	KP 4	220328,7		
	KP 5	266020,9		
P1	P1-1	192262,8	219737,6	16465,92
	P1-2	231089,3		
	P1-3	227185,4		
	P1-5	231412,8		
	P1-6	216737,6		
P2	P2-1	198148,1	225405,0	23183,06
	P2-2	246071,0		
	P2-3	249213,0		
	P2-4	205290,8		
	P2-5	228302,1		
P3	P3-1	233457,9	239158,8	29138,04
	P3-2	210959,3		
	P3-4	255904,2		
	P3-5	215019,0		
	P3-6	280453,5		
P4	P4-1	283627,4	232204,8	30027,79
	P4-2	221681,3		
	P4-4	205571,3		
	P4-5	220569,4		
	P4-6	229574,7		

Lampiran 10. Hasil Perhitungan KHI

Kelompok Percobaan	Sampel	Bobot Tikus (g)	Bobot Ginjal		Rata-rata bobot ginjal	Indeks Hipertrofi Ginjal		Hipertrofi ginjal	Rata-rata HG	SD
			Kanan	Kiri		Kanan	Kiri			
KN	KN 1	268	1,0489	0,9677	1,53	0,003913806	0,00361082	0,005719216	0,0058150	0,000367
	KN 2	250	0,9859	0,877	1,42	0,0039436	0,003508	0,005697600		
	KN 3	279	0,9853	1,0356	1,50	0,003531541	0,00371183	0,005387455		
	KN 4	259	1,0127	0,8946	1,46	0,003910039	0,00345405	0,005637066		
	KN 5	266	1,1391	1,1519	1,72	0,004282331	0,00433045	0,006447556		
	KN 6	215	0,8706	0,8393	1,29	0,004049302	0,00390372	0,006001163		
KP	KP 1	171	1,2045	0,9805	1,69	0,00704386	0,00573392	0,009910819	0,009572828	0,001143
	KP 2	178	1,0435	1,0197	1,55	0,00586236	0,00572865	0,008726685		
	KP 4	163	1,2537	1,0926	1,80	0,0076914	0,006703	0,011042900		
	Kp 5t	165	0,9527	0,9362	1,42	0,005773939	0,00567394	0,008610909		
P1	P1-1t	158	1,0523	1,0399	1,57	0,006660127	0,00658165	0,009950949	0,011104266	0,001284
	P1-2	117	1,0209	0,931	1,49	0,008725641	0,00795726	0,012704274		
	P1-3	158	1,2569	1,3189	1,92	0,007955063	0,00834747	0,012128797		
	P1-5t	139	0,975	0,7834	1,37	0,007014388	0,00563597	0,009832374		
	P1-6	152	1,1299	1,0553	1,66	0,007433553	0,00694276	0,010904934		
	P2	P2-1t	160	1,2161	1,086	1,76	0,007600625	0,0067875		
P2-2	151	1,0549	0,9734	1,54	0,006986093	0,00644636	0,010209272			
P2-3t	162	0,9264	3,0051	2,43	0,005718519	0,01855	0,014993519			

	P2-4	154	1,1393	1,1102	1,69	0,007398052	0,00720909	0,011002597		
	P2-5t	135	0,8372	0,7396	1,21	0,006201481	0,00547852	0,008940741		
P3	P3-1	259	1,2836	1,333	1,95	0,004955985	0,00514672	0,007529344	0,010252799	0,001694
	P3-2	137	1,1367	0,978	1,63	0,00829708	0,00713869	0,011866423		
	P3-4	139	1,037	0,8923	1,48	0,007460432	0,00641942	0,010670144		
	P3-5t	145	0,9337	0,9966	1,43	0,00643931	0,0068731	0,009875862		
	P3-6	135	1,0287	0,9996	1,53	0,00762	0,00740444	0,011322222		
P4	P4-1	144	1,2179	1,0485	1,74	0,008457639	0,00728125	0,012098264	0,010757003	0,001210
	P4-2	154	0,9139	0,9395	1,38	0,005934416	0,00610065	0,008984740		
	P4-4	129	1,0576	0,8572	1,49	0,00819845	0,00664496	0,011520930		
	P4-5t	135	1,0318	0,896	1,48	0,007642963	0,00663704	0,010961481		
	P4-6	125	0,8905	0,7739	1,28	0,007124	0,0061912	0,010219600		

### Lampiran 11. Dokumentasi Penelitian

#### - Pembuatan Ekstrak Daun Insulin







Pembuatan kandang metabolik



Latihan menyonde



- Euthanasia tikus H42



- Preparasi organ ginjal



- Pengamatan preparat histologi ginjal dengan scan dot slide



Lampiran 12. Hasil Uji SPSS

Mesangeal Expansion

Tests of Normality

Univers	Univers	Perlakuan	Kolmogorov-Smirnov <sup>a</sup>			Shapiro-Wilk		
			Statistic	df	Sig.	Statistic	df	Sig.
NILAI	KN		,333	6	,036	,814	6	,078
	KP		,314	4	.	,854	4	,240
	P1		,302	5	,152	,851	5	,196
	P2		,289	5	,198	,866	5	,251
	P3		,221	5	,200*	,953	5	,758
	P4		,136	5	,200*	,987	5	,967

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

a. Lilliefors Significance Correction

Test of Homogeneity of Variances

NILAI		Levene Statistic	df1	df2	Sig.
		Based on Mean	6,447	5	24
	Based on Median	2,179	5	24	,090
	Based on Median and with adjusted df	2,179	5	8,553	,151
	Based on trimmed mean	6,421	5	24	,001

Test Statistics<sup>a,b</sup>

	nilai
Kruskal-Wallis H	24,686
df	5
Asymp. Sig.	,000

a. Kruskal Wallis Test

b. Grouping Variable: perlakuan

Ranks				
	kelompok	N	Mean Rank	Sum of Ranks
nilai	KN	6	3,50	21,00
	P1	5	9,00	45,00
	Total	11		

Test Statistics <sup>a</sup>	
	nilai
Mann-Whitney U	,000
Wilcoxon W	21,000
Z	-2,770
Asymp. Sig. (2-tailed)	,006
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	,004 <sup>b</sup>

a. Grouping Variable: kelompok

b. Not corrected for ties.

Ranks				
	kelompok	N	Mean Rank	Sum of Ranks
nilai	KN	6	3,50	21,00
	P2	5	9,00	45,00
	Total	11		

**Test Statistics<sup>a</sup>**

	nilai
Mann-Whitney U	,000
Wilcoxon W	21,000
Z	-2,777
Asymp. Sig. (2-tailed)	,005
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	,004 <sup>b</sup>

a. Grouping Variable: kelompok

b. Not corrected for ties.

**Ranks**

	kelompok	N	Mean Rank	Sum of Ranks
nilai	KN	6	3,50	21,00
	P3	5	9,00	45,00
	Total	11		

**Test Statistics<sup>a</sup>**

	nilai
Mann-Whitney U	,000
Wilcoxon W	21,000
Z	-2,777
Asymp. Sig. (2-tailed)	,005
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	,004 <sup>b</sup>

a. Grouping Variable: kelompok

b. Not corrected for ties.

**Ranks**

	kelompok	N	Mean Rank	Sum of Ranks
nilai	KN	6	6,00	36,00
	P4	5	6,00	30,00
	Total	11		

**Test Statistics<sup>a</sup>**

	nilai
Mann-Whitney U	15,000
Wilcoxon W	30,000
Z	,000
Asymp. Sig. (2-tailed)	1,000
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	1,000 <sup>b</sup>

a. Grouping Variable: kelompok

b. Not corrected for ties.

**Ranks**

	kelompok	N	Mean Rank	Sum of Ranks
nilai	KP	4	3,63	14,50
	P1	5	6,10	30,50
	Total	9		

**Test Statistics<sup>a</sup>**

	nilai
Mann-Whitney U	4,500
Wilcoxon W	14,500
Z	-1,353
Asymp. Sig. (2-tailed)	,176
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	,190 <sup>b</sup>

a. Grouping Variable: kelompok

b. Not corrected for ties.

**Ranks**

	kelompok	N	Mean Rank	Sum of Ranks
nilai	KP	4	6,25	25,00
	P2	5	4,00	20,00
	Total	9		

**Test Statistics<sup>a</sup>**

	nilai
Mann-Whitney U	5,000
Wilcoxon W	20,000
Z	-1,246
Asymp. Sig. (2-tailed)	,213
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	,286 <sup>b</sup>

a. Grouping Variable: kelompok

b. Not corrected for ties.



**Ranks**

	kelompok	N	Mean Rank	Sum of Ranks
nilai	KP	4	7,50	30,00
	P3	5	3,00	15,00
	Total	9		

**Test Statistics<sup>a</sup>**

	nilai
Mann-Whitney U	,000
Wilcoxon W	15,000
Z	-2,460
Asymp. Sig. (2-tailed)	,014
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	,016 <sup>b</sup>

a. Grouping Variable: kelompok

b. Not corrected for ties.

**Ranks**

	kelompok	N	Mean Rank	Sum of Ranks
nilai	KP	4	7,50	30,00
	P4	5	3,00	15,00
	Total	9		



**Test Statistics<sup>a</sup>**

	nilai
Mann-Whitney U	,000
Wilcoxon W	15,000
Z	-2,449
Asymp. Sig. (2-tailed)	,014
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	,016 <sup>b</sup>

a. Grouping Variable: kelompok

b. Not corrected for ties.

**Ranks**

	kelompok	N	Mean Rank	Sum of Ranks
nilai	P1	5	7,40	37,00
	P2	5	3,60	18,00
	Total	10		

**Test Statistics<sup>a</sup>**

	nilai
Mann-Whitney U	3,000
Wilcoxon W	18,000
Z	-1,991
Asymp. Sig. (2-tailed)	,047
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	,056 <sup>b</sup>

a. Grouping Variable: kelompok

b. Not corrected for ties.

**Ranks**

	kelompok	N	Mean Rank	Sum of Ranks
nilai	P1	5	8,00	40,00
	P3	5	3,00	15,00
	Total	10		

**Test Statistics<sup>a</sup>**

	nilai
Mann-Whitney U	,000
Wilcoxon W	15,000
Z	-2,619
Asymp. Sig. (2-tailed)	,009
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	,008 <sup>b</sup>

a. Grouping Variable: kelompok

b. Not corrected for ties.

**Ranks**

	kelompok	N	Mean Rank	Sum of Ranks
nilai	P1	5	8,00	40,00
	P4	5	3,00	15,00
	Total	10		



**Test Statistics<sup>a</sup>**

	nilai
Mann-Whitney U	,000
Wilcoxon W	15,000
Z	-2,611
Asymp. Sig. (2-tailed)	,009
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	,008 <sup>b</sup>

a. Grouping Variable: kelompok

b. Not corrected for ties.

**Ranks**

	kelompok	N	Mean Rank	Sum of Ranks
nilai	P2	5	6,30	31,50
	P3	5	4,70	23,50
	Total	10		

**Test Statistics<sup>a</sup>**

	nilai
Mann-Whitney U	8,500
Wilcoxon W	23,500
Z	-,843
Asymp. Sig. (2-tailed)	,399
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	,421 <sup>b</sup>

a. Grouping Variable: kelompok

b. Not corrected for ties.

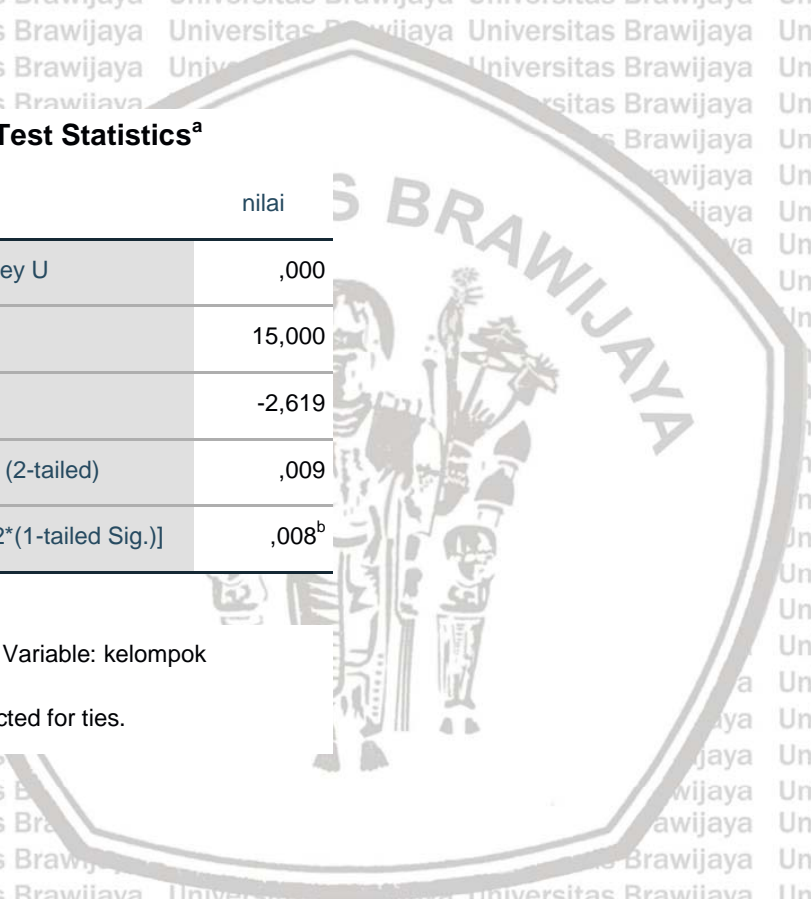
Ranks				
	kelompok	N	Mean Rank	Sum of Ranks
nilai	P3	5	8,00	40,00
	P4	5	3,00	15,00
	Total	10		

**Test Statistics<sup>a</sup>**

	nilai
Mann-Whitney U	,000
Wilcoxon W	15,000
Z	-2,619
Asymp. Sig. (2-tailed)	,009
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	,008 <sup>b</sup>

a. Grouping Variable: kelompok

b. Not corrected for ties.



**Glomerular Volume**

**- Tests of Normality**

PERLAKUAN	Kolmogorov-Smirnov <sup>a</sup>			Shapiro-Wilk		
	Statistic	df	Sig.	Statistic	df	Sig.
NILAI KN	,174	6	,200*	,910	6	,434
KP	,279	4	.	,867	4	,286
P1	,274	5	,200*	,802	5	,083
P2	,214	5	,200*	,892	5	,366
P3	,196	5	,200*	,925	5	,565
P4	,335	5	,069	,810	5	,098

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

a. Lilliefors Significance Correction

**Test of Homogeneity of Variances**

	Levene Statistic	df1	df2	Sig.
NILAI Based on Mean	,710	5	24	,622
Based on Median	,365	5	24	,867
Based on Median and with adjusted df	,365	5	14,582	,864
Based on trimmed mean	,630	5	24	,678

### ANOVA

NILAI

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	2458949147,582	5	491789829,516	,913	,489
Within Groups	12932106253,560	24	538837760,565		
Total	15391055401,142	29			



**Kidney Hypertrophy Index**

Univers	Perlakuan	Kolmogorov-Smirnov <sup>a</sup>			Shapiro-Wilk		
		Statistic	df	Sig.	Statistic	df	Sig.
Nilai	KN	,270	6	,197	,918	6	,494
	KP	,271	4	.	,891	4	,389
	P1	,215	5	,200*	,898	5	,401
	P2	,340	5	,060	,864	5	,243
	P3	,212	5	,200*	,910	5	,466
	P4	,167	5	,200*	,970	5	,878

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

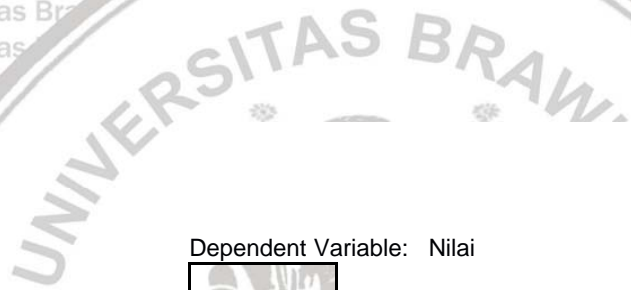
a. Lilliefors Significance Correction

**Test of Homogeneity of Variances**

Nilai		Levene Statistic	df1	df2	Sig.
		Based on Mean	1,385	5	24
	Based on Median	,883	5	24	,508
	Based on Median and with adjusted df	,883	5	11,537	,522
	Based on trimmed mean	1,231	5	24	,325

**ANOVA**

Nilai	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	,000	5	,000	11,662	,000
Within Groups	,000	24	,000		
Total	,000	29			

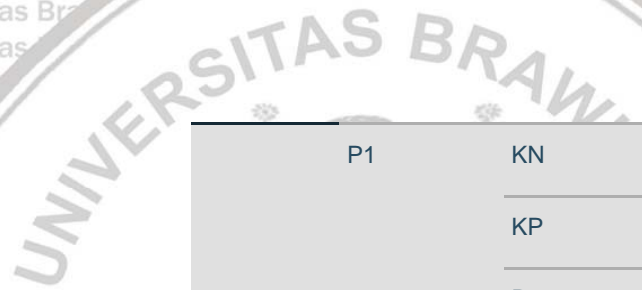


### Multiple Comparisons

Dependent Variable: Nilai

						95% Confidence Interval		
				Mean				
		(I) Perlakuan	(J) Perlakuan	Difference (I-J)	Std. Error	Sig.	Lower Bound	Upper Bound
Tukey HSD	KN	KN	KN	,00000 <sup>*</sup>	,00092	,005	,00000	,00000
		KN	P1	-,00529 <sup>*</sup>	,00087	,000	-,0080	-,0026
		KN	P2	-,00541 <sup>*</sup>	,00087	,000	-,0081	-,0027
		KN	P3	-,00444 <sup>*</sup>	,00087	,000	-,0071	-,0018
		KN	P4	-,00494 <sup>*</sup>	,00087	,000	-,0076	-,0023
		KN	P5	-,00529 <sup>*</sup>	,00087	,000	-,0080	-,0026
	KP	KN	KN	,00376 <sup>*</sup>	,00092	,005	,0009	,0066
		KN	P1	-,00153	,00096	,609	-,0045	,0014
		KN	P2	-,00166	,00096	,529	-,0046	,0013
		KN	P3	-,00068	,00096	,979	-,0036	,0023
		KN	P4	-,00118	,00096	,816	-,0042	,0018
		KN	P5	-,00153	,00096	,609	-,0045	,0014
		KN	P6	-,00166	,00096	,529	-,0046	,0013
		KN	P7	-,00068	,00096	,979	-,0036	,0023





P1	KN	,00529*	,00087	,000	,0026	,0080
	KP	,00153	,00096	,609	-,0014	,0045
	P2	-,00012	,00090	1,000	-,0029	,0027
	P3	,00085	,00090	,931	-,0019	,0036
P2	P4	,00035	,00090	,999	-,0024	,0031
	KN	,00541*	,00087	,000	,0027	,0081
	KP	,00166	,00096	,529	-,0013	,0046
	P1	,00012	,00090	1,000	-,0027	,0029
P3	P3	,00098	,00090	,885	-,0018	,0038
	P4	,00047	,00090	,995	-,0023	,0033
	KN	,00444*	,00087	,000	,0018	,0071
	KP	,00068	,00096	,979	-,0023	,0036
P3	P1	-,00085	,00090	,931	-,0036	,0019
	P2	-,00098	,00090	,885	-,0038	,0018



	P4		-,00050	,00090	,993	-,0033	,0023
P4	KN		,00494*	,00087	,000	,0023	,0076
	KP		,00118	,00096	,816	-,0018	,0042
	P1		-,00035	,00090	,999	-,0031	,0024
	P2		-,00047	,00090	,995	-,0033	,0023
	P3		,00050	,00090	,993	-,0023	,0033

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