

**PENGARUH EKSTRAK ETANOL 70% DAUN DANDANG
GENDIS (*Clinacanthus nutans*) PADA GAMBARAN
HISTOPATOLOGI HEPAR TIKUS MODEL DIABETES
MELITUS**

SKRIPSI

Oleh
Muhamad Daffa Abhista Reviansyah
NIM: 19910023



**PROGRAM STUDI PENDIDIKAN DOKTER
FAKULTAS KEDOKTERAN DAN ILMU KESEHATAN
UNIVERSITAS ISLAM NEGERI MAULANA MALIK
IBRAHIM
MALANG
2022**

**PENGARUH EKSTRAK ETANOL 70% DAUN DANDANG
GENDIS (*Clinacanthus nutans*) PADA GAMBARAN
HISTOPATOLOGI HEPAR TIKUS MODEL DIABETES
MELITUS**

SKRIPSI

**Diajukan kepada
Fakultas Kedokteran dan Ilmu Kesehatan
Universitas Islam Negeri Maulana Malik Ibrahim Malang
Untuk Memenuhi Salah Satu Persyaratan dalam
Memeroleh Gelar Sarjana Kedokteran (S.Ked.)**

Oleh

**MUHAMAD DAFFA ABHISTA REVIANSYAH
NIM: 19910023**

**PROGRAM STUDI PENDIDIKAN DOKTER
FAKULTAS KEDOKTERAN DAN ILMU KESEHATAN
UNIVERSITAS ISLAM NEGERI MAULANA MALIK
IBRAHIM
MALANG
2022**

**PENGARUH EKSTRAK ETANOL 70% DAUN DANDANG
GENDIS (*Clinacanthus nutans*) PADA GAMBARAN
HISTOPATOLOGI HEPAR TIKUS MODEL DIABETES
MELITUS**

SKRIPSI

Oleh:
MUHAMAD DAFFA ABHISTA REVIANSYAH
NIM: 19910023

Telah Diperiksa dan Disetujui untuk Diuji:
Tanggal: 16 Desember 2022

Pembimbing I,

Pembimbing II,



dr. Nurtaili Susanti, M.Biomed
NIP. 198310242011012007



Drg. Anik Listiyana, M.Biomed
NIP. 198008052009122001

Mengetahui,
Ketua Program Studi Pendidikan Dokter



dr. Pramesti Griana, M.Biomed
NIP. 198105182011012000





**PENGARUH EKSTRAK ETANOL 70% DAUN DANDANG
GENDIS (*Clinacanthus nutans*) PADA GAMBARAN
HISTOPATOLOGI HEPAR TIKUS MODEL DIABETES
MELITUS**

SKRIPSI

Oleh:

MUHAMAD DAFFA ABHISTA REVIANSYAH
NIM: 19910023

Telah Dipertahankan di Depan Dewan Penguji Skripsi
dan Dinyatakan Diterima sebagai Salah Satu Persyaratan
untuk Memperoleh Gelar Sarjana Kedokteran (S.Ked)
Tanggal: 16 Desember 2022

Penguji Utama	<u>dr. Tias Pramesti Griana, M.Biomed.</u> NIP. 198105182011012000	
Ketua Penguji	<u>drg. Anik Listiyana, M.Biomed.</u> NIP. 198008052009122001	
Sekretaris Penguji	<u>dr. Nurlaili Susanti, M.Biomed.</u> NIP. 198310242011012007	
Penguji Integerasi	<u>dr. Rizal Novianto, MHPE</u> NIP. 198511022019031006	

Mengesahkan,
Ketua Program Studi Pendidikan Dokter


dr. Tias Pramesti Griana, M.Biomed.
NIP. 198105182011012000

PERNYATAAN KEASLIAN TULISAN

Saya yang bertanda tangan di bawah ini :

Nama : Muhamad Daffa Abhista Reviansyah

NIM : 19910023

Program Studi : Pendidikan Dokter

Fakultas : Fakultas Kedokteran dan Ilmu Kesehatan

Menyatakan dengan sebenarnya bahwa skripsi yang saya tulis berikut benar-benar merupakan hasil karya saya sendiri, bukan merupakan pengambil data, tulisan, atau pemikiran orang lain yang saya akui sebagai hasil tulisan atau pikiran saya sendiri, kecuali dengan mencantumkan sumber kutipan pada daftar pustaka. Apabila di kemudian hari terbukti atau dapat dibuktikan skripsi ini hasil menjiplak, maka saya bersedia menerima sanksi atas perbuatan tersebut.

Batu, 13 Desember 2022

Yang membuat pernyataan,



Muhamad Daffa Abhista Reviansyah
19910023

KATA PENGANTAR

Assalamu'alaikum Wr. Wb.

Alhamdulillah wa syukurillah penulis panjatkan kepada Allah SWT yang telah melimpahkan Rahmat dan Hidayah-Nya, sehingga penulis dapat menyelesaikan skripsi ini dengan baik.

Selanjutnya penulis mengucapkan terimakasih kepada semua pihak yang telah membantu hingga skripsi ini terselesaikan dengan tuntas, Ucapan terimakasih ini penulis sampaikan kepada :

1. Prof. Dr. M. Zainuddin, MA, selaku rektor UIN Maulana Malik Ibrahim Malang, yang telah banyak memberikan pengetahuan dan pengalaman yang berharga.
2. Prof. Dr. dr. Yuyun Yueniwati, M.Kes, Sp.Rad (K) selaku Dekan FKIK UIN Malang.
3. dr. Tias Pramesti Griana, M.Biomed, selaku ketua Program Studi Pendidikan Dokter FKIK UIN Maulana Malik Ibrahim Malang.
4. dr. Nurlaili Susanti, M.Biomed, selaku dosen pembimbing skripsi I yang telah banyak memberikan pengarahan, pengalaman, dan bimbingan selama mengerjakan proposal skripsi.
5. drg. Anik Listiyana, M.Biomed, selaku dosen pembimbing skripsi II yang telah banyak memberikan pengarahan, pengalaman, dan bimbingan selama mengerjakan proposal skripsi.

6. dr. Tias Pramesti, M.Biomed, selaku penguji utama yang telah memberikan masukan dan arahan kepada penulis.
7. Papa dan mama tercinta yang selalu senantiasa memberikan doa, restu, dan semangat kepada penulis dalam menuntut ilmu sampai terselesainya proposal skripsi ini.
8. Segenap sivitas akademika Program Studi Pendidikan Dokter, terutama seluruh dosen, terima kasih atas segala ilmu dan bimbingannya.
9. Segenap teman-teman Genomous 2019 yang selalu menjadi teman dan selalu memberikan canda dan tawa dari awal perkuliahan hingga penulis menyelesaikan naskah skripsi.
10. Segenap rekan-rekan penelitian seperti aulia, firdaus, sasa, rasyidu, dan ayu yang telah bekerjasama membantu untuk menyelesaikan naskah skripsi penulis
11. Semua pihak dan sahabat terdekat yang ikut membantu dalam menyelesaikan proposal skripsi yang tidak bisa disebutkan satu persatu.

Penulis menyadari bahwa dalam penyusunan skripsi ini masih terdapat kekurangan dan penulis berharap semoga skripsi ini bisa memberikan manfaat kepada para pembaca khususnya bagi penulis secara pribadi. *Aamiin Ya Rabbal Alamin.*

Wassalamu'alaikum Wr. Wb.

Malang, 7 Desember 2022

Penulis

Daftar isi

Halaman Persetujuan.....	ii
Halaman Pengesahan.....	iii
Pernyataan Keasliann Tulisan.....	iv
Kata Pengantar.....	v
Daftar Isi.....	vi
Daftar Gambar	x
Daftar Tabel.....	xi
Daftar Simbol dan Singkatan.....	xii
ABSTRAK	xiii
BAB 1 PENDAHULUAN.....	1
1.1 Latar Belakang.....	1
1.2 Rumusan Masalah.....	5
1.2.1 Rumusan Masalah Umum.....	5
1.2.2 Rumusan Masalah Khusus.....	5
1.3 Tujuan Penelitian	5
1.3.1 Tujuan Umum.....	5
1.3.2 Tujuan Khusus.....	5
1.4 Manfaat Penelitian	6
1.4.1 Manfaat Akademis.....	6
1.4.2 Manfaat Aplikatif	6
BAB 2 TINJAUAN PUSTAKA.....	7
2.1 Diabetes Melitus.....	7
2.1.1 Definisi dan Klasifikasi.....	7
2.1.2 Etiologi dan Faktor Risiko Diabetes melitus	9
2.1.3 Patofisiologi Diabetes melitus.....	9
2.1.4 Manifestasi Klinis dan Diagnosis Diabetes Melitus.....	11
2.1.5 Tatalaksana Diabetes Melitus.....	11
2.1.6 Komplikasi Diabetes Melitus.....	13
2.2 Kelainan Hepar Akibat Diabetes Melitus.....	13
2.2.1 Komplikasi Diabetes Melitus pada Hepar.....	13
2.2.2 Mekanisme Diabetes Melitus Mengakibatkan kerusakan hepar.....	14
2.2.3 Gambaran Morfologi Hepar Normal.....	15
2.2.4 Gambaran Kelainan Morfologi di Hepar.....	16
2.3 Antioksidan dan Stres Oksidatif.....	17
2.3.1 Antioksidan	17
2.3.2 Stres Oksidatif	18
2.3.3 Stres Oksidatif pada Diabetes Melitus.....	18
2.4 <i>Clinacanthus Nutans</i>	21
2.4.1 Tinjauan umum	21
2.4.2 Taksonomi.....	23
2.4.3 Kandungan.....	23
2.4.4 Fitokimia.....	25
2.4.5 Aktivitas Farmakologi.....	26
2.4.6 Toksisitas.....	29

2.5 Hewan Coba Tikus Model DM.....	29
2.5.1 Tikus Wistar.....	29
2.5.2 Perancangan Hewan Coba Model DM diinduksi STZ.....	30
2.5.3 Mekanisme STZ menginduksi Tikus model DM.....	31
2.6 Kerangka Teori.....	35
BAB 3 KERANGKA KONSEP DAN HIPOTESIS.....	36
3.1 Kerangka Konsep	36
3.2 Hipotesis.....	39
BAB 4 METODE PENELITIAN	40
4.1 Desain penelitian	40
4.2 Waktu dan Tempat Penelitian	41
4.3 Populasi Penelitian.....	41
4.4 Sampel Penelitian	41
4.4.1 Besar Sampel.....	41
4.4.2 Karakteristik Sampel.....	43
4.4.2.1 Kriteria Inklusi.....	43
4.4.2.2 Kriteria Eksklusi.....	44
4.5 Alat dan Bahan Penelitian	44
4.5.1 Alat Penelitian.....	46
4.5.2 Bahan Penelitian.....	47
4.6 Definisi Operasional	48
4.7 Prosedur Penelitian	50
4.7.1 Persiapan Hewan Coba.....	50
4.7.2 Aklimatisasi Tikus Model DM.....	50
4.7.3 Persiapan Injeksi <i>Streptozotocin</i> (STZ).....	51
4.7.4 Pembuatan Ekstrak Daun Dandang Gendis.....	51
4.7.5 Pembuatan Larutan Ekstrak Daun Dandang Gnehdis untuk Sonde.....	52
4.7.5.1 Pembuatan Stok Sediaan larutan Na-CMC 50%.....	52
4.7.5.2 Persiapan Sediaan Larutan Ekstrak.....	52
4.7.6 Perawatan Hewan Coba.....	54
4.7.7 Induksi Diabetes Melitus pada Hewan Coba.....	54
4.7.8 Penyondean Tikus.....	55
4.7.9 Pengambilann Organ Hepar.....	55
4.7.10. Prosedur Pembuatan preparat Histopatologi Hepar Tikus Moodel DM.....	56
4.7.11 Pewarnaan Hematoxylin-Eosin (HE).....	57
4.8 Pengamatan Preparat Histologi	58
4.9 Alur Penelitian.....	59
4.10 Analisis Data	60
BAB 5 HASIL PENELITIAN.....	62
5.1 Karakteristik Hewan Coba	62
5.2 Efek Ekstrak Daun Dandang Gendis terhadap Gambaran Histopatologi Hepar Tikus Model DM.....	66
BAB 6 PEMBAHASAN	73
6.1 Karakteristik Hewan Coba Tikus.....	73
6.2 Efek Ekstrak Daun Dandang Gendis terhadap Gambaran Histopatologi Hepar Tikus Model DM.....	75
6.3 Keterbatasan Penelitian.....	84
6.4 Integrasi Islam	84

BAB 7 KESIMPULAN DAN SARAN.....	86
7.1 Kesimpulan.....	86
7.2 Saran	86
DAFTAR PUSTAKA	87
LAMPIRAN	91
Lampiran 1. Keterangan Kelaikan Etik	91
Lampiran 2. Determinasi Tanaman <i>Clinacanthus nutans</i>	92
Lampiran 3. Karakteristik Hewan Coba	93
Lampiran 3.1 Data BB dan GDP Kelompok Tikus Normal.....	93
Lampiran 3.2 Analisis Uji Normalitas BB dan GDP Kelompok Tikus Normal.....	93
Lampiran 3.3 Analisis Uji T-Test BB dan GDP Kelompok Tikus Normal.....	94
Lampiran 3.4 Data BB dan GDP Kelompok Tikus Diabetes.....	94
Lampiran 3.5 Analisis Uji Normalitas BB dan GDP Kelompok Tikus Diabetes.	95
Lampiran 3.6 Analisis Uji Komparasi BB dan GDP Kelompok Tikus Diabetes.....	95
Lampiran 4. Hasil Pengamatan Histopatologi	96
Lampiran 4.1 Data Perhitungan Gambaran Histologi Jantung Tikus	96
Lampiran 4.2 Analisis Uji Normalitas Gambaran Histologi Jantung Tikus.....	97
Lampiran 4.3 Analisis Uji Homogenitas Gambaran Histologi Jantung Tikus.....	97
Lampiran 4.4 Analisis Uji One Way ANOVA Gambaran Histologi Jantung Tikus...	97
Lampiran 4.5 HSD Uji Post Hoc Tukey Gambaran Histologi Jantung Tikus	98

Daftar Gambar

Gambar 2.1 Klasifikasi diabetes melitus.....	7
Gambar 2.2 Gambaran histopatologi hepar menggunakan pewarnaan HE pada tikus normal dengan perbesaran 1000x.....	16
Gambar 2.3 Gambaran histopatologi hepar menggunakan pewarnaan HE pada tikus DM dengan pembesaran 1000x.....	17
Gambar 2.4 Perbedaan histopatologi hepar sehat dan hepar terpapar diabetes menggunakan metode elektromikrografi.....	18
Gambar 2.5 Gambar <i>C. nutans</i> (Burm. f.) Landau.....	24
Gambar 2.6 Struktur kimia metabolit sekunder daun dandang.....	27
Gambar 2.7 Mekanisme STZ menginduksi tikus model DM.....	34
Gambar 2.8 Kerangka teori.....	37
Gambar 3.1 Kerangka konsep.....	38
Gambar 4.2 Perbedaan sel hepatosit normal dan sel nekrosis.....	58
Gambar 4.3 Alur Penelitian.....	59
Gambar 5.1 Perbandingan rata-rata berat badan dan gula darah puasa tikus kontrol normal pada H-7 dan H0.....	63
Gambar 5.2 Perbandingan rata-rata berat badan dan gula darah puasa kelompok tikus model diabetes mellitus pada H-7 dan H0.....	65
Gambar 5.3 Perbandingan Gambaran Histopatologi Hepar Kelompok K1, K2, P1, P2, dan P3.....	67

Daftar Tabel

Tabel 4.1 Alat Penelitian.....	46
Tabel 4.2 Bahan Penelitian.....	47
Tabel 5.1 Rata-Rata Presentase Sel Degeneratif atau Sel Nekrosis Hepar padaSetiap Kelompok Perlakuan.....	71
Tabel 5.2 Hasil Uji <i>Post Hoc Tukey Honestly Significance Difference</i>	74

Daftar Simbol dan Singkatan

ACR	: <i>Akrolein</i>
ADP	: <i>Adenosin difosfat</i>
ATP	: <i>Adenosin trifosfat</i>
CVD	: <i>Cerebrovascular disease</i>
DAG	: <i>Diacylglycerol</i>
DPP-4	: <i>Dipeptidyl peptidase-4</i>
DKA	: <i>Diabetic ketoacidosis</i>
DNA	: <i>Deoxyribonucleic acid</i>
HSD	: <i>Honestly significance different</i>
HHS	: <i>Hyperosmolar hyperglycemic state</i>
HLA-1	: <i>Human leukocyte antigen</i>
HNF-1	: <i>Hepatocyte nuclear factor 1</i>
IDF	: <i>International Diabetic Federation</i>
IL-1	: <i>Interleukin-1</i>
IRS	: <i>Insulin receptor substrate</i>
JNK	: <i>C-jun N-terminal kinase</i>
KAD	: <i>Ketoasidosis diabetikum</i>
MUFA	: <i>Monounsaturated fatty acid</i>
NADH	: <i>Nicotinamide adenine dinucleotide</i>
NADPH	: <i>Nikotinamid adenin dinukleotida fosfat</i>
NF-Kb	: <i>Nuclear factor-kb</i>
O ₂ -	: <i>Superoksida</i>
OGTT	: <i>Oral glucose tolerance test</i>
OH*	: <i>Radikal hidroksil</i>
PBS	: <i>Hosphate bufered saline</i>
PKC	: <i>Protein kinase c</i>
PUFA	: <i>Poly-unsaturated fatty acid</i>
TF	: <i>Transcription factors</i>
TLR4	: <i>Toll-like receptor-4 T</i>
NF- α	: <i>Tumor necrosis factor-α</i>
UAE	: <i>Ultrasound assisted extraction</i>
WHO	: <i>World Health Organization</i>
Z 1- $\alpha/2$: Nilai distribusi normal standar dengan tingkat kemaknaan (α) (untuk α = 0,05 adalah 1,96)
Z 1- β	: Nilai distribusi normal standar dengan kuasa (β) yang diinginkan (untuk β = 0,20 adalah 0,84)

ABSTRAK

Reviansyah, Muhamad Daffa Abhista. 2022. EFEK EKSTRAK ETANOL 70% DAUN DANDANG GENDIS (*Clinacanthus nutans*) PADA GAMBARAN HISTOPATOLOGI HEPAR TIKUS MODEL DIABETES MELITUS. Skripsi. Program Studi Pendidikan Dokter Fakultas Kedokteran dan Ilmu Kesehatan Universitas Islam Negeri Maulana Malik Ibrahim Malang

Pembimbing (I) dr. Nurlaili Susanti, M.Biomed (II) drg. Anik Listiyana, M.Biomed

Diabetes Melitus (DM) merupakan penyakit metabolik yang dapat memicu komplikasi pada organ hepar seperti halnya perburukan gambaran histopatologi hepar dengan didasari oleh mekanisme stres oksidatif. *Clinacanthus nutans* (CN) memiliki mayoritas kandungan fitokimia seperti flavonoid, saponin, dan tanin yang berperan sebagai penawar stres oksidatif. Tujuan penelitian ini adalah membuktikan pengaruh pemberian ekstrak etanol 70% daun dandang gendis terhadap perbaikan histopatologi hepar tikus model DM. Hewan coba tikus model DM dilakukan injeksi *Streptozotocin* (STZ) 45 mg/kgBB secara Intrapertioneal. Terdapat 30 ekor tikus yang dibagi menjadi 5 kelompok yaitu kontrol normal, kontrol diabetes mellitus, perlakuan 1 (diberikan penyondean ekstrak CN 100 mg/kgBB), perlakuan 2 (200 mg/kgBB), perlakuan 3 (400 mg/kgBB) Setelah 28 hari perlakuan, tikus diterminasi dan diambil jaringan hepar untuk dilakukan pewarnaan HE dan pengamatan histopatologi menggunakan mikroskop cahaya fengan perbesaran 400x. Analisis data dilakukan menggunakan uji statistik parametrik On Way ANOVA dan dilanjutkan dengan *Post Hoc Tukey*, dengan hasil Didapatkan hasil signifikan pada dosis perlakuan 100 mg/kgBB, 200 mg/kgBB, dan 400 mg/kgBB ($p < 0,05$). Pemberian ekstrak etanol daun dandang gendis (*Clinacanthus nutans*) berpengaruh dengan signifikan terhadap perbaikan gambaran histopatologi hepar tikus model diabetes melitus

Kata Kunci : *Clinacanthus nutans*, Diabetes Melitus, Histopatologi, Hepar

ABSTRACT

Reviansyah, Muhamad Daffa Abhista. 2022. EFFECT OF 70% ETHANOL EXTRACT OF DANDANG GENDIS (*Clinacanthus nutans*) LEAVES ON HEPAR HISTOPATHOLOGICAL FEATURES OF DIABETES MELLITUS RAT MODEL. Thesis. Medical Education Study Program, Faculty of Medicine and Health Sciences, Maulana Malik Ibrahim State Islamic University, Malang.

Advisor (I) dr. Nurlaili Susanti, M.Biomed (II) drg. Anik Listiyana, M.Biomed

Diabetes Mellitus (DM) is a metabolic disease that can trigger complications in the liver organs such as worsening of the histopathological picture of the liver based on the mechanism of oxidative stress. *Clinacanthus nutans* (CN) has the majority of phytochemicals such as flavonoids, saponins, and tannins which act as an antidote to oxidative stress. The purpose of this study was to prove the effect of giving 70% ethanol extract of dandang gendis leaves on the improvement of the liver histopathology of DM model rats. DM rat model animals were injected with *Streptozotocin* (STZ) 45 mg/kg BW intraperitoneally. There were 30 rats which were divided into 5 groups: normal control, diabetes mellitus control, treatment 1 (given CN extract 100 mg/kgBB), treatment 2 (200 mg/kgBB), treatment 3 (400 mg/kgBB) After 28 days treatment, the rats were terminated and liver tissue was taken for HE staining and histopathological observation using a light microscope with 400x magnification. Data analysis was performed using the On Way ANOVA parametric statistical test and followed by Post Hoc Tukey, with the results significant results were obtained at treatment doses of 100 mg/kg, 200 mg/kg, and 400 mg/kg ($p < 0.05$). Giving the ethanol extract of dandang gendis leaves (*Clinacanthus nutans*) has a significant effect on improving the histopathological picture of the liver of the rat model of diabetes mellitus.

Keyword : *Clinacanthus nutans*, Diabetes Mellitus, Histopathology, Liver

BAB I

PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

Diabetes Melitus (DM) merupakan salah satu kelompok penyakit kronis metabolik dengan karakteristik hiperglikemia yang terjadi karena kelainan sekresi insulin, gangguan kerja insulin atau kedua-duanya (ADA, 2014). Diabetes Melitus mayoritas diklasifikasikan menjadi DM Tipe 1 dan DM Tipe 2. Diabetes yang dominan pada masa anak-anak (*childhood onset*) atau *insulin-dependent-diabetes* dikenal DM Tipe 1 dengan manifestasi yaitu minimumnya produksi insulin. Kemudian, diabetes yang dominan pada masa dewasa (*adult-onset diabetes*) atau *non-insulin-dependent* dikenal DM Tipe 2 dengan manifestasi tubuh tidak mampu menggunakan insulin dengan efektif (resistensi insulin) (Pangestika dkk., 2016).

Prevalensi Diabetes Melitus (DM) menjadi perhatian utama masalah kesehatan didunia. Data *International Diabetes Federation* (IDF) tahun 2019 menunjukkan 463 juta orang dewasa dengan usia 20-79 tahun diseluruh dunia mengidap Diabetes Melitus serta DM Tipe 2 menjadi tipe diabetes yang paling dominan yaitu 90%. Data *International Diabetes Federation* (IDF) pada tahun 2021 memperkirakan sebanyak 536,6 juta orang menderita DM secara global dan Indonesia menempati posisi ke lima jumlah DM terbanyak setelah China, India, Pakistan, dan Amerika dengan 19,5 juta penduduk menderita DM serta Indonesia diperkirakan sebanyak 28,6 juta orang mengidap DM pada tahun 2045 (IDF, 2021).

Komplikasi DM mampu memengaruhi beberapa sistem organ dan menyebabkan kondisi patologis yang lebih parah dan *irreversibel* seperti nefropati, retinopati, vaskulopati, neuropati, penyakit kardiovaskular, serta hepatopati menjadi fokus kekhawatiran tentang penyakit kronis ini. Hepar merupakan salah satu organ utama yang sensitif terdampak efek stres oksidatif dari induksi hiperglikemia. Hiperglikemia mampu memengaruhi gangguan metabolisme protein, karbohidrat, dan lipid yang bisa menyebabkan peningkatan stres oksidatif, kaskade inflamasi stres oksidatif serta respon inflamasi yang memperburuk kondisi patologis DM (Mohamed dkk., 2016).

Hiperglikemia persisten pada diabetes menyebabkan peningkatan stres oksidatif akibat mekanisme glikosilasi protein, autooksidasi glukosa, aktivasi MAPK, jalur poliol (sorbitol), dan aktivasi protein kinase C (Al-Farabi, 2013). Stres oksidatif berpotensi mengurangi sekresi insulin dari sel beta pankreas serta mengganggu pensinyalan insulin di jaringan target. (Newsholme dkk., 2016). ROS yang berlebih dapat mengakibatkan aktivasi inflammasome NLRP3. Aktivasi inflammasome NLRP3 disebabkan oleh tingginya aktivitas metabolisme dari hepatosit. Aktivasi NLRP3 juga menyebabkan aktivasi matriks ekstraseluler di hati. Aktivasi NLRP3 yang berlebih dapat menyebabkan keparahan peradangan hati yang ditandai dengan infiltrasi sel-sel inflamasi dan aktivasi sel-sel stelata hati (HSCs) (Ramadan dkk., 2022).

Antioksidan mampu mengurangi radikal bebas dalam sel dan meningkatkan kemampuan enzim pertahanan terhadap radikal bebas guna pencegahan stres oksidatif. Pemberian antioksidan mampu memperbaiki bentuk morfologi hepar diabetes melitus (Prawitasari, 2019). Kandungan antioksidan dapat ditemukan dalam bahan alam asli

Indonesia (Werdhasari, 2014). Studi menunjukkan bahwa bahan alam herbal dalam pengobatan memiliki banyak keunggulan dan harga lebih lebih murah daripada pengobatan konvensional (Yeo dkk., 2018).

Al-Quran dan Hadis telah menganjurkan manusia agar memilih tanaman yang baik dan bermanfaat untuk dikonsumsi, salah satunya tercantum dalam surat Asy-Syu'ara [26]:7 yang berbunyi :

أَوَلَمْ يَرَوْا إِلَى الْأَرْضِ كَمْ أَنْبَتْنَا فِيهَا مِنْ كُلِّ زَوْجٍ كَرِيمٍ (الشعراء : ٧)

Artinya : *“Dan apakah mereka tidak memperhatikan bumi, berapakah banyaknya Kami tumbuhkan di bumi itu berbagai macam tumbuh-tumbuhan yang baik?”*(Asy-Syu'ara : 7)

Sangat banyak sekali tanaman yang tumbuh di bumi dengan berbagai pasangan tumbuhan baik dan membawa manfaat bagi makhluk Allah seperti manusia. Tumbuhan baik itu merupakan tanda kekuasaan dan kebesaran-Nya yang tak ternilai kepada makhluk-Nya (KemenagRI, 2022). Manusia juga dianjurkan meniru perilaku rasul dalam dunia kesehatan mengenai obat tradisional. Hal tersebut sesuai dengan hadist HR. Ibnu Majah, Rasulullah SAW bersabda yang artinya : *Thalah berkata, “ Rasul pernah diberi buah safarjal lalu rasul bersabda,”ambilah buah itu karena dapat merelaksasikan hati,”*. Hadist tersebut dapat diartikan bahwa Rasul dalam dunia kesehatan terkhusus pengobatan juga menggunakan tumbuh-tumbuhan seperti tumbuhan tradisional dan herbal.

Salah satu tumbuhan herbal nusantara yang diduga mempunyai aktivitas antioksidan yaitu Daun Dandang Gendis (Kosai dkk., 2016). Dandang Gendis adalah

tanaman obat dari anggota famili *Acanthaceae*. Tanaman ini populer di banyak negara tropis seperti Thailand, Malaysia, dan Indonesia karena atas dasar keyakinan dan budaya leluhur turun menurun mengenai khasiatnya (Ching dkk., 2013; Yeo dkk., 2018). Pada penelitian sebelumnya telah ditemukan kandungan fitokimia seperti saponin, flavonoid, dan tanin yang mempunyai manfaat sebagai anti diabetes pada kandungan ekstrak etanol daun dandang gendis (Abdullah dan Kasim, 2017).

Flavonoid dapat memodulasi metabolisme karbohidrat dan lemak, mengurangi hiperglikemia, resistensi insulin, dislipidemia, meningkatkan metabolisme jaringan adiposa, dan mengurangi stres oksidatif. Kandungan flavonoid dapat menghambat stres oksidatif yang berdampak pada penundaan kerusakan sel pada jaringan (Mas'ulun dkk., 2021). Dalam penelitian yang dilakukan oleh Khoo (2018) senyawa aktif flavonoid, khususnya flavon, ditemukan pada ekstrak etanol daun dandang. Sedangkan, penelitian yang dilakukan oleh Chelyn dkk., (2014) menunjukkan bahwa α -glikosida flavon seperti shaftoside, isoorientin, orientin, isovitexin, dan vitexin merupakan mayoritas kelas flavonoid yang ditemukan. flavonoid yang dimiliki daun dandang gendis memiliki mekanisme efek anti-diabetes diantaranya Inhibitor enzim α -glukosidase, mengurangi pembentukan produk akhir glikasi lanjut (AGEs), penurunan kadar glukosa serum, menginduksi peningkatan yang signifikan dalam sekresi insulin, dan merangsang penyimpanan glikogen (Xiao dkk., 2016).

Tujuan penelitian ini untuk membuktikan pengaruh ekstrak etanolik daun dandang gendis dalam proses penghambatan diabetes melitus ditinjau dari gambaran histopatologi hepar. Dalam penelitian ini, daun dandang gendis dilarutkan

menggunakan etanol karena pelarut ini baik dalam proses ekstraksi. Berdasarkan pemaparan diatas, penelitian ini dilakukan untuk membuktikan Pengaruh Ekstrak Etanol Daun Dandang Gendis pada Gambaran Histopatologi Hepar Tikus Model Diabetes Melitus.

1.2 Rumusan Masalah

1.2.1 Rumusan Masalah Umum

Apakah ada pengaruh antara ekstrak etanol daun dandang gendis pada perbaikan kerusakan hepar tikus model diabetes melitus?

1.2.2 Rumusan Masalah Khusus

Apakah ada pengaruh pemberian ekstrak etanol daun dandang gendis dapat memperbaiki gambaran histopatologi hepar tikus model diabetes melitus?

1.3 Tujuan Penelitian

1.3.1 Tujuan Umum

Untuk membuktikan pengaruh antara pemberian ekstrak etanol daun dandang gendis pada perbaikan kerusakan hepar tikus model diabetes melitus.

1.3.2 Tujuan Khusus

Untuk membuktikan apakah pemberian ekstrak etanol daun dandang gendis dapat memperbaiki gambaran histopatologi hepar tikus model diabetes melitus.

1.4 Manfaat Penelitian

1.4.1 Manfaat Akademis

- a. Penelitian ini dapat menambah khasanah pengetahuan mengenai pengaruh antara pemberian etanol daun dandang gendis pada gambaran histopatologi hepar tikus model diabetes melitus.
- b. Penelitian ini dapat menjadi sumber literatur dalam pengembangan ilmu kesehatan khususnya mengenai efek antioksidan ekstrak dandang gendis dalam mencegah dan mengobati komplikasi diabetes melitus.

1.4.2 Manfaat Aplikatif

Penelitian ini dapat menambah khasanah pengetahuan mengenai pengaruh antara pemberian etanol daun dandang gendis pada gambaran histopatologi hepar tikus model diabetes melitus.

BAB II

TINJAUAN PUSTAKA

2.1 Diabetes Melitus

2.1.1 Definisi dan Klasifikasi Diabetes Melitus

Diabetes Melitus (DM) adalah penyakit kronis yang terjadi karena peningkatan kadar glukosa darah akibat tubuh tidak dapat memproduksi cukup hormon insulin atau tidak dapat menggunakan insulin secara efektif (IDF, 2021). Diabetes melitus juga merupakan salah satu gangguan metabolisme secara genetik dan klinis dengan manifestasi berupa hilangnya toleransi karbohidrat. Diabetes melitus ditandai dengan hiperglikemia puasa, postprandial, aterosklerosis, dan penyakit vaskular mikroangiopati (Fatimah, 2015). Klasifikasi DM lebih spesifik dijelaskan (pada gambar 2.1).

Klasifikasi	Deskripsi
Tipe 1	Destruksi sel beta, umumnya berhubungan dengan pada defisiensi insulin absolut <ul style="list-style-type: none">- Autoimun- Idiopatik
Tipe 2	Bervariasi, mulai yang dominan resistensi insulin disertai defisiensi insulin relatif sampai yang dominan defek sekresi insulin disertai resistensi insulin
Diabetes melitus gestasional	Diabetes yang didiagnosis pada trimester kedua atau ketiga kehamilan dimana sebelum kehamilan tidak didapatkan diabetes
Tipe spesifik yang berkaitan dengan penyebab lain	<ul style="list-style-type: none">- Sindroma diabetes monogenik (diabetes neonatal, <i>maturity-onset diabetes of the young</i> [MODY])- Penyakit eksokrin pankreas (fibrosis kistik, pankreatitis)- Disebabkan oleh obat atau zat kimia (misalnya penggunaan glukokortikoid pada terapi HIV/AIDS atau setelah transplantasi organ)

Gambar 2.1 Klasifikasi Diabetes Melitus (PERKENI, 2019)

1. Diabetes Melitus Tipe 1

Diabetes melitus (DM) tipe-1 adalah kelainan sistemik akibat terjadinya gangguan metabolisme glukosa yang ditandai oleh hiperglikemia kronik akibat kerusakan destruksi sel pankreas baik oleh karena proses autoimun maupun idiopatik, sehingga produksi insulin berkurang bahkan terhenti. Diabetes melitus (DM) tipe-1 menjadi salah satu penyakit kronik yang sampai saat ini belum dapat disembuhkan, tetapi upaya kontrol metabolik dengan baik dan optimal dapat mempertahankan perkembangan dan pertumbuhan normal serta mencegah komplikasi (Adelita dkk., 2020).

2. Diabetes Melitus Tipe 2

Diabetes Melitus Tipe 2 merupakan penyakit hiperglikemi akibat insensivitas sel terhadap insulin atau resistensi insulin. Kadar insulin mungkin sedikit menurun atau berada dalam rentang normal karena insulin tetap dihasilkan oleh sel-sel beta pankreas, maka diabetes melitus tipe II dianggap sebagai *non-insulin-dependent-diabetes-melitus*. Diabetes tipe 2 merupakan penyakit multifaktorial dengan komponen genetik dan lingkungan yang sama kuat dalam proses timbulnya penyakit tersebut (Betteng, 2014).

3. Diabetes Melitus Tipe Lain

DM tipe lain disebabkan oleh berbagai faktor yang menyebabkan jumlah atau kualitas insulin tidak mencukupi. DM tipe lain ini antara lain disebabkan oleh defek genetik fungsi sel beta, defek genetik kerja insulin, penyakit eksokrin pankreas, endokrinopati, akibat kerja obat atau zat kimia, infeksi, imunologi dan sindroma genetik lain (Almasdy dkk., 2015).

4. Diabetes Melitus Gestasional

Diabetes melitus gestasional (DMG) adalah gangguan toleransi glukosa yang pertama kali ditemukan pada saat kehamilan. DMG merupakan keadaan pada wanita yang sebelumnya belum pernah didiagnosis diabetes kemudian menunjukkan kadar glukosa tinggi selama kehamilan. Diabetes melitus gestasional berkaitan erat dengan komplikasi selama kehamilan seperti meningkatnya kebutuhan seksio sesarea, meningkatnya risiko ketonemia, preeklampsia dan infeksi traktus urinaria, serta meningkatnya gangguan perinatal (makrosomia, hipoglikemia neonatus, dan ikterus neonatorum) (Kurniawan, 2016).

2.1.2 Etiologi dan Faktor Resiko Diabetes Melitus (DM)

Peningkatan jumlah penderita DM yang sebagian besar DM tipe 2, berkaitan dengan beberapa faktor yaitu faktor risiko yang tidak dapat diubah, faktor risiko yang dapat diubah dan faktor lain. Menurut *American Diabetes Association* (ADA) bahwa DM berkaitan dengan faktor risiko yang tidak dapat diubah meliputi riwayat keluarga dengan DM (first degree relative), umur ≥ 45 tahun, etnik, riwayat melahirkan bayi dengan berat badan lahir bayi > 4000 gram atau riwayat pernah menderita DM gestasional dan riwayat lahir dengan berat badan rendah ($< 2,5$ kg). Faktor risiko yang dapat diubah meliputi obesitas berdasarkan IMT ≥ 25 kg/m² atau lingkar perut ≥ 80 cm pada wanita dan ≥ 90 cm pada laki-laki, kurangnya aktivitas fisik, hipertensi, dislipidemia dan diet tidak sehat (Pangestika dkk., 2016).

2.1.3 Patofisiologi Diabetes Melitus (DM)

Seorang penderita DM berpotensi mengalami hiperglikemia. Hiperglikemia dapat mengganggu fungsi sel beta pankreas dan berkontribusi terhadap gangguan sekresi insulin. Patofisiologi diabetes melitus dibedakan menjadi T1DM dan T2DM. T1DM dikenal sebagai DM tipe 1 atau *insulin-dependent diabetes melitus* (IDDM) menyumbang sekitar 5-10% dari semua kasus diabetes. T1DM disebabkan oleh gangguan autoimun yang ditandai dengan destruksi sel pankreas yang diperantarai sel T dan mengakibatkan defisiensi insulin serta akhirnya menjadi hiperglikemia. Patogenesis autoimunitas ini dipengaruhi oleh faktor genetik dan lingkungan. Tingkat perkembangan autoimunitas spesifik sel pankreas ini dan gangguan itu sendiri cepat pada sebagian besar kasus seperti pada bayi dan anak-anak. T1DM ditandai oleh beberapa marker kekebalan, khususnya autoantibodi. Autoantibodi tersebut meliputi *glutamik acid decarboxylase autoantibodies* (GADAs) seperti GAD65, *islet cell autoantibodies* (ICAs) hingga protein sitoplasma sel seperti *autoantibodi terhadap antigen sel pulau 512* (ICA512), autoantibodi terhadap tirosin fosfatase, IA-2 dan IA-2 α , *insulin autoantibodies* (IAA), dan autoantibodi terhadap *isoform 8 transporter seng spesifik pulau* (ZnT8). Setidaknya satu dari autoantibodi ini dapat digunakan untuk diagnosis klinis penyakit ini tetapi biasanya lebih banyak penanda imun (Bandaydkk., 2020).

T2DM dikenal sebagai *Non-Insulin-Dependent Diabetes Melitus* (NIDDM) atau diabetes onset dewasa. T2DM menyumbang sekitar 90-95% dari semua kasus diabetes. Jenis diabetes ini ditandai oleh dua anomali utama terkait insulin yaitu resistensi insulin dan disfungsi sel β . Resistensi insulin dihasilkan dari gangguan

berbagai jalur seluler yang menyebabkan penurunan respons atau sensitivitas sel-sel di jaringan perifer, khususnya otot, hati, dan jaringan adiposa terhadap insulin. Pada tahap awal penyakit, penurunan sensitivitas insulin memicu hiperfungsi sel untuk mencapai peningkatan kompensasi sekresi insulin untuk mempertahankan normoglikemia. Semakin tinggi kadar insulin yang bersirkulasi (hiperinsulinemia) sehingga mencegah terjadinya hiperglikemia. Namun, secara bertahap, peningkatan sekresi insulin oleh sel tidak mampu mengkompensasi penurunan sensitivitas insulin secara memadai. Selain itu, fungsi sel mulai menurun dan disfungsi sel akhirnya menyebabkan defisiensi insulin. Akibatnya, normoglikemia tidak dapat dipertahankan lagi dan terjadi hiperglikemia (Banday dkk., 2020).

2.1.4 Manifestasi Klinis dan Kriteria Diagnosis Diabetes Melitus(DM)

Menurut (Adelita dkk., 2020) Diagnosis DM dapat ditegakkan apabila memenuhi salah satu kriteria berikut:

- a. Gejala klinis poliuria, polidipsi, nokturia, enuresis, penurunan berat badan, polifagi, dan kadar glukosa plasma sewaktu (GDS) ≥ 200 mg/dL (11,1 mmol/L).
- b. Kadar glukosa plasma puasa (GDP) ≥ 126 mg/dL (7 mmol/L). Puasa adalah tidak ada asupan kalori selama 8 jam terakhir.
- c. Kadar glukosa plasma ≥ 200 mg/dL (11,1 mmol/L) pada jam ke-2 TTGO (tes toleransi glukosa oral).
- d. HbA1c (glycosylated haemoglobin) CDK-284 $> 6,5\%$. Penanda ini harus sesuai standar *National Glycohemoglobin Standardization Program* (NSPG) pada laboratorium yang bersertifikasi dan terstandar dengan assay *Diabetes Control and Complications Trial* (DCCT) (Adelita dkk., 2020).

2.1.5 Tatalaksana Diabetes Melitus(DM)

Menurut (Fatimah, 2015) Tujuan Penatalaksanaan DM adalah :

- a. Jangka pendek : hilangnya keluhan dan tanda DM, mempertahankan rasa nyaman dan tercapainya target pengendalian glukosa darah.
- b. Jangka panjang: tercegah dan terhambatnya progresivitas penyulit mikroangiopati, makroangiopati dan neuropati.

Obat – Obat Diabetes Melitus

a. Antidiabetik oral

Penatalaksanaan pasien DM dilakukan dengan menormalkan kadar gula darah dan mencegah komplikasi. Lebih khusus lagi dengan menghilangkan gejala, optimalisasi parameter metabolik, dan mengontrol berat badan. Bagi pasien DM tipe 1 penggunaan insulin adalah terapi utama. Indikasi antidiabetik oral terutama ditujukan untuk penanganan pasien DM tipe 2 ringan sampai sedang yang gagal dikendalikan dengan pengaturan asupan energi dan karbohidrat serta olahraga. Pemilihan dan penentuan regimen antidiabetik oral yang digunakan harus mempertimbangkan tingkat keparahan penyakit DM serta kondisi kesehatan pasien secara umum termasuk penyakit-penyakit lain dan komplikasi yang ada. Dalam hal ini obat hipoglikemik oral adalah termasuk golongan sulfonilurea, biguanid, inhibitor alfa glukosidase dan insulin sensitizing (Fatimah, 2015).

b. Insulin

Insulin merupakan protein kecil dengan berat molekul 5808 pada manusia. Insulin mengandung 51 asam amino yang tersusun dalam dua rantai yang

dihubungkan dengan jembatan disulfide, terdapat perbedaan asam amino kedua rantai tersebut. Fungsi insulin antara lain menaikkan pengambilan glukosa ke dalam sel-sel sebagian besar jaringan, menaikkan penguraian glukosa secara oksidatif, menaikkan pembentukan glikogen dalam hati dan otot serta mencegah penguraian glikogen, menstimulasi pembentukan protein dan lemak dari glukosa (Fatimah, 2015).

2.1.6 Komplikasi Diabetes Melitus (DM)

Diabetes yang tidak terkontrol dengan baik dapat menimbulkan komplikasi. Pada tahap akut, komplikasi diabetes terjadi akibat gangguan metabolik seperti hipoglikemia atau hiperglikemia sedangkan pada lanjut, gangguan ini terjadi kerusakan mikrovaskular dan makrovaskular. Komplikasi mikrovaskular berupa retinopati, neuropati dan nefropati sedangkan komplikasi makrovaskular berupa penyakit jantung koroner, stroke dan penyakit vascular perifer. Sedangkan komplikasi DM di Indonesia menurut laporan umumnya berupa neuropati, penyakit jantung koroner, ulkus diabetikum, retinopati (Almasdydkk., 2015).

2.2 Kelainan Hepar Akibat Diabetes Melitus

2.2.1 Komplikasi Diabetes Melitus pada Hepar

Diabetes Melitus menyebabkan kelainan hepar antara lain kerusakan hepatosit, steatosis, dan fibrosis. Pertama diawali dengan kerusakan hepatosit, Mekanisme resistensi insulin dapat meningkatkan stres oksidatif dan mengaktifasi sinyal inflamatorik kemudian mekanisme tersebut dapat mengarah kepada kerusakan hepar. Kedua dilanjutkan dengan pembentukan gambaran steatosis, gambaran steatosis yang

disertai dengan degenerasi balon dan inflamasi lobus dapat menentukan keadaan *non-alcoholic steatohepatitis* (NASH). Ketiga yaitu fibrosis, fibrosis sebagai respon multi-seluler dapat muncul akibat adanya kerusakan hepar dengan kematian sel hepar. Kerusakan hepar akut dapat dipicu oleh inflamatorik dan kaskade fibrogenik dengan aktivasi sel stelata hepatic (HSC) yang merupakan sumber utama pembentukan matriks ekstraseluler (ECM) yang kaya akan kolagen. Tujuan pembentukan ini untuk mempertahankan arsitektur dan fungsi organ hepar setelah mengalami kerusakan yang serius. Jika dalam penyembuhan luka pada organ hepar berkepanjangan akibat pemicu kerusakan tidak dapat dihilangkan, maka inflamasi akan menjadi kronik dan pembentukan fibrosis tidak hanya mempengaruhi sel hepar saja tetapi juga akan berdampak pada arsitektur vaskuler (Ramadan dkk., 2022).

2.2.2 Mekanisme Diabetes Melitus Mengakibatkan Kerusakan Hepar

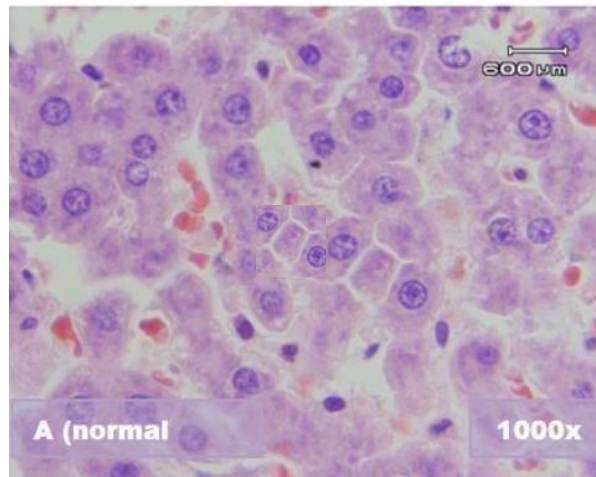
Hati merupakan organ penting dalam mengatur kadar glukosa dalam keadaan fisiologis dan patologis seperti DM. Pada DM tipe 2, resistensi insulin di hati akan menyebabkan hiperglikemia dan distorsi lebih lanjut dari glukosa metabolisme. Hati juga mengatur homeostasis glukosa dengan memodulasi ekspresi berbagai jenis gen yang mengkode protein sekretori (yaitu hepatokin). Berbagai jenis hepatokin melalui jalur yang berbeda mengaktifkan mekanisme umpan balik positif atau negatif untuk mengontrol proses metabolisme. Resistensi insulin menyebabkan adiposit perifer mengalami lipolisis. Asam lemak bebas kemudian dilepaskan ke aliran darah dan akhirnya menumpuk di hati. Pada saat yang sama, adipositokin melepaskan faktor nekrosis tumor- α dan leptin, memperburuk kerusakan hepatosit dengan meningkatkan stres oksidatif di mitokondria. Aksi gabungan stres oksidatif mitokondria,

hiperinsulinemia dan hiperglikemia menghasilkan radikal bebas yang pada gilirannya menginduksi peradangan dan nekrosis seluler. Peradangan jaringan merangsang sel-sel stellata hati untuk memproduksi kolagen, yang menyebabkan fibrosis, sirosis dan, akhirnya, karsinoma hepatoseluler. Sebuah peningkatan stres oksidatif mitokondria juga akan menyebabkan kerusakan mutasi DNA dan memicu serangkaian efek merusak pada rantai pernapasan mitokondria dengan memproduksi spesies oksigen reaktif (ROS). Lingkaran setan ini akan meningkat secara eksponensial ke tingkat yang tidak sesuai, yang akan dilawan oleh umpan balik fisiologis normal dan dengan demikian menyebabkan kerusakan hati. Hiperinsulinemia dapat menurunkan regulasi adiponektin, yang mengarah ke lipogenesis hati dan selanjutnya menurunkan oksidasi asam lemak bebas. Dengan demikian, hiperinsulinemia dapat bertindak sebagai kontributor utama perkembangan kerusakan hati (Mohamed dkk., 2016).

2.2.3 Gambaran Morfologi Hepar Normal

Menurut penelitian (Prasetiawan dkk., 2015). Kondisi morfologi hepar normal memiliki ciri berwarna merah kecoklatan yang pekat, permukaan yang rata serta tekstur yang padat, sedangkan kondisi hepar yang tidak normal ditandai dengan warna yang pudar, permukaan berbintik dan tekstur yang cenderung lunak dan mudah rusak (Zuhriyah dkk., 2021).

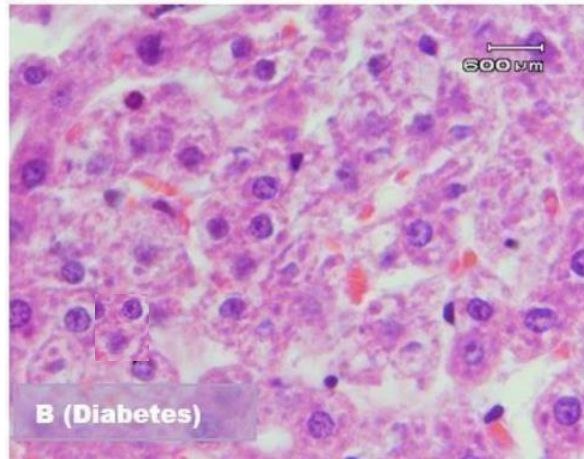
Hepar tikus normal menunjukkan sel-sel hepatosit polihedral yang tersusun rapat, batas yang jelas dan teratur dengan kapiler sinusoid yang jelas mengarah ke vena sentralis sebagai pusat. Hepatosit memiliki satu atau dua nukleus bulat dengan satu atau dua anak inti (Gambar 2.2). Jarak nukleus antar hepatosit terlihat berjauhan (Maimunah dkk., 2022).



Gambar 2.2 Gambaran histopatologi hepar menggunakan pewarnaan HE pada tikus normal dengan pembesaran 1000x (Maimunah dkk., 2022)

2.2.4 Gambaran Kelainan Morfologi di Hepar

Organ hepar merupakan organ target insulin dalam penyimpanan glukosa dalam bentuk glikogen. Keadaan DM akan mempengaruhi terjadinya perubahan morfologi jaringan organ tersebut. Untuk mengetahui perubahan morfologi jaringan hepar pada tikus pada keadaan DM, maka dilakukan pembedahan tikus dari semua kelompok untuk dipreparasi secara histologi dengan potongan membujur dan pewarnaan *hematoxylin-eosin* (HE). Pada tikus DM menunjukkan bahwa sel hepatosit tampak tidak teratur, batas antar sel tidak jelas dan inti sel yang gelap (Gambar 2.3) (Maimunah dkk., 2022).



Gambar 2.3 Gambaran Histopatologi hepar menggunakan pewarnaan HE pada tikus DM dengan pembesaran 1000x (Maimunah dkk., 2022)

2.3 Antioksidan dan Stres Oksidatif

2.3.1 Antioksidan

Menurut (Arifin B dan Ibrahim, 2018) Antioksidan adalah sekelompok bahan kimia yang melindungi sistem biologis dari efek yang berpotensi berbahaya dari proses atau reaksi oksidatif. Selain dapat mengurangi senyawa radikal bebas, antioksidan dapat meningkatkan daya tahan tubuh dengan meningkatkan efektivitas sel darah putih dalam menjaga sistem kekebalan tubuh. Peranan antioksidan pada obat herbal sangat penting untuk mencegah stres oksidatif dan mencegah berbagai etiologi penyakit. Antioksidan banyak terdapat pada tanaman herbal. Suplementasi tanaman herbal dapat meningkatkan status anti inflamasi dan antioksidan. Beberapa obat herbal memiliki zat yang bersifat anti-inflamasi dan antioksidan yang baik untuk tubuh. Pada penelitian Sahebkar disebutkan bahwa Herbal mampu untuk menurunkan ekspresi TNF dalam tubuh. Salah satu senyawa yang berfungsi sebagai antioksidan adalah senyawa flavonoid, dikatakan dalam sebuah penelitian senyawa flavonoid dapat menangkap

secara langsung radikal bebas dengan cara menyumbang atom hydrogen (Abdurahman dkk., 2022).

2.3.2 Stres Oksidatif

Stres oksidatif adalah suatu kondisi yang disebabkan oleh adanya peningkatan produksi radikal bebas atau berkurangnya aktivitas pertahanan antioksidan atau keduanya. Dalam kaitan dengan kondisi ini dikenal dengan istilah *Reactive Oxygen Species* (ROS) dan *Reactive Nitrogen Species* (RNS). Senyawa tersebut ada yang bersifat radikal bebas dan non-radikal. Disebut dengan radikal bebas apabila terdiri dari molekul yang tidak stabil dan bersifat reaktif sehingga dapat menyerang makromolekul lain seperti lipid, karbohidrat, protein, dan asam nukleat. Hal ini mengakibatkan stres oksidatif dalam spektrum luas baik dalam mekanisme molekuler maupun seluler dari berbagai penyakit yang ditemukan pada manusia (Prawitasari, 2019).

2.3.3 Stres Oksidatif pada Diabetes Melitus

Stres oksidatif pada diabetes melitus diperantarai lajur mekanisme seperti persinyalan NF- κ B. ROS meningkatkan jalur transduksi sinyal yang mempengaruhi faktor nuklir-light-chain-enhancer dari aktivasi dan translokasi sel B teraktivasi (NF- κ B) ke dalam nukleus. Potensi pengikatan DNA dari NF- κ B teroksidasi berkurang secara signifikan, tetapi dapat dipulihkan oleh enzim reduktif, seperti TR atau faktor redoks. Oleh karena itu, sinyal inflamasi sangat bergantung pada NF- κ B. Dengan demikian, Persinyalan NF- κ B sangat memengaruhi ROS (Newsholme dkk., 2016).

Stres oksidatif pada T1DM berkaitan dengan sel sistem kekebalan seperti limfosit, makrofag, dan neutrophil yang kemudian memengaruhi mekanisme penghancuran patogen meliputi respons inflamasi dan produksi ROS/RNS. Peradangan

dikaitkan dengan peningkatan kadar sitokin, seperti IL-1 β , IL-6, IL-10, IL-17, *Tumor Necrosis Faktor* (TNF- α) dan *Interferon* (IFN- γ). Sitokin-sitokin tersebut dihasilkan oleh sel imun. Interaksi sitokin/kemokin antara sel sistem imun dimediasi oleh sinyal imunogenik yang diduga berawal dari sel mati. Disfungsi sel yang diinduksi sitokin dan apoptosis tergantung pada aktivasi dan faktor transkripsi seperti NF- κ B. Dalam skenario diabetes, *reseptor seperti Toll* (TLRs) dapat diaktifkan oleh rangsangan inflamasi baik dari sistem kekebalan bawaan dan adaptif. Dengan demikian, secara keseluruhan stres oksidatif mengarah ke aktivasi pro-inflamasi dari NF- κ B. (Newsholme dkk., 2016). Jalur-jalur metabolik yang menjadi penyebab stres metabolik dan komplikasi jangka panjang pada penderita DM tipe 2 adalah sebagai berikut:

A. Jalur Poliol

Pada beberapa jaringan seperti saraf, lensa, ginjal dan pembuluh darah tidak memerlukan insulin dalam proses transpor glukosa. Sehingga hiperglikemia meningkatkan kadar glukosa intrasel pada jaringan tersebut. Glukosa tersebut akan dimetabolisme dengan kofaktor NADPH menjadi sorbitol oleh enzim aldosa reduktase dan akhirnya menjadi fruktosa (Kumar dkk., 2013). Kondisi tersebut menyebabkan sorbitol berakumulasi dan lebih banyak NADPH yang digunakan. Peningkatan kadar sorbitol dan fruktosa dapat terjadi akibat aktivasi jalur poliol. Sorbitol dan fruktosa merupakan agen glikosilasi yang dapat membentuk AGEs (Decroli, 2019).

Overaktivitas aldosa reduktase dapat menyebabkan penggunaan NADPH yang berlebihan sehingga kofaktor yang digunakan dalam proses metabolisme seluler dan enzim menjadi berkurang. Hal ini akan mengurangi kapabilitas sel

dalam merespon stres oksidatif, sehingga aktivitas mekanisme kompensasi meningkat seperti aktivitas glucose monophosphate shunt dan penyedia NADPH seluler. Di sisi lain, penggunaan NAD⁺ oleh sorbitol dehidrogenase menyebabkan peningkatan rasio NADPH/NAD⁺ yang merupakan kondisi pseudohipoksia (Decroli, 2019).

B. Jalur Heksosamin

Jalur heksosamin dapat teraktivasi akibat akumulasi berlebihan metabolit glikolisis. Pada kondisi normal, terdapat sekitar 1-3% glukosa yang memasuki jalur ini. Sedangkan hiperglikemia dapat meningkatkan produksi ROS yang menyebabkan metabolit teroksidasi dapat terakumulasi (Decroli, 2019)

C. Aktivasi Protein Kinase C (PKC)

Aktivasi PKC di dalam sel oleh ion kalsium dan *second messenger diasilgliserol* (DAG) terjadi di dalam sel pada banyak sistem. Peningkatan glukosa intrasel menyebabkan terjadinya sintesis de novo DAG yang menimbulkan aktivasi PKC. PKC yang teraktivasi berefek pada produksi molekul proangiogenik seperti *Vascular Endothelial Growth Factor* (VEGF) yang terjadi pada retinopati diabetik dan molekul profibrogenik seperti *Transforming Growth Factor-β* (TGF-β) yang dapat meningkatkan deposit matriks ekstraselular dan materi membran basal (Kumar dkk., 2013).

Aktivitas PKC-β₂ di sel endotel ginjal meningkat akibat hiperglikemia yang dapat merangsang produksi *prostaglandin E2* (PGE₂) dan *tromboksan A2* (TxA₂), yang merupakan pengatur permeabilitas vaskular dan responnya terhadap angiotensin II. Aktivasi PKC juga mengakibatkan akumulasi protein

matriks mikrovaskuler di sel mesangial. Kondisi tersebut terjadi akibat inhibisi produksi NO (Decroli, 2019).

D. Advanced Glycation End Products (AGEs)

Hiperglikemia sangat mempercepat laju pembentukan AGE. Reseptor AGE (RAGE) yang terdapat pada sel inflamasi (makrofag dan sel T), otot polos pembuluh darah, serta sel endotel. Kerusakan kompartemen pembuluh darah akibat pengisyratan ikatan AGE-RAGE meliputi (Kumar dkk., 2013).

- Pelepasan sitokin proinflamasi dan faktor pertumbuhan dari makrofag pada tunika intima
- Terbentuknya *Reactive Oxygen Species* (ROS) pada sel endotel
- Peningkatan aktivitas prokoagulan pada sel endotel dan makrofag
- Peningkatan proliferasi otot polos pembuluh darah dan sintesis matriks ekstrasel

Selain efek merusak ikatan AGE-RAGE, AGE juga dapat berikatan silang dengan protein matriks ekstrasel secara langsung, sehingga terjadi penurunan pembuangan protein dan deposit protein meningkat. Protein tersebut dapat mengikat protein interstisial atau protein plasma lain seperti LDL terperangkap di dalam dinding pembuluh darah besar sehingga mempercepat proses aterosklerosis, sedangkan albumin terperangkap di dalam pembuluh kapiler sehingga dapat menyebabkan membran basal menebal yang menjadi ciri mikroangiopati (Kumar dkk., 2013).

2.4 *Clinacanthus nutans*

2.4.1 Tinjauan Umum

Dandang gendis (*Clinacanthus nutans Lindau*) termasuk dalam famili *Anthaceae* yang merupakan tanaman yang tumbuh di Asian Tenggara. Tanaman ini dalam masyarakat sering digunakan sebagai obat antidiabetes, penawar racun, antiradang, penghilang rasa nyeri, dan antioksidan (Silviana, 2017).

Sebuah studi cross-sectional di Malaysia telah menemukan bahwa *C. nutans* mampu bertindak sebagai agen anti-diabetes. Kementerian Kesehatan Masyarakat Thailand telah memilih *C. nutans* sebagai salah satu tanaman obat untuk perawatan kesehatan masyarakat. Penelitian sebelumnya telah menunjukkan adanya stigmasterol, sitosterol, lupeol, myricyl alcohol, botulin, glikosida yang mengandung sulfur dan glikoglisero-lipid dalam *C. nutans* (Yeo dkk., 2018).

Secara tradisional digunakan di Thailand untuk pengobatan berbagai penyakit antara lain kanker, ruam kulit, gigitan ular dan serangga, diabetes melitus, diare, sebagai anti virus agen melawan HSV dan *virus varicella-zoster (VZV)* . Mekanisme kerja tumbuhan ini adalah dikaitkan dengan properti lisis anti-selnya daripada penghambat transmisi antineuromuskular. Berbagai aktivitas farmakologis yang terkait dengan *C. nutans* dapat dikaitkan dengan: senyawa bioaktif dilaporkan di berbagai bagian tanaman, termasuk saponin, glikosida, steroid dan flavonoid (Aliyu dkk., 2020). *C. nutans* kaya dengan senyawa bioaktif terutama phenolic dan Flavonoid. Polifenol merupakan salah satu senyawa phenolic dalam *C.nutans* yang memiliki sifat antioksidan kuat serta efeknya yang sangat penting dalam menghambat stres oksidatif. Senyawa phenolic adalah fitokimia utama yang ditemukan di semua tanaman dan banyak penelitian berfokus pada kondisi ekstraksi dan analisis untuk sifat obatnya (Othman dkk., 2021).

2.4.2 Taksonomi

Dibawahini merupakan klasifikasi *C.nutans* menurut (Alam dkk., 2016), yaitu:

Kingdom : *Plantae*

Filum : *Magnoliophta*

Ordo : *Lamiales*

Famili : *Acanthaceae*

Genus : *Clinacanthus Lindau*

Species : *C. nutans (Burm. f.) Lindau*



Gambar 2.5 Gambar *C. nutans* (Burm. f.) Landau. (A) Tanaman *C.nutans* (B) Daun *C. nutans* (Alam dkk., 2016)

2.4.3 Kandungan

Senyawa aktif bahan alam yang terdapat dalam tanaman dandang gendis diantaranya: flavonoid, alkaloid dan saponin

- Flavonoid

Flavonoid adalah suatu kelompok senyawa fenol yang terbesar yang ditemukan di alam. Flavonoid mempunyai gugus hidroksil sehingga senyawa ini merupakan senyawa polar yang pada umumnya larut dalam

pelarut polar seperti etanol, methanol, dan air. Flavonoid mempunyai kerangka dasar karbon yang terdiri dari 15 atom karbon, dimana cincin benzene (C₆) sebanyak 2 buah terikat pada rantai propan (C₃) yang membentuk susunan senyawa C₆-C₃-C₆. Susunan ini dapat menghasilkan 3 jenis struktur berbeda, yaitu 1,3-diarilpropan atau flavonoid, 1,2-diarilpropan atau isoflavonoid dan 1,1-diarilpropan atau neoflavonoid. (Silviana, 2017).

- Alkaloid

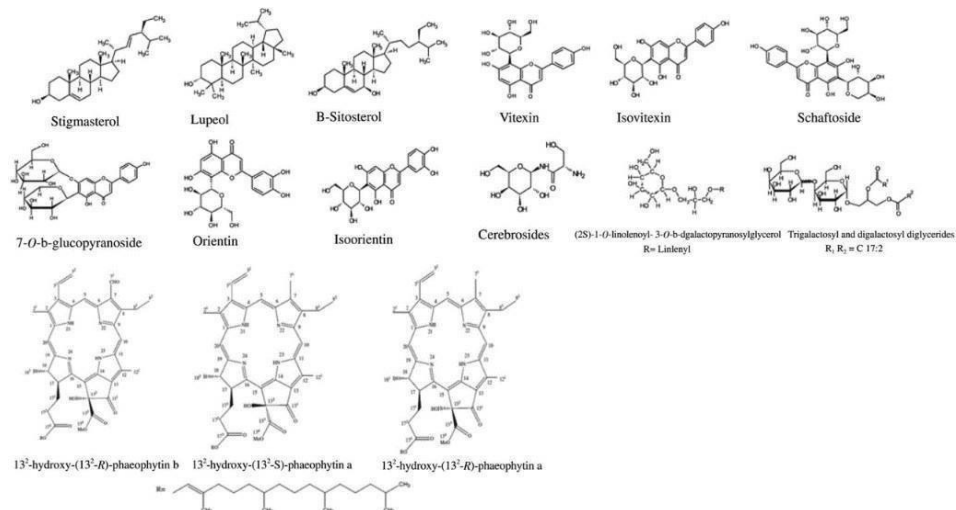
Alkaloid pada umumnya mencakup semua senyawa yang bersifat basa, mengandung satu atau lebih atom nitrogen dan biasanya merupakan bagian dari sistem siklis. Senyawa alkaloid banyak terkandung dalam akar, biji, maupun daun daritumbuhan. Senyawa alkaloid dapat dipandang sebagai hasil metabolisme dari tumbuhan yang berguna sebagai cadangan dalam sintesis protein. Alkaloid sangat penting dalam bidang farmasi karena kebanyakan alkaloid mempunyai efek fisiologis (Silviana, 2017).

- Saponin

Saponin adalah senyawa aktif yang menimbulkan busa jika dikocok dengan air. Pada konsentrasi rendah sering menyebabkan hemolisis sel darah. Saponin dapat bekerja sebagai antimikroba. Saponin larut dalam air dan etanol tetapi tidak larut dalam eter (Silviana, 2017).

2.4.4 Fitokimia

Fitokimia tanaman ini menunjukkan bahwa *C. nutans* mengandung berbagai macam senyawa bioaktif. Fitokimia vital adalah stigmasterol (1), lupeol (2), β -sitosterol (3), belutin, dan mirisil alkohol ditemukan. Ada enam flavon C-glikosil yang diketahui diisolasi dari n-BuOH dan fraksi larut air dari ekstrak metanol tanaman ini di Thailand; mereka vitexin (4), isovitexin (5), schaftoside (6), isomollupentin 7-O- β -glucopyranoside (7), orientin (8) dan isoorientin (9). Itu fraksi larut n-BuOH dari ekstrak metanol batang dan daun tanaman ini mengandung lima glukosida. Gliserol (2S)-1-O-linolenoyl-3-O- β -dgalactopyranosylglycerol (11) diisolasi dari fraksi larut-EtOAc dari ekstrak etanol daun segar *C. nutans*. Ekstrak heksana dan kloroform tanaman ini digunakan untuk isolasi 13-hidroksi-(13-S)-phaeophytin b, pupurin-18-phytyl ester dan phaeophorbide-a yang berasal dari ekstrak. Trigalaktosil dan digalaktosil digliserida yang efektif anti-HSV (12) diisolasi dari ekstrak daun tanaman ini (Alam dkk., 2016).



Gambar 2.6 Struktur Kimia Metabolit Sekunder Daun Dandang Gendis (Alam dkk., 2016)

2.4.5 Aktivitas Farmakologi

- Aktivitas Anti-inflamasi

C. nutans telah digunakan sebagai agen anti-inflamasi untuk pengobatan gigitan serangga, respon alergi dan, obat untuk herpes simpleks. dan lesi VZV. Ekstrak etanol 80% udara tanaman menunjukkan penghambatan yang signifikan pada pembentukan anion superoksida dan pelepasan elastase oleh neutrofil teraktivasi. Penghambatan tersebut dihasilkan oleh 10 mg/mL ekstrak etanol *C. nutans* pada 68,33%. Ekstrak metanol daun diuji dengan aplikasi topikal kation dengan dosis 3, 6, 9 mg/20 mL aseton pada tikus percobaan yang diinduksi etil fenilpropiolat pada edema. Ekstrak pada semua konsentrasi menunjukkan penghambatan paling kuat pada 15 menit yang mendasari pencegahan pelepasan dan/atau efek histamin dan serotonin yang dianggap sebagai mediator inflamasi awal dari jalur ini (Alam dkk., 2016).

- Aktivitas Antioksidan

Petroleum eter (82,0%) ekstrak seluruh tanaman dengan kuat menangkap radikal 1,1-difenil-2-pikrilhidrazil (DPPH) dengan konsentrasi 4,0 mg/mL sedangkan ekstrak metanol batang menghasilkan aktivitas penangkapan radikal 70,0% pada konsentrasi 10,0 mg/mL. Kandungan seperti alkaloid, flavonoid dan flavon menjadi alasan yang mungkin untuk mereduksi radikal bebas aktivitas tinggi (Alam dkk., 2016).

- Aktivitas Respon Imun

Pengaruh ekstrak etanol daun pada modulasi respon imun yang dimediasi sel *in vitro* dipelajari dengan mengamati sel kompeten manusia yang diperoleh dari manusia sehat tanpa riwayat komplikasi terkait imun sebelumnya dan tidak ada yang memakai obat immunosupresif. Aktivitas sel Natural Killer sangat menurun pada konsentrasi 1 dan 5 mg/mL tetapi tingkat sel mononuklear yang diberi ekstrak pembentukan interleukin-2 tidak dapat diamati (Alam dkk., 2016).

- Aktivitas Anti-herpes simplex

Aktivitas ekspirasi heksana, diklorometana, dan methanol traktat daun diperiksa pada sel HSV tipe 1 (KOS), tipe 2 (Baylor 186) dan Vero dengan uji reduksi plak. Setiap ekstrak menunjukkan aktivitas HSV-1 dan HSV-2 dengan lebih dari 50% penghambatan pembentukan plak (30 PFU/25 mL) pada konsentrasi 100 mg/mL. heksana. Percobaan juga mengasumsikan bahwa senyawa 1-3 dapat mengganggu struktur selubung virion atau menutupi glikoprotein virus, yang diperlukan untuk adsorpsi dan masuk ke host cell (Alam dkk., 2016).

- Aktivitas antimikroba

Fraksi etil asetat dari daun tanaman *C.nutans* diuji terhadap *Bacillus cereus*, *Escherichia coli*, *Salmonella enterica typhimurium* dan *Candida albicans* menggunakan penghambatan minimum konsentrasi dan uji bakterisida atau fungisida minimum. Fraksi dan ekstrak kasar menunjukkan penghambatan terhadap semua mikroorganisme yang diuji dalam kisaran antara 1,39

mg/mL dan 6,31 mg/mL terhadap *B. cereus* dan *C. albicans*. Flavonoid dan senyawa fenolik yang disintesis secara universal dalam tanaman obat dapat menginduksi respon antibakteri karena adanya gugus karbonil (Alam dkk., 2016).

- Aktivitas Antivenom

Tumbuhan ini telah lama digunakan secara tradisional sebagai obat untuk ular berbisa atau serangga berbisa seperti kalajengking dan lebah terutama di Thailand Selatan dan Malaysia Barat Laut. Tidak ditemukan aktivitas antivenin dengan menganalisis kemampuan ekstrak untuk meredakan penghambatan efek neurotoksin Naja naja siamensis pada neuromuscular transmisi (Alam dkk., 2016).

- Aktivitas Antidiabetes

C.nutans memiliki kandungan antidiabetes karena memiliki inhibitor α -glukosidase. Inhibitor enzim α -glukosidase dapat mengontrol metabolisme karbohidrat usus dengan memperlambat pembelahan polisakarida menjadi glukosa (Alam dkk., 2017). Mekanisme utama dalam aktivitas antidiabetes dari α -glikosida flavonoid dalam *C.nutans* adalah mengurangi pembentukan produk akhir glikasi lanjut (AGEs), penurunan kadar glukosa serum, menginduksi peningkatan yang signifikan dalam sekresi insulin, dan merangsang penyimpanan glikogen (Xiao dkk., 2016).

2.4.6 Toksisitas

Menurut penelitian (P'ng dkk., 2013), Tikus betina *Sprague Dawley* yang diberikan 14 hari pemberian ekstrak metanol daun *C. nutans* secara oral dengan dosis 300 mg/kg, 600 mg/kg dan 900 mg/kg tidak menunjukkan hasil efek toksisitas pada hati dan ginjal. yang menyebabkan cedera. Ekstrak metanol tanaman ini memengaruhi aktivitas enzim asetilkolinesterase yang bertanggung jawab untuk menghentikan transmisi saraf kolinergik dengan menghidrolisis asetilkolin menjadi kolin dan asetat. Kemudian menurut penelitian (Chavalittumrong P, 2013), Ekstrak etanol daun dandang gendis dengan dosis tertinggi 1,3 g/kg yang diberikan secara oral, subkutan atau intraperitoneal tidak menunjukkan tanda-tanda toksisitas akut pada mencit. Ekstrak etanolik daun dandang gendis pada 1,3 g/kg bb tidak menunjukkan efek toksik akut pada mencit dengan pemberian berulang kali dengan 1 g/kg bb pada tikus selama 90 hari dan tidak menunjukkan kelainan organ pada tikus. Toksisitas ekstrak metanol daun *C. nutans* belum pernah dilaporkan sebelumnya (P'ng dkk., 2013).

2.5 Hewan Coba Tikus Model DM

2.5.1 Tikus Wistar

Tikus putih jantan galur wistar mempunyai karakteristi genetik dan biologis mirip dengan manusia serta alasan pemilihan kelamin jantan karena tidak terpengaruh adanya hormon. Tikus galur wistar harus diaklimatisasi selama dua minggu bertujuan agar tikus bisa beradaptasi dengan lingkungan dan tidak stres (Nangoy dkk., 2019). Genom tikus wistar memiliki kedekatan homologi dengan genom manusia sehingga manipulasi pada genom tikus dapat menghasilkan model hewan yang fenotipnya mirip

dengan penyakit pada manusia. Tikus Laboratorium yang lazim digunakan adalah *Rattus norvegicus* yang merupakan ordo *Rodentia* dan famili *Muridae* (Otto dkk., 2015).

Tikus putih galur wistar (*Rattus norvegicus*) memiliki gen yang berkaitan dengan perkembangan embrio pancreas. Tikus wistar memiliki gen yang bertanggung jawab untuk sekresi hormon insulin, hormone glucagon, Pengontrolan kadar glukosa dalam darah. Gen Sox17 merupakan pengatur utama sel-sel pada embrio awal tikus agar menjadi sel pankreas ventral atau bagian dari sistem bilier . Gen Sox17 juga memiliki peran baru dalam mengatur perdagangan insulin dan sekresi dalam sel beta dewasa baik dalam kondisi normal atau diabetes (Khalil dkk., 2018).

2.5.2 Perancangan Hewan Coba Model DM diinduksi STZ

Dasar pemikiran model ini adalah hewan yang diinduksi dengan streptozotisin menunjukkan nekrosis sel β pankreas (Husna dkk., 2019). Untuk injeksi intraperitoneal dilakukan dengan memposisikan tikus menghadap ke arah frontal hingga terlihat bagian abdomennya. Pada bagian atas abdomen tikus, disemprotkan etanol 70%, kemudian kulit abdomen dicubit hingga terasa bagianototnya. Spuit dimasukkan ke dalam abdomen lalu digerakkan spuitnya. Apabila terasa berat, maka sudah masuk ke bagian intraperitoneal. Setelah itu STZ disuntikkan secara perlahan-lahan sampai larutan yang berada dalam spuit habis. Setelah itu, abdomen tikus disemprot dengan etanol 70% kembali (Luandayanti dkk., 2013).

Kadar glukosa darah tikus diukur dengan menggunakan glukometer dengan cara ujung ekor tikus dipotong 1 mm menggunakan gunting, lalu darah tikus disentuhkan pada strip glukosa dan dicatat angka yang muncul pada layar glukometer.

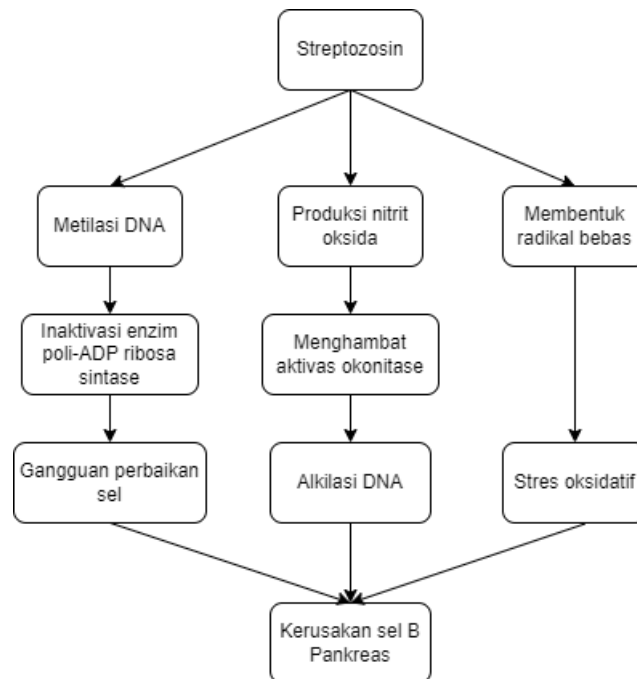
Kondisi diabetik normal adalah 75-150 mg/dl, diabetik ringan 150-200 mg/dL, sedang 200- 400 mg/dL, dan kondisi diabetik berat di atas 400 mg/dL(Saputra dkk., 2018).

STZ atau 2-deoksi-2-(3-metil-nitrosourea)-1-D-glukopiranosida adalah senyawa yang alami terdapat pada bakteri *Streptomyces achromogenes* dan memiliki efek antibakteri spektrum luas. STZ diyakini lebih baik sebagai agen diabetogenik dibanding aloksan karena lebih efektif dan lebih *reproducible*. STZ juga stabil dalam larutan sebelum dan sesudah penyuntikan pada hewan coba. Selain itu, model hewan STZ lebih mirip dengan beberapa komplikasi akut dan kronis yang sering dijumpai pada penyandang DM. Model ini menunjukkan kesamaan pada beberapa abnormalitas struktural, fungsional dan biokimia penyakit DM sehingga lebih cocok sebagai model untuk memeriksa mekanisme DM (Husna dkk., 2019).

2.5.3 Mekanisme STZ menginduksi Tikus Model DM

Mekanisme STZ menginduksi Tikus Model DM di jelaskan pada (gambar 2.1). Pemberian STZ menyebabkan peningkatan malondialdehid secara signifikan menurunkan aktivitas enzim antioksidan seperti katalase, glutathione peroksidase dan superoksida dismutase. Selain itu, sel β pankreas tidak memiliki katalase dan glutathione peroksidase sehingga semakin rentan terhadap radikal bebas . STZ memiliki sifat sitotoksik terhadap sel β pankreas dan efeknya dapat terlihat 72 jam setelah pemberian STZ dan tergantung pada dosis pemberian. Efek toksik STZ bersifat lebih selektif terhadap sel β pankreas karena berdasarkan struktur kimia STZ yang memiliki gugus glukosa sehingga mempermudah masuknya STZ ke sel β karena sel β pankreas lebih aktif mengambil glukosa dibanding sel lainnya. Sel lain yang mengekspresikan GLUT2 seperti hepatosit dan sel tubulus ginjal juga rentan terhadap induksi dengan STZ. Hal

ini yang menjelaskan tentang efek nefrotoksik dan hepatotoksik STZ. STZ juga menyebabkan kerusakan hepar dan jaringan lemak dan meningkatkan stres oksidatif, inflamasi dan disfungsi endotel. (Husna dkk., 2019). Kematian sel yang disebabkan oleh STZ melibatkan tiga jalur dan di jelaskan pada (gambar 2.7)



Gambar 2.7 Mekanisme STZ Menginduksi Tikus Model DM (Husna dkk., 2019)

- Lajur Metilasi DNA

Dalam sel β pankreas, STZ merusak oksidasi glukosa, menurunkan sintesis dan sekresi insulin, serta mengganggu transportasi glukosa dan aktivitas glukokinase. Bagian gula (2-deoxy-D-glucose) dari STZ dapat mengarahkan alkilasi sel β pankreas melalui Glut 2 karena kemampuannya untuk memetilasi DNA di ginjal, hati, dan usus serta ketidakmampuan untuk memetilasi DNA di sel. Bagian nitrosoamide dari STZ

(methylnitrosurea) bertanggung jawab atas toksisitas melalui pembentukan ion methyl carbonium (CH_3^+) yang sangat reaktif sehingga menyebabkan metilasi dan pemutusan DNA serta aktivasi Poly-ADPRibose Polymerase-1 (PARP-1) dalam waktu 10 menit, yang secara substansial menurunkan NAD^+ dalam sel β dalam waktu 20 menit dan menyebabkan kekurangan energi dan kematian sel β . PARP1 adalah enzim inti yang mengkatalisis sintesis poli (ADP-ribosa) dari NAD^+ . Aktivitas PARP di pankreas menyebabkan penipisan ATP dan NAD^+ , penurunan sintesis protein, dan nekrosis sel β (Ghasemi dkk., 2014).

- Lajur Produksi Nitrit Oksida

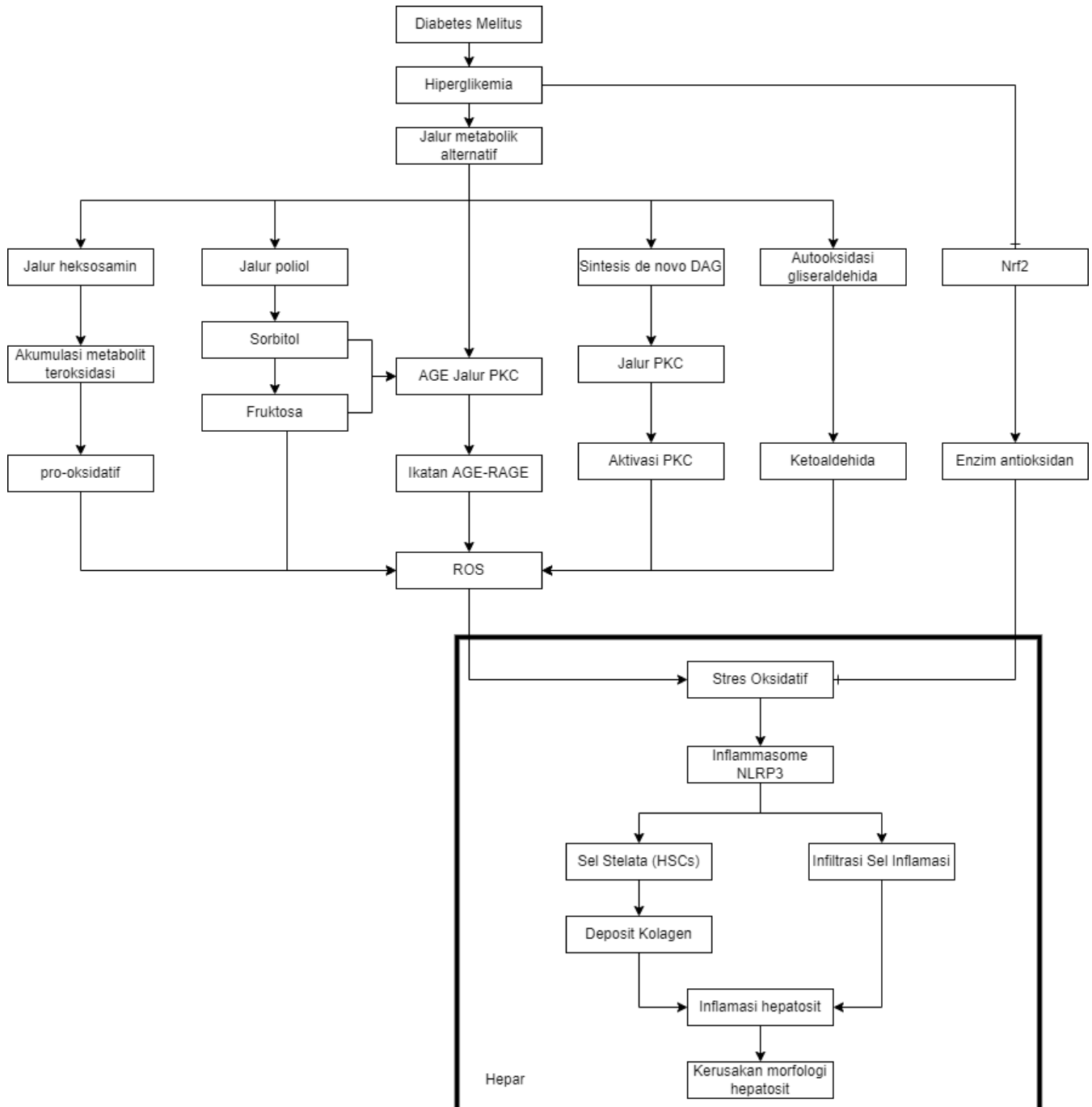
Selain melalui alkilasi DNA, STZ menyebabkan kematian sel β melalui stres oksidatif dan produksi *Nitric Oxide* (NO). STZ meningkatkan kadar NO baik melalui induksi enzim sintase NO dan ketika dimetabolisme di dalam sel yang tidak memerlukan sintase NO, NO bergabung dengan anion superoksida untuk membentuk peroksinitrit yang terurai menjadi radikal hidroksil genotoksik. STZ juga menyebabkan penurunan konsumsi oksigen oleh mitokondria dan oleh karena itu membatasi produksi ATP dan efek ini dimediasi setidaknya sebagian oleh NO (Ghasemi dkk., 2014).

- Lajur Pembentukan Radikal Bebas

Streptozotosin mempengaruhi oksidasi glukosa, penurunan biosintesis, dan sekresi insulin. Pada transporter glukosa GLUT2, STZ masuk ke sel pankreas sehingga menyebabkan penurunan ekspresi GLUT2, peningkatan

resistensi insulin, peningkatan kadar glukosa darah akibat penurunan sensitivitas reseptor insulin perifer. Stres oksidatif memainkan peran penting dalam perkembangan dan perkembangan diabetes dan komplikasinya. Berbagai studi klinis dan model eksperimental menunjukkan bahwa pada diabetes melitus terjadi kerusakan sel, melibatkan apoptosis dan autofagi sebagai akibat dari stres oksidatif dan pelepasan ROS (Jemyma dkk., 2021).

2.6 Kerangka Teori

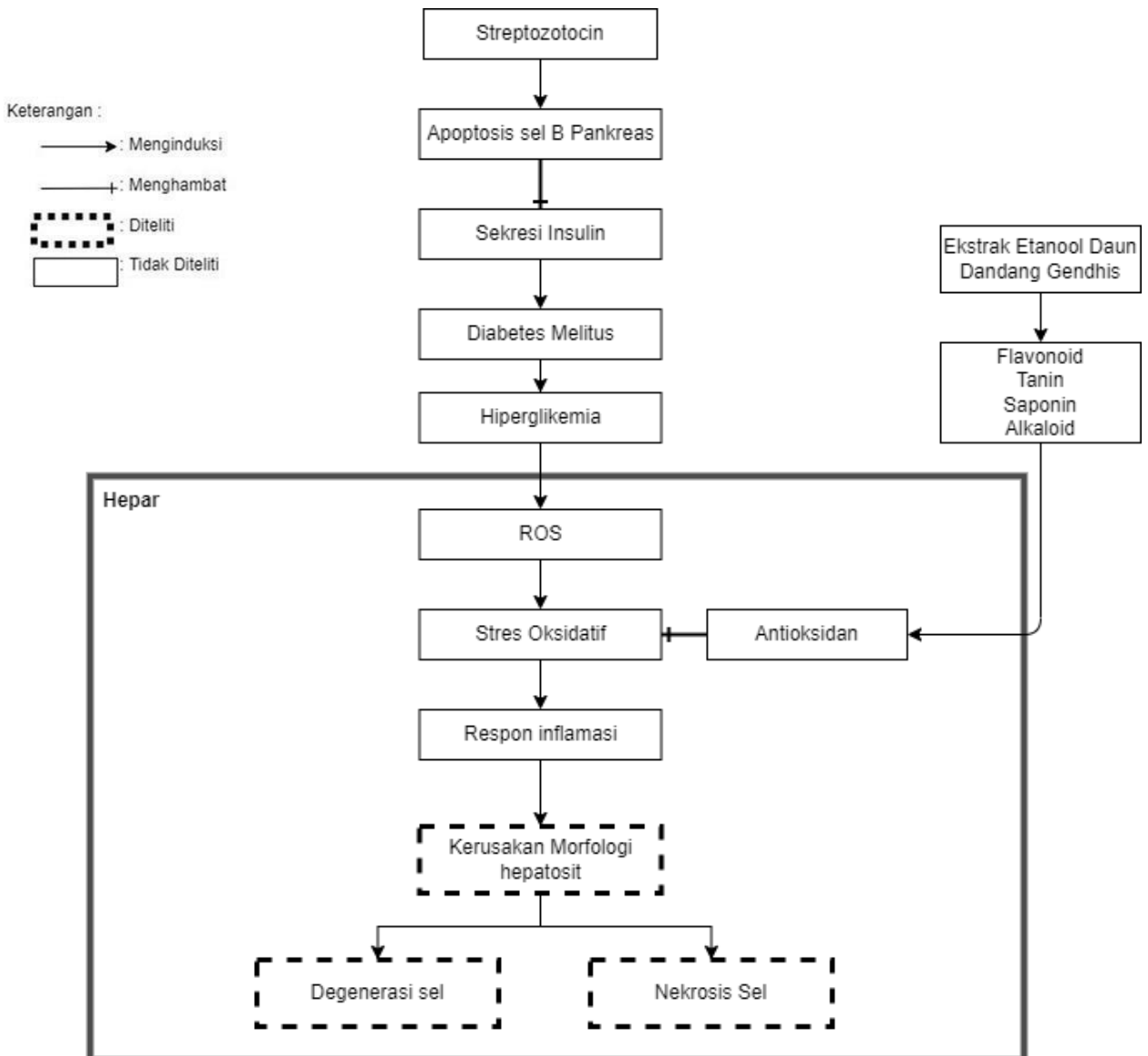


Gambar 2.8 Kerangka Teori

BAB III

KERANGKA KONSEP DAN HIPOTESIS

3.1 Kerangka Konsep



Gambar 3.1 Kerangka Konsep

Injeksi *streptozotocin* secara intraperitoneal akan menginduksi nekrosis dari sel beta pankreas melalui 3 mekanisme yaitu metilasi DNA, produksi nitrit oksidan, dan pembentukan radikal bebas sehingga menimbulkan gangguan sekresi insulin. Pertama, Pada lajur metilasi DNA, STZ merusak oksidasi glukosa dan mengganggu aktivasi glukokinase. Pada bagian nitrosoamide dari STZ berfungsi memberikan toksisitas melalui pembentukan ion methylcarbonium (CH_3^+) yang sangat reaktif sehingga menyebabkan metilasi dan pemutusan DNA serta aktivasi *Poly-ADPRibose Polymerase-1* (PARP-1), kemudian juga menurunkan NAD^+ secara substansial dalam sel β sehingga menyebabkan gangguan perbaikan sel dan nekrosis sel β . Kedua. Pada lajur produksi Nitri Oksida (NO). STZ meningkatkan kadar NO melalui induksi enzim sintase NO, NO bergabung dengan anion superoksida untuk membentuk perosinitrit dan terurai menjadi radikal hidroksil genotoksik. Nitri Oksida (NO) berkontribusi dalam penurunan penggunaan oksigen oleh mitokondria sehingga menyebabkan nekrosis sel β . Ketiga, Lajur pembentukan radikal bebas, STZ memengaruhi oksidasi glukosa. Pada transporter GLUT2, STZ menyebabkan penurunan ekspresi GLUT2 dengan masuk ke sel pancreas. Peningkatan kadar glukosa akibat penurunan sensitivitas reseptor insulin perifer menimbulkan stres oksidatif. Stres oksidatif ini yang akan berpengaruh pada nekrosis sel β . Pemberian STZ melalui 3 mekanisme tersebut dapat menyebabkan penghambatan sekresi insulin.

Peristiwa resistensi dan disfungsi sel beta pankreas yang terjadi dapat menghasilkan penyakit diabetes melitus tipe 2 yang ditandai dengan kejadian hiperglikemia. Selanjutnya hiperglikemia yang terjadi dapat menyebabkan proses stres oksidatif pada hepar ditandai dengan peningkatan produksi ROS. Peningkatan dari

stres oksidatif mengakibatkan peradangan dan rusaknya membran sel seperti hepar. Peradangan hati ditandai dengan infiltrasi sel-sel inflamasi dan aktivasi sel-sel stelata hati (HSCs) dengan deposisi kolagen di hati (Leng dkk., 2019). Kerusakan hepar disertai dengan perubahan morfologi histopatologi hepar seperti akumulasi lemak divesikel yang menggantikan sitoplasma hati atau dikenal sebagai steatosis mikrovesikular. Kemudian apabila akumulasi lipid berlebih merusak nukleus maka akan berkembang menjadi steatosis makrovesikular. Manifestasi lain adanya steatosis meliputi ditemukannya limfositik ringan, neutrofilik, dan infiltrat inflamasi. Sedangkan, Gambaran NASH dan steatohepatitis mempunyai ciri-ciri seperti steatosis hepatoseluler, peradangan lobular, fibrosis periseluler, perisinusoidal, dan periportal termasuk sirosis. Gambaran morfologi lainya seperti edema hepatosit, nekrosis hepatosit, dan adanya badan mallory. Gambaran degeneratif ditandai dengan vakuolasi hepatosit di area sentrizonal sel dan diferensiasi ukuran nukleus dan sinusoidal yang melebar. Pada hepar diabetik terjadi akumulasi substansi inti kromatin, penurunan jumlah organel, hilangnya krista mitokondria dan degenerasi granular pada hepatosit (Mohamed dkk., 2016).

Pemberian ekstrak etanol daun dandang gendis berupa flavonoid, saponin, tanin, dan alkaloid akan bekerja sebagai antioksidan eksogen yang menangkal radikal bebas dengan menstabilkan stres oksidatif. Maka dari itu, Kandungan antioksidan yang ada pada ekstrak etanol dandang gendis mampu menstabilisasi radikal bebas dan mencegah peroksidasi lemak yang dapat mengakibatkan degenerasi hepatosit.

3.2 Hipotesis

H0 : Tidak terdapat pengaruh pemberian ekstrak etanol daun dandang gendis terhadap morfologi histoPA hepar tikus model DM.

H1: Terdapat pengaruh pemberian ekstrak etanol daun dandang gendis terhadap morfologi histoPA hepar tikus model DM.

BAB IV

METODE PENELITIAN

4.1 Desain Penelitian

Penelitian ini merupakan penelitian eksperimental dengan subjek penelitian hewan coba tikus putih galur wistar yang dilakukan didalam laboratorium dan menggunakan metode acak lengkap *post test only control group design*. Tujuan penelitian menggunakan metode ini untuk membuktikan pengaruh ekstrak daun dandang gendis terhadap gambaran histopatologi hepar tikus model diabetes melitus yang diinduksi *streptozotocin* (STZ).

Variabel penelitian ini sebagai berikut :

1. Variabel Bebas (Independent)

Variabel bebas dalam penelitian ini adalah ekstrak daun dandang gendis yang diberikan secara oral pada kelompok perlakuan.

2. Variabel Terikat (Dependent)

Variabel terikat dalam penelitian ini adalah gambaran histopatologi hepar tikus model DM.

3. Variabel Perancu

Variabel perancu dalam penelitian ini adalah infeksi DM dan perlakuan NaCMC

4.2 Waktu dan Tempat Penelitian

Penelitian ini dilakukan pada bulan Mei-Oktober 2022 dan bertempat pada :

1. Laboratorium Hewan Coba Program Studi Pendidikan Dokter Fakultas Kedokteran dan Ilmu Kesehatan UIN Maulana Malik Ibrahim Malang, untuk aklimisasi dan pembuatan hewan coba tikus model DM dan pengambilan organ hepar tikus.
2. Materia Medica Batu. Untuk dilakukan determinasi daun dandang gendis
3. Laboratorium Fitokimia Program Studi Farmasi UIN Maulana Malik Ibrahim Malang, untuk dilakukan ekstraksi daun dandang gendis.
4. Laboratorium Histologi Fakultas Kedokteran dan Ilmu Kesehatan UIN Maulana Malik Ibrahim Malang, untuk pembuatan larutan ekstrak daun dandang gendis yang akan digunakan untuk sonde
5. Rumah Sakit dr. Sutomo Surabaya, untuk dilakukan pembuatan preparat hepar tikus.

4.3 Populasi Penelitian

Populasi pada penelitian ini menggunakan tikus putih (*Rattus norvegicus*) berkelamin jantan dengan strain wistar, berusia sekitar 3 bulan, dengan berat badan \pm 200gram yang didapatkan dari peternakan hewan coba di Kota Malang (*Rattus Breeding Centre*).

4.4 Sampel Penelitian

4.4.1 Besar Sampel

$$N = \frac{2\sigma^2 (Z_{1-\alpha/2} + Z_{1-\beta})^2}{(\mu_1 - \mu_2)}$$

Keterangan :

N = besar sampel

Σ = selisih standar deviasi kelompok terpapar dan tidak terpapar

$Z_{1-\alpha/2}$ = nilai distribusi normal standar dengan tingkat kemaknaan α (untuk $\alpha = 0,05$ adalah 1,96)

$Z_{1-\beta}$ = nilai distribusi normal standar dengan kuasa (β) yang diinginkan (untuk $\beta = 0,20$ adalah 0,84)

μ_1 = mean kelompok terpapar

μ_2 = mean kelompok tidak terpapar

Nilai mean dan standar deviasi diambil dari penelitian Umar Imamdkk., (2019). Jumlah sampel pada penelitian ini dihitung sebagai berikut:

$$N = \frac{2 (32-17)^2 (1,96+0,84)^2}{(150-125)^2} = 5,6 \text{ dibulatkan menjadi } 6.$$

Berdasarkan perhitungan yang menggunakan rumus Lemeshow (1955), maka besar sampel yang dibutuhkan adalah 6 ekor per kelompok perlakuan. Untuk mengantisipasi resiko kematian, maka sampel ditambah dengan faktor koreksi 20% sehingga menjadi 7,2 dan dibulatkan menjadi 8 ekor per kelompok perlakuan. Tikus-tikus percobaan tersebut selanjutnya secara acak dibagi menjadi 4 kelompok yaitu :

No.	Nama Kelompok	Keterangan
1.	Kelompok kontrol negatif (K1)	Kelompok tikus yang tidak diinjeksi <i>streptozotocin</i> (STZ) tetapi diberikan larutan NA-CMC
2.	Kelompok kontrol positif (K2)	Kelompok tikus yang diinjeksi <i>streptozotocin</i> (STZ), tetapi tidak diberi ekstrak etanol daun dandang gendis
3.	Kelompok perlakuan 1 (P1)	Kelompok tikus yang diinjeksi <i>streptozotocin</i> (STZ) dan pemberian ekstrak etanol daun dandang gendis dosis 100 mg/kgBB (0,1 g/grBB)
3.	Kelompok perlakuan (P2)	Kelompok tikus yang diinjeksi <i>streptozotocin</i> (STZ) dan pemberian ekstrak etanol daun dandang gendis dosis 200 mg/kgBB (0,2 g/grBB)
4.	Kelompok perlakuan (P3)	Kelompok tikus yang diinjeksi <i>streptozotocin</i> (STZ) dan pemberian ekstrak etanol daun dandang gendis dosis 400 mg/kgBB (0,4 g/grBB)

4.4.2 Karakteristik Sampel

4.4.2.1 Kriteria Inklusi

1. Tikus putih wistar berjenis kelamin jantan
2. Usia tikus sekitar 2-3 bulan
3. Berat badan tikus sekitar ± 200 g

4. Tikus dalam keadaan sehat, tidak cacat fisik, dan bergerak aktif
5. Terdiagnosis DM dengan GDA > 200 mg/dl pada hari ke-7 setelah induksi STZ.

4.4.2.2 Kriteria Ekslusi

1. Tikus yang tidak terdiagnosis DM
2. Tikus yang mati selama penelitian

4.5 Alat dan Bahan Penelitian

4.5.1 Alat Penelitian

Tabel 4.1 Alat Penelitian

No.	Kegiatan Penelitian	Bahan
1.	Persiapan hewan coba	Kandang tikus hewan coba, tutup kandang seperti jaring-jaring kawat, penahan tutup kandang (batu), wadah makan, botol minum
2.	Pembuatan ekstrak daun dandang gendis a. Penggilingan daun dandang gendis b. Pembuatan ekstrak	a. Mesin penggiling b. Batang pengaduk, <i>beaker glass</i> , corong, erlenmeyer, sendok tanduk kaca arloji, <i>rotatory vacuum evaporator</i> , cawan porselen, <i>ultrasonic cleaner</i> , oven, neraca analitik

3.	Pembuatan larutan ekstrak daun dandang gendis untuk sonde a. Pembuatan stok larutan b. Sonde ekstrak daun dandang gendis	a. Botol pereaksi, <i>magnetic steerer</i> b. Sonde lambung
4.	Pembuatan hewan coba model diabetes melitus dengan injeksi streptozocin (STZ) secara intraperitoneal a. Injeksi streptozocin (STZ)	a. S spuit
5.	Pengambilan organ hepar	Alat bedah minor, toples, jarum pentul, neraca analitik
6.	Evaluasi morfologi histopatologi hepar	Pelindung Diri (APD), Mikroskop HistoPA
7.	Pembuatan preparat	Gelas objek pita preparat, <i>coverglass</i> , tempat slide, <i>staining jar</i> , <i>hotplate</i> , <i>tissue cassette</i>

4.5.2 Bahan

Tabel 4.2 Bahan Penelitian

No.	Kegiatan Penelitian	Bahan
1.	Persiapan hewan coba	Tikus wistar jantan dari Ratus BreedingCentre Malang, sekam, pakan tikus standar, air
2.	Pembuatan ekstrak daun dandang gendis a. Penggilingan daun dandang gendis b. Pembuatan ekstrak	a. Daun dandang gendis b. Simplisia daun dandang gendis, metanol 96%, air, aluminium foil, kertassaring
3.	Pembuatan larutan ekstrak daun dandang gendis untuk sonde c. Pembuatan stok larutan d. Sonde ekstrak daun dandang gendis	a. Na-CMC 0,5%, Aquades b. Larutan ekstrak daun kesambi
4.	Pembuatan hewan coba model diabetes melitus dengan injeksi streptozocin (STZ) secara intraperitoneal a. Injeksi streptozocin (STZ)	a. STZ (U-9889) ChemCruz, buffer nitrat, NA, dan salin

5.	Pengambilan organ hepar	a. STZ (U-9889) ChemCruz, buffer nitrat, NA, dan salin
6.	Evaluasi morfologi histopatologi hepar	Spesimen organ hepar
7.	Pembuatan Preparat	Preparat hepar tikus DM, pewarna hematoksin dan Eosin, Alkohol, aromatik (xylene), formalin, aquades, paraffin, dan gelati

4.6 Definisi Operasional

Tabel 4.3 Definisi Operasional

No.	Variabel	Definisi	Alat Ukur	Satuan	Skala
1	STZ	Agen induksi Diabetes Melitus yang diinjeksi secara intraperineal dengan dosis 45 mg/kgBB	Syringe	mg/kgBB	Rasio
2	Tikus Model Diabetes Melitus	Tikus putih <i>Rattus Norvegicus</i> jenis kelamin jantan galur wistar yang diinduksi STZ Intraperitoneal dan didiagnosis DM satu minggu setelah aklimitisasi dengan $GDA \geq 200$ mg/dl	Glukometer	mg/dL	Rasio

3	Ekstrak Daun Dandang Gendis	Ekstrak dandang gendis yang dilarutkan dengan etanol 70% dengan cara sonde dan metode UAE dengan dosis 100 mg/kgBB, 200	Syringe dan neraca analitik	mg/kgBB	Rasio
4.	Kelainan Morfologi Hepar	Preparat hepar tikus yang diberi pewarnaan HE dan pengamatan mikroskopis dengan pembesaran 400x	Mikros kop cahaya Olymp us BX51	persen	Interval

4.7 Prosedur Penelitian

4.7.1 Persiapan Hewan Coba

Sebanyak 30 ekor hewan coba tikus dibagi menjadi 5 kelompok sehingga setiap kelompok memiliki 6 ekor tikus. Suhu lingkungan pemeliharaan 25°C dan dilakukan aklimatisasi dalam waktu 7 hari dengan pemberian pakan normal serta air.

4.7.2 Aklimatisasi Tikus Model DM

Setelah dilakukan aklimatisasi dalam waktu 7 hari, tikus pakan standart selama 28 hari sebanyak 25 gram/ekor tikus. Pada hari ke-29 setelahnya, tikus diinjeksi STZ dengan dosis. Kemudian lakukan injeksi STZ intraperitoneal secara perlahan 45 mg/kgBB (0,045 mg/grBB). Tikus diposisikan menengadah ke atas sampai abdomennya terlihat. Lakukan disinfeksi pada area yang akan diinjeksi dengan menggunakan alkohol. Setelah STZ diinjeksi, tikus dikembalikan ke kandangnya masing-masing

4.7.3 Persiapan Injeksi *Streptozotocin* (STZ)

STZ yang berbentuk powder dilarutkan terlebih dahulu dengan buffer sitrat 0.05–0.1 M dengan dosis 45 mg/kgBB (0,045 mg/grBB) dan pH 4,5.

4.7.4 Pembuatan Ekstrak Daun Dandang Gendis

Daun Ekstrak dandang gendis yang telah dipetik dikeringkan terlebih dahulu di bawah cahaya matahari selama 3 hari. Setelah daun kering, daun diremas-remas agar hancur dan tulang daun dibuang. Kemudian daun di giling menggunakan mesin. Setelah menjadi serbukhalus (simplisia), daun diekstraksi dengan metode UAE (Ultrasonic Assisted Extraction). Ekstraksi ultrasonik adalah ekstraksi melalui

perambatan energi gelombang ultrasonik yang memakai cairan sebagai media perambatan agar dapat menaikkan intensitas dari perpindahan energi.

Mekanisme dari ekstraksi metode ultrasonik, yaitu gelombang ultrasonik yang akan bertemu dengan simplisia menyebabkan tegangan mekanik, sehingga simplisia menjadi partikel dengan ruang-ruang kecil dan gelombang ini akan menimbulkan efek kavitasi. Efek kavitasi adalah proses pembentukan gelembung mikro oleh kenaikan tekanan pada saat ekstraksi yang disebabkan oleh gelombang ultrasonik. Gelembung kavitasi tersebut dapat membuat dinding sel pecah sehingga terjadi difusi pelarut ke dalam sel. Kemudian senyawa metabolit sekunder yang terdapat di dalam sel akan keluar (Torres dkk., 2017).

Ekstraksi pada daun dandang gendis tersebut dilakukan dengan pelarut metanol 90% dengan waktu sekitar 3 jam. satu gram simplisia daun dandang gendis dimasukkan ke 74 dalam erlenmeyer, lalu ditambahkan pelarut methanol sebanyak 10 ml dengan perbandingan simplisia : pelarut = 1 : 10. Selanjutnya dimasukkan ke dalam alat UAE dengan memakai frekuensi 42 kHz selama 10- 30 menit pada suhu kamar. Hasil dari ekstraksi tersebut disaring dengan kertas saring. Selanjutnya hasil ekstrak tadi dialiri dengan gas nitrogen agar memperoleh ekstrak yang pekat.

4.7.5 Pembuatan Larutan Ekstrak Daun Dandang Gendis untuk Sonde

4.7.5.1 Pembuatan stok Sediaan Larutan Na-CMC 0,5%

Na CMC dibuat menjadi sediaan larutan dengan konsentrasi 0,5% dengan cara sebagai berikut:

- a. Aquades sebanyak 1000 mL dipanaskan dalam gelas beker kemudian dimasukkan 500 mg serbuk Na CMC secara bertahap sambil diaduk perlahan sampai berwarna bening dan mengental seperti sediaan jel.
- b. Jel diaduk hingga homogen (dengan bantuan magnetic stirrer).
- c. Jika sudah homogen, proses pemanasan boleh dihentikan kemudian gelas beker didiamkan dengan direndam di wadah berisi air dingin. Sediaan dapat disimpan di dalam kulkas

4.7.5.2 Persiapan Sediaan Larutan Ekstrak

Dosis ekstrak pada penelitian ini adalah 100 mg/kgBB, 200 mg/kgBB, dan 400 mg/kgBB, dimana perhitungan dosisnya adalah sebagai berikut

a. Menentukan Konsentrasi Sediaan

Dosis Perlakuan (mg/kgBB) : Persen Pemberian (mL/100gBB)

- Dosis P1 = 100 mg/kgBB : 1 mL/100gBB
= 10 mg/mL
= 1% (g/mL)
- Dosis P2 = 200 mg/kgBB : 1 mL/100gBB
= 20 mg/mL
= 2% (g/mL)
- Dosis P3 = 400 mg/kgBB : 1 mL/100gBB
= 40 mg/mL
= 4% (g/mL)

b. Menentukan Berat Ekstrak yang Ditimbang

Dosis Perlakuan x Total Berat Hewan (rata-rata berat x jumlah hewan)

$$\text{- Dosis P1} = 100 \text{ mg/kgBB} \times (200\text{gBB} \times 8)$$

$$= 160 \text{ mg/hari untuk 8 ekor tikus}$$

$$\text{- Dosis P2} = 200 \text{ mg/kgBB} \times (200\text{gBB} \times 8)$$

$$= 320 \text{ mg/hari untuk 8 ekor tikus}$$

$$\text{- Dosis P3} = 400 \text{ mg/kgBB} \times (200\text{gBB} \times 8)$$

$$= 640 \text{ mg/hari untuk 8 ekor tikus}$$

c. Menentukan Volume Sediaan Ekstrak yang Dibuat

Berat Ekstrak yang Diperlukan : Konsentrasi Sediaan

$$\text{- Dosis P1} = 160 \text{ mg} : 1\% (1\text{g} / 100 \text{ mL})$$

$$= 16 \text{ mL/hari untuk 8 ekor tikus}$$

$$\text{- Dosis P2} = 320 \text{ mg} : 2\% (2\text{g} / 100 \text{ mL})$$

$$= 16 \text{ mL/hari untuk 8 ekor tikus}$$

$$\text{- Dosis P3} = 640 \text{ mg} : 2\% (2\text{g} / 100 \text{ mL})$$

$$= 16 \text{ mL/hari untuk 8 ekor tikus}$$

Perhitungan diatas menggunakan persen pemberian sebesar 1% (1mL/100gBB) yaitu persen pemberian yang umum bagi obat/ekstrak yang akan diberikan melalui oral. Konsentrasi ekstrak yang diberikan secara oral ini akan disiapkan dalam larutan Na CMC 0,5% dan akan diberikan dengan cara disonde dan volumenya berkisar 2 mL untuk tiap tikus sehingga tidak melebihi pada volume maksimal lambung tikus yaitu 3-5mL. Perlakuan Hewan Coba

4.7.6 Perawatan Hewan Coba

Tikus didapatkan dari Rattus Breeding Center dan diaklimatisasi selama 7 hari dalam Laboratorium Hewan Coba Prodi Pendidikan Dokter UIN Malang. Sejumlah 4 ekor tikus dimasukkan dalam 1 kandang, diberikan air minum, dan pakan standar 40 g per ekor setiap harinya. Suhu kandang $\pm 28^{\circ}\text{C}$ dengan siklus gelap terang selama ± 12 jam. Kandang tikus dibersihkan setiap hari dan berat badan ditimbang setiap minggu.

4.7.7 Induksi Diabetes Melitus pada Hewan Coba

Tahapan-tahapan penginduksian diabetes melitus pada hewan coba, sebagai berikut:

- a. Tikus dipuasakan selama 8-10 jam setelah 7 hari aklimatisasi.
- b. Streptozotocin (STZ) sebanyak 45 mg/kgBB (0,045 mg/grBB) dilarutkan dengan buffer sitrat 0,05 - 0,1 M.
- c. STZ diinjeksi secara intraperitoneal yang sebelumnya di desinfeksi menggunakan alkohol swab.
- d. Tikus dikembalikan ke kandang sesuai perlakuan.

e. Tikus diberikan air sukrosa 10% selama 2 hari pasca injeksi STZ. Prosedur pengukuran glukosa tikus setelah penginduksian diabetes melitus sebagai berikut:

- a. Tikus dipuasakan selama 8-10 jam.
- b. Tikus didesinfeksi pada area ekor menggunakan alkohol swab.
- c. Ekor tikus ditusuk dengan jarum, kemudian darah ekor tikus diukur dengan alat glukometer (terdiagnosa diabetes melitus ketika kadar glukosa darah tikus > 200 mg/dL), selanjutnya ekor tikus dibersihkan dengan alkohol swab.

4.7.8 Penyondean Tikus

Setelah tikus positif terdiagnosis diabetes melitus, dilakukan randomisasi terlebih dahulu sesuai dengan kriteria inklusi. Baru setelah itu dapat dilanjutkan untuk dilakukan perlakuan sesuai dengan masing-masing kelompok. Perlakuan diberikan pada kelompok tikus P1, P2, dan P3. Tikus diberikan ekstrak daun dandang gendis dengan dosis berbeda selama 4 minggu setiap hari. Kelompok perlakuan satu 100 mg/kgBB. Kelompok perlakuan dua 200 mg/kgBB, Kelompok perlakuan tiga 400 mg/kgBB. Sonde dimasukkan melalui sudut mulut agar tikus tidak menggigit sonde, pemasukan sonde dilakukan ketika tikus melakukan gerakan menelan atau menggerak-gerakkan lidahnya, sehingga sonde tidak melukai bagian dalam mulut tikus. Setelah sonde dimasukan hingga bagian esofagus.

4.7.9 Pengambilan Organ Hepar

Tikus dilakukan terminasi dengan cara dislokasi pada leher dan dibedah dengan posisi terlentang diatas papan datar serta alat gerak tikus difiksasi dengan jarum pentul

yang kemudian dilakukan pembedahan abdomen bagian atas. Organ hepar yang telah diambil dari abdomen bagian atas kemudian dicuci dengan NaCl 0,9%, lalu dimasukkan kedalam cawan berisi larutan Phosphate Buffered Saline (PBS) dengan perbandingan berat (g) : volume (mL) = 1 : 9, lalu digerus menggunakan alu mortar, dihomogenkan secara mekanik dengan vortex, kemudiandisentrifugasi pada 1500 g selama 10 menit. Organ hepar diambil untuk pemeriksaan gambaran histoPA hepar

4.7.10 Prosedur Pembuatan Preparat Histopatologi Hepar Tikus Model DM

Langkah-langkah dalam proses pembuatan preparat histopatologi yaitu :

a. Fiksasi

Fiksasi dilakukan untuk mengawetkan dan mengeraskan jaringan. Jaringan hepar difiksasi dengan formalin buffer 4% selama 18-24 jam.

b. Dehidrasi

Dehidrasi merupakan proses pengeluaran air dari dalam jaringan yang telah difiksasi. Jaringan dimasukan dalam aquades selama 1 jam kemudian didehidrasi dengan alkohol bertingkat 30%, 50%, 70%, 80%, 90% sampai alkohol absolut.

c. Penjernihan (Clearing)

Penjernihan (Clearing) merupakan proses pengeluaran alkohol dari jaringan dan menggantinya dengan suatu larutan yang berikatan dengan paraffin. Jaringan yang dimasukan kelarutan alkohol xylol selama 1 jam, larutan xylol murni selama 2 x 2 jam, paraffin 2 x 2 jam.

d. Embedding

Embedding merupakan proses untuk mengeluarkan cairan clearing agent dari jaringan dan diganti dengan paraffin. Jaringan hepar dicelupkan kedalam paraffin cair yang telah dituangkan ke dalam wadah hingga paraffin memadat.

e. Pemotongan (Sectioning) dan penempelan pada Gelas Objek

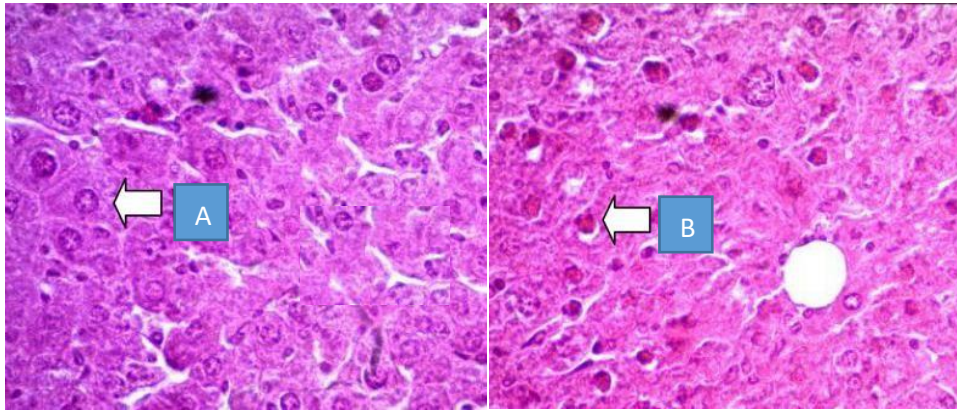
Jaringan dipotong dengan blok paraffin dengan mikrotom setebal 4 mikron, secara cross section/ melintang. Irisan diletakan pada polu-1-lysin slide. Potongan terpilih dikeringkan dan diletakan di atas hot plate 38-40 C. sampai kering. Selanjutnya preparat disimpan dalam inkubator pada suhu 38- 40 C lalu siap diwarnai dengan pewarnaan Hematoksisilin-Eosin (HE).

4.7.11 Pewarnaan Hematoxylin Eosin (HE)

Pewarnaan HE ini terdiri dari zat warna yaitu hematoxylin dan eosin. Preparat dimasukan dalam larutan xylol 1 dan 2 selama 5 menit, Kemudian dimasukan dalam etanol bertingkat yang dimulai dari etanol absolut 95%, 90%, 80%, dan 70% selama 5 menit. Jaringan kemudian direndam dalam aquades 5 menit. Preparat selanjutnya diwarnai dengan pewarna hematoksisilin selama 10 menit kemudian dicuci dengan air mengalir selama 10 menit dan dibilas aquades selama 5 menit. Setelah itu, preparat diwarnai dengan pewarna eosin selama 5 menit dan dicuci kembali dengan air mengalir 10 menit dann dibilas aquades selama 5 menit. Setelah preparat diwarnasi, preparat dimasukan pada alkohol dari 80%, 90%, dan 95% hingga alkohol absolut. Selanjutnya preparat dimasukan dalam larutan xylol 1-3 selama 3 menit dan dikering anginkan. Terakhir, dilakukan perekatan menggunakan entelah serta ditutup menggunakan coverglass.

4.8 Pengamatan Preparat Histopatologi

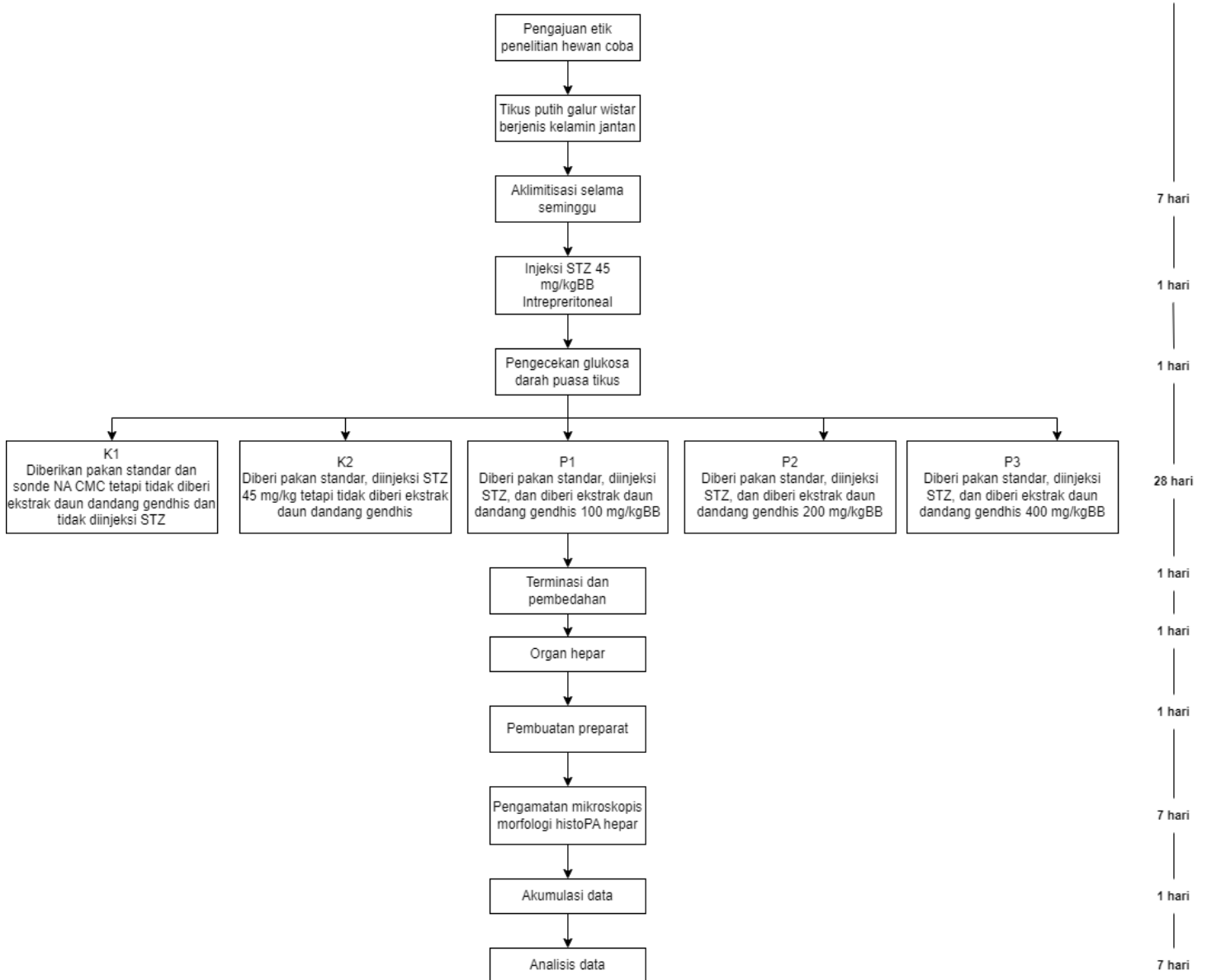
Pengamatan kerusakan morfologi hepatosit tikus model DM dilakukan dengan melihat gambaran hidrofilik, degenerasi lemak, dan nekrosis pada hepatosit. Degenerasi hidrofilik disebabkan oleh karna meningkatnya permeabilitas plasma sehingga air masuk kedalam sel Degenerasi lemak merupakan manifestasi kerusakan hati yang lebih lanjut seperti adanya vakuolisasi sehingga sel hepatosit tampak edema dengan sitoplasma pucat dan mendesak nukleus ke tepi sel.



Gambar 4.2 Perbedaan Sel Hepatosit Normal (A) dan Sel Nekrosis(B) (Nazarudin dkk., 2017)

Gambar 4.2 menunjukkan perbedaan gambaran antara sel normal dengan sel nekrosis. Selain itu, untuk menghitung jumlah derajat kerusakan hepatosit dinilai menggunakan dengan grading. Skoring dilakukan dengan membandingkan proporsi presentase kerusakan sel dengan menghitung rata-rata jumlah sel dengan tanda degenerasi atau nekrosis kemudian dibandingkan dengan semua sel di lapang pandang (Mahata dkk., 2021). Metode Pengamatan preparat dievaluasi menggunakan mikroskop optik dengan perbesaran 400 kali dan menggunakan 5 lapang pandang (Andreas dkk., 2015).

4.9 Alur Penelitian



Gambar 4.3 Alur Penelitian

4.10 Analisis

Data Data diambil dari eksperimen langsung pada tikus putih Wistar yang telah diberi perlakuan. Data yang terkumpul akan dilakukan uji normalitas dan homogenitas. Data yang diperoleh dari pengamatan preparat histopatologi jaringan pada hepar dianalisis secara Semi-kuantitatif. Aplikasi SPSS 26 digunakan untuk membantu analisis dan pengolahan data.

a. Uji Univariat

Uji univariat dengan menggunakan statistik deskriptif yang menunjukkan hasil gambaran dari laboratorium untuk melihat morfologi histopatologi hepar tikus putih (*Rattus norvegicus*) strain wistar.

b. Uji Bivariat

Uji ini untuk mengetahui perbedaan perlakuan secara keseluruhan terhadap kerusakan morfologi hepar dengan one way ANOVA, dengan didahului uji normalitas data-data penelitian dianalisis menggunakan uji normalitas. Data data yang diperoleh dalam penelitian ini dianalisis menggunakan uji normalitas dengan metode Shapiro-Wilk, karena besar sampel yang digunakan ≤ 50 . Jika hasil uji normalitasnya menunjukkan data normal maka dapat dilanjutkan dengan uji homogenitas. Apabila dari data transformasi tidak normal maka uji perbedaan menggunakan Kruskal Wallis ditambah post hoc man Tukey.

1. Uji Homogenitas

Uji homogenitas menggunakan uji varian Levene' test untuk mengetahui kehomogenan varian dari data-data yang diperoleh. Varian dinilai homogen jika $p > 0,05$.

2. Uji Anova

Jika data terdistribusi normal dan varian datanya homogen, maka pengujian dapat dilanjutkan dengan analisis varian 1 jalur. Secara umum, analisis varian ini dilakukan untuk mengetahui apakah tiap perlakuan berpengaruh pada hasil. Jika pada analisis varian diperoleh taraf signifikansi $< 0,05$ yang berarti ada pengaruh berbagai dosis pemberian fraksi daun dandang gendis terhadap perbaikan morfologi hepar pada tikus putih yang diinduksi STZ.

3. Uji Post Hoc Tukey

Analisis Post Hoc dilakukan untuk mengetahui pasangan kelompok mana yang memiliki perbedaan morfologi hepar terhadap kerusakan pada tikus putih yang diinduksi STZ.

BAB V

HASIL PENELITIAN

Penelitian ini sudah lulus uji etik dari Komisi Etik Penelitian Kesehatan Fakultas Kedokteran dan Ilmu Kesehatan Universitas Islam Negeri Maulana Malik Ibrahim Malang dengan nomor 083/EC/KEPK1FKIK/2022.

5.1 Karakteristik Tikus

Penelitian ini menggunakan subjek hewan coba *Rattus norvegicus* berwarna putih galur wistar berkelamin jantan, usia 2-3 bulan, berat badan \pm 200 g serta terdiagnosis DM dengan GDP $>$ 200 mg/dl. Kemudian tikus dilakukan randomisasi dan dilanjutkan dengan pengelompokan. Jumlah hewan coba dalam penelitian ini sebanyak 30 tikus dengan rincian 6 tikus kelompok K1, 6 tikus kelompok K2, 6 tikus kelompok P1, 6 tikus kelompok P2, 6 tikus kelompok P3. Sedangkan jumlah hewan yang mati dalam penelitian ini sebanyak 10 tikus sehingga tidak masuk kedalam kriteria inklusi.

Pengukuran berat badan tikus diukur menggunakan alat timbangan tikus yang dilakukan setiap 7 hari perlakuan. Sedangkan, pengukuran kadar Gula Darah Puasa (GDP) tikus diukur menggunakan alat *easy touch* dan *glucose strip* yang dilakukan setelah 7 hari perlakuan dengan mengambil darah dibagian ekor tikus. Hasil perbandingan rata-rata berat badan dan gula darah puasa tikus kontrol normal pada H-7 sebelum diberikan NA-CMC dan H0 sesudah diberikan NA-CMC dapat dilihat dari tabel berikut

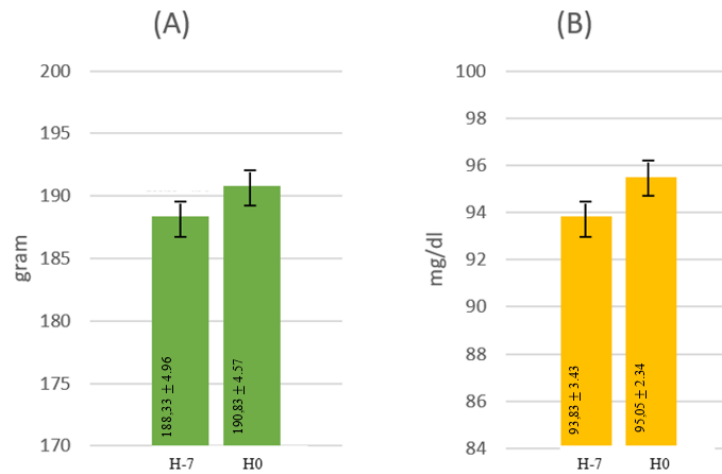


Diagram 5.1 Perbandingan Rata-Rata Berat Badan (A) dan Gula Darah Puasa (B) Tikus Kontrol Normal pada H-7 dan H0. n=6

Tabel diatas dapat dilihat rata-rata dan standar deviasi berat badan sebelum dan sesudah diberikan perlakuan NA-CMC pada tikus kontrol normal. Pada pengamatan BB 7 hari sebelum diberikan NA-CMC memiliki BB sebesar $188,33 \pm 4,96$ sedangkan BB sesudah diberikan NA-CMC memiliki BB sebesar $190,83 \pm 4,57$. Pada pengamatan GDP 7 hari sebelum diberikan NA-CMC memiliki GDP $93,83 \pm 3,43$ sedangkan GDP sesudah diberikan NA-CMC memiliki GDP sebesar $95,05 \pm 2,34$.

Pada data berat badan tikus kontrol normal sebanyak 6 sampel dilakukan uji normalitas dan hasil pengujian diperoleh nilai sig. *One-Sample Kolmogorov-Smirnov Test* Asymp. Sig (2-tailed) > 0.05 menunjukkan bahwa data memenuhi asumsi normalitas. Dikarenakan data normal, dilanjutkan dengan uji komparasi *Paired Samples Test* untuk menguji perbedaan antara berat badan sebelum dan sesudah pemberian NA-CMC. Didapatkan hasil uji komparasi *Paired Samples Test* Sig. (2-

tailed) = 0.146 yang artinya berat badan sebelum dan sesudah pemberian NA-CMC tidak memiliki perbedaan signifikan.

Pada data GDP tikus kontrol normal sebanyak 6 sampel dilakukan uji normalitas dan hasil pengujian diperoleh nilai sig. *One-Sample Kolmogorov-Smirnov Test* Asymp. Sig (2-tailed) > 0.05 menunjukkan bahwa data memenuhi asumsi normalitas. Dikarenakan data normal, dilanjutkan dengan uji komparasi *Paired Samples Test* untuk menguji perbedaan antara berat badan sebelum dan sesudah pemberian NA-CMC. Didapatkan hasil uji komparasi *Paired Samples Test* Sig. (2-tailed) = 0.164 yang artinya berat badan sebelum dan sesudah pemberian NA-CMC tidak memiliki perbedaan yang signifikan.

Hasil perbandingan rata-rata berat badan dan gula darah puasa tikus model diabetes melitus pada H-7 sebelum diinjeksi STZ dan H0 sesudah didiagnosis DM dapat dilihat dari tabel berikut.

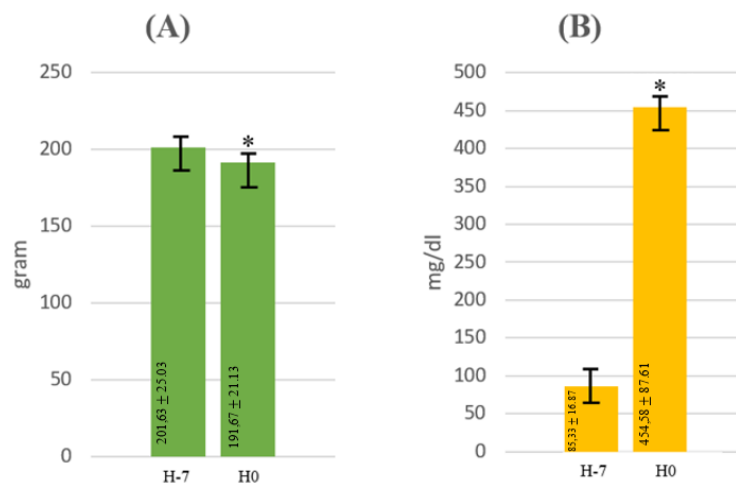


Diagram 5.2 Perbandingan Rata-Rata Berat Bada (A) dan Gula Darah Puasa (B) Kelompok Tikus Model Diabetes Melitus pada H-7 dan H0. * : Menunjukkan adanya perbedaan signifikan ($p < 0,05$). $n=24$

Tabel diatas dapat dilihat rata-rata dan standar deviasi berat badan sebelum diinjeksi STZ dan sesudah didiagnosis DM pada tikus model diabetes melitus. Pada pengamatan BB 7 hari sebelum diinjeksi STZ memiliki BB sebesar $201,63 \pm 25,03$ sedangkan BB sesudah diberikan NA-CMC memiliki BB sebesar $191,67 \pm 2,13$. Pada pengamatan GDP 7 hari sebelum diinjeksi STZ memiliki GDP $85,33 \pm 16,87$ sedangkan GDP sesudah didiagnosis DM memiliki GDP sebesar $454,58 \pm 87,61$.

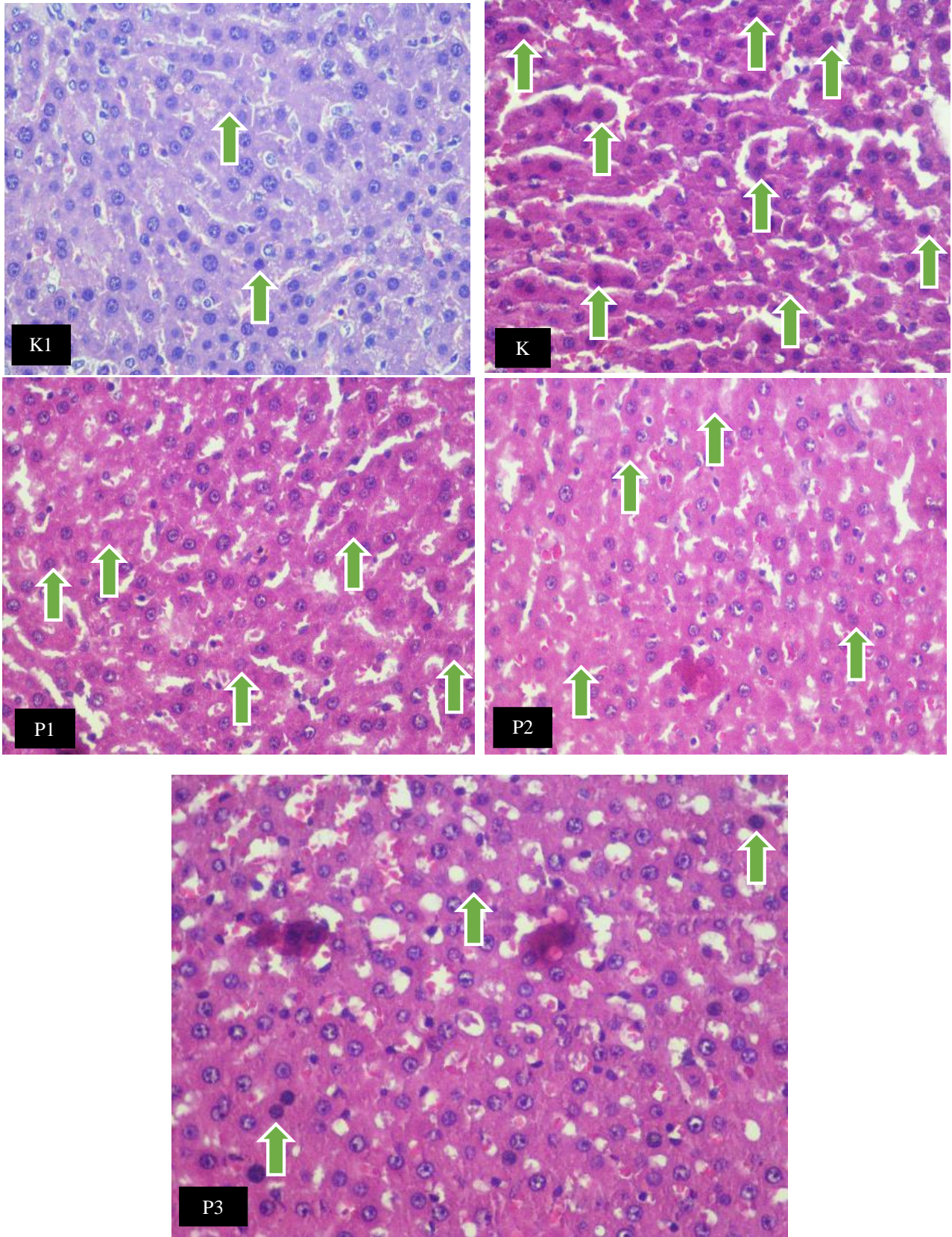
Pada data berat badan tikus model diabetes melitus sebanyak 24 sampel dilakukan uji normalitas dan hasil pengujian diperoleh nilai sig. *One-Sample Kolmogorov-Smirnov Test Asymp. Sig (2-tailed)* > 0.05 menunjukkan bahwa data memenuhi asumsi normalitas. Dikarenakan data normal, dilanjutkan dengan uji komparasi *Paired Samples Test* untuk menguji perbedaan antara berat badan sebelum diinjeksi STZ dan sesudah didiagnosis DM. Didapatkan hasil uji komparasi *Paired Samples Test Sig. (2-tailed)* $= 0.004$ yang berarti memiliki perbedaan signifikan antara berat badan sebelum diinjeksi STZ dan sesudah didiagnosis DM.

Pada data GDP tikus model diabetes melitus sebanyak 24 sampel dilakukan uji normalitas dan hasil pengujian diperoleh nilai sig. *One-Sample Kolmogorov-Smirnov Test* $< 0,05$ untuk GDP sebelum dan hasilnya menunjukkan bahwa data tidak memenuhi asumsi normalitas, namun untuk hasil pengujian diperoleh nilai sig. *One-Sample Kolmogorov-Smirnov Test* $> 0,05$ untuk GDP sesudah yang menunjukkan bahwa data memenuhi asumsi normal. Meskipun data GDP sesudah didiagnosis DM hasilnya normal namun data GDP sebelum diinjeksi STZ hasilnya tidak normal, maka dari pada itu diasumsikan data tidak normal. Dikarenakan data tidak normal, maka dilakukan uji

Wilcoxon untuk menguji komparasi antara pengamatan sebelum diinjeksi STZ dan sesudah didiagnosis DM serta mengetahui efektifitas perlakuan. Didapatkan uji *Wilcoxon* dengan Asymp. Sig. = 0,000 yang berarti signifikan dalam perbedaan data.

5.2 Efek Ekstrak Daun Dandang Gendis terhadap Morfologi Hepar Tikus Model DM

Pengamatan preparat dilakukan dengan mikroskop cahaya dengan perbesaran 400x. Setiap preparat diobservasi menggunakan 5 lapang pandang. Metode 400x dipilih karena dinilai lebih jelas dalam pengamatan morfologi mikroskopis. Pengamatan dipilih jauh dari area lapang pandang vena sentralis untuk mendapatkan area yang dominan dengan sel hepatosit. Pengamatan dan perhitungan sel dipilih menggunakan 5 lapang pandang karena rerata sel dari 5 lapang pandang sudah mewakili sebagian besar sel preparat. Hasil perbandingan gambar K1, K2, P1, P2, dan P3 dapat dilihat dari gambar berikut.



Gambar 5.3 Perbandingan Gambaran Histopatologi Hepar Kelompok K1, K2, P1, P2, dan P3

Keterangan : K1 = Kontrol Negatif; K2= Kontrol Diabetes Melitus; P1 = Perlakuan 1 (ekstrak daun dandang gendis 100 mg/kgBB); P2 = Perlakuan 2 (ekstrak daun dandang gendhing 200 mg/kgBB); P3 = Perlakuan 3 (ekstrak daun dandang gendis 400 mg/kgBB); (Garis Panah) = Menunjukkan Sel Degeneratif atau Sel nekrosis

Gambar 5.3 diatas menunjukkan perbedaan tingkat kerusakan sel hepar antara kelompok K1, K2, P1, P2, dan P3. Berdasarkan hasil pengamatan gambaran histopatologi preparat hepar kelompok K1 Hepar tikus normal menunjukkan sel-sel hepatosit yang tersusun rapat, batas sel jelas, dan kapiler sinusoidal yang tersusun rapat. Hepatosit memiliki satu atau dua nukleus bulat dengan satu atau dua anak inti. Jarak nukleus antar hepatosit terlihat berjauhan. Sedangkan, hasil pengamatan gambaran histopatologi preparat hepar kelompok K2 menunjukkan gambaran dilatasi sinusoid, degenarasi hidrofilik, inti sel piknosis atau menghitam, batas tidak jelas, dan warna sitoplasma lebih gelap dari pada sel hepatosit normal di seluruh lapang pandang.

Gambaran histopatologi kelompok P1 masih menunjukkan degenerasi hidrofilik, batas sel yang jelas, inti sel piknosis atau inti sel yang menghitam namun lebih sedikit dari pada kelompok K2. Warna sitoplasma mulai rata dan kapiler sinusoidal yang lebih teratur dari pada K2 menandakan adanya perbaikan dalam pemberian perlakuan. Kemudian, gambaran histopatologi preparat hepar kelompok P2 menunjukkan jarang ditemukan degenarasi hidrofilik, inti sel piknosis atau inti sel yang menghitam lebih sedikit dari pada kelompok P1, batas sel yang masih jelas, diameter sinusoidal lebih teratur dibandingkan P1. Warna sitoplasma yang nampak lebih rata dari pada kelompok perlakuan P1. Kemudian, gambaran histopatologi preparat hepar kelompok P3 menunjukkan jarang ditemukan degenarasi hidrofilik, inti sel piknosis atau inti sel yang

menghitam lebih sedikit dari pada kelompok P2 ,batas sel sangat jelas, diameter kapiler sinusoidal yang lebih teratur dibandingkan P2. Warna sitoplasma yang nampak rata seperti halnya pada kelompok perlakuan P2.

Perhitungan preparat hepar tikus dihitung dengan cara membandingkan rasio sel degeneratif atau sel nekrosis terhadap total sel dalam satu lapang pandang. Kemudian, hasil rerata dari 5 lapang pandang dijumlah sehingga mendapatkan hasil rerata 1 kelompok perlakuan. Hasil perhitungan rata-rata perbandingan rasio sel degeneratif atau sel nekrosis terhadap keseluruhan total sel setiap 5 lapang pandang dari 5 kelompok perlakuan dapat dilihat dari tabel berikut.

Kelompok	Mean \pm SD (%)	<i>p</i>
K1	25,86 \pm 0.33	
K2	52,33 \pm 0.91	
P1	39,72 \pm 1.24	0,000*
P2	34,47 \pm 0.52	
P3	32,30 \pm 0.23	

Tabel 5.2.6 Rata-Rata Presentase Sel Degeneratif atau Sel Nekrosis Hepar pada Setiap Kelompok Perlakuan

Keterangan : K1 = Kontrol Negatif; K2= Kontrol Diabetes Melitus; P1 = Perlakuan 1 (ekstrak daun dandang gendis 100 mg/kgBB); P2 = Perlakuan 2 (ekstrak daun dandang gendhing 200 mg/kgBB); P3 = Perlakuan 3 (ekstrak daun dandang gendis 400 mg/kgBB); Uji One-Way Anova; *: $p < 0,05$ = signifikan

Pada tabel diatas dapat dievaluasi rata-rata rasio sel degeneratif atau sel nekrosis dibanding dengan keseluruhan total sel setiap 5 lapang pandang dari 5 kelompok perlakuan. Pada kelompok K1 memiliki rerata sel sebesar 25.86 ± 0.33 , Kelompok K2 memiliki rerata sel sebesar $52.33 \pm 0,91$, kelompok P1 memiliki rerata sel sebesar 39.72 ± 1.24 , kelompok P2 memiliki rerata sel sebesar 34.47 ± 0.52 , kelompok P3 memiliki rerata sel sebesar 32.30 ± 0.23 .

Hasil grafik rata-rata jumlah sel preparat hepar tersebut menunjukkan bahwa kelompok K2 memiliki rerata rasio sel tertinggi yaitu 52.33 ± 0.91 , sedangkan kelompok K1 memiliki rerata rasio sel terendah yaitu 29.23 ± 2.52 . Perbedaan rerata rasio sel kelompok K1 dan K2 tersebut berbeda signifikan yang menunjukkan bahwa kondisi diabetes melitus selama 28 hari pada kelompok K2 sudah mengakibatkan kerusakan sel seperti sel degeneratif atau sel nekrosis. Diantara kelompok perlakuan yang diberi ekstrak daun dandang gendis, didapatkan tren penurunan rerata rasio sel degeneratif atau sel nekrosis terhadap sel keseluruhan jumlah sel dari Kelompok P1 ke P2. Kelompok perlakuan 1 dengan dosis ekstrak daun dandang gendis 100 mg/kgBB yang memiliki rerata rasio sel sebesar 39.72 ± 1.24 . Kemudian terjadi penurunan rerata rasio sel dari kelompok perlakuan 1 pada kelompok perlakuan 2 dengan dosis ekstrak daun dandang gendis 200 mg/kgBB yaitu sebesar 34.47 ± 0.52 . Kemudian pada kelompok perlakuan 3 dosis ekstrak daun dandang gendis 400 mg/kgBB memiliki rerata rasio sel lebih rendah dari kelompok P2 yaitu sebesar 32.30 ± 0.23 .

Berdasarkan hasil tersebut semua kelompok perlakuan yang diberikan ekstrak daun dandang gendis selama 28 hari dapat menurunkan kadar gula darah puasa dan memperbaiki morfologi mikroskopis hepar secara signifikan. Namun tidak dapat memperbaiki morfologi mikroskopis hepar seperti kontrol normal. Dalam Penelitian ini, dosis terkecil ekstrak daun dandang gendis yaitu 100 mg/kgBB mampu menjadi dosis optimal dalam perlakuan.

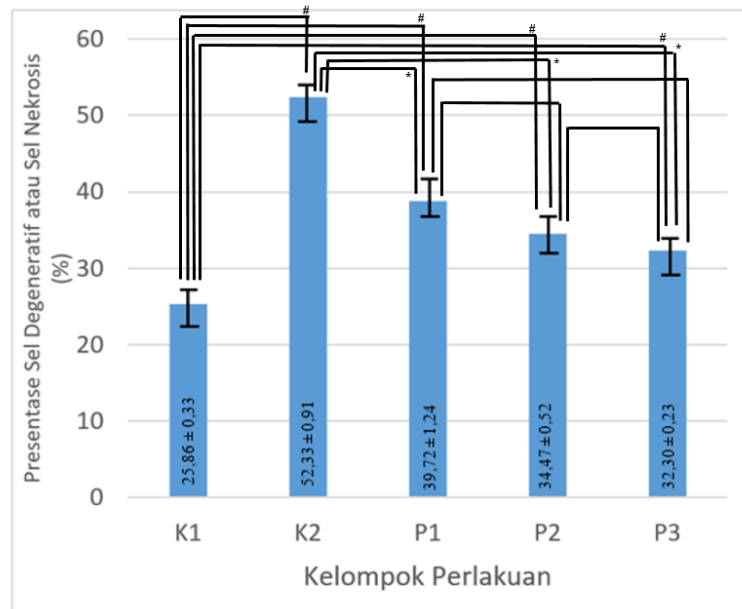


Diagram 5.2.7 Grafik Rata-Rata Presentase Sel Degeneratif atau Sel Nekrosis Hepar pada Tikus Setelah Perlakuan.

Keterangan : # = Menunjukkan adanya perbedaan signifikan terhadap K1 ($p < 0,05$).

* = Menunjukkan adanya perbedaan signifikan terhadap K2 ($p < 0,05$). $n = 30$

Data kemudian dilanjutkan dengan uji normalitas serta didapatkan hasil pengujian dengan nilai signifikansi *Shapiro Wilk* $> 0,05$ yang menunjukkan bahwa data memenuhi asumsi normalitas. Selanjutnya dilakukan uji homogenitas menggunakan *Lefne's Test* serta didapatkan hasil data tidak homogen ($p < 0,05$). Disebabkan data normal meskipun tidak homogen, maka dilakukan uji selanjutnya yaitu menggunakan uji parametrik uji *One-Way ANOVA* untuk mengevaluasi hasil penelitian signifikan

atau tidak. Diperoleh hasil uji *One-Way ANOVA* dengan Sig.= 0,000 ($p < 0,05$) yang artinya signifikan sehingga diperlukan uji *post hoc Tukey*. Dapat disimpulkan bahwa terdapat perbedaan yang signifikan

Tabel 5.2.8 Hasil Uji *Post Hoc Tukey Honestly Significance Difference*

Kelompok	Presentase Sel Degeneratif atau Sel Nekrosis Hepar (%)	p				
		K1	K2	P1	P2	P3
K1	25,86 ± 0,33	-	0,000*	0,000*	0,000*	0,000*
K2	52,33 ± 0,91		-	0,000*	0,000*	0,000*
P1	39,72 ± 1,24			-	0,000*	0,000*
P2	34,47 ± 0,52				-	0,000*
P3	32,30 ± 0,23					-

* = Menunjukkan adanya perbedaan yang signifikan ($p < 0,05$). n = 30

Pada diagram 5.3.3 dapat dilihat semua kelompok memiliki perbedaan signifikan dengan menggunakan uji *Post Hoc Tukey*. Perbedaan signifikan antara K1 dan K2 memiliki nilai signifikansi 0,000 ($p < 0,05$) artinya K1 berbeda signifikan dengan K2. Hal ini menunjukkan bahwa metode pembuatan metode hewan coba sudah sesuai sehingga kelompok K1 adalah tikus normal sedangkan K2 adalah kelompok tikus diabetes melitus.

Kelompok K2 terhadap P1, P2, P3 sama-sama memiliki nilai perbedaan signifikansi sebesar 0,000 ($p < 0,05$) yang artinya K2 terhadap P1, P2,P3 memiliki perbedaan signifikan. Kemudian, pada uji komparasi antar kelompok perlakuan didapatkan nilai signifikansi yaitu 0,000 ($p < 0,05$) untuk P1 terhadap P2, begitu juga dengan P1 terhadap P3 dan P2 terhadap P3 juga memiliki nilai signifikansi yaitu ($p < 0,05$). Hasil ini mengindikasikan adanya hubungan komparasi yang signifikan antara hasil kelompok perlakuan

BAB VI

PEMBAHASAN

6.1 Karakteristik Tikus Hewan Coba

Penelitian ini dilakukan menggunakan injeksi STZ dosis 45 mg/kgBB secara intraperitoneal pada hewan coba tikus *Rattus norvegicus* galur wistar jenis kelamin laki-laki dengan rentang usia 2-3 bulan, GDP \geq 200 mg/dl, dan BB \pm 200 g. Kemudian dilanjutkan dengan perlakuan pada tikus selama 28 hari. Pemilihan tikus putih jantan galur wistar sudah dilakukan pada penelitian sebelumnya. Tikus putih jantan galur wistar mempunyai karakteristik genetik dan biologis mirip dengan manusia serta pemilihan kelamin jantan karena tidak terpengaruh adanya hormon. Selain itu, genom tikus wistar memiliki kedekatan homologi sehingga dapat dimanipulasi untuk menghasilkan model hewan yang fenotipnya mirip dengan penyakit pada manusia salah satunya yaitu diabetes melitus (Nangoy dkk., 2019; Otto dkk., 2015). Menurut penelitian yang dilakukan oleh Dhasemi dkk (2021) menjelaskan bahwa usia \geq 3 bulan mampu memengaruhi perubahan produktif pada penelitian eksperimental serta berat badan tikus yang ideal juga akan meningkatkan massa sel β sehingga lebih sensitif terhadap efek diabetogenik dari streptozotocin.

Penurunan berat badan setelah 28 hari ditemukann perbedaan yang signifikan antara tikus kontrol normal dengan tikus model diabetes melitus. Berat badan kelompok kontrol normal lebih tinggi dari kelompok kontrol diabetes melitus. Hal ini sejalan dengan penelitian yang dilakukan oleh Noorgard dkk (2018) menjelaskan bahwa penurunan berat badan terjadi karena STZ mampu mengaktivasi mekanisme

alkilasi DNA sehingga terjadi kerusakan selektif pada sel β pancreas. Destruksi Sel β pancreas akan menyebabkan resistensi insulin yang kemudian terjadi lipolysis dan meningkatkan sirkulasi asam lemak di hepar. Akumulasi asam lemak akan menghambat aktivitas sistem β oksidasi di mitokondria yang kemudian memicu infiltrasi lemak dalam hepar (Mohamed dkk, 2016). Infiltrasi lemak akan mengganggu penyimpanan lipid di hepar sehingga menyebabkan penurunan berat badan.

Kadar gula darah puasa setelah 28 hari ditemukan perbedaan yang signifikan antara K1 dan K2. Gula darah puasa kelompok K1 lebih rendah dari kelompok K2. Kelompok K1 adalah tikus normal. Sedangkan, K2 adalah tikus model diabetes melitus. Berdasarkan konteks diatas, kelompok K2 yang telah dilakukan perlakuan selama 28 hari masih mengalami kondisi diabetes melitus. Gula Darah Puasa pada tikus dikatakan kondisi hiperglikemik apabila ≥ 200 mg/dl (Teodhora dkk, 2017). Hal ini sejalan dengan penelitian yang dilakukan oleh (Qosimah dkk, 2019) yang menjelaskan bahwa STZ menyebabkan peningkatan radikal bebas kemudian merusak sel β pankreas hingga menghambat produksi insulin. Terhambatnya produksi insulin akan menyebabkan kondisi diabetes pada tikus hewan coba. Hal ini didukung dengan penelitian yang dilakukan oleh Wang dkk (2020) yang meneliti tentang STZ mampu menyebabkan tikus dalam kondisi diabetes melitus dijelaskan bahwa terdapat perbedaan signifikan kadar gula antara kelompok tikus normal dibanding kelompok tikus yang diinduksi STZ.

Streptozotocin (STZ) merupakan salah satu zat yang mampu menginduksi mekanisme diabetogenik (Goyal dkk, 2016). Pemberian STZ mampu memicu kondisi

diabetes melitus dikarenakan memiliki sifat sitotoksik terhadap sel β pankreas . Efek toksik STZ diawali dengan ambilan STZ ke dalam sel melalui transporter glukosa-2 (GLUT2) afinitas rendah yang terdapat di membran plasma sel β dan sel haptosit. Efek toksiknya bersifat lebih selektif terhadap sel β pankreas karena berdasarkan struktur kimia STZ yang memiliki gugus glukosa sehingga mempermudah masuknya STZ ke sel β karena sel β pankreas lebih aktif mengambil glukosa dibanding sel lainnya. STZ mampu menyebabkan peningkatan stres oksidatif yang kemudian terjadi produksi radikal bebas dan menginduksi sitokin inflamasi (Husna *et al.*, 2019). Sitokin inflamasi yang berperan penting dalam resistensi insulin seperti *tumor-necrosis-factor-alpha* (TNF- α), *interleukin-6* (IL-6), dan *interleukin-1 β* (IL-1 β) (Wang dkk, 2020). Peningkatan stres oksidatif di mitondria akan menyebabkan kerusakan DNA dan memicu pada ikatan respirasi mitokondria sehingga terjadi kerusakan pada sel hepar (Mohamed dkk, 2016).

6.2 Efek Ekstrak Daun Dandang Gendis terhadap Morfologi Hepar Tikus Model DM

Pada kelompok tikus diabetes melitus ditemukan perubahan morfologi mikroskopik hepar seperti infiltrasi sel radang limfosit, dilatasi sinusoidal, degenerasi lemak, degenerasi hidropik, dan nekrosis. Infiltrasi sel radang limfosit pada venasentralis disebabkan karena rusaknya sel endotel yang sangat peka terhadap senyawa seperti STZ. Semakin lama paparan toksik terjadi maka infiltrasi sel radang akan difusi dan menyebar dari daerah porta ke daerah sentralis (Makiyah dan Khumaisah, 2018). Dilatasi sinusoid pada hepar mencit disebabkan oleh adanya

hepatosit yang mengalami nekrosis (Hayati dan Sunaryo, 2014). Dinding sinusoid terdiri dari sel-sel endotel. Sinusoid dan hepatosit hanya dibatasi oleh celah sub-endotel yang mengandung mikrovili dari hepatosit. Hal ini memudahkan interaksi antara permukaan hepatosit dengan sinusoid, sehingga memudahkan terjadinya pertukaran senyawa termasuk toksik. Degenerasi hidropik merupakan salah satu lesi yang terjadi karena kongesti. Degenerasi hidropik merupakan peristiwa meningkatnya kadar air di intraseluler yang menyebabkan sitoplasma dan organel-organel membengkak dan membentuk vakuola-vakuola. Rusaknya permeabilitas membran sel menyebabkan terhambatnya aliran sodium keluar dari sel, sehingga menyebabkan ion-ion dan air masuk secara berlebihan ke dalam sel. Degenerasi lemak pada hepar juga ditunjukkan dengan vakuola-vakuola kosong beragam ukuran dalam sitoplasma hepar. Proses perlemakan ini bersifat *reversible* dan disebabkan oleh pengeluaran transfer lipid dari dalam sel terhambat dan ketidakseimbangan sintesis dan juga pelepasan trigliserida oleh sel parenkim ke sirkulasi (Fransisco, dkk, 2018). Nekrosis adalah perubahan morfologi kematian sel (Sijid dkk, 2020). Menurut Adikara dan Winaya (2013), nekrosis diawali dengan perubahan morfologi inti sel yaitu piknosis (menghitam). Tahap berikutnya yaitu inti pecah (karioheksis) dan inti menghilang (kariolisis). Piknosis dapat terjadi karena adanya kerusakan di dalam sel antara lain kerusakan membran yang diikuti oleh kerusakan mitokondria dan aparatus golgi sehingga sel tidak mampu mengeliminasi air dan trigliserida sehingga tertimbun dalam sitoplasma sel.

Pada gambaran morfologi mikroskopis preparat K1, sel hepatosit normal ditemukan lebih banyak dari pada sel degeneratif ataupun sel nekrosis meskipun masih

ditemui beberapa sel nekrosis. Menurut penelitian yang dilakukan oleh Prasetiawan dkk (2015) menunjukkan bahwa nekrosis sel hati juga terjadi pada kelompok kontrol namun tidak termasuk dalam kejadian patologi karena dalam keadaan normal nekrosis juga dapat terjadi. Gambaran mikroskopik preparat K1 juga sesuai dengan penelitian yang dilakukan oleh Sijid dkk (2020) tentang histopatologi hepar yang menjelaskan bahwa gambaran mikroskopik jaringan hati pada mencit (*Mus musculus*) K1 sebagai kontrol normal tidak terdapat kerusakan.

Pada gambaran morfologi mikroskopis preparat K2, sel degeneratif atau sel nekrosis lebih dominan dari pada sel hepatosit normal. Menurut penelitian yang dilakukan oleh Prasetiawan dkk (2015) menjelaskan bahwa pemberian senyawa kimia seperti STZ yang ditandai dengan lesi biokimiawi akan memberikan perubahan fungsi dan struktur mikroskopis salah satunya sel nekrosis. Selain itu, ditemukan pelebaran kapiler sinosidal pada gambaran preparat mikroskopis. Banyaknya sel degeneratif atau sel nekrosis disebabkan ketidakmampuannya hepar dalam melakukan kompensasi terhadap kelebihan ROS sehingga diperlukan antioksidan eksogen. Antioksidan eksogen dari penelitian ini diambil dari zat aktif yang terkandung dalam ekstrak daun dandang gendis.

Pemberian ekstrak daun dandang gendis dengan dosis 100 mg/kgBB, 200 mg/kgBB, 400 mg/kgBB pada penelitian ini dengan signifikan dapat menurunkan kadar gula darah puasa hewan coba tikus. Hal ini ditunjukkan dengan perbedaan yang signifikan antara kadar gula darah puasa pada K2 dengan kelompok P1, P2, dan P3. Berdasarkan hal ini, dosis terkecil pada penelitian ini sudah mampu menurunkan kadar gula darah puasa tikus model diabetes melitus. Hal ini sesuai dengan penelitian yang

dilakukan oleh Dewininta dkk (2020) yang meneliti tentang pengaruh pemberian ekstrak daun dandang gendis dengan dosis 75 mg/kgBB, 150 mg/kgBB, 300mg/kgBB selama 28 hari pada tikus model diabetes melitus yang diinduksi STZ 50 mg/kgBB. Dalam penelitian ini menjelaskan bahwa semua dosis ekstrak daun dandang gendis mampu menurunkan kadar gula darah puasa tikus model diabetes melitus. Dapat diartikan bahwa pemberian ekstrak daun dandang gendis dengan estimasi waktu selama 28 hari sudah mampu menurunkan gula darah puasa tikus model diabetes melitus.

Berdasarkan penelitian studi yang dilakukan oleh Khoo (2018) dijelaskan bahwa ditemukan kandungan metabolit sekunder berupa flavones pada ekstrak daun dandang gendis. Pada penelitian lain seperti yang dilakukan oleh Chelyn dkk (2028) pada ekstrak daun dandang gendis ditemukan sebagian besar flavonoid seperti α -glycoside flavones, shaftoside, isoorientin, orientin, isovitexin, dan vitexin. Selain itu, menurut penelitian yang dilakukan oleh Dewinta dkk (2020) ditemukan alkaloid, tannin, flavonoid, dan saponin yang berperan menurunkan kadar glukosa darah pada ekstrak etanol daun dandang gendis.

Berdasarkan kandungan metabolit sekunder pada daun dandang gendis tersebut, penurunan kadar glukosa darah disebabkan adanya flavonoid yang dapat memodulasi glukosa darah dengan meningkatkan sekresi insulin, mengurangi apoptosis dan meningkatkan proliferasi sel β pankreas, mengurangi resistensi insulin, peradangan, menghambat stres oksidatif di otot dan meningkatkan translokasi *Glucose Transporter Type 4* (GLUT4) (Vinayagam dan Xu, 2015). Selain itu, Flavonoid α -glycoside mampu menghambat pembentukan AGE, α -glukosidase, aldose reduktase,

dan protein tirosin fosfatase; merangsang penyimpanan glikogen dan aktivasi persinyalan insulin (Xiao dkk, 2016). Mekanisme alkaloid dalam menurunkan kadar glukosa darah yaitu menghambat aktivitas enzim pencernaan alfa-glukosidase untuk melakukan penguraian polisakarida menjadi monosakarida kemudian penyerapan glukosa dalam darah terhambat. Sehingga menyebabkan tidak terjadinya hiperglikemia postprandial (Adhikari, 2021). Mekanisme tanin dalam menurunkan kadar glukosa darah yaitu dengan meningkatkan ambilan glukosa melalui aktivasi mediator jalur persinyalan insulin seperti *Phosphoinositide 3-Kinase (PI3K)* dan *Mitogen- Activated Protein Kinase (p38 MAPK)* serta translokasi GLUT-4 (Kumari M and Jain S, 2012). Mekanisme saponin dalam menurunkan glukosa darah yaitu dengan melalui peremajaan insulin, pembaruan sinyal insulin, pelepasan insulin dari sel β , penghambatan aktivitas disakarida, aktivasi sintesis glikogen, penghambatan glukoneogenesis, penghambatan aktivitas α -glukosidase, penghambatan ekspresi mRNA glikogen fosforilase dan glukosa 6-fosfatase (G-6P) dan meningkatkan ekspresi GLUT4 (Barky dan Hussein, 2017).

Rata-rata total presentase sel degeneratif atau sel nekrosis hepar setelah 28 hari perlakuan pada kelompok K1 lebih rendah yaitu 25.86 ± 0.33 dari rata-rata presentase sel degeneratif atau sel nekrosis pada kelompok K2 yaitu 52.33 ± 0.91 serta perbedaan tersebut signifikan pada analisis statistik. Peningkatan total sel degeneratif atau sel nekrosis hepar pada kelompok K2 dikaitkan dengan kondisi hiperglikemia yang masih dialami oleh kelompok tersebut. Hal tersebut sesuai dengan penelitian yang dilakukan oleh Mahata dkk (2021) yang meneliti efek hiperglikemia terhadap kerusakan histologi hepar pada tikus model diabetes melitus gastrointestinal selama 28 hari setelah

diinjeksi STZ dengan dosis 40 mg/kg, terdapat perbedaan signifikan antara presentase sel degeneratif atau nekrosis dan dilatasi area sinusoidal pada kelompok tikus normal dengan kelompok tikus diabetes melitus. Pada penelitian dengan dosis STZ yang lebih tinggi oleh Salih dkk (2009) yaitu pada tikus diabetes yang diinduksi STZ dengan dosis 150 mg/kg terdapat perbedaan signifikan antara gambaran histologi hepar kelompok normal dan kelompok tikus model diabetes melitus. Pada kelompok normal, tidak ditemukan perubahan morfologi mikroskopis sepertihalnya lobul hepatik yang masih normal, poligonal hepatosit yang masih teratur, nukelus, dan sitoplasma yang masih jelas. Sedangkan pada kelompok tikus diabetes melitus, ditemukan perubahan morfologi sepertihalnya adanya sel radang, infiltrasi limfosit, sel nekrosis, agregasi limfosit, dan sel degeneratif (Maimunah dkk, 2022).

Pada gambaran morfologi mikroskopis preparat P1 atau perlakuan dosis terendah menunjukkan gambaran pelebaran kapiler sinusoidal yang lebih kecil dari pada kelompok tikus diabetes melitus serta sel normal lebih banyak dibandingkan dengan sel degeneratif atau sel nekrosis dalam satu lapang pandang preparat. Penemuan gambaran ini juga sesuai dengan penelitian yang dilakukan oleh Amanda dan Simon (2014) yang menjelaskan bahwa ada P1 masih menunjukkan adanya gambaran peradangan, dilatasi sinusoidal, dan degenerasi hidrofilik. Pada gambaran morfologi mikroskopis preparat P2 menunjukkan perbaikan morfologi mikroskopis organ hepar. Jumlah sel degeneratif atau sel nekrosis lebih sedikit dari kelompok kontrol diabetes melitus dan P1. Hal ini menunjukkan adanya peningkatan dosis akan memberikan efek yang perbaikan morfologi mikroskopis hepar. Pada gambaran morfologi mikroskopis preparat P3 menunjukkan perbaikan morfologi mikroskopis organ hepar. Sel degeneratif

atau sel nekrosis ditemukan lebih sedikit dibandingkan dari pada kelompok P2. Pada P3 ditemukan inti sel jelas, batas sel jelas, warna sitoplasma yang merata, dan ukuran sel rata-rata. Hal ini menunjukkan bahwa ada perbaikan morfologi mikroskopis hepar setelah pemberian ekstrak daun dandang gendis.

Pemberian ekstrak daun dandang gendis pada tikus hewan coba sebagai pencegahan kerusakan histologi hepar menunjukkan penurunan yang signifikan pada kelompok K2. Presentase sel degeneratif atau sel nekrosis pada K2 sebesar 52.33 ± 0.91 , kadar tersebut lebih tinggi dibandingkan dengan kelompok perlakuan 1 terapi dosis 100 mg/kgBB sebesar 39.72 ± 1.24 , kelompok perlakuan 2 terapi dosis 200 mg/kgBB sebesar 34.47 ± 0.52 , kelompok perlakuan 3 terapi dosis 400 mg/kgBB sebesar 32.30 ± 0.23 . Hal ini menunjukkan bahwa pemberian ekstrak daun dandang gendis pada tikus model diabetes melitus dengan dosis 100 mg/kgBB, 200 mg/kgBB, 400 mg/kgBB selama 28 hari memiliki pengaruh yang signifikan terhadap perbaikan gambaran histologi hepar. Penurunan presentase sel degeneratif atau sel nekrosis pada P1 ke P2 disebabkan oleh kandungan flavonoid, saponin, dan tanin pada daun dandang gendis dengan kandungan yang dominan yaitu flavonoid. Mekanisme kerja flavonoid adalah dengan menekan pembentukan ROS dengan menghambat enzim dan khelasi logam yang terlibat dalam produksi radikal. Flavonoid bekerja sebagai antioksidan primer karena kemampuannya menangkap radikal bebas dan ROS, seperti anion superoksida dan radikal bebas hidroksil (Andrestian dkk, 2019). Sehingga, Pemberian ekstrak daun dandang gendis mampu memberikan efek perbaikan morfologi hepar melalui mekanisme penurunan kadar ROS didalam organ hepar.

6.3 Keterbatasan Penelitian

1. Marker dalam penelitian ini hanya menghitung presentase sel degeneratif atau sel nekrosis serta mengidentifikasi kelainan morfologi pada histopatologi hepar sehingga terdapat batasan untuk menilai kelainan biokimiawi seperti SGOT, SGPT, dan lain-lain.
2. Penanda sel degeneratif atau sel nekrosis pada penelitian ini hanya melihat pada inti sel, sitoplasma, batas sel, dan kapiler sinusoidal namun disisi lain ada penanda lainya seperti infiltrasi sel limfosit, kromatin, dan serabut retikuler yang berlipat-lipat.

6.4 Integrasi Islam

Berdasarkan imam muslim

عن جابر بن عبد الله لِكُلِّ دَاءٍ دَوَاءٌ، فَإِذَا أَصَابَ الدَّوَاءُ الدَّاءَ، بَرَأَ بِإِذْنِ اللَّهِ عَزَّ وَجَلَّ

Artinya: “Setiap penyakit pasti memiliki obat. Bila sebuah obat sesuai dengan penyakitnya maka dia akan sembuh dengan seizin Allah Subhanahu wa Ta’ala.” (HR. Muslim)

Hadits diatas mengisyaratkan seseorang muslim mengobati penyakit yang dideritanya. Sebab, setiap penyakit pasti ada obatnya. Jika obat yang digunakan tepat mengenai sumber penyakit, maka dengan izin Allah SWT penyakit tersebut akan hilang dan orang yang sakit akan mendapatkan kesembuhan. Meski demikian, kesembumbuhan kadang terjadi dalam waktu yang agak lama, jika penyebab penyakitnya belum diketahui atau obatnya belum ditemukan.

Hadits ini menjadi gambaran akan pentingnya dalam berikhtiar untuk mencari kesembuhan. Sementara pada hadits lainnya disebutkan, Rasulullah saw bersabda:

إِنَّ اللَّهَ أَنْزَلَ الدَّاءَ وَالدَّوَاءَ وَ أَنْزَلَ لِكُلِّ دَاءٍ دَوَاءً فَتَدَاوَوْا وَلَا تَدَاوَوْا بِحَرَامٍ

Artinya: “Sesungguhnya Allah telah menurunkan penyakit dan obatnya, demikian pula Allah menjadikan bagi setiap penyakit ada obatnya. Maka berobatlah kalian dan janganlah berobat dengan yang haram.” (HR. Abu Dawud)

Hadis tersebut menunjukkan bahwa umat islam boleh mengobati penyakitnya. Sebab, Allah SWT menurunkan penyakit juga disertai dengan diturunkan obatnya sehingga seorang Muslim diizinkan untuk mengobati penyakit yang dideritanya. Pada saat manusia sedang mengalami cobaan dari Allah SWT berupa penyakit, maka kita dilarang untuk berdiam diri dan pasrah terhadap cobaan tersebut, melainkan harus berusaha untuk mencari obatnya. Pengobatan dengan menggunakan bahan herbal lebih aman untuk dikonsumsi, tumbuhan herbal sudah sering digunakan sebagai bahan pengobatan, Alquran telah menjelaskan bahwa Allah SWT telah menumbuhkan berbagai macam tumbuhan yang bermanfaat bagi mahluk-Nya.

أَوَلَمْ يَرَوْا إِلَى الْأَرْضِ كَمْ أَنْبَتْنَا فِيهَا مِنْ كُلِّ زَوْجٍ كَرِيمٍ (الشعراء : ٧)

Artinya : “Dan apakah mereka tidak memperhatikan bumi, berapakah banyaknya Kami tumbuhkan di bumi itu berbagai macam tumbuh-tumbuhan yang baik?”. (Asy-Syu’ara [62]:7)

Surah Asy-Syu’ara [62]:7 memiliki beberapa tafsir antara lain :

Berdasarkan tafsir Kementerian Agama Republik Indonesia 2022 yaitu sangat banyak sekali tanaman yang tumbuh di bumi dengan berbagai pasangan tumbuhan baik dan membawa manfaat bagi makhluk Allah seperti manusia. Tumbuhan baik itu merupakan tanda kekuasaan dan kebesaran-Nya yang tak ternilai kepada makhluk-Nya. Berdasarkan tafsir Min Fathil Qadir atau Syaikh Muhammad Sulaiman Al-Asyqar Universitas Islam Madinah, maksud dari arti berbagai macam tumbuh-tumbuhan yang baik adalah Allah tidak mungkin menumbuhkan tumbuhan yang tidak bermanfaat.

1. Berdasarkan tafsir Ash-Shaghir yang dimuraja’ah oleh Syaikh Prof. Abdulah bin Abdul Aziz Al-‘Awaji yaitu apakah manusia tidak memerhatikan bumi, ketahuilah bahwa Allah Swt. Telah menumbuhkan setiap jenis tumbuhan baik dan bermanfaat di bumi serta memerintahkan manusia untuk memanfaatkan tumbuhan baik seperti penelitian.
2. Berdasarkan hadist HR. Ibnu Majah, Rasulullah SAW bersabda yang artinya : *Thalah berkata, “Rasul pernah diberi buah safarjal lalu rasul bersabda, ”ambilah buah itu karena dapat merealisasikan hati, ”.* Dari hadist tersebut dapat diartikan bahwa Rasul dalam dunia kesehatan terkhusus pengobatan juga menggunakan tumbuh-tumbuhan seperti tumbuhan tradisional dan herbal. Pernyataan ini menjelaskan bahwa manusia dan lingkungan tidak dapat dipisahkan antara satu dan lain.

Berdasarkan arti surah, hadist, dan tafsir diatas, umat manusia harus mengupayakan tanaman baik seperti tanaman hijau sebagai obat herbal yang bermanfaat. Salah satu tanaman yang diduga mampu bermanfaat dan berpengaruh dalam pencegahan diabetes adalah tanaman dandang gendis. Penelitian ini menunjukkan bahwa pemberian ekstrak daun dandang gendis dapat menurunkan kadar gula darah pada tikus model diabetes melitus karena memiliki kandungan antioksidan dan efek antihiperlikemik. Pada kondisi diabetes melitus akan menyebabkan kerusakan morfologi sel hepar sehingga pemberian ekstrak daun dandang gendis bisa menjadi pilihan sebagai upaya untuk mencegah stres oksidatif pada hepar. Pada penelitian ini, ekstrak daun dandang gendis mampu memperbaiki dan mencegah kerusakan morfologi sel hepar dibandingkan dengan tikus diabetes melitus yang tidak diberikan terapi ekstrak daun dandang gendis.

BAB VII

KESIMPULAN DAN SARAN

7.1 Kesimpulan

Berdasarkan hasil penelitian dapat disimpulkan bahwa pemberian ekstrak daun dandang gendis (*Clinacanthus nutans*) selama 28 hari berpengaruh secara signifikan terhadap perbaikan gambaran histopatologi pada organ hepar tikus model diabetes melitus.

7.2 Saran

Berdasarkan hasil penelitian maka saran yang bisa diberikan sebagai berikut

1. Perlu dilakukan penelitian lebih lanjut mengenai marker biokimiawi seperti SGOT, SGPT, dan lain-lain yang berpengaruh pada kelainan morfologi histopatologi hepar.
2. Perlu dilakukan penanda sel degeneratif atau sel nekrosis lain seperti infiltrasi sel limfosit, kromatin, dan serabut retikuler yang berlipat-lipat.

DAFTAR PUSTAKA

- Abdullah, N. and Kasim, K.F. (2017) 'In-Vitro Antidiabetic Activity of *Clinacanthus nutans* Extracts', *International Journal of Pharmacognosy and Phytochemical Research*, 9(6), pp. 846–852. Available at: <https://pdfs.semanticscholar.org/2821/6198506da0ce1fb193fa88d82b09318f273e.pdf>.
- Abdurahman dkk., (2022) 'Scoping Review : Pengaruh Terapi Herbal pada Pasien Tuberkulosis Sebagai Antioksidan dan Imunomodulator', 2, pp. 1056–1067.
- Adelita dkk., (2020) 'Kontrol Metabolik pada Diabetes Melitus Tipe-1', *Fakultas Kedokteran Universitas Sumatera Utara/RS Pendidikan Universitas Sumatera Utara, Medan, Indonesia*, 47(3), pp. 227– 232. Available at: <http://www.cdkjournal.com/index.php/CDK/article/viewFile/377/175>.
- Adhikari, B. (2021) 'Roles of Alkaloids from Medicinal Plants in the Management of Diabetes Mellitus', *Journal of Chemistry*, 2021. doi:10.1155/2021/2691525.
- Al-Farabi, M.J. (2013) 'Antibodi terhadap Advanced Glycation End Product, Cara Mutakhir Pencegahan Komplikasi Diabetes Melitus', *Cermin Dunia Kedokteran*, 40(11), pp. 807–814. Available at: [http://www.kalbemed.com/Portals/6/05_210Antibodi terhadap Advanced Glycation End Product Cara Mutakhir PencegahanKomplikasi Diabetes Melitus.pdf](http://www.kalbemed.com/Portals/6/05_210Antibodi%20terhadap%20Advanced%20Glycation%20End%20Product%20Cara%20Mutakhir%20Pencegahan%20Komplikasi%20Diabetes%20Melitus.pdf).
- Alam, A. dkk., (2016) 'Clinacanthus nutans: A review of the medicinal uses, pharmacology and phytochemistry', *Asian Pacific Journal of Tropical Medicine*, 9(4), pp.402–409. doi:10.1016/j.apjtm.2016.03.011.
- Alam, M.A. dkk., (2017) 'In vitro antioxidant and, α -glucosidase inhibitory activities and comprehensive metabolite profiling of methanol extract and its fractions from *Clinacanthus nutans*', *BMC Complementary and Alternative Medicine*, 17(1), pp. 1–10. doi:10.1186/s12906-017-1684-5.
- Aliyu, A. dkk., (2020) 'Subacute oral administration of *Clinacanthus nutans* ethanolic leaf extract induced liver and kidney toxicities in ICR mice', *Molecules*, 25(11). doi:10.3390/molecules25112631.
- Almasdy, D. dkk., (2015) 'Antidiabetic Use Evaluation in Type-2 Diabetes Mellitus' Patients on a Public Hospital at Padang City – West Sumatera', *Jurnal Sains Farmasi dan Klinis*, 2(1), pp. 104–110. Available at: <http://jsfkonline.org/index.php/jsfk/article/view/58>.
- American Diabetes Association (2014) 'Diagnosis and classification of diabetes mellitus', *Diabetes Care*, 37(SUPPL.1), pp. 81–90. doi:10.2337/dc14-S081.
- Andreas dkk., (2015) 'Gambaran Histologi Regenerasi Hati Pasca Penghentian Pajanan Monosodium Glutamat pada Tikus Wistar', *eJournal Kedokteran Indonesia*, 3(1), pp. 29–36. doi:10.23886/ejki.3.4804.
- Banday dkk., (2020) 'Pathophysiology of diabetes: An overview', *Avicenna Journal of Medicine*, 10(04), pp. 174–188. doi:10.4103/ajm.ajm_53_20.
- Andrestian, M.D. *et al.* (2019) 'Effects of Torbangun Leaves (*Coleus amboinicus* Lour)

- Extract on Blood Glucose and Super Oxide Dismutase Activity in Hyperglycemic Rats’, *Jurnal Gizi dan Pangan*, 14(3), pp. 149–156. doi:10.25182/jgp.2019.14.3.149-156.
- Barky, A. El and Hussein, S.A. (2017) ‘Saponins-and-Their-Potential-Role-in-Diabetes-Mellitus’, 7, pp. 148–158.
- Betteng, R. (2014) ‘Analisis Faktor Resiko Penyebab Terjadinya Diabetes Mellitus Tipe 2 Pada Wanita Usia Produktif Dipuskesmas Wawonasa’, *Jurnal e-Biomedik*, 2(2).doi:10.35790/ebm.2.2.2014.4554. Decroli, Eva. 2019. *Diabetes Mellitus Tipe 2*. Edisi 1. Padang: Pusat Penerbitan Bagian Ilmu Penyakit Dalam Fakultas Kedokteran Universitas Andalas.
- Fatimah, R.N. (2015) ‘Diabetes Mellitus Tipe 2 [Artikel Review] Diabetes Mellitus Tipe 2’, *Jurnal majority*, 2(5), pp. 93–101.
- Goyal, S.N. *et al.* (2016) ‘Challenges and issues with streptozotocin-induced diabetes - A clinically relevant animal model to understand the diabetes pathogenesis and evaluate therapeutics’, *Chemico-Biological Interactions*, 244, pp. 49–63. doi:10.1016/j.cbi.2015.11.032
- Husna dkk., (2019) ‘Model Hewan Coba pada Penelitian Diabetes’, *Pharmaceutical Sciences and Research*, 6(3), pp. 131–141. doi:10.7454/psr.v6i3.4531. IDF (2021) *IDF Diabetes Atlas 10th edition*. Available at: www.diabetesatlas.org.
- Jemya dkk., (2021) ‘Health Notions , Volume 5 Number 1 (January 2021) The Effect of Dandang Gendis Extract (Clinacanthus nutans) on Kidney Histopathological Features of Diabetic Rats Model 19 | Publisher : Humanistic Network for Science and Technology HealthNotions , Vo’, 5(1), pp. 19–22.
- Khalil dkk., (2018) ‘Antihyperglycemic effect of n-butanol extract of celery (Apium graveolens) seeds and expression level of pancreatic, placental and fetal Sox17, Pax6, Ins1, Ins2 and Glucagon genes in STZ-induced diabetic female rats (Rattus norvegicus)’, 14(25).
- Kosai dkk., (2016) ‘Evaluation of total phenolic compound and cytotoxic activity of clinacanthus nutans’, *Indian Journal of Pharmaceutical Sciences*, 78(2), pp. 283–286. doi:10.4172/pharmaceutical- sciences.1000115.
- Kumari M and Jain S (2012) ‘Tannins: An Antinutrient with Positive Effect to Manage Diabetes’, *Research Journal of Recent Sciences*, 1(12), pp. 1–8. Available at: www.isca.in.
- Kurniawan, L.B. (2016) ‘Patofisiologi, Skrining, dan Diagnosis Laboratorium Diabetes Mellitus’, file:///C:/Users/user/Downloads/Pelaksanaan Pengkajian Keperawatan Pada Pasien Diabetes Mellitus di Rumah Sakit (1).pdf *Gestasional*, Cdk, 43(11), pp. 811–813.
- Leng, W. dkk., (2019) ‘The SGLT2 inhibitor dapagliflozin attenuates the activity of ROS-NLRP3 inflammasome axis in steatohepatitis with diabetes mellitus’, *Annals of Translational Medicine*, 7(18), pp. 429–429. doi:10.21037/atm.2019.09.03.
- Luandayanti, D. and Rifa, M. (2013). ‘Studi Ekstrak Metanol Biji Mahoni (Swietenia mahagoni) terhadap SOD Serum Tikus Putih (Rattus norvegicus) Pasca Induksi MLD-STZ’, 1(6), pp. 247–251.

- Mahata dkk., (2021) 'Effect of Streptozotocin on Liver Histology Damage in Rats Model of Gestational Diabetes Mellitus', *International Journal of Research and Review*, 8(9), pp. 18–22. doi:10.52403/ijrr.20210904.
- Maimunah, S. *et al.* (2022) 'Efek Hipoglikemik dan Hepatoprotektif Fraksi Air Lingzhi (*Ganoderma lucidum*) pada Tikus Diabetes Mellitus', *Journal of Islamic Pharmacy*, 6(2), pp. 54–57. doi:10.18860/jip.v6i2.13524.
- Mas'ulun dkk., (2021) 'The Effect of Dandang Gendis Extract (*Clinacanthus nutans*) on Kidney Histopathological Features of Diabetic Rats Model', *Health Notions*, 5(01), pp. 19–22. doi:10.33846/hn50104.
- Mohamed, J. dkk., (2016) 'Mechanisms of diabetes-induced liver damage: The role of oxidative stress and inflammation', *Sultan Qaboos University Medical Journal*, 16(2), pp. e132–e141. doi:10.18295/squmj.2016.16.02.002.
- Muriach, M. dkk., (2014) 'Diabetes and the brain: Oxidative stress, inflammation, and autophagy', *Oxidative Medicine and Cellular Longevity* (2014). doi:10.1155/2014/102158.
- Nangoy dkk., (2019) 'UJI AKTIVITAS ANTIDIABETES DARI EKSTRAK DAUN SESEWANUA (*Clerodendron squamatum* Vahl.) TERHADAP TIKUS PUTIH JANTAN GALUR WISTAR (*Rattus norvegicus* L.)', *Pharmakon*, 8(4), p. 774. doi:10.35799/pha.8.2019.29353.
- Nazarudin dkk., (2017) 'Segmentasi Citra untuk Menentukan Skor Kerusakan Hati secara Histologi', *Seminar Nasional Informatika Medis (SNIMed) VIII*, 15, pp. 15–21.
- Newsholme dkk., (2016) 'Molecular mechanisms of ROS production and oxidative stress in diabetes', *Biochemical Journal*, 473(24), pp. 4527–4550. doi:10.1042/BCJ20160503C.
- Othman dkk., (2021) 'Extraction of polyphenols from *Clinacanthus nutans* Lindau (*C. nutans*) by vacuum solvent-free microwave extraction (V-SFME)', *Chemical Engineering Communications*, 208(5), pp. 727–740. doi:10.1080/00986445.2020.1727452.
- Otto dkk., (2015) Chapter 4 - Biology and Diseases of Rats, *Laboratory Animal Medicine: Third Edition*. doi:10.1016/B978-0-12-409527-4.00004-3.
- P'ng dkk., (2013) 'Evaluation of the sub-acute oral toxic effect of methanolextract of *Clinacanthus nutans* leaves in rats', *Journal of Acute Disease*, 2(1), pp. 29–32. doi:10.1016/s2221-6189(13)60090-6.
- Pangestika dkk., (2016) 'Faktor-Faktor Yang Berhubungan Dengan Kejadian Diabetes Mellitus Tipe 2', *Jurnal 'Aisyiyah Medika*, 5(2), pp. 27–31. doi:10.36729/jam.v7i1.779.
- PERKENI (2019) PEDOMAN PENGELOLAAN DAN PENCEGAHAN DIABETES MELITUS TIPE 2 DEWASA DI INDONESIA.
- Prawitasari, D.S. (2019) 'Diabetes Melitus dan Antioksidan', *KELUWIH: Jurnal Kesehatan dan Kedokteran*, 1(1), pp. 48–52. doi:10.24123/kesdok.v1i1.2496.
- Qosimah *et al.* (2019) 'Diabetes sepsis on Wistar rat strain (*Rattus norvegicus*) induced by streptozotocin and bacteria *Staphylococcus aureus*', *Veterinary World*, 12(6), pp. 849–854. doi:10.14202/vetworld.2019.849-854

- Ramadan dkk., (2022) 'Derajat Fibrosis dan Skor Nafld pada Hepar Tikus Diabetes Mellitus Tipe 2 Remaja', 9, p. 85. doi:10.32539/JKK.V9I1.15315.
- Saputra, N. T., Suartha, I. N. and Dharmayudha, A. A. G. O. (2018). 'AgenDiabetagonik Streptozotocin untuk Membuat Tikus Putih Jantan Diabetes Mellitus', *Buletin Veteriner Udayana*, 10(2), p. 116. doi:10.24843/bulvet.2018.v10.i02.p02
- Sijid, S.A. *et al.* (2020) 'PENGARUH PEMBERIAN TUAK TERHADAP GAMBARAN HISTOPATOLOGI HATI MENCIT (Mus musculus) ICR JANTAN', *Jurnal Pendidikan Matematika dan IPA*, 11(2), p. 193. doi:10.26418/jpmipa.v11i2.36623.
- Silviana Cahya S (2017) 'Uji Aktivitas Antihiperlikemik Ekstrak Daun Dandang Gendis (*Clinacanthus nutans* Lindau)', (0024078603), pp. 1–52.
- Teodhora *et al.* (2017) 'Aktivitas Antidiabetes Kombinasi Ekstrak Etanol Daun Sirih Merah (*Piper crocatum*) dan Buah Mahkota Dewa (*Phaleria macrocarpa*) Pada Tikus Diinduksi Streptozotocin-Nikotinamid Antidiabetic Activity Combination Of Ethanolic Extract Of *Piper crocatum* Leaves', 10(2), pp. 17–22.
- Umar Imam, M. dkk., (2019) 'Aqueous leaf extract of *Clinacanthus nutans* improved metabolic indices and sorbitol-related complications in type II diabetic rats (T2D)', *Food Science and Nutrition*, 7(4), pp. 1482–1493. doi:10.1002/fsn3.988
- Vinayagam, R. and Xu, B. (2015) 'Antidiabetic properties of dietary flavonoids: A cellular mechanism review', *Nutrition and Metabolism*, 12(1), pp. 1–20. doi:10.1186/s12986-015-0057-7.
- Wang *et al.* (2020) 'Streptozotocin-induced diabetic cardiomyopathy in rats: ameliorative effect of PIPERINE via Bcl2, Bax/Bcl2, and caspase-3 pathways', *Bioscience, Biotechnology and Biochemistry*, 84(12), pp. 2533–2544. doi:10.1080/09168451.2020.1815170.
- Werdhasari, A. (2014) 'Peran Antioksidan Bagi Kesehatan', *Jurnal Biomedik Medisiana Indonesia*, 3(2), pp. 59–68.
- Xiao, J. dkk., (2016) 'Advance on the Flavonoid C-glycosides and Health Benefits', *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 56(November 2017), pp. S29–S45. doi:10.1080/10408398.2015.1067595. Yeo, B.S. dkk., (2018) 'Medicinal properties of *clinacanthus nutans*: A review', *Tropical Journal of Pharmaceutical Research*, 17(2), pp. 375–382. doi:10.4314/tjpr.v17i2.25.
- Zuhriyah dkk., (2021) 'Pengaruh Ekstrak Daun Jambu Mente (*Anacardium occidentale*) terhadap Kadar Hemoglobin, Morfologi, dan Morfometri Hepar Mencit Diabetes Effect of Cashew (*Anacardium occidentale*) Leaf Extract on Hemoglobin Levels, Liver Morphology and Morphometry of D', *Lentera Bio*, 10(3), pp. 275–284. jurnal_diabetes_type_2-with-cover-page-v2.pdf.

LAMPIRAN

Lampiran 1. Keterangan Kelaikan Etik

	FAKULTAS KEDOKTERAN DAN ILMU KESEHATAN UNIVERSITAS ISLAM NEGERI MAULANA MALIK IBRAHIM MALANG KOMISI ETIK PENELITIAN KESEHATAN Kampus 3 FKIK Gedung Ibnu Thufail Lantai 2 Jalan Locari, Tlekung Kota Batu E-mail: kepk.fkik@uin-malang.ac.id - Website : http://www.kepk.fkik.uin-malang.ac.id
	KETERANGAN KELAIKAN ETIK (ETHICAL CLEARANCE) No. 083/EC/KEPK-FKIK/2022

KOMISI ETIK PENELITIAN KESEHATAN(KEPK) FAKULTAS KEDOKTERAN DAN ILMU KESEHATAN UIN MAULANA MALIK IBRAHIM MALANG TELAH MEMPELAJARI DENGAN SEKSAMA RANCANGAN PENELITIAN YANG DIUSULKAN :

Judul	Pengaruh Pemberian Ekstrak Etanol Daun <i>Clinacanthus nutans</i> pada Tikus Model Diabetes Mellitu
Sub Judul	Pengaruh Pemberian Ekstrak Etanol Daun <i>Clinacanthus nutans</i> pada Tikus Model Diabetes Mellitu
Peneliti	- dr. Nurlaili Susanti, M.Biomed - Nur Alqurratu A'yuni Syukri - Muhamad Daffa Abhista Reviansyah - Aulia Sri Nastiti Suwondo - Rasyidu Fabian Mashuri - Mahasya Khafiralia - Firdaus Silahudin
Unit / Lembaga	Program Studi Pendidikan Dokter Fakultas Kedokteran dan Ilmu Kesehatan Universitas Islam Negeri Maulana Malik Ibrahim Malang
Tempat Penelitian	Laboratorium FKIK UIN Maulana Malik Ibrahim Malang

DENGAN INI MENYATAKAN BAHWA PENELITIAN TERSEBUT TELAH MEMENUHI SYARAT ATAU LAIK ETIK.

Malang, 3 Maret 2022




Ketua


dr. Doby Indrawan, MMRS
NIP. 19781001201701011113

Keterangan :

- Keterangan Laik Etik Ini berlaku 1 (satu) tahun sejak tanggal dikeluarkan.
- Pada akhir penelitian, laporan Pelaksanaan Penelitian harus diserahkan kepada KEPK-FKIK dalam bentuk *soft copy*.
- Apabila ada perubahan protokol dan/atau Perpanjangan penelitian, harus mengajukan kembali permohonan Kajian Etik Penelitian (Amandemen Protokol).

Lampiran 2. Determinasi Tanaman Dandang Gendis

**PEMERINTAH PROVINSI JAWA TIMUR**
DINAS KESEHATAN
UPT LABORATORIUM HERBAL
MATERIA MEDICA BATU
Jl. Lahor 87 Kota Batu
Jl. Raya 228 Kejayan Kabupaten Pasuruan
Jl. Kolonel Sugiono 457 – 459 Kota Malang
Email : materiamedicabatu@jatimprov.go.id

**UPT LABORATORIUM HERBAL**
MATERIA MEDICA
BATU

Nomor : 074/ 042/ 102.7-A/ 2022
Sifat : Biasa
Perihal : **Determinasi Tanaman Dandang Gendis**

Memenuhi permohonan saudara :

Nama : dr. NURLAILI SUSANTI, M.Biomed
NIM/P : 198310242011012007
Fakultas : FKIK, UIN MAULANA MALIK IBRAHIM MALANG

1. Perihal determinasi tanaman dandang gendis

Kingdom : Plantae (Tumbuhan)
Divisi : Magnoliophyta (Tumbuhan berbunga)
Kelas : Magnoliopsida (berkeping dua / dikotil)
Sub Kelas : Asteridae
Ordo : Scrophulariales
Famili : Acanthaceae
Genus : Clinacanthus
Spesies : *Clinacanthus nutans* (Burm.f.) Lindau
Nama Umum : Dandang gendis, belalai gajah, phaya yo, rumput ular sabah, ki tajam.
Kunci Determinasi : 1b-2b-3b-4b-12b-13b-14b-17b-18b-19b-20b-21b-22b-23b-24b-25b-26b-27a-28b-29b-30b-31b-403b-404b-405a-406b-409a-410b-411a: Acanthaceae-1b-36a-37a-38a: Clinacanthus-49: *C. nutans*.

2. Morfologi : Tanaman perdu tahunan, tinggi lebih kurang 2,5 meter. Batang berkayu, tegak, beruas dan berwarna hijau. Daun tunggal, berhadapan, bentuk lanset, panjang 8-12 mm, lebar 4-6 mm, bertulang menyirip, berwarna hijau. Bunga majemuk, bentuk malai, di ketiak daun dan di ujung batang, mahkota bunga berbentuk tabung, panjang 2-3 cm berwarna merah muda. Buah kotak, bulat memanjang berwarna cokelat.

3. Bagian yang digunakan : Daun.

4. Penggunaan : Penelitian.


5. Daftar Pustaka

- Backer, C.A. & Bakhuizen Van Den Brink, R.C. 1963. *Flora of Java (Spermatophytes Only)*, Vol I. N.V.P. Noordhoff, Groningen.
- Backer, C.A. & Bakhuizen Van Den Brink, R.C. 1965. *Flora of Java (Spermatophytes Only)*, Vol. II. N.V.P. Noordhoff, Groningen.

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

Batu, 17 Januari 2022

KEPALA UPT LABORATORIUM HERBAL
MATERIA MEDICA BATU


AHMAD MABRUR, SKM, M.Kes.
PEMBINA
NIP. 19680203 199203 1 004

Lampiran 3. Karakteristik Hewan Coba

Lampiran 3.1 Data BB dan GDP Kelompok Tikus Norma

No	Berat Badan (gram)		Gula Darah Puasa (mg/dL)	
	H-7	H0	H-7	H0
1.	190	194	99	98
2.	188	190	93	92
3.	180	185	92	94
4.	194	190	97	98
5.	186	188	90	95
6.	192	198	92	96
Mean ± SD	188,33 ± 4,97	190,83 ± 4,58	93,83 ± 3,43	95,50 ± 2,34

Lampiran 3.2 Analisis Uji Normalitas BB dan GDP Kelompok Tikus Normal

kelompok	Kolmogorov-Smirnov ^a			Shapiro-Wilk		
	Statistic	df	Sig.	Statistic	df	Sig.
bb_h7 kelompok_normal	.153	6	.200*	.957	6	.794
bb_h0 kelompok_normal	.239	6	.200*	.962	6	.836

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

a. Lilliefors Significance Correction

kelompok	Kolmogorov-Smirnov ^a			Shapiro-Wilk		
	Statistic	df	Sig.	Statistic	df	Sig.
gdp_h7 kelompok_normal	.263	6	.200*	.900	6	.377
gdp_h0 kelompok_normal	.190	6	.200*	.934	6	.614

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

a. Lilliefors Significance Correction

Lampiran 3.3 Analisis Uji T-Test BB dan GDP Kelompok Tikus Normal

Paired Samples Test

	Mean	Std. Deviation	Std. Error Mean	95% Confidence Interval of the Difference		t	df	Sig. (2-tailed)
				Lower	Upper			
Pair 1 bb_h7 - bb_h0	-2.500	3.564	1.455	-6.240	1.240	-1.718	5	.146

Paired Samples Test

	Mean	Std. Deviation	Std. Error Mean	95% Confidence Interval of the Difference		t	df	Sig. (2-tailed)
				Lower	Upper			
Pair 1 gdp_h7 - gdp_h0	-1.667	2.503	1.022	-4.294	.960	-1.631	5	.164

Lampiran 3.4 Data BB dan GDP Kelompok Tikus Diabetes

No	Berat Badan (Gram)		Gula Darah Puasa (GDP)	
	H-7	H0	H-7	H0
1.	208	194	97	445
2.	173	188	83	516
3.	180	170	102	517
4.	182	180	107	536
5.	166	160	133	396
6.	185	183	102	490
7.	239	214	69	337
8.	220	196	87	485
9.	173	164	85	546
10.	176	207	80	526
11.	240	243	65	247
12.	166	157	65	540
13.	233	188	80	337
14.	225	197	84	442
15.	213	198	72	463
16.	214	201	70	581
17.	189	191	115	292
18.	224	203	75	497
19.	202	179	82	439
20.	212	200	67	423
21.	169	166	86	442
22.	238	236	86	366
23.	196	187	85	554
24.	216	198	71	493
Mean ± SD	201,63 ± 25,04	191,67 ± 21,13	85,33 ± 16,87	454,58 ± 87,61

Lampiran 3.5 Analisis Uji Normalitas BB dan GDP Kelompok Tikus Diabetes

Tests of Normality

	kelompok	Kolmogorov-Smirnov ^a			Shapiro-Wilk		
		Statistic	df	Sig.	Statistic	df	Sig.
bb_h7	kelompok_dm	.122	24	.200*	.926	24	.078
bb_h0	kelompok_dm	.129	24	.200*	.948	24	.250

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

a. Lilliefors Significance Correction

Tests of Normality

	kelompok	Kolmogorov-Smirnov ^a			Shapiro-Wilk		
		Statistic	df	Sig.	Statistic	df	Sig.
gdp_h7	kelompok_dm	.211	24	.007	.902	24	.024
gdp_0	kelompok_dm	.138	24	.200*	.937	24	.137

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

a. Lilliefors Significance Correction

Lampiran 3.6 Analisis Uji Komparasi BB dan GDP Kelompok Tikus Diabetes

Paired Samples Test

	Mean	Std. Deviation	Std. Error Mean	95% Confidence Interval of the Difference		t	df	Sig. (2-tailed)
				Lower	Upper			
Pair 1 bb_h7 - bb_h0	9.958	15.118	3.086	3.574	16.342	3.227	23	.004

Ranks

		N	Mean Rank	Sum of Ranks
gdp_h0 - gdp_h7	Negative Ranks	0 ^a	.00	.00
	Positive Ranks	24 ^b	12.50	300.00
	Ties	0 ^c		
	Total	24		

a. gdp_h0 < gdp_h7

b. gdp_h0 > gdp_h7

c. gdp_h0 = gdp_h7

Test Statistics^a

	gdp_h0 - gdp_h7
Z	-4.286 ^b
Asymp. Sig. (2-tailed)	.000

Lampiran 4. Hasil Pengamatan Histopatologi

Lampiran 4.1 Data Perhitungan Gambaran Histologi

+

Kode Sampel	Presentase Sel Degeneratif atau Sel Nekrosis Hepar Lapang Pandang					Rata-Rata Presentase
	A	B	C	D	E	
K1.1	25,86%	25,9%	26,82%	25,8%	25,92%	25,86%
K1.2	25,76%	25,96%	25,86%	25,66%	26,06%	25,68%
K1.3	25,86%	25,54%	26,18%	25,52%	26,2%	26,42%
K1.4	25,46%	26,16%	25,9%	26,82%	25,86%	26,02%
K1.5	25,76%	25,96%	26,06%	25,86%	25,66%	25,78%
K1.6	26,2%	25,86%	25,54%	26,18%	25,52%	25,44%
					Mean ± SD	25,86%
K2.1	54,8%	50,8%	52,7%	52,3%	54,5%	53,06%
K2.2	53,0%	53,1%	54,8%	52,0%	53,8%	53,34%
K2.3	49,0%	53,1%	49,1%	50,6%	55,0%	51,36%
K2.4	51,4%	52,7%	53,6%	50,2%	54,9%	52,56%
K2.6	52,0%	51,2%	52,3%	50,3%	49,6%	51,08%
K2.7	53,1%	53,3%	51,6%	51,6%	53,4%	52,60%
					Mean ± SD	52,33%
P1.1	37,6%	38,6%	40,1%	37,5%	37,4%	38,24%
P1.2	40,9%	45,1%	36,8%	43,6%	35,1%	40,30%
P1.3	39,7%	37,9%	38,1%	39,0%	38,8%	38,70%
P1.4	37,5%	37,0%	41,8%	46,6%	45,9%	41,76%
P1.5	37,5%	40,0%	37,7%	43,0%	39,4%	39,52%
P1.6	40,2%	37,5%	44,6%	35,4%	41,4%	39,82%
					Mean ± SD	39,72%
P2.1	32,4%	35,1%	36,0%	35,3%	33,0%	34,36%
P2.2	34,0%	32,3%	36,3%	34,5%	32,1%	33,84%
P2.3	30,7%	36,9%	36,8%	36,8%	34,0%	36,06%
P2.6	34,2%	29,6%	35,8%	36,8%	34,6%	34,20%
P2.7	30,7%	32,2%	34,5%	37,1%	36,6%	34,22%
P2.8	34,6%	35,1%	35,4%	35,7%	35,1%	35,18%
					Mean ± SD	34,47%
P3.1	32,5%	32,6%	32,4%	32,7%	32,3%	32,50%
P3.3	32,1%	32,5%	32,9%	32,0%	33,0%	32,48%
P3.5	32,7%	32,3%	32,5%	32,5%	32,6%	31,98%
P3.6	32,9%	32,0%	33,0%	32,5%	32,1%	32,18%
P3.7	32,3%	32,6%	32,4%	32,7%	32,5%	32,56%
P3.8	32,5%	32,9%	32,0%	33,0%	32,1%	32,14%
					Mean ± SD	32,30%

Lampiran 4.2 Analisis Uji Normalitas Gambaran Histologi Hepar Tikus

Tests of Normality

Kelompok_Uji	Kolmogorov-Smirnov ^a			Shapiro-Wilk		
	Statistic	df	Sig.	Statistic	df	
Hasil_Preparat	Kelompok Negatif	.175	6	.200*	.969	6
	Kelompok Positif	.265	6	.200*	.894	6
	Dosis 1	.155	6	.200*	.964	6
	Dosis 2	.254	6	.200*	.891	6
	Dosis 3	.276	6	.169	.880	6

Lampiran 4.3 Analisis Uji Homogenitas Gambaran Histologi Hepar Tikus

Test of Homogeneity of Variances

		Levene Statistic	df1	df2	Sig.
Hasil_Preparat	Based on Mean	3.327	4	25	.026
	Based on Median	2.330	4	25	.084
	Based on Median and with adjusted df	2.330	4	13.211	.110
	Based on trimmed mean	3.274	4	25	.027

Lampiran 4.4 Analisis Uji *One-Way ANOVA* Gambaran Histologi Hepar Tikus

ANOVA

Hasil_Preparat

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	2369.044	4	592.261	1042.932	.000
Within Groups	14.197	25	.568		
Total	2383.241	29			

Lampiran 4.5 HSD Uji *Post Hoc* Tukey Gambaran Histologi Jantung Tikus

Multiple Comparisons

Dependent Variable: Hasil_Preparat

	(I) Kelompok_Uji	(J) Kelompok_Uji	Mean Difference (I-J)	Std. Error	Sig.
Tukey HSD	Kelompok Negatif	Kelompok Positif	-26.46667 [*]	.43508	.000
		Dosis 1	-13.85667 [*]	.43508	.000
		Dosis 2	-8.61000 [*]	.43508	.000
		Dosis 3	-6.44167 [*]	.43508	.000
	Kelompok Positif	Kelompok Negatif	26.46667 [*]	.43508	.000
		Dosis 1	12.61000 [*]	.43508	.000
		Dosis 2	17.85667 [*]	.43508	.000
		Dosis 3	20.02500 [*]	.43508	.000
	Dosis 1	Kelompok Negatif	13.85667 [*]	.43508	.000
		Kelompok Positif	-12.61000 [*]	.43508	.000
		Dosis 2	5.24667 [*]	.43508	.000
		Dosis 3	7.41500 [*]	.43508	.000
	Dosis 2	Kelompok Negatif	8.61000 [*]	.43508	.000
		Kelompok Positif	-17.85667 [*]	.43508	.000
		Dosis 1	-5.24667 [*]	.43508	.000
		Dosis 3	2.16833 [*]	.43508	.000
	Dosis 3	Kelompok Negatif	6.44167 [*]	.43508	.000
		Kelompok Positif	-20.02500 [*]	.43508	.000
		Dosis 1	-7.41500 [*]	.43508	.000
		Dosis 2	-2.16833 [*]	.43508	.000