

**UJI EFEKTIVITAS EKSTRAK ETANOL DAUN LOBAK
(*RAPHANUS SATIVUS L.*) TERHADAP PENCEGAHAN
PENINGKATAN KADAR UREUM SERUM PADA TIKUS *GALUR
WISTAR* YANG DIINDUKSI DIABETES MELITUS TIPE 2**

Proposal Karya Tulis Ilmiah
Sebagai Syarat Memperoleh Derajat Sarjana Kedokteran
Universitas Islam Indonesia

Program Studi Kedokteran Program Sarjana



oleh :

SENIGI OKTARIO PUTRA

16711041

**FAKULTAS KEDOKTERAN
UNIVERSITAS ISLAM INDONESIA
YOGYAKARTA**

2020

**TEST EFFECT OF RADISH LEAF ETHANOL EXTRACT (RAPHANUS
SATIVUS L.) TOWARD PREVENTION OF SERUM UREUM LEVEL
INCREASEMENTS IN STREPTOZOTOCIN-NICOTINAMIDE INDUCED
TYPE II DIABETIC RATS**

A Scientific Paper
Submitted as Fulfillment
to Obtain the Medical Degree

Undergraduate Program of Medicine



By:

SENIGI OKTARIO PUTRA

16711041

**FACULTY OF MEDICINE
ISLAMIC UNIVERSITY OF INDONESIA**

YOGYAKARTA

2020

LEMBAR PENGESAHAN KARYA TULIS ILMIAH
UJI EFEKTIVITAS EKSTRAK ETANOL DAUN LOBAK
(*RAPHANUS SATIVUS L.*) TERHADAP PENCEGAHAN
PENINGKATAN KADAR UREUM SERUM PADA TIKUS GALUR
WISTAR YANG DIINDUKSI DIABETES MELITUS TIPE 2

Disusun dan diajukan oleh:

Senigi Oktario Putra

16711041

Telah diseminarkan tanggal: 15 Mei 2020

dan telah disetujui oleh:

Penguji

Dr. dr. Isnatin Miladiyah, M. Kes

NIK 017110409

Ketua Program Studi Kedokteran Program Sarjana

Pembimbing

dr. Asri Hendrawati, M.Sc.

NIK 097110416

dr. Umatul Khoiriyah, M.Med.Ed, PhD

NIK 047110101

Disahkan

Dekan



dr. Linda Rosita, M. Kes, Sp.PK

NIK 017110102

DAFTAR ISI

HALAMAN JUDUL	i
HALAMAN PENGESAHAN.....	ii
DAFTAR ISI.....	iii
DAFTAR TABEL.....	v
DAFTAR GAMBAR.....	vi
DAFTAR LAMPIRAN.....	vii
HALAMAN PERNYATAAN.....	viii
KATA PENGANTAR.....	ix
INTISARI.....	xi
ABSTRACT.....	xii
BAB I. PENDAHULUAN.....	1
1.1. Latar Belakang.....	1
1.2. Rumusan Masalah.....	3
1.3. Tujuan Penelitian.....	3
1.4. Keaslian Penelitian.....	3
1.5. Manfaat Penelitian.....	4
BAB II. TINJAUAN PUSTAKA.....	6
2.1. Telaah Pustaka.....	6
2.1.1. Diabetes Melitus Tipe 2.....	6
2.1.2. Nefropati Diabetes.....	6
2.1.3. Ureum Serum.....	9
2.1.4 Pengobatan ND.....	9

2.1.5 Daun Lobak.....	10
2.2. Kerangka Teori	11
2.3. Kerangka Konsep.....	12
2.4. Hipotesis... ..	12
BAB III. METODE PENELITIAN	13
3.1. Jenis dan Rancangan Penelitian	13
3.2. Waktu dan Tempat Penelitian.....	13
3.3. Subjek Penelitian	13
3.4. Identifikasi Variabel.....	14
3.5. Definisi Operasional.....	14
3.6. Instrumen Penelitian.....	15
3.7. Alur Penelitian.....	16
3.8. Pengolahan dan Analisis Data.....	19
3.9. Etika Penelitian.....	20
BAB IV HASIL DAN PEMBAHASAN.....	21
4.1 Hasil Penelitian.....	21
4.2 Pembahasan.....	23
BAB V KESIMPULAN DAN SARAN.....	28
5.1 Kesimpulan.....	28
5.2 Saran.....	28
DAFTAR PUSTAKA.....	29

DAFTAR TABEL

Tabel 1. Referensi Penelitian	3
Tabel 2. Hasil nilai rata-rata kadar ureum serum darah tikus.....	22
Tabel 3. Hasil uji <i>Post Hoc Bonferoni</i> test kadar ureum serum darah tikus.....	22



DAFTAR GAMBAR

Gambar 1. Ringkasan Jalur Patologis ND.....	7
Gambar 2. Kerangka Teori.....	11
Gambar 3. Kerangka Konsep.....	12
Gambar 4. Alur Penelitian	19



DAFTAR LAMPIRAN

LAMPIRAN 1. Hasil Analisis Data	32
LAMPIRAN 2. Surat Keterangan Lolos Kaji Etik.	35



HALAMAN PERNYATAAN

Dengan ini saya menyatakan bahwa Karya Tulis Ilmiah ini tidak terdapat karya yang pernah diajukan untuk memperoleh gelar kesarjanaan di suatu perguruan tinggi dan sepanjang pengetahuan saya juga tidak terdapat karya atau pendapat yang pernah dituliskan atau diterbitkan oleh orang lain, kecuali yang secara tertulis diacu dalam naskah ini dan disebutkan dalam daftar pustaka.



Yogyakarta, Mei 2020



Senigi Oktario Putra

KATA PENGANTAR

Bismillahirrahmanirrahim

Assalamu'alaikum Warahmatullahi Wabarakatuh

Alhamdulillahirobilalamin, Puji syukur penulis panjatkan atas kehadiran Allah SWT yang telah melimpahkan rahmat dan karunia-Nya sehingga karya tulis ilmiah dengan judul "Uji Efektivitas Ekstrak Etanol Daun Lobak (*Raphanus Sativus L.*) terhadap Kadar Ureum Serum Pada Tikus Galur Wistar Yang Diinduksi Diabetes Melitus Tipe 2" dapat terselesaikan dengan baik pada waktu yang tepat. Shalawat serta salam semoga selalu tercurahkan kepada Nabi Muhammad SAW yang telah membawa umatnya dari zaman jahiliyah menuju zaman penuh rahmat seperti saat ini.

Karya tulis ilmiah ini merupakan sebuah syarat untuk memperoleh derajat sarjana kedokteran di Fakultas Kedokteran Universitas Islam Indonesia. Selama proses penyusunan dan penelitian karya tulis ilmiah ini, penulis mendapatkan banyak sekali bantuan, doa, dan dukungan dari orang-orang tercinta dan pihak-pihak terkait dalam karya tulis ilmiah ini. Oleh sebab itu, penulis ingin menyampaikan ucapan terima kasih yang luar biasa kepada:

1. dr. Linda Rosita, M.Kes., Sp.PK selaku Dekan Fakultas Kedokteran Universitas Islam Indonesia.
2. dr. Asri Hendrawati, M.Sc. selaku dosen pembimbing utama yang selalu menemani dengan sabar, meluangkan waktunya untuk memberikan dukungan, saran, kritik, dan motivasi untuk penulis di setiap bimbingan agar penulis selalu bersemangat dalam menyusun karya tulis ilmiah ini
3. Dr. dr. Isnatin Miladiyah, M. Kes selaku dosen penguji yang bersedia membantu dan memberikan arahan bagi penulis agar karya tulis ilmiah ini berjalan dengan lancar.
4. dr. Umatul Khoiriyah, M.Med.Ed, Ph.D selaku Ketua Program Studi Pendidikan Dokter Fakultas Kedokteran Universitas Islam Indonesia.
5. Kedua orang tua penulis dan kakak tercinta, Bapak Utariono, Ibu Leni Rohaeningsih, Raditya Utari Putra Pratama yang telah memberikan pengorbanan, dukungan, dan doa yang *insyaAllah* senantiasa mengiringi penulis selama masa studi di Fakultas Kedokteran hingga penulis dapat menyelesaikan KTI ini.

6. Pihak laboratorium fisiologi dan laboratorium riset FK UII, terutama Mbak Dita dan Mas Angkit, serta LPPT UGM atas bantuannya selama penelitian
7. Seluruh dosen dan karyawan Fakultas Kedokteran Universitas Islam Indonesia yang telah membantu penulis dalam menimba ilmu sebagai mahasiswa.
8. Teman dan sahabat penelitian daun lobak yaitu Satria Bintang Mahatma, Rofiq Amirul Rusli, Widyo Utomo Nugroho, Aulia Rahma, Almas Tanuhita Dilanty, Audina Dhiya Nabila, Arum Virya Jenola yang telah menemani, memberi dukungan, saling membantu dalam menyelesaikan penelitian ini.
9. Sahabat penulis yaitu, Yuda Ari Dirgantara, Oksa Wisnu Pradana, Dewanto Wicaksono, Pramudya Diva Maulana, Muhammad Yusuf Rahmawan, Dhimas Aji Wicaksono, Diko Koestantyo, Alvyana Nikmatur Rahmah, Fara Amalia Putri, Firdha Khoirunikmah, Lilia Nur Rahmawati Suprpto, Diajeng Salsabila Kanae, Muhammad Fariz, Ilham Amien yang selalu menemani, memberi semangat dan memotivasi penulis untuk menyelesaikan karya tulis ini.
10. Teman-teman Acasha FK UII 2016 yang telah menemani penulis menempuh pendidikan preklinik.
11. Seluruh pihak terkait yang membantu menyelesaikan karya tulis ini.

Penulis menyadari bahwa karya tulis ini masih sangat jauh dari kata sempurna, masih terdapat banyak kekurangan. Oleh karena itu, dengan segenap kerendahan hati, penulis mengharapkan kritik dan saran yang membangun demi kesempurnaan karya tulis ilmiah ini. Penulis berharap semoga karya tulis ini dapat bermanfaat bagi setiap pembacanya.

Wassalamu'alaikum Warahmatullahi Wabarakatuh

Yogyakarta, Mei 2020



Penulis

Senigi Oktario Putra

UJI EFEKTIVITAS EKSTRAK ETANOL DAUN LOBAK (*RAPHANUS SATIVUS L.*) TERHADAP PENCEGAHAN PENINGKATAN KADAR UREUM SERUM PADA TIKUS GALUR WISTAR YANG DIINDUKSI DIABETES MELITUS TIPE 2
Senigi Oktario Putra¹, Asri Hendrawati²

¹Mahasiswa Pendidikan Dokter Fakultas Kedokteran Universitas Islam Indonesia

²Departemen Biokimia Fakultas Kedokteran Universitas Islam Indonesia

16711041@students.uii.ac.id

INTISARI

Latar Belakang: Diabetes melitus (DM) merupakan sindrom kelainan metabolik yang ditandai dengan hiperglikemia kronis. Secara umum, hampir 90 % prevalensi DM adalah DM tipe 2. Pada DM tipe-2 biasanya ditandai dengan resistensi insulin dan penurunan sensitivitas reseptor. Kondisi hiperglikemia kronis pada DM tipe 2 memicu pembentukan *Reactive Oxygen Species* (ROS) yang melebihi kapasitas antioksidan sehingga menyebabkan stress oksidatif pada jaringan yang akan menyebabkan berbagai komplikasi makrovaskular maupun mikrovaskular. Komplikasi mikrovaskular yang paling sering terjadi yaitu nefropati diabetik. Pada nefropati diabetik salah satu biomarker yang dapat diukur adalah ureum serum dimana biomarker ini jumlahnya akan meningkat ketika terjadi kondisi hiperglikemia dan hal ini berkorelasi dengan kerusakan ginjal. Daun lobak memiliki kandungan flavonoid yang memiliki efek antidiabetes dan antioksidan. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui efektivitas pemberian ekstrak etanol daun lobak terhadap pencegahan peningkatan ureum pada tikus yang diinduksi DM tipe 2.

Metode: Penelitian ini menggunakan metode *posttest only control group design* dengan menggun 15 tikus wistar jantan yang diinduksi DM tipe-2 dengan injeksi streptozotocin 60mg/KgBB-nicotinamide 120mg/KgBB. Tikus yang gula darah sewaktuanya lebih dari 200mg/dL kemudian dibagi menjadi 4 kelompok: K(-) menerima air putih, K(+) menerima glibenclamide 5 mg/KgBB/hari, P(I) dan P(II) yang masing-masing menerima ekstrak etanol daun lobak 100% dan 50%. Kadar ureum diukur dengan metode Urease-GLDH. Data dianalisis menggunakan *oneway anova dan saphiro-wilk* untuk menentukan perbedaan yang signifikan antar kelompok perlakuan

Hasil: Hasil penelitian menunjukkan rata-rata kadar ureum pada subjek penelitian dimulai dari rata-rata paling besar adalah kelompok K- (76,95mg/dl), diikuti kelompok P2 (43,40mg/dl), P1 (38,40mg/dl) dan K+ (34,50mg/dl). Hasil analisis data menunjukkan kelompok K-, K+, P1 dan P2 memberikan perbedaan hasil yang signifikan ($p=0,001$).

Kesimpulan: ekstrak etanol daun lobak efektif dalam mencegah peningkatan kadar ureum pada kelompok uji coba dibandingkan dengan kelompok kontrol negatif.

Kata kunci: daun lobak, DM tipe-2, kadar Ureum

TEST EFFECT OF RADISH LEAF ETHANOL EXTRACT (RAPHANUS SATIVUS L.) TOWARD PREVENTION OF SERUM UREUM LEVEL INCREASEMENTS IN STREPTOZOTOCIN-NICOTINAMIDE INDUCED DIABETIC RATS

Senigi Oktario Putra ¹, Asri Hendrawati ²

¹Medical Student, Faculty Medicine, Islamic University of Indonesia

²Departement of Biochemisty, Faculty Medicine, Islamic University of Indonesia

16711041@student.uii.ac.id

ABSTRACT

Background: Diabetes mellitus (DM) is a metabolic disorder syndrome characterized by chronic hyperglycemia. In general, almost 90% of the prevalence of DM is type 2 DM. Type 2 DM is usually characterized by insulin resistance and decreased receptor sensitivity. The condition of chronic hyperglycemia in type 2 DM triggers the formation of Reactive Oxygen Species (ROS) that exceeds antioxidant capacity, causing oxidative stress in tissues which will cause various macrovascular and microvascular complications. The most common microvascular complications are diabetic nephropathy. One of the biomarkers that can be considered is the serum ureum, while this biomarker will increase when hyperglycemia occurs and this is correlated with kidney damage. Radish leaves contain flavonoids which have antidiabetic and antioxidant effects. This study aims to determine the effectiveness of ethanol extract of radish leaves to prevent urea increase in mice induced by type 2 DM..

Method: This study uses a postest only control group design method using 16 male Wistar rats induced by type 2 DM using 60mg / KgBW-nicotinamide injection of streptozotocin 120 mg / KgBW. Mice that entered the DM criteria were then divided into 4 groups: K (-) received placebo, K (+) received glibenclamide 5 mg / KgBW / day, P (I) and P (II), each of which received radish leaf ethanol extract 100% and 50%. Ureum levels were measured by the Urease-GLDH. Data were analyzed using oneway ANOVA and Saphiro-Wilk to determine significant differences between treatment groups

Result: The results showed the average ureum levels in the study subjects starting from the largest average were the K- group (76.95 mg / dl), followed by the P2 group (43.40 mg / dl), P1 (38.40 mg / dl) and K + (34.50 mg / dl). The results of data analysis showed that the groups K-, K +, P1 and P2 gave significant differences in results ($p = 0.001$).

Conclusion: Ethanol extract of radish leaves was effective in preventing an increase in urea levels in the experimental group compared with the negative control group.

keyword : radish leaf, type 2 DM , Ureum

BAB I PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

Diabetes melitus (DM) merupakan penyakit metabolik yang ditandai dengan berbagai gejala seperti poliuri, polidipsi, polifagi, penurunan berat badan, gangguan penglihatan, kejang, dan lain-lain. Penyakit diabetes mellitus memiliki beberapa klasifikasi yaitu, diabetes mellitus tipe 1, diabetes tipe 2, diabetes tipe lainnya, dan diabetes gestational. Diabetes mellitus tipe-2 biasanya ditandai dengan resistensi insulin dan penurunan sensitivitas reseptor. Hiperglikemia kronis pada DM tipe 2 dapat menimbulkan ketidakseimbangan antara *Reactive Oxygen Species* (ROS) terhadap antioksidan yang dapat memicu terjadinya komplikasi yang berdampak ke berbagai organ. Beberapa organ yang dimaksud diantaranya adalah pankreas, hepar, renal, testis, retina, jantung, dan otak (Okur, Karantas, & Siafaka, 2017).

Data dari studi Riset Kesehatan Dasar (Riskesdas) yang diolah oleh pusat data dan informasi Kementerian Kesehatan pada tahun 2013 menunjukkan 12 juta dari 164 juta penduduk Indonesia yang berusia lebih dari 15 tahun mengalami hiperglikemia. Dari data tersebut, 6,9 % diklasifikasikan sebagai diabetes mellitus, 29,9% toleransi glukosa terganggu, dan 36,6 % sebagai glukosa darah puasa terganggu (Kementerian Kesehatan Republik Indonesia, 2014).

Kondisi hiperglikemik pada diabetes dapat menyebabkan komplikasi mikrovaskular pada ginjal atau biasa disebut dengan nefropati diabetik. Nefropati diabetik mempengaruhi 30% dari semua penderita diabetes dan merupakan penyebab utama penyakit ginjal tahap akhir. Pada nefropati diabetik salah satu biomarker yang dapat diukur adalah ureum serum, biomarker ini jumlahnya akan meningkat ketika terjadi kondisi hiperglikemia dan hal ini berkorelasi dengan kerusakan ginjal (Bamanikar, Bamanikar and Arora, 2016).

Terdapat berbagai teori yang berkontribusi terhadap kerusakan ginjal pada kondisi DM seperti peningkatan produk glikosilasi non enzimatis, peningkatan jalur poliol, glukotoksisitas, dan protein kinase-C. Hal tersebut menyebabkan terjadinya proliferasi sel-sel mesangium pada

membrane basalis glomerulus sehingga hal ini dapat menyebabkan glomerulosklerosis dan menurunnya aliran darah. Hal ini menyebabkan perubahan permeabilitas membran basalis glomerulus (Sari and Hisyam, 2014).

Penyakit DM masih membutuhkan penanganan yang cukup serius. Pemberian metformin dan glipizide merupakan salah satu penanganan yang diberikan kepada penderita DM, akan tetapi terdapat beberapa kendala dari pemberian obat dikarenakan efek samping seperti toksisitas hepar dan harganya yang mahal (Okur, Karantas, & Siafaka, 2017). Selain itu, obat-obat antihiperlipidemia yang digunakan untuk menurunkan kadar glukosa darah masih kurang efektif untuk menurunkan stress oksidatif (Hendrawati dan Winardi, 2017). Oleh karena itu diperlukan inovasi yang dapat digunakan fitofarmaka sebagai alternatif untuk menangani DM, misalnya dengan memanfaatkan bahan-bahan herbal.

Dalam beberapa penelitian, telah ditemukan tanaman yang memiliki efek antidiabetik salah satunya adalah daun lobak. Daun lobak memiliki kandungan flavonoid yang melimpah. Menurut studi yang dilakukan Panche, Diwan, dan Chandra (2016), flavonoid adalah sekelompok substansi alami yang memiliki struktur fenolik yang dapat ditemukan di buah-buahan, sayuran, biji-bijian, akar, batang, dan bunga serta memiliki beberapa fungsi seperti antioksidan, menurunkan tekanan darah, dan menurunkan kadar glukosa darah. Subkelas flavonoid yang terkandung di daun lobak meliputi kuersetin, pelargonidin, dan kaempferol. Kuersetin memiliki fungsi sebagai antioksidan, antiresistensi antibiotik, antihipertensi, dan juga memiliki fungsi sebagai antidiabetik. Pelargonidin berfungsi untuk menurunkan adipokin resistin dan leptin yang terlibat dalam kejadian penyakit metabolik seperti DM tipe 2 (Banihani, 2017). Kaempferol dapat berfungsi sebagai regulator homeostasis glukosa darah (Moore, 2017 & Banihani, 2017). Studi ini perlu dilakukan untuk mengetahui efektivitas ekstrak etanol daun lobak sebagai fungsi protektif terhadap nefropati diabetik dengan melakukan pengujian kadar biomarker ureum serum tikus. Pengukuran ureum umumnya memberi informasi yang lebih tepat tentang fungsi ginjal dan kemungkinan penyebab mendasarnya dibandingkan dengan kadar kreatinin saja.

1.2 Perumusan Masalah

Bagaimanakah efektivitas ekstrak etanol daun lobak (*Raphanus sativus L.*) terhadap kadar serum ureum pada tikus?

1.3 Tujuan Penelitian

Untuk mengetahui efektivitas ekstrak daun lobak (*Raphanus sativus L.*) terhadap kadar ureum serum pada tikus Galur wistar yang diinduksi DM tipe 2.

1.4 Keaslian Penelitian

Penelitian ini mengacu pada referensi berikut:

No	Nama Peneliti / Judul Penelitian Tahun	Hasil / Penelitian	Persamaan	Perbedaan Penelitian Terdahulu	Perbedaan Penelitian yang akan dilakukan
1.	Macharla <i>et al.</i> (2012) “ <i>Antidiabetic activity of Rephanus Sativus L, leaves extracts on Alloxan induced diabetic rats</i> ”	Pemberian ekstrak aqueous daun lobak terbukti menurunkan kadar glukosa tikus	Subyek penelitian: tikus Galur wistar Variabel bebas: daun lobak	Variabel terikat: kadar glukosa Induksi DM: Alloxan	Variabel terikat: Ureum serum Induksi DM: Streptozocin dan nicotinamide
2.	Lai <i>et al.</i> (2012) “ <i>Quercetin Ameliorates Diabetic Nephropathy by Reducing the Expressions of Transforming Growth Factor-β1 and Connective Tissue Growth Factor in Streptozocin-Induced Diabetic Rats</i> ”	Pemberian quersetin dapat memperbaiki fungsi renal dengan inhibisi TGF--β1 dan CTGF di ginjal	Subjek penelitian: tikus yang diinduksi diabetes nefropatik	Variabel bebas: Quersetin Variabel terikat: kadar glukosa plasma, berat badan, albumin urine, serum kreatinin, serum ureum Induksi DM: Streptozocin	Variabel bebas: ekstrak etanol daun lobak Variabel terikat: ureum serum Induksi DM: Streptozocin dan nicotinamide
3.	Luo <i>et al.</i> (2018) <i>Protective effects of</i>	Pemberian ekstrak daun	Variabel bebas: daun	Variabel terikat:	Variabel terikat:

<i>radish (Raphanus sativus L.) leaves extract against hydrogen peroxide-induced oxidative damage in human fetal lung fibroblast (MRC-5) cells</i>	lobak terbukti menurunkan kadar MDA	lobak	kadar MDA dan ROS	Ureum serum
	melemahkan peningkatan ROS		Subyek penelitian: sel fibroblast paru-paru manusia (sel MRC-5)	Induksi DM: Streptozocin dan nicotinamide
				Subyek penelitian: Tikus galur wistar

Tabel 1. Referensi Penelitian

1.5 Manfaat Penelitian

1. Bagi Institusi

Memajukan Universitas Islam Indonesia dan Fakultas Kedokteran Universitas Islam Indonesia dengan mempublikasikan hasil penelitian.

Melengkapi data kepustakaan tentang efektivitas ekstrak daun lobak (*Raphanus sativus L.*) dalam menurunkan serum ureum pada tikus Galur wistar yang diinduksi diabetes melitus tipe 2.

2. Bagi Peneliti

Menambah ilmu pengetahuan dan wawasan penulis dalam menerapkan ilmu yang diperoleh selama perkuliahan.

Menambah pengetahuan tentang efektivitas ekstrak daun lobak (*Raphanus sativus L.*) dalam menurunkan serum ureum pada tikus Galur wistar yang diinduksi diabetes melitus tipe 2.

3. Bagi Kemajuan Ilmu Kedokteran

Menambah informasi tentang efektivitas ekstrak daun lobak (*Raphanus sativus L.*) dalam menurunkan serum ureum pada tikus Galur wistar yang diinduksi diabetes melitus tipe 2.

Memberikan landasan ilmiah mengenai manfaat ekstrak daun lobak, terutama dalam menurunkan kadar serum ureum.

4. Bagi Peneliti Lain

Melengkapi dan menyumbang data tentang efektivitas ekstrak daun lobak (*Raphanus sativus L.*) dalam menurunkan serum ureum pada tikus yang diinduksi diabetes melitus tipe 2.

BAB II. Tinjauan Pustaka

2.1 Telaah Pustaka

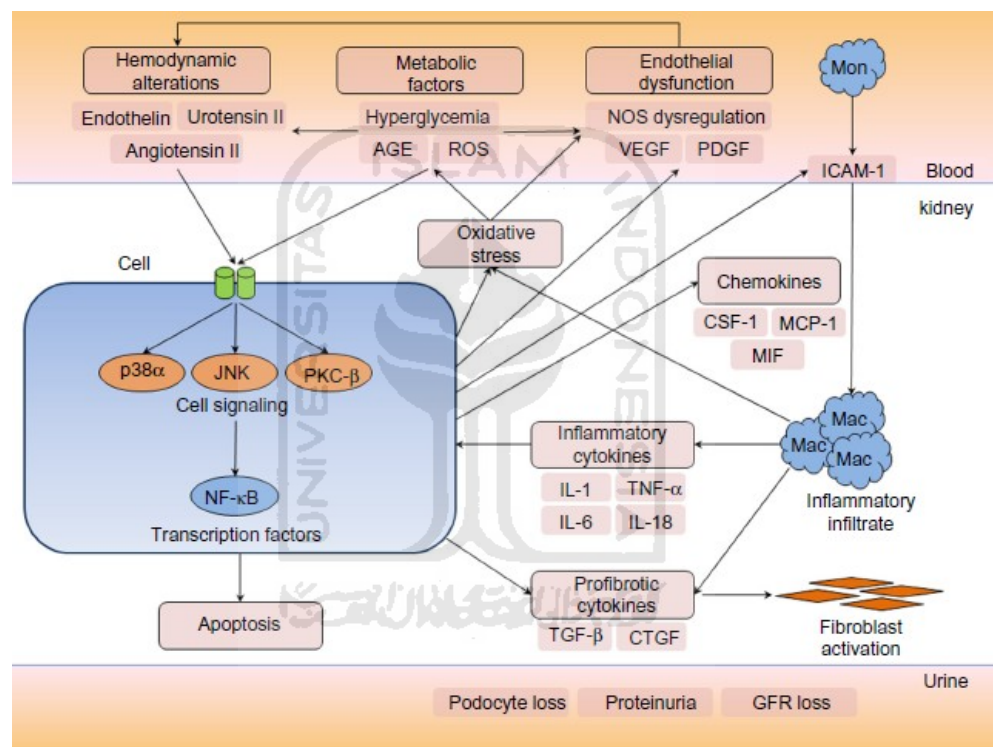
2.1.1 Diabetes Melitus Tipe 2

Diabetes mellitus tipe 2 merupakan sebuah kondisi yang dapat menimbulkan hiperglikemia dengan cara resistensi insulin dan kerusakan fungsi dari sel beta pankreas (Okur, Karantas, & Siafaka, 2017). Diabetes mellitus tipe 2 merupakan tipe diabetes yang prevalensinya paling besar, yaitu 90% dari kasus diabetes melitus (Kishore, Kajal, & Kaur, 2017). Obesitas merupakan salah satu faktor risiko yang dapat menyebabkan terjadinya resistensi insulin dengan cara memicu pelepasan sitokin proinflamasi karena meningkatnya asam lemak bebas dalam darah. Apabila sitokin proinflamasi tersebut berikatan dengan reseptor sel target maka hal ini akan mengakibatkan menurunnya sensitivitas reseptor insulin. Jika hal ini terus berlanjut maka akan terjadi resistensi insulin (Zang *et. Al.* 2015). Resistansi insulin yang konstan akan berkembang menjadi diabetes melitus tipe 2 ketika sel beta tidak dapat mensekresi jumlah insulin yang adekuat sebagai kompensasi penurunan sensitivitas insulin yang sebagian besar disebabkan oleh disfungsi sekresi dan kehilangan sel beta fungsional yang signifikan (Alkhalidy *et. al.*, 2015). Kerusakan parsial dari sel beta pankreas pada diabetes mellitus tipe 2 dapat menimbulkan defisiensi insulin relative. Apabila penyakit diabetes mellitus tidak segera ditangani maka hal ini akan berdampak pada organ-organ lainnya. Salah satu organ yang dapat terkena dampak dari komplikasi dari diabetes mellitus adalah organ ginjal, komplikasi ini disebut juga dengan nefropati diabetik (Cao and Cooper, 2011).

2.1.2 Nefropati Diabetika

Nefropati diabetik (ND) adalah suatu sindrom yang ditandai dengan peningkatan patologis dari ekskresi albumin urin, lesi glomerulus diabetik, dan menurunnya laju filtrasi glomerulus (GFR) pada penderita diabetes. Nefropati Diabetes ditandai dengan perubahan struktural dan fungsional. Pada glomerulus terdapat ekspansi mesangial, penebalan membran basal, dan glomerulosklerosis nodular (nodul Kimmelstiel-Wilson). Pada ND awal, terdapat hipertrofi tubular tetapi akhirnya

berkembang menjadi fibrosis interstitial dengan atrofi tubular, bersama dengan hyalinosis arteriolar. Secara ultrastruktural, terdapat kerusakan podosit dan penurunan fenestrasi sel endotel (Lim, 2014). Pathogenesis dan progresi dari ND adalah hasil dari interaksi antara jalur metabolik dan jalur hemodinamika yang terganggu ketika seseorang mengalami diabetes. Abnormalitas jalur hemodinamika dan metabolik diduga berinteraksi satu sama lain dan membentuk jalur yang membentuk reaktif oksigen spesies (ROS)(Cao and Cooper, 2011).



Gambar 1. Ringkasan jalur patologis DN (Lim, 2014)

Salah satu faktor yang mempengaruhi ND adalah jalur hemodinamika dimana terdapat ketidakseimbangan dalam resistensi arteriolar aferen dan eferen yang mengakibatkan peningkatan tekanan hidrostatik glomerulus dan hiperfiltrasi. Aktivasi *Renin-Angiotensin System* (RAS) meningkatkan kadar angiotensin II, yang mengarah ke vasokonstriksi arteriolar eferen dan produksi molekul proinflamasi dan profibrotik melalui berbagai mekanisme. Peningkatan kadar endotelin-1 dan urotensin II juga berkontribusi terhadap vasokonstriksi. Berbagai disregulasi oksida nitrat dan oksida nitrat sintase telah dijelaskan dalam

ND. Nitrit oksida memediasi vasodilatasi dependen endotelium, dan dibentuk dari L-arginin oleh nitrat oksida sintase endotel (Lim, 2014).

Pada ND, efek metabolik dari hiperglikemia yang berkepanjangan adalah produksi *Advance Glycation End-product* (AGE). Pada hiperglikemia glukosa berlebih akan mengikat asam amino dalam darah atau protein jaringan dan akhirnya mengarah pada produksi AGE. AGE mengikat kolagen dan menyebabkan komplikasi mikrovaskular dan komplikasi ginjal. Hiperglikemia jangka panjang menyebabkan perubahan struktural pada beberapa protein sehingga aktivitas biologis dari senyawa baru ini tinggi (Shahbazian and Rezaii, 2013). Pembentukan produk AGE ini dapat menyebabkan perubahan struktur dan fungsi protein, stres oksidatif, dan ekspresi sitokin proinflamasi serta faktor pertumbuhan. Stres oksidatif dapat berfungsi sebagai sinyal untuk mengaktifkan jalur seperti phosphokinase C (PKC), MAPK dan NF- κ B. Aktivasi jalur poliol, dengan aldosa reduktase mengubah kelebihan glukosa menjadi sorbitol, dan konversi selanjutnya menjadi fruktosa oleh sorbitol dehidrogenase berkontribusi terhadap stres oksidatif dengan meningkatkan rasio NADH / NAD⁺ (Lim, 2014).

Dalam keadaan diabetes, gangguan metabolisme dan perubahan hemodinamik, khususnya aktivasi sistem renin-angiotensin, memicu sejumlah kaskade pensinyalan sel, termasuk MAPK (p38 dan JNK) dan PKC- β , yang memediasi respons seluler melalui aktivasi faktor transkripsi seperti NF- κ B. Menanggapi sinyal tersebut, sel-sel ginjal seperti sel epitel tubular, podosit, dan sel mesangial dapat menghasilkan kemokin, faktor pertumbuhan, dan sitokin profibrotik. CSF-1 dan MCP-1 berfungsi sebagai molekul kemotaksis dan menyebabkan rekrutmen monosit dari sirkulasi. Peningkatan ICAM-1 pada sel endotel, molekul adhesi leukosit, memfasilitasi infiltrasi sel mononuklear dari sirkulasi ke dalam ginjal. CSF-1 juga menyebabkan diferensiasi, proliferasi, dan aktivasi makrofag. MIF berfungsi untuk mempertahankan makrofag di lokasi peradangan. Makrofag yang diaktifkan dapat menghasilkan sitokin proinflamasi dan profibrotik, ROS, dan faktor antiangiogenik dan berkontribusi terhadap siklus peradangan, stres oksidatif, cedera seluler, fibrosis progresif, dan

hilangnya laju filtrasi glomerulus. Kerusakan podosit, disfungsi endotel, perubahan dalam membrane basal glomerulus, dan cedera tubular berkontribusi terhadap peningkatan proteinuria dan perkembangan diabetes nefropati(Lim, 2014).

2.1.3 Ureum Serum

Ureum merupakan produk buangan yang terbentuk di hati ketika protein dimetabolisme. Ureum dilepaskan ke dalam darah dan disaring melalui ginjal yang sehat dan diekskresikan dalam urin. Ureum serum merupakan tes darah yang memberikan indikasi fungsi dari ginjal(Campion, Sanchez-ferras and Batchu, 2017). Pada penyakit ginjal, substansi ini tidak diekskresi secara normal sehingga ureum akan terakumulasi di dalam tubuh dan menyebabkan peningkatan level ureum darah. Jumlah kadar normal dari ureum serum adalah 17-43 mg/dL (Dabla, 2010; Santhi *et al.*, 2015). Dalam studi yang dilakukan Sirivole dan Eturi (2017), hasil dari studi menunjukkan bahwa peningkatan jumlah ureum pada pasien diabetes dapat mengindikasikan adanya masalah pre-renal. Studi tersebut menyatakan bahwa jumlah ureum meningkat ketika terdapat kerusakan pada ginjal ataupun ketika ginjal tidak berfungsi dengan baik. Dalam penelitian tersebut, peningkatan kadar ureum darah dengan peningkatan kadar gula darah menunjukkan bahwa tingginya kadar gula darah yang lama menyebabkan kerusakan pada ginjal. Pengukuran ureum bermanfaat untuk diagnosis awal kerusakan ginjal akut atau kronis. Pengukuran ureum umumnya memberi informasi yang lebih tepat tentang fungsi ginjal dan kemungkinan penyebab mendasarnya dibandingkan dengan kadar kreatinin saja (Campion, Sanchez-ferras and Batchu, 2017).

2.1.4 Pengobatan Nefropati Diabetes

Salah satu tatalaksana pengobatan dari DN adalah dengan kontrol ketat hiperglikemia. Penanganan dengan pemberian insulin dapat mencapai glukosa darah hingga kisaran yang hampir normal sehingga mengurangi perkembangan nefropati. Perawatan hiperglikemia dengan insulin menjaga proteinuria pada tingkat yang sama atau bahkan dapat mengurangi jumlahnya, meskipun efek ini tampak jelas setelah dua tahun

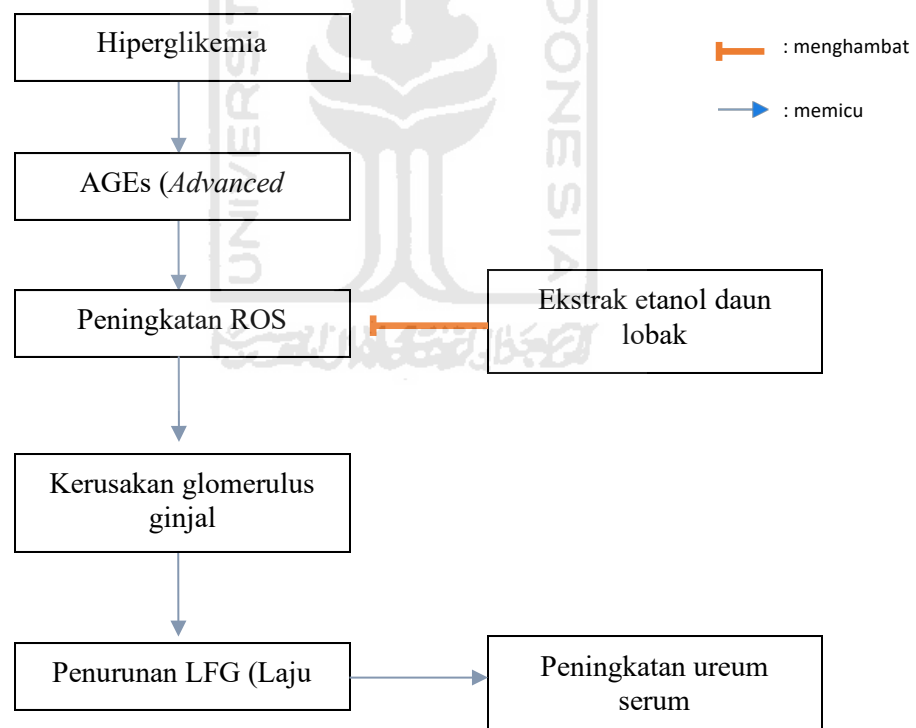
kontrol ketat glukosa darah (Shahbazian and Rezaii, 2013). Penggunaan obat-obat anti hiperglikemik seperti *biguanides* (*metformin*), *sulfonylureams* (*glibenclamide*), *thiazolidinediones* or *glitazones* (*pioglitazone*), *glucagon-like peptide-1 (GLP-1) agonists* (*exenatide* dan *liraglutide*), *amylin agonists* (*pramlintide*), *dipeptidyl peptidase four (DPP-4) inhibitors* (*sitagliptin*, *vildagliptin*, *saxagliptin*, *alogliptin*, dan *linagliptin*), *alpha-glucosidase inhibitors* (*acarbose*, *miglitol*, dan *voglibose*), *glinides* atau *meglitinides* (*repaglinide* dan *nateglinide*), *sodium-glucose cotransporter-2 inhibitors* (*canagliflozin* dan *dapagliflozin*) masih memiliki efek samping berupa toksisitas hepar, asidosis laktat, dan diare (Ghasemi, Khalifi, & Jedi, 2014).

2.1.5 Daun Lobak

Lobak (*Raphanus sativus* L.) merupakan family *cruciferae* dan memiliki warna yang berbeda-beda seperti merah, ungu, hitam, kuning, dan putih. Tanaman ini mengandung beragam senyawa seperti karbohidrat, serat, protein, glukosa, vitamin B, dan vitamin C serta senyawa utama yang berupa *4-(methylthio)-3-butenyl isothiocyanate*, *allyl isothiocyanate*, *benzyl isothiocyanate*, dan *phenethyl isothiocyanate* (Kim, Baskar, & Park, 2016). Tanaman ini juga dapat menangani berbagai penyakit seperti *jaundice*, *gallstone*, hepar, dan *prolapse* rektal karena didalam tanaman ini terdapat kandungan bioaktif seperti glukosinolat dan glukoserucin. Tanaman lobak juga mengandung substansi flavonoid, salah satu subclass flavonoid yang terkandung dalam tanaman lobak adalah kuersetin, kandungan kuersetin yang ada pada daun lobak, yaitu sekitar 70,37 mg/100 g (Beevi, Narasu, & Gowda, 2010). Kuersetin berfungsi sebagai antioksidan dan dapat digunakan untuk mengobati penyakit yang berhubungan dengan pembentukan *Reactive Oxygen Species* (ROS). Penyakit yang berhubungan dengan pembentukan ROS diantaranya adalah diabetes melitus, hipertensi, dislipidemia, inflamasi, dan imunitas (Panche, Diwan, and Chandra, 2016). Kandungan flavonoid lain yang ada dalam daun lobak adalah pelargonidin. Di dalam 100gram daun lobak terkandung 63,1gram *pelargonidin*. Fungsi *pelargonidin* sebagai antidiabetes diketahui melalui penurunan resistin dan leptin yang mana kedua substansi tersebut merupakan adipokin yang terlibat dalam

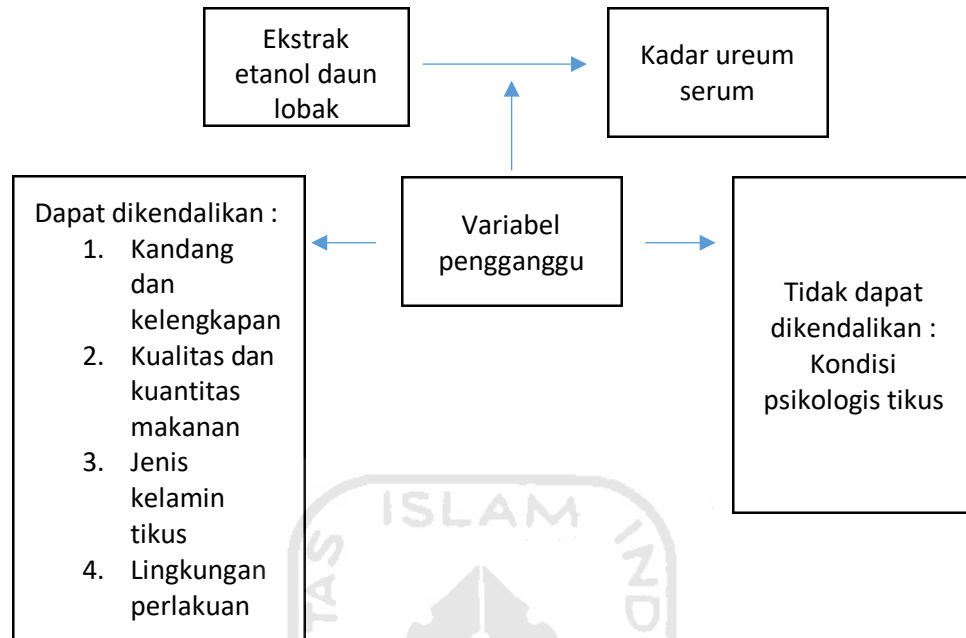
pengembangan penyakit metabolik seperti diabetes melitus tipe 2 (Banihani, 2017). Penelitian dari Forbes dan Hernández (2017) menunjukkan bahwa pelargonidin dapat meningkatkan keadaan reduksi-oksidasi sel HepG2 dengan cara menurunkan ROS dan meningkatkan enzim antioksidan sehingga penyakit metabolisme seperti diabetes melitus tipe 2 yang salah satu penyebabnya dikarenakan stress oksidatif dapat dicegah. Di dalam daun lobak juga terkandung kaempferol, senyawa ini diketahui dapat mengaktifasi AMPK (*5' adenosine monophosphate-activated protein kinase*). AMPK yang diaktivasi oleh *kaempferol* dapat meningkatkan ekspresi GLUT-4 dalam sel otot skeletal sehingga meningkatkan pengambilan glukosa (Moore, 2017).

2.2 Kerangka Teori



Gambar 2. Kerangka Teori

2.3 Kerangka Konsep



Gambar 3. Kerangka Konsep Penelitian

2.4 Hipotesis

Ekstrak etanol daun lobak efektif dalam mencegah peningkatan kadar ureum pada kelompok tikus uji coba model DM tipe 2 dibandingkan dengan kelompok kontrol.

BAB III. METODE PENELITIAN

3.1 Jenis dan Desain Penelitian

Penelitian ini merupakan penelitian *experimental* dengan *posttest only control group design*. Penelitian ini merupakan bagian dari penelitian besar kelompok mahasiswa.

3.2 Tempat dan Waktu Penelitian

Penelitian dilakukan di Laboraturium Riset untuk pembuatan ekstrak etanol daun lobak dan Laboratorium Penelitian dan Pengujian Terpadu Universitas Gadjah Mada untuk mengukur kadar ureum serum.

3.3 Subyek Penelitian

Populasi penelitian menggunakan tikus *Galur wistar* jantan yang dibeli dari Laboratorium Hewan Coba FK UII. Sampel penelitian diambil dari populasi penelitian yang memenuhi kriteria inklusi dan eksklusi. Kriteria inklusi antara lain meliputi tikus *Galur wistar* dengan berat 150-300 g, berumur 3-4 bulan, jantan, sehat tanpa cacat fisik, dan belum pernah digunakan untuk penelitian. Kriteria eksklusi meliputi tikus yang menunjukkan gerakan tidak aktif, tidak mau makan dan minum, menunjukkan perilaku abnormal seperti tampak lemah, tidak lincah, dan tampak agresif sebelum penelitian berlangsung, serta tikus mati selama perlakuan berlangsung.

Penentuan besar sampel ditentukan dengan menggunakan rumus Resource Equation yang dilakukan oleh Charan dan Kantharia (2013), yaitu:

$$E = N - T$$

Dimana E merupakan komponen eror yang digunakan untuk estimasi varian yang dianggap optimal apabila berada dalam rentang 10-20 dan nilai N merupakan jumlah unit eksperimen. Nilai T merupakan jumlah kelompok yang digunakan dalam penelitian. Penelitian ini menggunakan 4 kelompok perlakuan sehingga perhitungan sampel menjadi:

$$10-20 = (N-1) - (T-1)$$

$$10-20 = (N-1) - (4-1)$$

$$N = 14-24$$

Berdasarkan rumus tersebut jumlah sampel optimal yang digunakan dalam penelitian adalah 14-24 ekor hewan coba. Subjek penelitian dibagi

menjadi 4 kelompok yang terdiri dari kelompok kontrol negatif, kontrol positif, kelompok perlakuan 100%, dan kelompok perlakuan 50%.

3.4 Identifikasi Variabel

1. Variabel Bebas

Variabel bebas dalam penelitian ini adalah pemberian ekstrak etanol daun lobak dengan konsentrasi 50%, dan 100%

2. Variabel Terikat

Variabel terikat pada penelitian ini adalah kadar ureum serum pada tikus.

3. Variabel Pengganggu

Variabel pengganggu dalam penelitian dapat dibagi menjadi yang dapat dikendalikan dan tidak dapat dikendalikan. Variabel yang dapat dikendalikan adalah lingkungan, makanan dan minuman, sedangkan yang tidak dapat dikendalikan adalah aktifitas fisik dan stress pada tikus.

3.5 Definisi Operasional

a. Ekstrak Daun Lobak

Ekstrak daun lobak adalah hasil dari pengeringan daun lobak yang kemudian dihaluskan sehingga menjadi serbuk, setelah itu diberi larutan etanol untuk memisahkan kandungan flavonoid daun lobak dari zat lainnya. Pemberian larutan etanol pada serbuk daun lobak nantinya dibagi dalam beberapa konsentrasi dan diberikan ke beberapa kelompok tikus.

b. Tikus DM tipe 2

Tikus yang menunjukkan kadar gula darah sewaktu lebih dari 200 mg/dL, diukur dengan glukometer satu minggu setelah diinduksi dengan streptozocin 60mg/kgBB intraperitoneal dan nicotinamide 120mg/kgBB intraperitoneal (Hendrawati & Winardi, 2017).

c. Kadar ureum serum

Pengukuran kadar ureum serum menggunakan metode Urease-GLDH. Kadar ureum normal adalah 17-43 mg/dL. Kadar ureum dikatakan meningkat apabila dalam 28 hari penelitian diperoleh hasil kadar ureum yang lebih tinggi dari kadar normal ureum (17-43mg/dL).

3.6 Instrumen Penelitian

1. Pembuatan Ekstrak Daun Lobak

- Alat
 - a. Oven
 - b. Ayakan 65 mesh
 - c. Timbangan analitik
 - d. *Rotary evaporator*
 - e. Gelas kimia
 - f. Gelas ukur
 - g. Labu Erlenmeyer
 - h. Desikator
- Bahan
 - a. Daun Lobak
 - b. Etanol absolut
 - c. Air
 - d. Larutan Dimetil Sulfida (DMSO)

2. Penelitian pada Hewan Coba

- Alat
 - a. Neraca analitik Metler Toledo dengan tingkat ketelitian 0,01gram untuk menimbang berat tikus
 - b. Sonde
 - c. Pipa kapiler atau kapiler hematokrit
 - d. Tabung *Eppendorf* yang telah diberi EDTA
 - e. Kapas dan alkohol
 - f. Alat sentrifus
 - g. Spektrofotometer
 - h. Reagen Diasys Ureum FS monoreagen (dibuat dengan mencampurkan 4 bagian R1 dengan bagian R2 (20ml R1 + 5ml R2))
 - i. *Sample cup*
 - j. Kandang hewan dengan ukuran 15m³. Kandang terbuat dari kotak plastik, bagian dasarnya diberi kertas buram untuk mempermudah dalam membersihkan feses, dan ditutupi

dengan *bedding* kawat. Kandang hewan dibersihkan satu hari sekali. Tempat makan terbuat dari plastik dan diletakkan di dalam kandang. Tempat minum terbuat dari botol kaca yang digantung dengan ujungnya terbuat dari pipet yang ditancapkan pada tutup karet yang ujungnya dilubangi.

- Bahan
 - a. Hewan percobaan
 - b. Makanan hewan berupa pakan standar AD II *comfeed* dan minuman air putih biasa
 - c. Ekstrak daun lobak yang akan diberikan ke hewan coba per oral dengan konsentrasi yang berbeda di setiap kelompok perlakuan

3.7 Alur Penelitian

3.7.1 Pemeliharaan Hewan Percobaan

Tikus *Galur wistar* yang dibeli dari Laboratorium Hewan Coba FK UII dimasukkan ke dalam kandang hewan yang telah disiapkan dan diadaptasikan selama tujuh hari. Makanan dan minuman diberikan secara *ad libitum* (sesuai kebutuhan)

3.7.2 Induksi Diabetes Melitus tipe 2

Perlakuan untuk menginduksi timbulnya diabetes melitus tipe 2 pada tikus adalah dengan memberikan streptozotocin 60 mg/kgBB yang dilarutkan dalam 100 mM *cold citrate buffer* pada pH 4,5 secara intraperitoneal lalu 15 menit setelahnya diberi nicotinamide dengan dosis 120 mg/kgBB pada keempat kelompok tikus. Kadar glukosa darah sewaktu diukur 1 minggu setelah induksi dan tikus dengan kadar gula darah yang sesuai kriteria DM dimasukkan dalam perlakuan (Hendrawati & Winardi, 2017). Apabila setelah 1-3 minggu kadar gula darah sewaktu tikus belum meningkat lebih dari 200 mg/dL maka tikus akan diinduksi ulang.

3.7.3 Pembuatan Ekstrak Daun Lobak

a. Preparasi Sampel

Daun lobak sebanyak 5kg dicuci bersih, diiris tipis dan dikering-anginkan selama 1 minggu. Daun lobak yang sudah kering kemudian

digiling menggunakan blender hingga menjadi serbuk dan diayak menggunakan ayakan 65 mesh.

b. Ekstraksi Sampel

Ekstraksi sampel dilakukan melalui maserasi. Sampel serbuk daun lobak sebanyak 2 kg dimasukkan ke dalam gelas erlenmeyer lalu ditambah pelarut etanol absolut 4 liter hingga sampel terendam semuanya. Maserasi dilakukan selama 24 jam kemudian disaring. Filtrat diuapkan untuk menghilangkan pelarutnya menggunakan rotary evaporator setelah itu ekstrak yang telah bebas pelarut dikeringkan dalam oven dengan suhu 40°C untuk memperoleh ekstrak kering (Mondong, 2015). Ekstrak daun lobak konsentrasi 100% kemudian dibagi menjadi dua kelompok, kelompok pertama tetap dibuat konsentrasi 100% dan kelompok kedua diencerkan menggunakan larutan dimetil sulfoksida (DMSO) secara bertingkat sampai diperoleh konsentrasi 50%. Ekstrak etanol daun lobak 50% dan 100% yang sudah dalam bentuk cair kemudian diberikan ke tikus secara per oral sesuai kelompok perlakuan masing-masing dengan dosis 1-3 cc/hari.

3.7.4 Pembagian dan Pemberian Intervensi Kelompok Perlakuan

Tikus *Galur wistar* yang sudah memenuhi kriteria DM kemudian dimasukkan secara acak dan *blinded* ke dalam kelompok kontrol negatif yang diberi air putih biasa, kontrol positif yang diberi glibenclamide 5 mg/KgBB 1-3 cc/hari, perlakuan 1, dan perlakuan 2 yang masing-masing diberi ekstrak etanol daun lobak 100% dan 50% sebanyak 1-3 cc/hari. Metode yang digunakan untuk mengelompokkan hewan uji secara acak adalah undian menggunakan lotre dimana kandang tikus diberikan nomor 1-24. Tikus yang sudah memenuhi kriteria DM diambilkan nomor undian dan nomor yang keluar tersebut merupakan kandang tempat hewan uji akan diletakkan. Tikus yang mendapatkan undian nomor 1-6 akan dimasukkan ke dalam kelompok kontrol negatif, nomor 7-12 ke dalam kontrol positif, nomor 13-18 ke dalam kelompok perlakuan 1, dan nomor 19-24 ke dalam kelompok perlakuan 2. Hewan uji diberikan intervensi selama 28 hari dengan diberi makan dan minum serta perawatan kandang yang sama.

3.7.5 Pengujian Ekstrak Daun Lobak pada Tikus

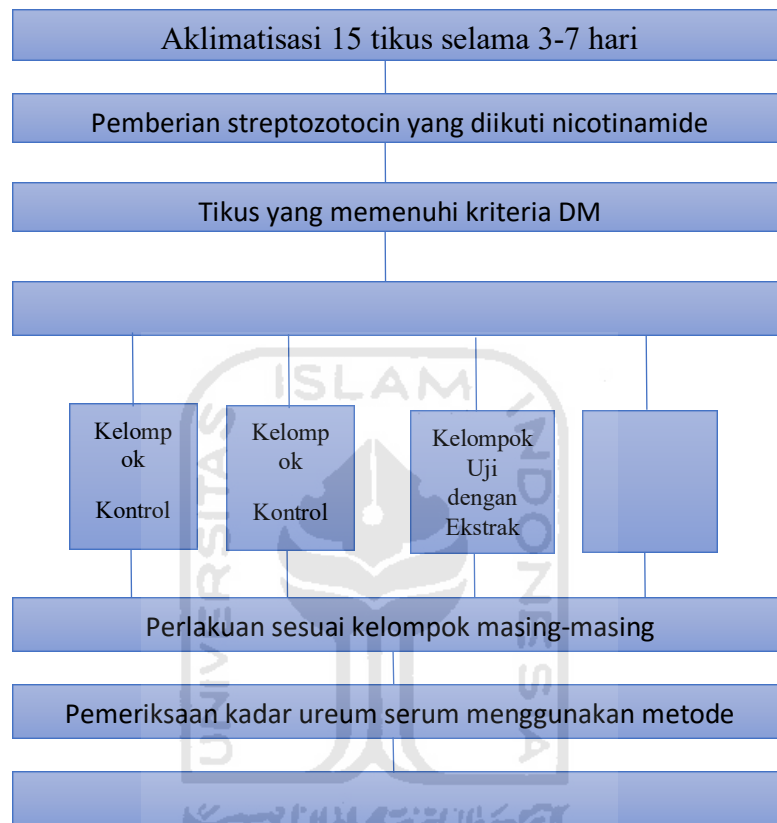
- a. Hewan percobaan kelompok 1 (kelompok kontrol negatif), tanpa diberi intervensi apapun.
- b. Hewan percobaan kelompok 2, (kelompok kontrol positif) diberi glibenclamide 5 mg/kgBB (agen hipoglikemi sintetis) sebanyak satu kali per hari selama 28 hari.
- c. Hewan percobaan kelompok 3 (kelompok perlakuan I), diberi ekstrak daun lobak dengan konsentrasi 100% per hari selama 28 hari.
- d. Hewan percobaan kelompok 4 (kelompok perlakuan II), diberi ekstrak daun lobak dengan konsentrasi 50% per hari selama 28 hari.
- e. Keempat kelompok tikus yang sudah diberi intervensi selama 28 hari kemudian diukur kadar GDS kembali. Pemeriksaan kadar ureum dilakukan dengan cara mengambil darah secara langsung pada pembuluh darah yang ada di jantung menggunakan *cardiac puncture* pada tikus yang sebelumnya sudah dianestesi. Tikus Galur wistar jantan dianestesi melalui injeksi ketamine 3 mg/kgBB secara intramuscular pada m. semitendinous atau secara intraperitoneal sebelum diambil darahnya untuk dilakukan pemeriksaan kadar glukosa darah. Tikus yang sudah dianestesi dilakukan monitoring berupa pengecekan rangsang nyeri seperti mencubit tiap 5 menit untuk melihat apakah obat anestesinya sudah bekerja atau belum (Ghasemi *et. al.*, 2014).

3.7.6 Pengukuran Kadar Ureum Serum Metode Urease-GLDH

- a. Sampel darah yang diambil dengan *cardiac puncture* ditampung dalam *microtube* yang telah ditetesi dengan satu tetes larutan antikoagulan EDTA.
- b. Disiapkan 3 buah tabung reaksi yang telah diberi label blanko, standar, test
- c. Dipipet masing-masing ke dalam tabung sebanyak 5 μ l dan ditambahkan 500 μ l monoreagen ke masing-masing tabung
- d. Campuran dihomogenkan, lalu diinkubasi selama 1 menit pada suhu 25^o/30^oC atau selama 30-40 detik pada suhu 37^oC.
- e. Lalu absorbansi larutan dibaca dengan spektrofotometer pada panjang gelombang 340 nm.

- f. Absorbansi dicatat, lalu dapat diukur kadar ureum pada sampel.
g. Perhitungan:

$$\frac{!''\#\#\&^{\circ}()}{!''\#\#\%+_{\%}-^*} \times \text{konsentrasi standart (50mg/dL)}$$



Gambar 4. Alur Penelitian

3.8 Metode Analisis Data

Hasil penelitian dianalisis apakah data dalam penelitian memiliki distribusi normal atau tidak secara statistik dengan uji normalitas Shapiro-Wilk dikarenakan jumlah sampel yang digunakan ≤ 50 . Jika varians data terdistribusi normal dan homogen, dilanjutkan dengan metode uji parametrik *oneway* ANOVA dan apabila tidak memenuhi syarat uji parametrik, digunakan uji nonparametrik Kruskal-Wallis. Hipotesis dianggap bermakna bila nilai $p < 0,05$ dan apabila pada uji ANOVA atau Kruskal Wallis menghasilkan nilai $p < 0,05$, maka dilanjutkan dengan melakukan analisis Post-Hoc untuk melihat perbedaan antar kelompok perlakuan.

3.9 Etika Penelitian

Penelitian yang dilakukan telah mendapatkan surat keterangan lolos kejadi etik dengan nomor protokol 8/Ka.Kom.Et/70/KE/I/2020 dari Komite Etik Penelitian Kesehatan Fakultas Kedokteran Universitas Islam Indonesia.



BAB IV. HASIL DAN PEMBAHASAN

4.1 Hasil Penelitian

Penelitian ini dilakukan di Laboratorium Terpadu Fakultas Kedokteran Universitas Islam Indonesia pada bulan Agustus 2019 – Januari 2020. Penelitian ini menggunakan subjek penelitian berupa tikus galur Wistar jantan berjumlah 15 ekor dengan berat badan 150-300gram dan berusia 3-4 bulan. Hewan coba diadaptasikan selama 3-7 hari dan dipelihara dengan pencahayaan cukup dengan suhu ruangan 19-25⁰C serta diperhatikan kelembabannya agar tetap dalam batas yang sesuai dengan kesehatan dan kesejahteraan hewan. Subyek kemudian diberi makan pellet AD 2 secara *ad libitum*.

Tikus penelitian diukur berat badannya setelah diadaptasikan selama 3-7 hari. Pengukuran berat badan pada tikus ini bertujuan untuk menentukan dosis streptozotocin-nicotinamide yang diberikan. Subjek penelitian dengan berat badan yang telah memenuhi kriteria inklusi kemudian diinduksi diabetes melitus tipe 2 melalui pemberian streptozotocin 60 mg/KgBB yang dikombinasikan dengan nicotinamide 120 mg/KgBB setelah 15 menit. Subjek penelitian dibiarkan selama 7 hari yang kemudian diambil sampel darahnya melalui pemotongan pada ekor tikus, tepatnya pada vena lateralis. Parameter yang diukur adalah kadar gula darah sewaktu (GDS) untuk mengetahui apakah subjek penelitian telah memenuhi kriteria diabetes melitus (GDS > 200 mg/dl).

Subjek penelitian sejumlah yang sudah memenuhi kriteria diabetes melitus dikelompokkan menjadi 4 kelompok; Kelompok negatif, kelompok positif, kelompok uji 1 (P1), dan kelompok uji 2(P2). Subjek penelitian yang masuk kelompok negatif tidak diberikan intervensi apapun dan hanya diberi akuades, sedangkan kelompok positif diintervensi glibenclamide dengan dosis 5 mg/KgBB. Kelompok P1 diintervensi dengan ekstrak etanol daun lobak 100% dan kelompok P2 diberi ekstrak etanol daun lobak 50%. Pengelompokan hewan uji dilakukan secara randomized dan blinded. Pemberian intervensi dilakukan melalui sonde dan dilakukan selama 28 hari. Kelompok hewan uji yang sudah diintervensi selama 28 hari diambil darahnya sebagai sampel untuk diukur kadar ureum serum darah tikus.

Berikut ini adalah hasil nilai rata-rata kadar ureum serum darah tikus pada tabel 2.

Tabel 2. Hasil nilai rata-rata kadar ureum serum darah tikus

Kelompok penelitian	Rata-rata kadar ureum total (mg/dL)	Nilai P Anova
Kontrol positif (K+)	34,50 ± 7,30	0,001
Kontrol negatif (K-)	76,95 ± 19,02	
Perlakuan 1 ekstrak 100% (P1)	38,40 ± 2,89	
Perlakuan 2 ekstrak 50% (P2)	43,40 ± 8,62	

Hasil tabel 2 menunjukkan rata-rata kadar ureum serum darah tikus pada subjek penelitian dimulai dari yang paling besar yaitu kelompok K- (76,95mg/dL ± 19,02), diikuti kelompok P2 (43,40mg/dL ± 8,62), kelompok P1 (38,40mg/dL ± 2,89), dan yang terakhir kelompok K+ (34,50mg/dL ± 7,30). Uji normalitas menggunakan *Shapiro-Wilk* menunjukkan hasil data terdistribusi normal pada semua kelompok yaitu dengan $p > 0,05$. Selanjutnya dilakukan uji *One way ANOVA*. Hasil uji *One Way Analysis of Variance* (ANOVA) menunjukkan nilai $p = 0,001$ ($p < 0,05$) yang artinya terdapat perbedaan kadar ureum serum darah tikus yang signifikan pada tiap kelompok. Uji homogenitas menggunakan *Levene statistic* menunjukkan hasil homogen yaitu $p = 0,141$ ($p > 0,05$) sehingga kemudian dilanjutkan dengan uji *Post Hoc Bonferroni*. Hasil *Post Hoc Bonferroni* adalah sebagai berikut:

Tabel 3. Hasil uji *Post Hoc Bonferroni* test kadar ureum serum darah tikus

Kelompok Uji(I)	KelompokPembanding(J)	Mean Difference(I-J)	P
K+ (Kontrol Positif)	K-	-42,45	0,003*
	P1	-3,90	1,000
	P2	-8,90	1,000
K- (Kontrol Negatif)	K+	42,45	0,003*
	P1	38,55	0,004*
	P2	33,55	0,010*
P1 (Kelompok uji ekstrak 100%)	K+	3,90	1,000
	K-	-38,55	0,004*
	P2	5,00	1,000
P2 (Kelompok uji ekstrak 50%)	K+	8,90	1,000
	K-	-33,55	0,010*
	P1	5,00	1,000

 50%)

*Nilai $p < 0,05$ menunjukkan hasil yang signifikan bermakna

Pada hasil uji Post Hoc Bonferroni didapatkan data K- dengan K+ memiliki nilai $p = 0,003$ ($p < 0,05$), K- dengan perlakuan 50% memiliki nilai $p = 0,010$ ($p < 0,05$), K- dengan perlakuan 100% memiliki nilai $p = 0,004$ ($p < 0,05$). Hal ini menunjukkan adanya perbedaan signifikan ($p < 0,05$) pada kelompok K- dengan K+, K- dengan perlakuan 100%, dan K- dengan perlakuan 50%. Sedangkan hasil tidak signifikan $p = 1,000$ ($p > 0,05$) didapatkan antara kelompok K+ dengan perlakuan 100%, K+ dengan perlakuan 50%, dan perlakuan 100% dengan perlakuan 50%. Hal ini menunjukkan bahwa tidak terdapat perbedaan signifikan antara kelompok intervensi P1 dan P2 dengan kelompok kontrol positif. Dapat dikatakan bahwa kelompok P1 dan P2 memiliki efek yang sebanding dengan kelompok kontrol positif dalam mencegah peningkatan kadar ureum.

4.2 Pembahasan

Penelitian ini menggunakan uji statistik ANOVA yang kemudian dilanjutkan dengan *Post-Hoc* Bonferonni. Dari penelitian ini didapatkan hasil rata-rata ureum serum pada table 3. Untuk kadar normal ureum serum darah adalah 17-43mg/dl (Santhi *et al.*, 2015). Berdasarkan data yang didapatkan dari hasil perhitungan, untuk nilai rata-rata ureum serum darah tikus pada kelompok kontrol positif adalah 34,50mg/dl, pada kelompok perlakuan ekstrak konsentrasi 50% 43,40mg/dl, pada kelompok perlakuan ekstrak konsentrasi 100% 38,40mg/dl. Pada ketiga kelompok tersebut terdapat perbedaan apabila dibandingkan dengan kelompok kontrol negatif yang memiliki nilai 76,95mg/dl. Perbedaan yang dapat dilihat adalah kadar pada ketiga kelompok kontrol positif, uji 50%, uji 100% menunjukkan jumlah kadar yang lebih rendah apabila dibandingkan dengan jumlah kadar pada kelompok kontrol negatif. Jumlah kadar masing-masing kelompok dari ketiga kelompok tersebut masih termasuk dalam batas normal kadar ureum serum.

Pada model tikus DM tipe 2 terjadi kondisi hiperglikemia kronis yang nantinya dapat memicu terjadinya komplikasi baik makrovaskuler maupun mikrovaskuler. Salah satu komplikasi mikrovaskuler yang sering terjadi yaitu nefropati diabetik. Nefropati diabetik pada tikus DM tipe 2 terjadi melalui mekanisme hiperglikemia kronis yang akan mengaktifkan Protein Kinase C

(PKC) melalui Diacylglycerol (DAG). Protein Kinase C selanjutnya menstimulasi aktivitas kerja angiotensin sehingga laju filtrasi glomerulus (LFG) terganggu. *Insulin growth factor-1* (IGF-1), VEGF dan endotelin-1 (ET-1) memicu hipertrofi tubulus ginjal. Protein Kinase C dapat menstimulasi TNF- α dan NF κ B serta meningkatkan aktivitas fibrotik yaitu CTGF dan TGF- β . Kedua faktor fibrosis tersebut akan meningkatkan proliferasi jaringan ikat dan menyebabkan hipertrofi glomerulus dan ekspansi mesangial. Penurunan fungsi enzim antioksidan juga diperparah PKC yang menstimulasi pengeluaran sitokin-sitokin inflamasi yang dapat menyebabkan glomerulosklerosis. Kerusakan glomerulus dan tubulus mengakibatkan terjadinya peningkatan ureum dan kreatinin dalam darah (Sulistyoningrum, 2014).

Peningkatan kadar ureum darah mengindikasikan adanya kerusakan pada filtrasi ginjal yang disebabkan karena adanya gangguan fungsi ginjal. Ureum merupakan produk buangan yang terbentuk di hati ketika protein dimetabolisme. Ureum dilepaskan ke dalam darah dan disaring melalui ginjal yang sehat dan diekskresikan dalam urin. Ureum serum merupakan tes darah yang memberikan indikasi fungsi dari ginjal (Campion, Sanchez-ferras and Batchu, 2017). Pada penyakit ginjal, substansi ini tidak diekskresi secara normal sehingga ureum akan terakumulasi di dalam tubuh dan menyebabkan peningkatan kadar ureum darah. Jumlah normal dari ureum serum sendiri adalah 17-43 mg/dL (Dabla, 2010; Santhi *et al.*, 2015).

Berdasarkan hasil pengukuran kadar ureum serum darah tikus ditemukan hasil rata-rata jumlah kadar ureum serum darah tikus yang paling tinggi pada kelompok K- ($76,95\text{mg/dL} \pm 19,02$) yaitu kelompok tikus model DM Tipe 2 yang hanya diberi makan dan akuades selama 28 hari yang berarti nilai ureum serum darah tikus telah melebihi dari rentang kadar normal. Pada ketiga kelompok lainnya kadar ureum masih berada pada rentang nilai normal, yaitu dengan pemberian intervensi glibenklamid pada K+ ($34,50\text{mg/dL} \pm 7,30$), P 50 % ($43,40\text{mg/dL} \pm 8,62$), dan P 100% ($38,40\text{mg/dL} \pm 2,89$) setelah induksi DM Tipe 2 dan intervensi selama 28 hari. Hasil dari penelitian ini membuktikan bahwa pada model tikus DM Tipe 2 setelah penginduksian DM Tipe 2 selama 28 hari dapat terjadi berbagai macam komplikasi DM yaitu salah satunya nefropati diabetik sehingga penanda

kerusakan ginjal yaitu ureum serum darah tikus akan mengalami peningkatan. Hal ini serupa dengan pernyataan bahwa komplikasi DM Tipe 2 yaitu nefropati diabetik yang akan muncul setelah 28 hari pasca induksi DM Tipe 2 (Yuniasih, 2016).

Pemberian glibenklamid dengan dosis 5mg/kgBB dapat menurunkan kadar glukosa darah sehingga dapat mencegah kondisi hiperglikemia kronis yang dapat memicu komplikasi DM tipe 2 (Hendrawati dan Winardi, 2017). Glibenklamid berikatan secara spesifik pada reseptor sel β -pankreas dan memblokir pemasukan kalium melalui kanal *ATP-dependent* sehingga dapat meningkatkan sekresi insulin pada hewan uji dan memperbaiki kondisi hiperglikemia. Kadar glukosa dalam darah yang menurun akan mengurangi pembentukan senyawa oksigen reaktif (Sola *et al.*, 2015; Tandi *et al.*, 2016). Glibenklamid dapat menghambat ekspresi *Plasminogen Activator Inhibitor-1* (PAI-1), kelebihan glomerulus PAI-1 memungkinkan akumulasi matriks ekstraseluler, yang mengarah ke glomerulosklerosis sehingga dapat mencegah kerusakan ginjal (Akbar *et al.*, 2015).

Berdasarkan Tabel 3 didapatkan perbedaan signifikan antara kelompok K- dengan K+, K- dengan P 100%, K- dengan P 50%. Sedangkan berdasarkan hasil analisis data tidak terdapat perbedaan signifikan antara kelompok K+, P 50%, dan P 100%. Hal tersebut berarti terdapat adanya efek penurunan kadar ureum serum darah tikus pada konsentrasi ekstrak 50% dan 100 % yang tidak berbeda secara nyata dengan glibenklamid. Hal ini juga dapat diartikan bahwa ekstrak etanol daun lobak 100% dan 50% 1-3 cc mempunyai efek dalam mencegah peningkatan ureum serum darah tikus yang sebanding dengan glibenklamid 5 mg/KgBB. Hasil rata-rata kadar ureum serum darah tikus paling rendah ditunjukkan oleh kelompok K+ sebesar (34,50mg/dL \pm 7,30) dibandingkan dengan kelompok P 100% (38,40mg/dL \pm 2,89) dan P 50% (43,40mg/dL \pm 8,62). Hasil penelitian ini didukung hasil penelitian yang dilakukan oleh Haba, Ali, dan Abed-Alazeez (2016) mengenai efek protektif ekstrak alkohol biji lobak terhadap kelinci jantan yang diinduksi stress oksidatif yang menunjukkan hasil ekstrak biji lobak bersifat protektif melawan stress oksidatif, penelitian Luo *et al.* (2018) yang memberikan hasil berupa ekstrak daun lobak memiliki aktivitas antioksidan yang bersifat protektif terhadap stress oksidatif dan dapat

menurunkan kadar ROS intraselular, dan penelitian dari Rahman *et al.* (2017) yang memberikan hasil bahwa daun lobak memiliki efek protektif terhadap disfungsi renal yang diinduksi *sodium arsenic* sehingga menghambat peningkatan kadar ureum serum.

Hasil penelitian Rumundor, Komalig, & Kamalludin (2019) menyatakan bahwa pemberian flavonoid dapat meningkatkan laju filtrasi glomerulus (LFG). Peningkatan LFG pada ginjal akan mengakibatkan ekskresi terhadap ureum meningkat sehingga kadar ureum dalam darah menurun. Hal ini sejalan dengan hasil dari penelitian ini bahwa kandungan flavonoid dalam ekstrak etanol daun lobak dapat membantu dalam mencegah peningkatan ureum atau menjaga kadar ureum serum darah tikus dalam rentang normal. Pada penelitian Lai *et al.* (2011) didapatkan hasil bahwa flavonoid dapat menghambat ekspresi berlebih dari TGF- β . TGF- β berperan dalam induksi sintesis dan akumulasi ekstraselular matriks sehingga menyebabkan ekspansi mesangial, glomerulosklerosis, dan fibrosis interstitial. Flavonoid juga memiliki mekanisme penangkapan ROS. Menurut Kumar dan Pandey (2013), penangkapan ROS dilakukan dengan donor hidrogen dan elektron kepada radikal seperti peroksil, hidroksil, dan peroksinitrit. Kandungan antosianin yang didominasi oleh pelagornidin pada lobak memiliki kemampuan untuk donor hidrogen, sehingga senyawa radikal menjadi stabil (Goyeneche *et al.* 2015; Manivannan *et al.*, 2019).

Kelompok P1 dan P2 memiliki hasil yang tidak signifikan bila dibandingkan dengan kelompok K+ yang merupakan kelompok kontrol positif ($p = 1,000$) dalam penelitian ini mengartikan bahwa pemberian K +, P 50%, dan P 100% mempunyai kemampuan yang sebanding dalam mencegah peningkatan kadar ureum serum darah tikus wistar jantan yang diinduksi DM Tipe 2. Apabila dilihat dari hasil rata-rata kadar ureum serum, kelompok K+ dengan rata-rata sebesar $34,50\text{mg/dL} \pm 7,30$ yang artinya memiliki rata-rata kadar ureum serum darah yang lebih rendah dibanding kelompok P100% dengan rata-rata sebesar $38,40\text{mg/dL} \pm 2,89$ dan kelompok P 50% dengan rata-rata sebesar $43,40\text{mg/dL} \pm 8,62$.

Terdapat keterbatasan dan kekurangan selama penelitian berlangsung. Keterbatasan dan kekurangan pada penelitian ini adalah tidak dilakukannya pemeriksaan awal terhadap kadar ureum serum pada tikus yang telah

diinduksi DM tipe 2. Hal ini menyebabkan tidak terdapat data awal tikus yang diuji coba untuk melihat apakah kadar ureum dari tikus tersebut memang normal atau sudah meningkat sebelum dilakukan uji coba. Untuk mengatasinya pada penelitian berikutnya dapat dilakukan pemeriksaan kadar ureum serum terlebih dahulu pada saat diawal setelah induksi DM tipe 2 dilakukan.



BAB V. SIMPULAN DAN SARAN

5.1 Simpulan

Berdasarkan hasil analisis data, dapat disimpulkan bahwa ekstrak etanol daun lobak (*Raphanus sativus L.*) 50% dan 100% efektif dalam mencegah peningkatan kadar ureum serum dibandingkan dengan kelompok kontrol negatif.

5.2 Saran

Beberapa saran dari peneliti terkait hasil yang telah didapatkan adalah perlunya dilakukan penelitian lanjutan untuk mengetahui efektivitas ekstrak etanol daun lobak terhadap kadar ureum serum darah tikus dengan berbagai variasi dosis dan perlunya dilakukan uji toksisitas ekstrak etanol daun lobak terhadap tikus yang akan diuji cobakan dan juga dapat dilakukan pemeriksaan kadar ureum serum terlebih dahulu pada saat diawal setelah induksi DM tipe 2 dilakukan untuk memperoleh data awal.



Daftar Pustaka

- Abed Alazeez, L. A., Ali, A. H., Haba, M.K,2016, *The Protective Effect of Radish (Raphanus sativus) Seeds Against the Oxidative Stress Induced by Sodium Nitrite in Male Rabbits (Oryctolagus cuniculus)*, Baghdad Science Journal:13(1):pp. 44–52
- Akbar, D. H. et al. (2015) 'Comparison between the effect of glibenclamide and captopril on experimentally induced diabetic nephropathy in rats'. doi: 10.1177/1470320312460881.
- Alkhalidy, H., Moore, W., Zhang, Y., McMillan, R., Wang, A., Ali, M., & Hulver, M. (2015). *Small molecule kaempferol promotes insulin sensitivity and preserved pancreatic β -cell mass in middle-aged obese diabetic mice. Journal of diabetes research*, 2015.
- Bamanikar, S. A., Bamanikar, A. A. and Arora, A. (2016) 'Study of Serum ureum and Creatinine in Diabetic and non- diabetic patients in in a tertiary teaching hospital', 2(1), pp. 12–15.
- Banihani, S. (2017). *Radish (raphanus sativus) and diabetes*. Nutrients, 9(9), 1014.
- Beevi, S. S., Narasu, M. L., & Gowda, B. B. (2010). *Polyphenolics profile, antioxidant and radical scavenging activity of leaves and stem of Raphanus sativus L. Plant foods for human nutrition*, 65(1), 8-17.
- Campion, C. G., Sanchez-ferras, O. and Batchu, S. N. (2017) 'Potential Role of Serum and Urinary Biomarkers in Diagnosis and Prognosis of Diabetic Nephropathy'. doi: 10.1177/2054358117705371.
- Cao, Z. and Cooper, M. E. (2011) 'Pathogenesis of diabetic nephropathy', 2(4), pp. 243–247. doi: 10.1111/j.2040-1124.2011.00131.x.
- Charan, J. and Kantharia, N.D., 2013. *How to calculate sample size in animal studies?*. Journal of pharmacology & pharmacotherapeutics, 4(4), p.303.
- Dabla, P. K. (2010) 'Renal function in diabetic nephropathy', 1(2), pp. 48–56. doi: 10.4239/wjd.v1.i2.48.
- Forbes-Hernández, T. Y., Gasparrini, M., Afrin, S., Cianciosi, D., González-Paramás, A. M., Santos-Buelga, C., & Bompadre, S. (2017). *Strawberry (cv. Romina) methanolic extract and anthocyanin-enriched fraction improve lipid profile and antioxidant status in HepG2 cells*. International journal of molecular sciences, 18(6), 1149.
- Ghasemi, A., Khalifi, S., & Jedi, S. (2014). *Streptozotocin-nicotinamide-induced rat model of type 2 diabetes*. Acta Physiologica Hungarica, 101(4), 408-420

- Goyeneche, R. et al, 2015, *Chemical characterization and antioxidant capacity of red radish (*Raphanus sativus* L.) leaves and roots*, Journal of Functional Foods:16:pp. 256–264
- Hendrawati, A., & Winardi, M. (2017). *Effects of Quercetin and Omega-3 Combination on Nuclear Factor Kappa B (NFkB) Expression Level in Pancreatic Tissue of Rats with Type-2 Diabetes Mellitus*. Journal of Pharmacy and Nutrition Sciences, 7(1), 1-5.
- Kemenkes RI (2014) '*Situasi dan Analisis Diabetes*', Pusat Data dan Informasi Kementerian Kesehatan RI, p. 2. doi: 24427659.
- Kim, J. K., Baskar, T. B., & Park, S. U. (2016). *Total Phenolic and Flavonoid Contents and Antioxidant Activities of Two *Raphanus sativus* L. cultivars (Cherry Belle and Valentine)*. Biosciences Biotechnology Research Asia, 13(1), 31-36.
- Kishore, L., Kajal, A., & Kaur, N. (2017). *Role of Nicotinamide in Streptozotocin Induced Diabetes in Animal Models*
- Kumar, S. and Pandey, A.K., 2013. *Chemistry and biological activities of flavonoids: an overview*. The Scientific World Journal, 2013.
- Lai, P., Zhang, L. and Yang, L. (2012) '*Quercetin Ameliorates Diabetic Nephropathy by Reducing the Expressions of Transforming Growth Factor- β 1 and Connective Tissue Growth Factor in Streptozotocin-Induced Diabetic Rats*', 34 (September 2011), pp. 83–87. doi: 10.3109/0886022X.2011.623564.
- Lim, A. (2014) '*Diabetic nephropathy – complications and treatment*', pp. 361–381.
- Luo, X. et al. (2018) '*Biomedicine & Pharmacotherapy Protective effects of radish (*Raphanus sativus* L.) leaves extract against hydrogen peroxide-induced oxidative damage in human fetal lung fibroblast*', Biomedicine & Pharmacotherapy. Elsevier, 103(301), pp. 406–414. doi: 10.1016/j.biopha.2018.04.049.
- Manivannan, A. et al, 2019. *Deciphering the nutraceutical potential of raphanus sativus—A comprehensive overview*, Nutrients:11(2)
- Moore, W. T. (2017). *Small molecule kaempferol, a novel regulator of glucose homeostasis in diabetes* (Doctoral dissertation, Virginia Tech).
- Mondong, F. R. (2015). *Skrining Fitokimia dan Uji Aktivitas Antioksidan Ekstrak Etanol Daun Patikan Emas (*Euphorbia prunifolia* Jacq.) dan Bawang Laut (*Proiphys amboinensis* (L.) Herb)*. Jurnal MIPA Unsrat Online, 4(1), 81-87.
- Okur, M. E., Karantas, I. D., & Siafaka, P. I. (2017). *Diabetes Mellitus: a review on pathophysiology, current status of oral pathophysiology, current*

status of oral medications and future perspectives. ACTA Pharmaceutica Scientia, 55(1).

- Panche, A. N., Diwan, A. D. and Chandra, S. R. (2016) 'Flavonoids: An overview', *Journal of Nutritional Science*, 5. doi: 10.1017/jns.2016.41.
- Rahman, A. et al. (2017) 'Ameliorating effects of *Raphanus sativus* leaves on sodium arsenite-induced perturbation of blood indices in Swiss albino mice', *Asian Pacific Journal of Tropical Biomedicine*. Elsevier B.V., 7(10), pp. 915–920. doi: 10.1016/j.apjtb.2017.09.001.
- Rumondor, R., Komalig, M. R., & Kamaluddin, K. (2019). *Efek Pemberian Ekstrak Etanol Daun Leilem (Clerodendrum minahasae) terhadap Kadar Kreatinin, Asam Urat dan Ureum pada Tikus Putih (Rattus novergicus)*. *Bio-Edu: Jurnal Pendidikan Biologi*, 4(3), 108-117.
- Santhi, Dharma; Dewi, Rasmika; AP, S. (2015) 'Penuntun Praktikum Kimia klinik iii', BAGIAN PATOLOGI KLINIK PROGRAM STUDI PENDIDIKAN DOKTER FAKULTAS KEDOKTERAN UNIVERSITAS UDAYANA.
- Sari, N. and Hisyam, B. (2014) 'hubungan antara diabetes melitus tipe ii di rumah sakit pku muhammadiyah yogyakarta', 6(1), pp. 11–18.
- Shahbazian, H. and Rezaii, I. (2013) 'Diabetic kidney disease ; review of the current knowledge', 2(2), pp. 73–80. doi: 10.12861/jrip.2013.24.
- Sirivole, M. R. and Eturi, S. E. (2017) 'A Study on Blood Urea and Serum Creatinine in Diabetes Mellitus From Sangareddy District , Telangana , India', *International Journal of Medical and Health Research*, 3(12), pp. 132–136.
- Sola, D. et al, 2015, *Sulfonylureas and their use in clinical practice*, *Archives of Medical Science*:11(4), :pp. 840–848
- Sulistiyoningrum E. 2014. *Perubahan seluler dan molekuler pada nefropati diabetik*. *Mandala of Health* 7:514-519
- Tandi J, Muthi'ah H. Z, Yuliet Y, Yusriadi , 2016, *Efektivitas ekstrak daun gedi merah terhadap glukosa darah, malondialdehid, 8-hidroksi-deoksiguanosin, insulin tikus diabetes*. *J Trop Pharm Chem*:3:264–276.
- Yuniasih, N. N. (2016). *Efektivitas Ekstrak Metanol Alga Cokelat terhadap Kadar Malondialdehid dan Kreatinin Serum sebagai Prevensi Gangguan Fungsi Ginjal*, Skripsi, Jurusan Pendidikan Dokter Fakultas Kedokteran, Universitas Jember.
- Zang, Y., Zhang, L., Igarashi, K., & Yu, C. (2015). *The anti-obesity and anti-diabetic effects of kaempferol glycosides from unripe soybean leaves in high-fat-diet mice*. *Food & function*, 6(3), 834

Lampiran 1. Hasil Analisis Data

Case Processing Summary

kelompok		Cases					
		Valid		Missing		Total	
		N	Percent	N	Percent	N	Percent
kadarureum	K +	3	100.0%	0	0.0%	3	100.0%
	K -	4	100.0%	0	0.0%	4	100.0%
	p1	4	100.0%	0	0.0%	4	100.0%
	p2	4	100.0%	0	0.0%	4	100.0%



Descriptives

kelompok		Statistic	Std. Error		
kadarureum	K +	Mean	34.5000	4.21584	
		95% Confidence Interval for Mean	Lower Bound Upper Bound	16.3607 52.6393	
		5% Trimmed Mean			
		Median	36.9000		
		Variance	53.320		
		Std. Deviation	7.30205		
		Minimum	26.30		
		Maximum	40.30		
		Range	14.00		
		Interquartile Range			
		Skewness	-1.319	1.225	
		Kurtosis			
	K -	K -	Mean	76.9500	9.51363
			95% Confidence Interval for Mean	Lower Bound Upper Bound	46.6734 107.2266
		5% Trimmed Mean	76.2778		
		Median	70.9000		
		Variance	362.037		
		Std. Deviation	19.02726		
		Minimum	62.20		
		Maximum	103.80		
		Range	41.60		
		Interquartile Range	34.25		
		Skewness	1.389	1.014	
		Kurtosis	1.476	2.619	
p1		p1	Mean	38.4000	1.44971
			95% Confidence Interval for Mean	Lower Bound Upper Bound	33.7864 43.0136
		5% Trimmed Mean	38.4000		
		Median	38.4000		
		Variance	8.407		
		Std. Deviation	2.89943		
		Minimum	35.40		
		Maximum	41.40		
		Range	6.00		
		Interquartile Range	5.45		
		Skewness	.000	1.014	
		Kurtosis	-4.630	2.619	
	p2	p2	Mean	43.4000	4.31451
			95% Confidence Interval for Mean	Lower Bound Upper Bound	29.6693 57.1307
		5% Trimmed Mean	43.5056		
		Median	44.3500		
		Variance	74.460		
		Std. Deviation	8.62902		
		Minimum	32.70		
		Maximum	52.20		
		Range	19.50		
		Interquartile Range	16.55		
		Skewness	-.475	1.014	
		Kurtosis	-1.652	2.619	

Tests of Normality

kelompok	Kolmogorov-Smirnov ^a			Shapiro-Wilk		
	Statistic	df	Sig.	Statistic	df	Sig.
kadarureum K +	.295	3	.	.919	3	.449
K -	.249	4	.	.863	4	.272
p1	.244	4	.	.897	4	.415
p2	.211	4	.	.965	4	.811

a. Lilliefors Significance Correction

Test of Homogeneity of Variances

kadarureum

Levene Statistic	df1	df2	Sig.
2.241	3	11	.141

ANOVA

kadarureum

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	4329.623	3	1443.208	11.014	.001
Within Groups	1441.350	11	131.032		
Total	5770.973	14			

Multiple Comparisons

Dependent Variable: kadarureum

Bonferroni

(I) kelompok	(J) kelompok	Mean Difference (I-J)	Std. Error	Sig.	95% Confidence Interval	
					Lower Bound	Upper Bound
K +	K -	-42.45000*	8.74272	.003	-70.4977	-14.4023
	p1	-3.90000	8.74272	1.000	-31.9477	24.1477
	p2	-8.90000	8.74272	1.000	-36.9477	19.1477
K -	K +	42.45000*	8.74272	.003	14.4023	70.4977
	p1	38.55000*	8.09419	.004	12.5828	64.5172
	p2	33.55000*	8.09419	.010	7.5828	59.5172
p1	K +	3.90000	8.74272	1.000	-24.1477	31.9477
	K -	-38.55000*	8.09419	.004	-64.5172	-12.5828
	p2	-5.00000	8.09419	1.000	-30.9672	20.9672
p2	K +	8.90000	8.74272	1.000	-19.1477	36.9477
	K -	-33.55000*	8.09419	.010	-59.5172	-7.5828
	p1	5.00000	8.09419	1.000	-20.9672	30.9672

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

Lampiran 2. Surat Keterangan Lolos Kaji Etik



FAKULTAS
KEDOKTERAN

Gedung Dr. Soekiman Wirjosandjojo
Kampus Terpadu Universitas Islam Indonesia
Jl. Kaliurang km 14,5 Yogyakarta 55584
T. (0274) 898444 ext. 2096, 2097
F. (0274) 898459 ext. 2007
E. fk@uii.ac.id
W. fk.uii.ac.id

Nomor : 8/Ka.Kom.Et/70/KE/I/2020

KETERANGAN LOLOS KAJI ETIK

ETHICAL APPROVAL

Komite Etik Penelitian Kedokteran dan Kesehatan Fakultas Kedokteran Universitas Islam Indonesia dalam upaya melindungi hak asasi dan kesejahteraan subyek penelitian kedokteran dan kesehatan, telah mengkaji dengan teliti protokol berjudul :

The Ethics Committee of the Faculty of Medicine, Islamic University of Indonesia, with regards of the protection of human rights and welfare in medical and health research, has carefully reviewed the research protocol entitled :

"Uji Efektivitas Ekstrak Etanol Daun Lobak (*Raphanus Sativus L.*) terhadap Tikus Galur Wistar yang Diinduksi Diabetes Melitus Tipe 2"

Peneliti Utama : **Audina Dhiya Nabila**
Principal Investigator

Nama Institusi : **Program Studi Pendidikan Dokter FK UII**
Name of the Institution

dan telah menyetujui protokol tersebut diatas.
and approved the above-mentioned protocol.

Yogyakarta, 16 Januari 2020

Ketua

Chairman



Dr. Rahma Yudiantari, M.Sc, Sp.PK

**Ethical Approval* berlaku satu tahun dari tanggal persetujuan

**Peneliti berkewajiban

1. Menjaga kerahasiaan identitas subyek penelitian
2. Memberitahukan status penelitian apabila :
 - a. Setelah masa berlakunya keterangan lolos kaji etik, penelitian masih belum selesai, dalam hal ini *ethical clearance* harus diperpanjang
 - b. Penelitian berhenti di tangan jalan
3. Melaporkan kejadian serius yang tidak diinginkan (*serious adverse events*)
4. Peneliti tidak boleh melakukan tindakan apapun pada subyek sebelum penelitian lolos kaji etik dan *informed consent*

**UJI EFEKTIVITAS EKSTRAK ETANOL DAUN LOBAK (RAPHANUS SATIVUS L.)
TERHADAP PENCEGAHAN PENINGKATAN KADAR UREUM SERUM PADA TIKUS
GALUR WISTAR YANG DIINDUKSI DIABETES MELITUS TIPE 2**

Naskah Publikasi

Untuk Memenuhi Sebagian Syarat

Memperoleh Derajat Sarjana Kedokteran

PROGRAM STUDI PENDIDIKAN DOKTER



Oleh :

Senigi Oktario Putra

16711041

**FAKULTAS KEDOKTERAN
UNIVERSITAS ISLAM INDONESIA
YOGYAKARTA**

2020

**THE EFFECT OF RADISH (RAPHANUS SATIVUS L.) LEAF ETHANOL
EXTRACT TOWARD PREVENTION OF SERUM UREUM LEVEL
INCREASEMENTS IN STREPTOZOTOCIN-NICOTINAMIDE INDUCED
DIABETIC RATS**

Publication Manuscript
Submitted as Fulfillment
to Obtain the Medical Degree

Undergraduate Program of Medicine

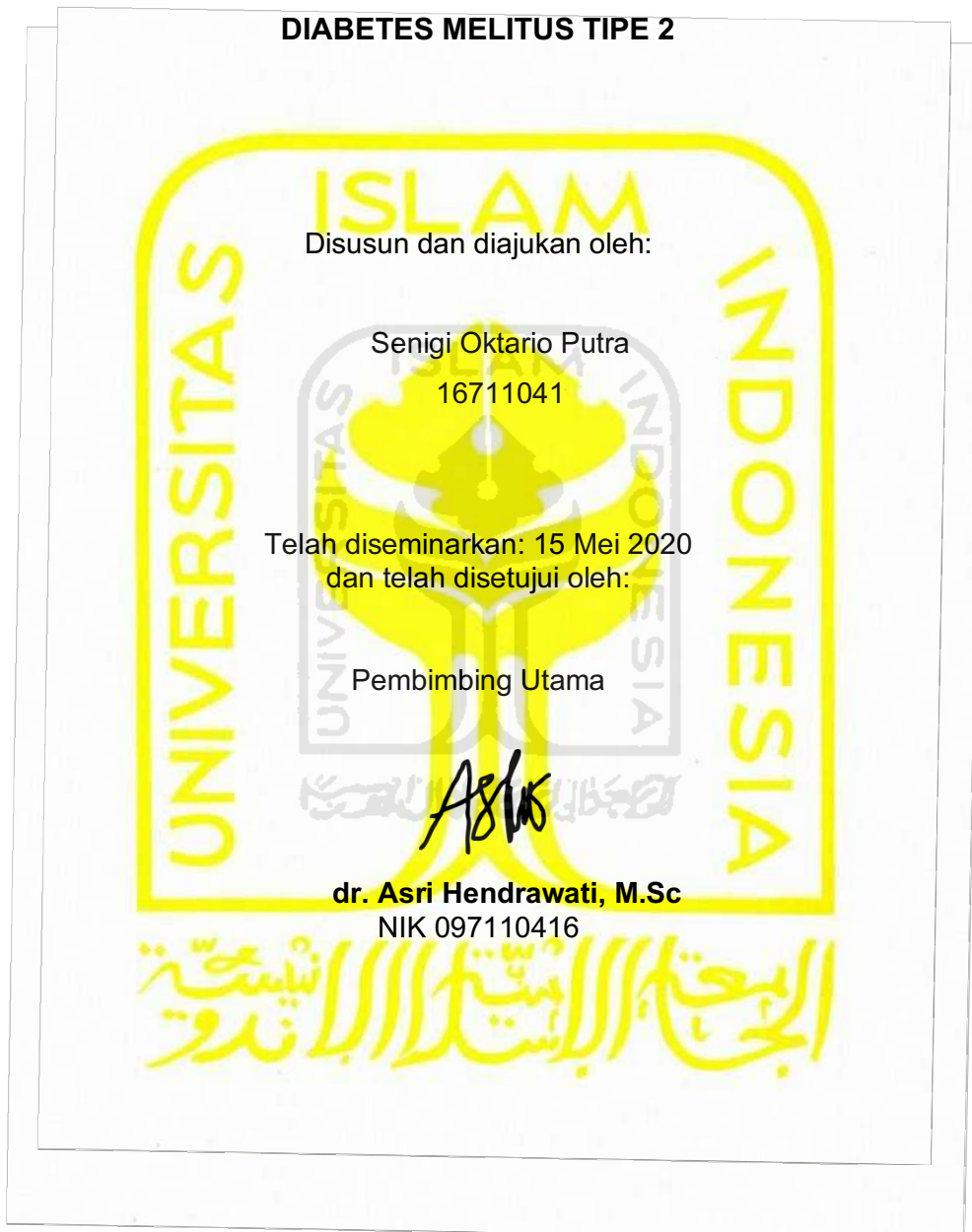


By :

Senigi Oktario Putra

16711041

**FACULTY OF MEDICINE
ISLAMIC UNIVERSITY OF INDONESIA
YOGYAKARTA
2020**

NASKAH PUBLIKASI**UJI EFEKTIVITAS EKSTRAK ETANOL DAUN LOBAK (RAPHANUS SATIVUS L.) TERHADAP PENCEGAHAN PENINGKATAN KADAR UREUM SERUM PADA TIKUS GALUR WISTAR YANG DIINDUKSI DIABETES MELITUS TIPE 2**

UJI EFEKTIVITAS EKSTRAK ETANOL DAUN LOBAK (*RAPHANUS SATIVUS*
L.) TERHADAP PENCEGAHAN PENINGKATAN KADAR UREUM SERUM
PADA TIKUS GALUR WISTAR YANG DIINDUKSI DIABETES MELITUS TIPE 2

Senigi Oktario Putra ¹, Asri Hendrawati ²

¹Mahasiswa Pendidikan Dokter Fakultas Kedokteran Universitas Islam Indonesia

²Departemen Biokimia Fakultas Kedokteran Universitas Islam Indonesia

16711041@students.uii.ac.id

INTISARI

Latar Belakang: Kondisi hiperglikemia kronis pada DM tipe 2 memicu pembentukan *Reactive Oxygen Species* (ROS) yang melebihi kapasitas antioksidan sehingga menyebabkan berbagai komplikasi makrovaskular maupun mikrovaskular. Daun lobak memiliki kandungan flavonoid yang memiliki efek antidiabetes dan antioksidan. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui efektivitas pemberian ekstrak etanol daun lobak terhadap pencegahan peningkatan ureum pada tikus yang diinduksi DM tipe 2.

Metode: Penelitian ini menggunakan *postest group design* menggunakan 15 tikus Galur wistar jantan yang diinduksi streptozotocin 60mg/KgBB-nicotinamide 120mg/KgBB. Tikus yang memenuhi kriteria DM kemudian dibagi menjadi 4 kelompok: K(-) menerima air putih, K(+) menerima glibenclamide 5mg/KgBB/hari, P(I) dan P(II) yang masing-masing menerima ekstrak etanol daun lobak 100% dan 50%. Kadar ureum dikukur dengan metode Urease-GLDH. Data dianalisis menggunakan *oneway anova dan saphiro-wilk* untuk menentukan perbedaan signifikan antar kelompok perlakuan

Hasil: Hasil penelitian menunjukkan rata-rata kadar ureum pada subjek penelitian dimulai dari rata-rata paling besar adalah kelompok K- (76,95mg/dl), diikuti kelompok P2 (43,40mg/dl), P1 (38,40mg/dl) dan K+ (34,50mg/dl). Hasil analisis data menunjukkan kelompok K-, K+, P1 dan P2 memberikan perbedaan hasil yang signifikan ($p=0,001$).

Kesimpulan: ekstrak etanol daun lobak efektif dalam mencegah peningkatan kadar ureum pada kelompok uji coba dibandingkan dengan kelompok kontrol negatif.

Kata kunci: daun lobak, DM tipe-2, kadar Ureum

TEST EFFECT OF RADISH LEAF ETHANOL EXTRACT (RAPHANUS SATIVUS L.) TOWARD PREVENTION OF SERUM UREUM LEVEL INCREASEMENTS IN STREPTOZOTOCIN-NICOTINAMIDE INDUCED DIABETIC RATS

Senigi Oktario Putra ¹, Asri Hendrawati ²

¹Medical Student, Faculty Medicine, Islamic University of Indonesia

²Departement of Biochemisty, Faculty Medicine, Islamic University of Indonesia

16711041@student.uii.ac.id

ABSTRACT

Background: Chronic hyperglycemia in type 2 DM which is approved by the formation of Reactive Oxygen Species (ROS) that exceeds antioxidant capacity, causing various macrovascular and microvascular complications. Radish leaves contain flavonoids which have antidiabetic and antioxidant effects. This study discusses the benefits of giving ethanol extract of radish leaves to prevent urea increasement in mice induced by type 2 DM.

Method: This study used a posttest group design using 15 male Wistar rats induced by streptozotocin 60mg/KgBB-nicotinamide 120mg/KgBB. Mice that met the DM criteria then divided into 4 groups: K(-) received water, K(+) received glibenclamide 5mg/KgBB/day, P(I) and P(II), each of which received radish leaf ethanol extracts 100% and 50%. Urea levels were measured by the Urease-GLDH method. Data were analyzed using oneway anova and saphiro-wilk to determine significant differences between treatment groups

Result: The results showed the average ureum levels in the study subjects starting from the largest average were the K- group (76.95mg/dl), followed by the P2 group (43.40mg/dl), P1 (38.40mg/dl) and K+ (34.50mg/dl). The results of data analysis showed that the groups K-, K+, P1 and P2 gave significant differences in results ($p=0.001$).

Conclusion: Ethanol extract of radish leaves was effective in preventing an increasement in urea levels in the experimental group compared with the negative control group.

Keyword: radish leaf, type 2 DM, Ureum

PENDAHULUAN

Diabetes melitus (DM) merupakan penyakit metabolik yang ditandai dengan berbagai gejala seperti poliuri, polidipsi, polifagi, penurunan berat badan, gangguan penglihatan, kejang, dan lain-lain. Penyakit diabetes mellitus memiliki beberapa klasifikasi yaitu, diabetes mellitus tipe 1, diabetes tipe 2, diabetes tipe lainnya, dan diabetes gestational. Diabetes mellitus tipe-2 biasanya ditandai dengan resistensi insulin dan penurunan sensitivitas reseptor. Hiperglikemia kronis pada DM tipe 2 dapat menimbulkan ketidakseimbangan antara *Reactive Oxygen Species* (ROS) terhadap antioksidan yang dapat memicu terjadinya komplikasi yang berdampak ke berbagai organ. Beberapa organ yang dimaksud diantaranya adalah pankreas, hepar, renal, testis, retina, jantung, dan otak.¹

Kondisi hiperglikemik pada diabetes dapat menyebabkan komplikasi mikrovaskular pada ginjal atau biasa disebut dengan nefropati diabetik. Nefropati diabetik mempengaruhi 30% dari semua penderita diabetes dan merupakan penyebab utama penyakit ginjal tahap akhir. Pada nefropati diabetik salah satu biomarker yang dapat diukur adalah ureum serum, biomarker ini jumlahnya akan meningkat ketika terjadi kondisi hiperglikemia dan hal ini berkorelasi dengan kerusakan ginjal.²

Nefropati diabetik (ND) adalah suatu sindrom yang ditandai dengan peningkatan patologis dari ekskresi albumin urin, lesi glomerulus diabetik, dan menurunnya laju filtrasi glomerulus (GFR) pada penderita diabetes. Nefropati Diabetes ditandai dengan perubahan struktural dan fungsional. Pada glomerulus terdapat ekspansi mesangial, penebalan membran basal, dan glomerulosklerosis nodular (nodul Kimmelstiel-Wilson). Pada ND awal, terdapat hipertrofi tubular tetapi akhirnya berkembang menjadi fibrosis interstitial dengan atrofi tubular, bersama dengan hyalinosis arteriolar. Secara ultrastruktural, terdapat rusaknya podosit dan penurunan fenestrasi sel endotel.³ Pathogenesis dan progresi dari ND adalah hasil dari interaksi antara jalur metabolik dan jalur hemodinamika yang terganggu ketika seseorang mengalami diabetes. Abnormalitas jalur hemodinamika dan metabolik diduga berinteraksi satu sama lain dan membentuk jalur yang membentuk reaktif oksigen spesies (ROS).⁴

Ureum merupakan produk buangan yang terbentuk di hati ketika protein dimetabolisme. Ureum dilepaskan ke dalam darah dan disaring melalui ginjal yang sehat dan diekskresikan dalam urin. Ureum serum merupakan tes darah yang memberikan indikasi fungsi dari ginjal⁵. Pada penyakit ginjal, substansi ini tidak diekskresi secara normal sehingga ureum akan terakumulasi di dalam tubuh dan menyebabkan peningkatan level ureum darah. Jumlah kadar normal dari ureum serum adalah 17-43 mg/dL^{6, 7}. Dalam studi yang dilakukan Sirivole dan Eturi (2017)⁸, hasil dari studi menunjukkan bahwa peningkatan jumlah ureum pada pasien diabetes dapat mengindikasikan adanya masalah pre-renal. Studi tersebut menyatakan bahwa jumlah ureum meningkat ketika terdapat kerusakan pada ginjal ataupun ketika ginjal tidak berfungsi dengan baik. Dalam penelitian tersebut, peningkatan kadar ureum darah dengan peningkatan kadar gula darah menunjukkan bahwa tingginya kadar gula darah yang lama menyebabkan kerusakan pada ginjal. Pengukuran ureum bermanfaat untuk diagnosis awal kerusakan ginjal akut atau kronis. Pengukuran ureum umumnya memberi informasi yang lebih tepat tentang fungsi ginjal dan kemungkinan penyebab mendasarnya dibandingkan dengan kadar kreatinin saja⁵.

Penyakit DM masih membutuhkan penanganan yang cukup serius. Pemberian metformin dan glipizide merupakan salah satu penanganan yang diberikan kepada penderita DM, akan tetapi terdapat beberapa kendala dari pemberian obat dikarenakan efek samping seperti toksisitas hepar dan harganya yang mahal¹. Selain itu, obat-obat antihiperqlikemik yang digunakan untuk menurunkan kadar glukosa darah masih kurang efektif untuk menurunkan stress oksidatif⁹. Oleh karena itu diperlukan inovasi yang dapat digunakan fitofarmaka sebagai alternatif untuk menangani DM, misalnya dengan memanfaatkan bahan-bahan herbal

Lobak (*Raphanus sativus L.*) merupakan family *cruciferae* dan memiliki warna yang berbeda-beda seperti merah, ungu, hitam, kuning, dan putih. Tanaman ini mengandung beragam senyawa seperti karbohidrat, serat, protein, glukosa, vitamin B, dan vitamin C serta senyawa utama yang berupa 4-(*methylthio*)-3-*butenyl isothiocyanate*, *allyl isothiocyanate*, *benzyl isothiocyanate*, dan *phenethyl isothiocyanate*¹⁰. Tanaman ini juga dapat menangani berbagai

penyakit seperti *jaundice*, *gallstone*, hepar, dan *prolapse* rektal karena didalam tanaman ini terdapat kandungan bioaktif seperti glukosinolat dan glukoserucin. Tanaman lobak juga mengandung substansi flavonoid, salah satu subclass flavonoid yang terkandung dalam tanaman lobak adalah kuersetin, kandungan kuersetin yang ada pada daun lobak, yaitu sekitar 70,37 mg/100 g¹¹. Kuersetin berfungsi sebagai antioksidan dan dapat digunakan untuk mengobati penyakit yang berhubungan dengan pembentukan *Reactive Oxygen Species* (ROS). Penyakit yang berhubungan dengan pembentukan ROS diantaranya adalah diabetes melitus, hipertensi, dislipidemia, inflamasi, dan imunitas¹². Kandungan flavonoid lain yang ada dalam daun lobak adalah pelargonidin. Di dalam 100gram daun lobak terkandung 63,1gram *pelargonidin*. Fungsi *pelargonidin* sebagai antidiabetes diketahui melalui penurunan resistin dan leptin yang mana kedua substansi tersebut merupakan adipokin yang terlibat dalam pengembangan penyakit metabolik seperti diabetes melitus tipe 2¹³. Penelitian dari Forbes dan Hernández (2017)¹⁴ menunjukkan bahwa pelargonidin dapat meningkatkan keadaan reduksi-oksidasi sel HepG2 dengan cara menurunkan ROS dan meningkatkan enzim antioksidan sehingga penyakit metabolisme seperti diabetes melitus tipe 2 yang salah satu penyebabnya dikarenakan stress oksidatif dapat dicegah. Di dalam daun lobak juga terkandung kaempferol, senyawa ini diketahui dapat mengaktivasi AMPK (*5' adenosine monophosphate-activated protein kinase*). AMPK yang diaktivasi oleh *kaempferol* dapat meningkatkan ekspresi GLUT-4 dalam sel otot skeletal sehingga meningkatkan pengambilan glukosa¹⁵.

METODE PENELITIAN

Penelitian ini merupakan penelitian *experimental* dengan *posttest only control group design*. Penelitian ini merupakan bagian dari penelitian besar kelompok mahasiswa dan telah mendapatkan surat keterangan lolos kejadi etik dengan nomor protokol 8/Ka.Kom.Et/70/KE/I/2020 dari Komite Etik Penelitian Kesehatan Fakultas Kedokteran Universitas Islam Indonesia.

Waktu dan Tempat Penelitian

Penelitian dilakukan di Laboraturium Riset untuk pembuatan ekstrak etanol daun lobak dan Laboratorium Penelitian dan Pengujian Terpadu Universitas Gadjah Mada untuk mengukur kadar ureum serum

Subjek Penelitian

Populasi penelitian menggunakan tikus Galur wistar jantan yang dibeli dari Laboratorium Terpadu FK UII.

Sampel penelitian diambil dari populasi penelitian yang memenuhi kriteria inklusi dan eksklusi. Kriteria inklusi hewan uji antara lain; tikus Galur wistar dengan berat 200-350 gram, berumur 3-4 bulan, jenis kelamin jantan, sehat dan tanpa cacat fisik, serta belum pernah digunakan untuk penelitian. Kriteria eksklusi pada tikus antara lain: tikus menunjukkan gerakan tidak aktif atau tidak mau makan dan minum, tikus menunjukkan perilaku abnormal seperti nampak lemah, tidak lincah, dan nampak agresif sebelum penelitian berlangsung, serta tikus mati selama perlakuan berlangsung. Sampel penelitian sebanyak 14-24 ekor tikus Galur wistar jantan yang dibagi secara acak ke dalam 4 kelompok (2 kelompok perlakuan, 1 kelompok kontrol positif, dan 1 kelompok kontrol negatif).

Teknik Sampling

Subjek yang akan diteliti menggunakan 15 ekor tikus *Galur wistar* jantan yang memenuhi kriteria inklusi dan dibagi secara acak ke dalam 4 kelompok perlakuan. Penentuan besar sampel yang digunakan dalam penelitian didasarkan pada rumus *Resource Equation* yang dilakukan Charan et al. Pada tahun 2013 yaitu:

$$E = N - T$$

Nilai E merupakan komponen eror yang digunakan untuk estimasi varian dimana dianggap optimal apabila berada dalam rentang 10-20 dan nilai N merupakan jumlah unit eksperimen. Nilai T merupakan jumlah kelompok yang digunakan dalam penelitian. Penelitian ini menggunakan 4 kelompok penelitian sehingga perhitungan sampel menjadi:

$$10-20 = (N-1) - (T-1)$$

$$10-20 = (N-1) - (4-1)$$

$$N = 14-24$$

Berdasarkan rumus tersebut jumlah sampel optimal yang digunakan dalam penelitian sekitar 14-24 ekor hewan coba. Subjek penelitian akan dibagi secara acak menggunakan sistem lotre menjadi 4 kelompok yang terdiri dari kelompok kontrol negatif, kontrol positif, kelompok perlakuan 100%, dan kelompok perlakuan 50%

Instrumen penelitian

1. Pembuatan Ekstrak Daun Lobak

- Alat
 - a. Oven
 - b. Ayakan 65 mesh
 - c. Timbangan analitik
 - d. *Rotary evaporator*
 - e. Gelas kimia
 - f. Gelas ukur
 - g. Labu Erlenmeyer
 - h. Desikator
- Bahan
 - a. Daun Lobak
 - b. Etanol absolut
 - c. Air
 - d. Larutan Dimetil Sulfida (DMSO)

2. Penelitian pada Hewan Coba

- Alat
 - a. Neraca analitik Metler Toleda dengan tingkat ketelitian 0,01gram untuk menimbang berat tikus
 - b. Sonde
 - c. Pipa kapiler atau kapiler hematokrit
 - d. Tabung *Eppendorf* yang telah diberi EDTA

- e. Kapas dan alkohol
 - f. Alat sentrifus
 - g. Spektrofotometer
 - h. Reagen Diasys Ureum FS monoreagen (dibuat dengan mencampurkan 4 bagian R1 dengan bagian R2 (20ml R1 + 5ml R2))
 - i. *Sample cup*
 - j. Kandang hewan dengan ukuran 15m³. Kandang terbuat dari kotak plastik, bagian dasarnya diberi kertas buram untuk mempermudah dalam membersihkan feses, dan ditutupi dengan *bedding* kawat. Kandang hewan dibersihkan satu hari sekali. Tempat makan terbuat dari plastik dan diletakkan di dalam kandang. Tempat minum terbuat dari botol kaca yang digantung dengan ujungnya terbuat dari pipet yang ditancapkan pada tutup karet yang ujungnya dilubangi.
- Bahan
 - a. Hewan percobaan
 - b. Makanan hewan berupa pakan standar AD II *comfeed* dan minuman air putih biasa
 - c. Ekstrak daun lobak yang akan diberikan ke hewan coba per oral dengan konsentrasi yang berbeda di setiap kelompok perlakuan

Pembuatan Ekstrak Etanol Daun Lobak

Pembuatan ekstrak etanol daun lobak dibagi menjadi 2 langkah, yaitu preparasi sampel dan ekstraksi sampel

a. Preparasi Sampel

Daun Lobak sebanyak 5 kg dicuci bersih, diiris tipis dan dikering-anginkan selama 1 minggu. Daun lobak yang sudah

kering kemudian digiling menggunakan blender hingga menjadi serbuk dan diayak menggunakan ayakan 65 mesh.

b. Ekstraksi Sampel

Ekstraksi sampel dilakukan melalui maserasi. Sampel serbuk daun lobak sebanyak 2 kg dimasukkan ke dalam gelas erlenmeyer lalu ditambah pelarut etanol absolut 4 liter hingga sampel terendam semuanya. Maserasi dilakukan selama 24 jam kemudian disaring. Filtrat diuapkan untuk menghilangkan pelarutnya menggunakan rotary evaporator setelah itu ekstrak yang telah bebas pelarut dikeringkan dalam oven dengan suhu 40°C untuk memperoleh ekstrak kering¹⁶. Ekstrak daun lobak konsentrasi 100% kemudian dibagi menjadi dua kelompok, kelompok pertama tetap dibuat konsentrasi 100% dan kelompok kedua diencerkan menggunakan larutan dimetil sulfoksida (DMSO) secara bertingkat sampai diperoleh konsentrasi 50%. Ekstrak etanol daun lobak 50% dan 100% yang sudah dalam bentuk cair kemudian diberikan ke tikus secara per oral sesuai kelompok perlakuan masing-masing dengan dosis 1-3 cc/hari.

Pemeliharaan Hewan Coba

Tikus Galur wistar yang dibeli dari Laboratorium Terpadu FK UII dimasukkan ke dalam kandang hewan yang telah disiapkan dan diadaptasikan selama tujuh hari. Makanan dan minuman diberikan secara ad libitum (tak terbatas) dengan jenis makanan dan minuman yang diberikan berupa pakan standar AD II comfeed dan air putih biasa. Pembersihan kandang tikus dilakukan setiap hari dikarenakan frekuensi urinasi yang tinggi pada kondisi DM tipe-2.

Penginduksian Diabetes Melitus Tipe-2

Perlakuan untuk menginduksi timbulnya diabetes melitus tipe 2 pada tikus adalah dengan memberikan streptozotocin 60 mg/kgBB yang dilarutkan dalam 100 mM cold citrate buffer pada pH 4,5 secara intraperitoneal lalu 15 menit setelahnya diberi nicotinamide dengan dosis 120 mg/kgBB pada keempat kelompok tikus. Kadar glukosa darah sewaktu diukur 1 minggu setelah induksi

dan tikus dengan kadar gula darah yang sesuai kriteria DM dimasukkan dalam perlakuan (Hendrawati & Winardi, 2017)⁹. Apabila setelah 1-3 minggu kadar gula darah sewaktu tikus belum meningkat lebih dari 200 mg/dL maka tikus akan diinduksi ulang.

Pembagian dan Pemberian Intervensi Kelompok Perlakuan

Tikus *Galur wistar* yang sudah memenuhi kriteria DM kemudian dimasukkan secara acak dan *blinded* ke dalam kelompok kontrol negatif yang diberi air putih biasa, kontrol positif yang diberi glibenclamide 5 mg/KgBB 1-3 cc/hari, perlakuan 1, dan perlakuan 2 yang masing-masing diberi ekstrak etanol daun lobak 100% dan 50% sebanyak 1-3 cc/hari. Metode yang digunakan untuk mengelompokkan hewan uji secara acak adalah undian menggunakan lotre dimana kandang tikus diberikan nomor 1-24. Tikus yang sudah memenuhi kriteria DM diambilkan nomor undian dan nomor yang keluar tersebut merupakan kandang tempat hewan uji akan diletakkan. Tikus yang mendapatkan undian nomor 1-6 akan dimasukkan ke dalam kelompok kontrol negatif, nomor 7-12 ke dalam kontrol positif, nomor 13-18 ke dalam kelompok perlakuan 1, dan nomor 19-24 ke dalam kelompok perlakuan 2. Hewan uji diberikan intervensi selama 28 hari dengan diberi makan dan minum serta perawatan kandang yang sama.

Pengambilan Sampel Posttest dan Terminasi Hewan Uji

Keempat kelompok tikus yang sudah diberi intervensi selama 28 hari kemudian diukur kadar GDS kembali. Pemeriksaan kadar GDS posttest glukosa dilakukan dengan cara mengambil darah secara langsung pada pembuluh darah yang ada di jantung menggunakan cardiac puncture pada tikus yang sebelumnya sudah dianestesi. Tikus Galur wistar jantan dianestesi melalui injeksi ketamine 3 mg/kgBB secara intramuscular pada m. semitendinous atau secara intraperitoneal sebelum diambil darahnya untuk dilakukan pemeriksaan kadar glukosa darah. Tikus yang sudah dianestesi dilakukan monitoring berupa pengecekan rangsang nyeri seperti mencubit tiap 5 menit untuk melihat apakah obat anestesinya sudah bekerja atau belum.

Pengukuran Kadar Ureum Serum

Pengukuran kadar Ureum pada tikus yang diintervensi selama 28 hari menggunakan metode Urease-GLDH. Langkah-langkah yang digunakan dalam mengukur kadar ureum adalah sebagai berikut:

- a. Sampel darah yang diambil dengan cardiac puncture ditampung dalam *microtube* yang telah ditetesi dengan satu tetes larutan antikoagulan EDTA.
- b. Disiapkan 3 buah tabung reaksi yang telah diberi label blanko, standar, test
- c. Dipipet masing-masing ke dalam tabung sebanyak 5 μ l dan ditambahkan 500 μ l monoreagen ke masing-masing tabung
- d. Campuran dihomogenkan, lalu diinkubasi selama 1 menit pada suhu 25⁰/30⁰C atau selama 30-40 detik pada suhu 37⁰C.
- e. Lalu absorbansi larutan dibaca dengan spektrofotometer pada panjang gelombang 340 nm.
- f. Absorbansi dicatat, lalu dapat diukur kadar ureum pada sampel.
- g. Perhitungan:

$$\frac{\text{Absorbansi Sampel}}{\text{Absorbansi Standar}} \times \text{konsentrasi standar (50mg/dL)}$$

Metode Analisis Data

Pengolahan dan analisis data menggunakan perangkat lunak Statistical Package for the Social Sciences (SPSS). Hasil penelitian dianalisis apakah data dalam penelitian memiliki distribusi normal atau tidak secara statistik dengan uji normalitas Shapiro-Wilk dikarenakan jumlah sampel yang digunakan ≤ 50 . Jika varians data terdistribusi normal dan homogen, dilanjutkan dengan metode uji parametrik one way ANOVA dan apabila tidak memenuhi syarat uji parametrik, digunakan uji nonparametrik Kruskal-Wallis. Hipotesis dianggap bermakna bila nilai $p < 0,05$ dan apabila pada uji ANOVA atau Kruskal Wallis menghasilkan nilai $p < 0,05$, maka dilanjutkan dengan melakukan analisis Post-Hoc LSD untuk melihat perbedaan antar kelompok perlakuan.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Hasil

Penelitian ini dilakukan di Laboratorium Terpadu Fakultas Kedokteran Universitas Islam Indonesia pada bulan Agustus 2019 – Januari 2020. Penelitian ini menggunakan subjek penelitian berupa tikus galur Wistar jantan berjumlah 15 ekor dengan berat badan 150-300gram dan berusia 3-4 bulan. Hewan coba diadaptasikan selama 3-7 hari dan dipelihara dengan pencahayaan cukup dengan suhu ruangan 19-25⁰C serta diperhatikan kelembabannya agar tetap dalam batas yang sesuai dengan kesehatan dan kesejahteraan hewan. Subyek kemudian diberi makan pellet AD 2 secara *ad libitum*.

Tikus penelitian diukur berat badannya setelah diadaptasikan selama 3-7 hari. Pengukuran berat badan pada tikus ini bertujuan untuk menentukan dosis streptozotocin-nicotinamide yang diberikan. Subjek penelitian dengan berat badan yang telah memenuhi kriteria inklusi kemudian diinduksi diabetes melitus tipe 2 melalui pemberian streptozotocin 60 mg/KgBB yang dikombinasikan dengan nicotinamide 120 mg/KgBB setelah 15 menit. Subjek penelitian dibiarkan selama 7 hari yang kemudian diambil sampel darahnya melalui pemotongan pada ekor tikus, tepatnya pada vena lateralis. Parameter yang diukur adalah kadar gula darah sewaktu (GDS) untuk mengetahui apakah subjek penelitian telah memenuhi kriteria diabetes melitus (GDS > 200 mg/dl).

Subjek penelitian sejumlah yang sudah memenuhi kriteria diabetes melitus dikelompokkan menjadi 4 kelompok; Kelompok negatif, kelompok positif, kelompok uji 1 (P1), dan kelompok uji 2(P2). Subjek penelitian yang masuk kelompok negatif tidak diberikan intervensi apapun dan hanya diberi akuades, sedangkan kelompok positif diintervensi glibenclamide dengan dosis 5 mg/KgBB. Kelompok P1 diintervensi dengan ekstrak etanol daun lobak 100% dan kelompok P2 diberi ekstrak etanol daun lobak 50%. Pengelompokan hewan uji dilakukan secara randomized dan blinded. Pemberian intervensi dilakukan melalui sonde dan dilakukan selama 28 hari. Kelompok hewan uji yang sudah diintervensi selama 28 hari diambil darahnya sebagai sampel untuk diukur kadar ureum serum darah tikus. Berikut ini adalah hasil nilai rata-rata kadar ureum serum darah tikus pada tabel 1.

Tabel 1. Hasil nilai rata-rata kadar ureum serum darah tikus

Kelompok penelitian	Rata-rata kadar ureum total (mg/dL)	Nilai P Anova
Kontrol positif (K+)	34,50 ± 7,30	0,001
Kontrol negatif (K-)	76,95 ± 19,02	
Perlakuan 1 ekstrak 100% (P1)	38,40 ± 2,89	
Perlakuan 2 ekstrak 50% (P2)	43,40 ± 8,62	

Hasil tabel 1 menunjukkan rata-rata kadar ureum serum darah tikus pada subjek penelitian dimulai dari yang paling besar yaitu kelompok K- (76,95mg/dL ± 19,02), diikuti kelompok P2 (43,40mg/dL ± 8,62), kelompok P1 (38,40mg/dL ± 2,89), dan yang terakhir kelompok K+ (34,50mg/dL ± 7,30). Uji normalitas menggunakan *Shapiro-Wilk* menunjukkan hasil data terdistribusi normal pada semua kelompok yaitu dengan $p > 0,05$. Selanjutnya dilakukan uji *One way ANOVA*. Hasil uji *One Way Analysis of Variance* (ANOVA) menunjukkan nilai $p = 0,001$ ($p < 0,05$) yang artinya terdapat perbedaan kadar ureum serum darah tikus yang signifikan pada tiap kelompok. Uji homogenitas menggunakan *Levene statistic* menunjukkan hasil homogen yaitu $p = 0,141$ ($p > 0,05$) sehingga kemudian dilanjutkan dengan uji *Post Hoc Bonferroni*. Hasil *Post Hoc Bonferroni* adalah sebagai berikut:

Tabel 2. Hasil uji *Post Hoc Bonferroni* test kadar ureum serum darah tikus

Kelompok Uji(I)	KelompokPembanding(J)	Mean Difference(I-J)	P
K+ (Kontrol Positif)	K-	-42,45	0,003*
	P1	-3,90	1,000
	P2	-8,90	1,000
K- (Kontrol Negatif)	K+	42,45	0,003*
	P1	38,55	0,004*
	P2	33,55	0,010*
P1 (Kelompok uji ekstrak 100%)	K+	3,90	1,000
	K-	-38,55	0,004*
	P2	5,00	1,000
P2 (Kelompok uji ekstrak 50%)	K+	8,90	1,000
	K-	-33,55	0,010*
	P1	5,00	1,000

*Nilai $p < 0,05$ menunjukkan hasil yang signifikan bermakna

Pada hasil uji Post Hoc Bonferroni didapatkan data K- dengan K+ memiliki nilai $p = 0,003$ ($p < 0,05$), K- dengan perlakuan 50% memiliki nilai $p = 0,010$ ($p < 0,05$), K- dengan perlakuan 100% memiliki nilai $p = 0,004$ ($p < 0,05$). Hal ini menunjukkan adanya perbedaan signifikan ($p < 0,05$) pada kelompok K- dengan K+, K- dengan perlakuan 100%, dan K- dengan perlakuan 50%. Sedangkan hasil tidak signifikan $p = 1,000$ ($p > 0,05$) didapatkan antara kelompok K+ dengan perlakuan 100%, K+ dengan perlakuan 50%, dan perlakuan 100% dengan perlakuan 50%. Hal ini menunjukkan bahwa tidak terdapat perbedaan signifikan antara kelompok intervensi P1 dan P2 dengan kelompok kontrol positif. Dapat dikatakan bahwa kelompok P1 dan P2 memiliki efek yang sebanding dengan kelompok kontrol positif dalam mencegah peningkatan kadar ureum.

Pembahasan

Penelitian ini menggunakan uji statistik ANOVA yang kemudian dilanjutkan dengan *Post-Hoc* Bonferonni. Dari penelitian ini didapatkan hasil rata-rata ureum serum pada table 1. Untuk kadar normal ureum serum darah adalah 17-43mg/dl (Santhi *et al.*, 2015)⁷. Berdasarkan data yang didapatkan dari hasil perhitungan, untuk nilai rata-rata ureum serum darah tikus pada kelompok kontrol positif adalah 34,50mg/dl, pada kelompok perlakuan ekstrak konsentrasi 50% 43,40mg/dl, pada kelompok perlakuan ekstrak konsentrasi 100% 38,40mg/dl. Pada ketiga kelompok tersebut terdapat perbedaan apabila dibandingkan dengan kelompok kontrol negatif yang memiliki nilai 76,95mg/dl. Perbedaan yang dapat dilihat adalah kadar pada ketiga kelompok kontrol positif, uji 50%, uji 100% menunjukkan jumlah kadar yang lebih rendah apabila dibandingkan dengan jumlah kadar pada kelompok kontrol negatif. Jumlah kadar masing-masing kelompok dari ketiga kelompok tersebut masih termasuk dalam batas normal kadar ureum serum.

Pada model tikus DM tipe 2 terjadi kondisi hiperglikemia kronis yang nantinya dapat memicu terjadinya komplikasi baik makrovaskuler maupun mikrovaskuler. Salah satu komplikasi mikrovaskuler yang sering terjadi yaitu nefropati diabetik. Nefropati diabetik pada tikus DM tipe 2 terjadi melalui mekanisme hiperglikemia kronis yang akan mengaktifkan Protein Kinase C (PKC) melalui Diasilgliserol (DAG). Protein Kinase C selanjutnya menstimulasi aktivitas kerja angiotensin

sehingga laju filtrasi glomerulus (LFG) terganggu. *Insulin growth factor-1* (IGF-1), VEGF dan endhotelin-1 (ET-1) memicu hipertrofi tubulus ginjal. Protein Kinase C dapat menstimulasi TNF- α dan NF κ B serta meningkatkan aktivitas fibrotik yaitu CTGF dan TGF- β . Kedua faktor fibrosis tersebut akan meningkatkan proliferasi jaringan ikat dan menyebabkan hipertrofi glomerulus dan ekspansi mesangial. Penurunan fungsi enzim antioksidan juga diperparah PKC yang menstimulasi pengeluaran sitokin inflamasi yang dapat menyebabkan glomerulosklerosis. Kerusakan glomerulus dan tubulus mengakibatkan terjadinya peningkatan ureum dan kreatinin dalam darah¹⁷.

Peningkatan kadar ureum darah mengindikasikan adanya kerusakan pada filtrasi ginjal yang disebabkan karena adanya gangguan fungsi ginjal. Ureum merupakan produk buangan yang terbentuk di hati ketika protein dimetabolisme. Ureum dilepaskan ke dalam darah dan disaring melalui ginjal yang sehat dan diekskresikan dalam urin. Ureum serum merupakan tes darah yang memberikan indikasi fungsi dari ginjal⁵. Pada penyakit ginjal, substansi ini tidak diekskresi secara normal sehingga ureum akan terakumulasi di dalam tubuh dan menyebabkan peningkatan kadar ureum darah. Jumlah normal dari ureum serum sendiri adalah 17-43 mg/dL^{6, 7}.

Berdasarkan hasil pengukuran kadar ureum serum darah tikus ditemukan hasil rata-rata jumlah kadar ureum serum darah tikus yang paling tinggi pada kelompok K- (76,95mg/dL \pm 19,02) yaitu kelompok tikus model DM Tipe 2 yang hanya diberi makan dan akuades selama 28 hari yang berarti nilai ureum serum darah tikus telah melebihi dari rentang kadar normal. Pada ketiga kelompok lainnya kadar ureum masih berada pada rentang nilai normal, yaitu dengan pemberian intervensi glibenklamid pada K+ (34,50mg/dL \pm 7,30), P 50 % (43,40mg/dL \pm 8,62), dan P 100% (38,40mg/dL \pm 2,89) setelah induksi DM Tipe 2 dan intervensi selama 28 hari. Hasil dari penelitian ini membuktikan bahwa pada model tikus DM Tipe 2 setelah penginduksian DM Tipe 2 selama 28 hari dapat terjadi berbagai macam komplikasi DM yaitu salah satunya nefropati diabetik sehingga penanda kerusakan ginjal yaitu ureum serum darah tikus akan mengalami peningkatan. Hal ini serupa dengan pernyataan bahwa komplikasi

DM Tipe 2 yaitu nefropati diabetik yang akan muncul setelah 28 hari pasca induksi DM Tipe 2¹⁸.

Pemberian glibenklamid dengan dosis 5mg/kgBB dapat menurunkan kadar glukosa darah sehingga dapat mencegah kondisi hiperglikemia kronis yang dapat memicu komplikasi DM tipe 2⁹. Glibenklamid berikatan secara spesifik pada reseptor sel β -pankreas dan memblokir pemasukan kalium melalui kanal ATP-*dependent* sehingga dapat meningkatkan sekresi insulin pada hewan uji dan memperbaiki kondisi hiperglikemia. Kadar glukosa dalam darah yang menurun akan mengurangi pembentukan senyawa oksigen reaktif^{19, 20}. Glibenklamid dapat menghambat ekspresi *Plasminogen Activator Inhibitor-1* (PAI-1), kelebihan glomerulus PAI-1 memungkinkan akumulasi matriks ekstraseluler, yang mengarah ke glomerulosklerosis sehingga dapat mencegah kerusakan ginjal²¹.

Berdasarkan Tabel 2 didapatkan perbedaan signifikan antara kelompok K- dengan K+, K- dengan P 100%, K- dengan P 50%. Sedangkan berdasarkan hasil analisis data tidak terdapat perbedaan signifikan antara kelompok K+, P 50%, dan P 100%. Hal tersebut berarti terdapat adanya efek penurunan kadar ureum serum darah tikus pada konsentrasi ekstrak 50% dan 100% yang tidak berbeda secara nyata dengan glibenklamid. Hal ini juga dapat diartikan bahwa ekstrak etanol daun lobak 100% dan 50% 1-3 cc mempunyai efek dalam mencegah peningkatan ureum serum darah tikus yang sebanding dengan glibenklamid 5 mg/KgBB. Hasil rata-rata kadar ureum serum darah tikus paling rendah ditunjukkan oleh kelompok K+ sebesar (34,50mg/dL \pm 7,30) dibandingkan dengan kelompok P 100% (38,40mg/dL \pm 2,89) dan P 50% (43,40mg/dL \pm 8,62). Hasil penelitian ini didukung hasil penelitian yang dilakukan oleh Haba, Ali, dan Abed-Alazeez (2016) mengenai efek protektif ekstrak alkohol biji lobak terhadap kelinci jantan yang diinduksi stress oksidatif yang menunjukkan hasil ekstrak biji lobak bersifat protektif melawan stress oksidatif, penelitian Luo *et al.* (2018) yang memberikan hasil berupa ekstrak daun lobak memiliki aktivitas antioksidan yang bersifat protektif terhadap stress oksidatif dan dapat menurunkan kadar ROS intraselular, dan penelitian dari Rahman *et al.* (2017) yang memberikan hasil bahwa daun lobak memiliki efek protektif terhadap disfungsi renal yang diinduksi *sodium arsenic* sehingga menghambat peningkatan kadar ureum serum.

Hasil penelitian Rumundor, Komalig, & Kamalludin (2019) menyatakan bahwa pemberian flavonoid dapat meningkatkan laju filtrasi glomerulus (LFG). Peningkatan LFG pada ginjal akan mengakibatkan ekskresi terhadap ureum meningkat sehingga kadar ureum dalam darah menurun. Hal ini sejalan dengan hasil dari penelitian ini bahwa kandungan flavonoid dalam ekstrak etanol daun lobak dapat membantu dalam mencegah peningkatan ureum atau menjaga kadar ureum serum darah tikus dalam rentang normal. Pada penelitian Lai *et al.* (2011) didapatkan hasil bahwa flavonoid dapat menghambat ekspresi berlebih dari TGF- β . TGF- β berperan dalam induksi sintesis dan akumulasi ekstraselular matriks sehingga menyebabkan ekspansi mesangial, glomerulosklerosis, dan fibrosis interstisial. Flavonoid juga memiliki mekanisme penangkapan ROS. Menurut Kumar dan Pandey (2013), penangkapan ROS dilakukan dengan donor hidrogen dan elektron kepada radikal seperti peroksil, hidroksil, dan peroksinitrit. Kandungan antosianin yang didominasi oleh pelagornidin pada lobak memiliki kemampuan untuk donor hidrogen, sehingga senyawa radikal menjadi stabil.

Kelompok P1 dan P2 memiliki hasil yang tidak signifikan bila dibandingkan dengan kelompok K+ yang merupakan kelompok kontrol positif ($p = 1,000$) dalam penelitian ini mengartikan bahwa pemberian K +, P 50%, dan P 100% mempunyai kemampuan yang sebanding dalam mencegah peningkatan kadar ureum serum darah tikus wistar jantan yang diinduksi DM Tipe 2. Apabila dilihat dari hasil rata-rata kadar ureum serum, kelompok K+ dengan rata-rata sebesar $34,50\text{mg/dL} \pm 7,30$ yang artinya memiliki rata-rata kadar ureum serum darah yang lebih rendah dibanding kelompok P100% dengan rata-rata sebesar $38,40\text{mg/dL} \pm 2,89$ dan kelompok P 50% dengan rata-rata sebesar $43,40\text{mg/dL} \pm 8,62$.

Keterbatasan dan Kekurangan Penelitian

Terdapat keterbatasan dan kekurangan selama penelitian berlangsung. Keterbatasan dan kekurangan pada penelitian ini adalah tidak dilakukannya pemeriksaan awal terhadap kadar ureum serum pada tikus yang telah diinduksi DM tipe 2. Hal ini menyebabkan tidak terdapat data awal tikus yang diuji coba untuk melihat apakah kadar ureum dari tikus tersebut memang normal atau sudah meningkat sebelum dilakukan uji coba. Untuk mengatasinya pada

penelitian berikutnya dapat dilakukan pemeriksaan kadar ureum serum terlebih dahulu pada saat diawal setelah induksi DM tipe 2 dilakukan.

UCAPAN TERIMAKASIH

Karya tulis ilmiah ini merupakan sebuah syarat untuk memperoleh derajat sarjana kedokteran di Fakultas Kedokteran Universitas Islam Indonesia. Selama proses penyusunan dan penelitian karya tulis ilmiah ini, penulis mendapatkan banyak sekali bantuan, doa, dan dukungan dari orang-orang tercinta dan pihak-pihak terkait dalam karya tulis ilmiah ini. Oleh sebab itu, penulis ingin menyampaikan ucapan terima kasih yang luar biasa kepada:

1. dr. Linda Rosita, M.Kes., Sp.PK selaku Dekan Fakultas Kedokteran Universitas Islam Indonesia.
2. dr. Asri Hendrawati, M.Sc. selaku dosen pembimbing utama yang selalu menemani dengan sabar, meluangkan waktunya untuk memberikan dukungan, saran, kritik, dan motivasi untuk penulis di setiap bimbingan agar penulis selalu bersemangat dalam menyusun karya tulis ilmiah ini
3. Dr. dr. Isnatin Miladiyah, M. Kes selaku dosen penguji yang bersedia membantu dan memberikan arahan bagi penulis agar karya tulis ilmiah ini berjalan dengan lancar.
4. dr. Umatul Khoiriyah, M.Med.Ed, Ph.D selaku Ketua Program Studi Pendidikan Dokter Fakultas Kedokteran Universitas Islam Indonesia.
5. Kedua orang tua penulis dan kakak tercinta, Bapak Utariono, Ibu Leni Rohaeningsih, Raditya Utari Putra Pratama yang telah memberikan pengorbanan, dukungan, dan doa yang *insyaAllah* senantiasa mengiringi penulis selama masa studi di Fakultas Kedokteran hingga penulis dapat menyelesaikan KTI ini.
6. Pihak laboratorium fisiologi dan laboratorium riset FK UII, terutama Mbak Dita dan Mas Angkit, serta LPPT UGM atas bantuannya selama penelitian
7. Seluruh dosen dan karyawan Fakultas Kedokteran Universitas Islam Indonesia yang telah membantu penulis dalam menimba ilmu sebagai mahasiswa.
8. Teman dan sahabat penelitian daun lobak yaitu Satria Bintang Mahatma, Rofiq Amirul Rusli, Widyo Utomo Nugroho, Aulia Rahma, Almas Tanuhita Dilanty, Audina Dhiya Nabila, Arum Virya Jenola yang telah menemani, memberi dukungan, saling membantu dalam menyelesaikan penelitian ini.
9. Sahabat penulis yaitu, Yuda Ari Dirgantara, Oksa Wisnu Pradana, Dewanto Wicaksono, Pramudya Diva Maulana, Muhammad Yusuf Rahmawan, Dhimas Aji Wicaksono, Diko Koestantyo, Alvyana Nikmatur Rahmah, Fara Amalia Putri, Firdha Khoirunikmah, Lilia Nur Rahmawati Suprpto, Diajeng Salsabila Kanae, Muhammad Fariz, Ilham Amien yang selalu menemani, memberi semangat dan memotivasi penulis untuk menyelesaikan karya tulis ini.

10. Teman-teman Acasha FK UII 2016 yang telah menemani penulis menempuh pendidikan prelinik.
11. Seluruh pihak terkait yang membantu menyelesaikan karya tulis ini.

Penulis menyadari bahwa karya tulis ini masih sangat jauh dari kata sempurna, masih terdapat banyak kekurangan. Oleh karena itu, dengan segenap kerendahan hati, penulis mengharapkan kritik dan saran yang membangun demi kesempurnaan karya tulis ilmiah ini. Penulis berharap semoga karya tulis ini dapat bermanfaat bagi setiap pembacanya.

KESIMPULAN DAN SARAN

Kesimpulan

Berdasarkan hasil analisis data, dapat disimpulkan bahwa ekstrak etanol daun lobak (*Raphanus sativus L.*) 50% dan 100% efektif dalam mencegah peningkatan kadar ureum serum dibandingkan dengan kelompok kontrol negatif.

Saran

Beberapa saran dari peneliti terkait hasil yang telah didapatkan adalah perlunya dilakukan penelitian lanjutan untuk mengetahui efektivitas ekstrak etanol daun lobak terhadap kadar ureum serum darah tikus dengan berbagai variasi dosis dan perlunya dilakukan uji toksisitas ekstrak etanol daun lobak terhadap tikus yang akan diuji cobakan dan juga dapat dilakukan pemeriksaan kadar ureum serum terlebih dahulu pada saat diawal setelah induksi DM tipe 2 dilakukan untuk memperoleh data awal.

Daftar Pustaka

1. Okur, M. E., Karantas, I. D., & Siafaka, P. I. (2017). *Diabetes Mellitus: a review on pathophysiology, current status of oral pathophysiology, current status of oral medications and future perspectives*. *ACTA Pharmaceutica Scientia*, 55(1).
2. Bamanikar, S. A., Bamanikar, A. A. and Arora, A. (2016) 'Study of Serum ureum and Creatinine in Diabetic and non- diabetic patients in in a tertiary teaching hospital', 2(1), pp. 12–15.
3. Lim, A. (2014) 'Diabetic nephropathy – complications and treatment', pp. 361–381.
4. Cao, Z. and Cooper, M. E. (2011) 'Pathogenesis of diabetic nephropathy', 2(4), pp. 243–247. doi: 10.1111/j.2040-1124.2011.00131.x.
5. Campion, C. G., Sanchez-ferraz, O. and Batchu, S. N. (2017) 'Potential Role of Serum and Urinary Biomarkers in Diagnosis and Prognosis of Diabetic Nephropathy'. doi: 10.1177/2054358117705371.
6. Dabla, P. K. (2010) 'Renal function in diabetic nephropathy', 1(2), pp. 48–56. doi: 10.4239/wjd.v1.i2.48.

7. Santhi, Dharma; Dewi, Rasmika; AP, S. (2015) 'Penuntun Praktikum Kimia klinik iii', BAGIAN PATOLOGI KLINIK PROGRAM STUDI PENDIDIKAN DOKTER FAKULTAS KEDOKTERAN UNIVERSITAS UDAYANA.
8. Sirivole, M. R. and Eteri, S. E. (2017) 'A Study on Blood Urea and Serum Creatinine in Diabetes Mellitus From Sangareddy District , Telangana , India', *International Journal of Medical and Health Research*, 3(12), pp. 132–136.
9. Hendrawati, A., & Winardi, M. (2017). *Effects of Quercetin and Omega-3 Combination on Nuclear Factor Kappa B (NFkB) Expression Level in Pancreatic Tissue of Rats with Type-2 Diabetes Mellitus*. *Journal of Pharmacy and Nutrition Sciences*, 7(1), 1-5.
10. Kim, J. K., Baskar, T. B., & Park, S. U. (2016). *Total Phenolic and Flavonoid Contents and Antioxidant Activities of Two Raphanus sativus L. cultivars (Cherry Belle and Valentine)*. *Biosciences Biotechnology Research Asia*, 13(1), 31-36.
11. Beevi, S. S., Narasu, M. L., & Gowda, B. B. (2010). *Polyphenolics profile, antioxidant and radical scavenging activity of leaves and stem of Raphanus sativus L. Plant foods for human nutrition*, 65(1), 8-17.
12. Panche, A. N., Diwan, A. D. and Chandra, S. R. (2016) 'Flavonoids: An overview', *Journal of Nutritional Science*, 5. doi: 10.1017/jns.2016.41.
13. Banihani, S. (2017). *Radish (raphanus sativus) and diabetes*. *Nutrients*, 9(9), 1014.
14. Forbes-Hernández, T. Y., Gasparri, M., Afrin, S., Cianciosi, D., González-Paramás, A. M., Santos-Buelga, C., & Bompadre, S. (2017). *Strawberry (cv. Romina) methanolic extract and anthocyanin-enriched fraction improve lipid profile and antioxidant status in HepG2 cells*. *International journal of molecular sciences*, 18(6), 1149.
15. Moore, W. T. (2017). *Small molecule kaempferol, a novel regulator of glucose homeostasis in diabetes* (Doctoral dissertation, Virginia Tech).
16. Mondong, F. R. (2015). *Skrining Fitokimia dan Uji Aktivitas Antioksidan Ekstrak Etanol Daun Patikan Emas (Euphorbia prunifolia Jacq.) dan Bawang Laut (Proiphys amboinensis (L.) Herb)*. *Jurnal MIPA Unsrat Online*, 4(1), 81-87.
17. Sulistyoningrum E. 2014. *Perubahan seluler dan molekuler pada nefropati diabetik*. *Mandala of Health* 7:514-519
18. Yuniasih, N. N. (2016). *Efektivitas Ekstrak Metanol Alga Cokelat terhadap Kadar Malondialdehid dan Kreatinin Serum sebagai Prevensi Gangguan Fungsi Ginjal*, Skripsi, Jurusan Pendidikan Dokter Fakultas Kedokteran, Universitas Jember.
19. Sola, D. et al, 2015, *Sulfonylureas and their use in clinical practice*, *Archives of Medical Science*:11(4), :pp. 840–848
20. Tandi J, Muthi'ah H. Z, Yuliet Y, Yusriadi , 2016, *Efektivitas ekstrak daun gedi merah terhadap glukosa darah, malondialdehid, 8-hidroksi- deoksiganosin, insulin tikus diabetes*. *J Trop Pharm Chem*:3:264–276.

21. Akbar, D. H. et al. (2015) '*Comparison between the effect of glibenclamide and captopril on experimentally induced diabetic nephropathy in rats*'. doi: 10.1177/1470320312460881.

