

PENGARUH EKSTRAK ETANOL DAUN KEMBANG BULAN (*Tithonia diversifolia*) TERHADAP KADAR SERUM KREATININ PADA TIKUS *GALUR WISTAR* YANG DIINDUKSI DIABETES MELITUS DENGAN STREPTOZOTOCIN

Karya Tulis Ilmiah

untuk Memenuhi Sebagian Syarat
Memperoleh Derajat Sarjana Kedokteran

Program Studi Kedokteran

Program Sarjana



oleh:

Savitri Indrasari

16711072

**FAKULTAS KEDOKTERAN
UNIVERSITAS ISLAM INDONESIA
YOGYAKARTA
2020**

**THE EFFECT OF GIVING KEMBANG BULAN (TITHONIA DIVERSIFOLIA) LEAF
ETHANOL EXTRACT ON SERUM CREATININE LEVELS IN STREPTOZOTOCIN
INDUCED DIABETIC WISTAR RATS**

Scientific Writing

as A Requirement for the Degree of Undergraduate Program in Medicine

Undergraduate Program in Medicine



by :

Savitri Indrasari

16711072

**FACULTY OF MEDICINE
UNIVERSITAS ISLAM INDONESIA
YOGYAKARTA
2020**

KARYA TULIS ILMIAH

PENGARUH EKSTRAK ETANOL DAUN KEMBANG BULAN (*Tithonia diversifolia*) TERHADAP KADAR SERUM KREATININ PADA TIKUS *GALUR WISTAR* YANG DIINDUKSI DIABETES MELITUS DENGAN STREPTOZOTOCIN

Disusun dan diajukan oleh:

Savitri Indrasari

16711072

Telah diseminarkan tanggal: 31 Agustus 2020
dan telah disetujui oleh:

Penguji


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

NIK 017110102

Pembimbing


dr. Asri Hendrawati, M.Sc

NIK 097110406

Ketua Program Studi Kedokteran
Program Sarjana


dr. Umatul Khoiriyah, M.Med.Ed, Ph.D

NIK 047110101

Disahkan

Dekan



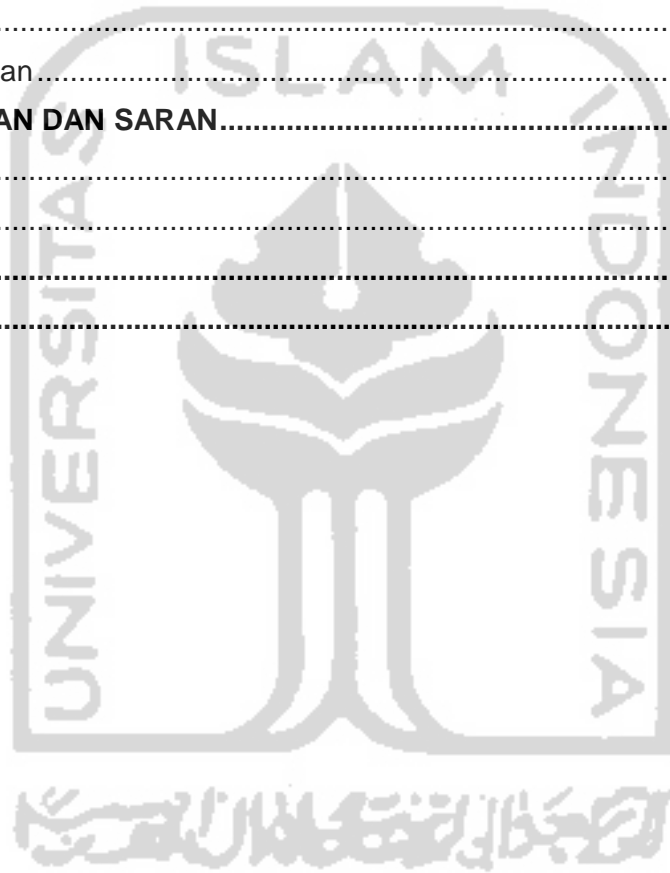

dr. Linda Rosita, M.Kes, Sp.PK

NIK 017110102

DAFTAR ISI

| | |
|---|-----------|
| Halaman Judul | i |
| Halaman Pengesahan..... | ii |
| Daftar isi | iii |
| Daftar Tabel..... | v |
| Daftar Gambar..... | vi |
| Halaman Pernyataan | vii |
| Kata Pengantar | viii |
| Intisari..... | x |
| <i>Abstract</i> | xi |
| BAB I. PENDAHULUAN | 1 |
| 1.1 Latar Belakang | 1 |
| 1.2 Perumusan Masalah..... | 3 |
| 1.3 Tujuan Penelitian..... | 3 |
| 1.4 Keaslian Penelitian | 4 |
| 1.5 Manfaat Penelitian..... | 5 |
| BAB II. TINJAUAN PUSTAKA..... | 6 |
| 2.1 Telaah Pustaka..... | 6 |
| 2.1.1 Daun Kembang Bulan..... | 6 |
| 2.1.2 Komplikasi Diabetes Melitus..... | 8 |
| 2.1.3 Pemeriksaan Fungsi Ginjal..... | 12 |
| 2.1.4 Serum Kreatinin..... | 13 |
| 2.2 Kerangka Teori..... | 16 |
| 2.3 Kerangka Konsep..... | 17 |
| 2.4 Hipotesis..... | 17 |
| BAB III. METODE PENELITIAN..... | 18 |
| 3.1 Jenis dan Rancangan Penelitian..... | 18 |
| 3.2 Waktu dan Tempat Penelitian..... | 18 |
| 3.3 Subyek Penelitian..... | 18 |
| 3.4 Variabel Penelitian..... | 19 |

| | | |
|--|---------------------------|-----------|
| 3.5 | Definisi Operasional..... | 21 |
| 3.6 | Instrumen Penelitian..... | 22 |
| 3.7 | Alur Penelitian..... | 23 |
| 3.8 | Analisis Data..... | 25 |
| 3.9 | Etika Penelitian..... | 26 |
| BAB IV. HASIL DAN PEMBAHASAN..... | | 27 |
| 4.1 | Hasil..... | 27 |
| 4.2 | Pembahasan..... | 29 |
| BAB V SIMPULAN DAN SARAN..... | | 34 |
| 5.1 | Simpulan..... | 34 |
| 5.2 | Saran..... | 34 |
| Daftar Pustaka..... | | 35 |
| Lampiran..... | | 40 |



DAFTAR TABEL

| | |
|---|----|
| Tabel 1. Keaslian Penelitian | 4 |
| Tabel 2. Klasifikasi tumbuhan kembang bulan | 6 |
| Tabel 3. Definisi Operasional | 21 |
| Tabel 4. Rerata Kadar Serum Kreatinin | 27 |
| Tabel 5. Post-Hoc LSD | 29 |



DAFTAR GAMBAR

| | |
|--|----|
| Gambar 1. Tanaman <i>Tithonia diversifolia</i> | 8 |
| Gambar 2. Patogenesis hiperglikemia menyebabkan renal fibrosis | 11 |
| Gambar 3. Kerangka Teori | 16 |
| Gambar 4. Kerangka Konsep | 17 |
| Gambar 5. Alur Penelitian..... | 23 |



HALAMAN PERNYATAAN

Dengan ini saya menyatakan bahwa di dalam Karya Tulis Ilmiah yang berjudul Pengaruh Ekstrak Etanol Daun Kembang Bulan (*Tithonia diversifolia*) Terhadap Kadar Serum Kreatinin Pada Tikus *Galur Wistar* Yang Diinduksi Diabetes Melitus Dengan Streptozotocin ini tidak terdapat Karya tulis Ilmiah yang pernah diajukan untuk memperoleh gelar kesarjanaan di suatu perguruan tinggi dan sepanjang sepengetahuan saya juga tidak terdapat Karya Tulis Ilmiah atau penelitian yang pernah ditulis atau diterbitkan oleh orang lain, kecuali yang secara tertulis telah dijadikan referensi dalam naskah ini dan disebutkan dalam daftar pustaka.

Yogyakarta, 8 September 2020



Savitri Indrasari



KATA PENGANTAR

Assalamualaikum warahmatullahi wabarakatuh.

Bismillahirrahmanirrahim.

Alhamdulillah rabbi'alam, segala puji bagi Allah SWT yang telah memberikan hidayah, karunia, serta limpahan rahmatNya sehingga Karya Tulis Ilmiah dengan judul "Uji Efektivitas Ekstrak Etanol Daun Kembang Bulan (*Tithonia diversifolia*) terhadap Kadar Malondialdehid (MDA) Darah pada Tikus *Galur Wistar* yang Diinduksi Diabetes Melitus" ini dapat diselesaikan oleh penulis. Shalawat serta salam selalu tucurahkan kepada baginda Nabi Muhammad SAW karena dengan perantara beliau kita dapat menikmati manisnya Islam dan iman serta telah membawa umatnya dari zaman jahiliyah menuju zaman penuh rahmat seperti saat ini. Karya tulis ini merupakan sebagian syarat untuk mendapatkan gelar Sarjana Program Studi Sarjana Kedokteran, Fakultas Kedokteran Universitas Islam Indonesia.

Proses penelitian, penyusunan, hingga Karya Tulis Ilmiah ini selesai, tentunya terdapat kesulitan yang dialami penulis. Untuk itu penulis ingin menyampaikan penghargaan dan rasa terima kasih kepada:

1. Alloh SWT yang telah memberikan kemampuan sehingga dapat menyelesaikan karya tulis ilmiah ini.
2. Kedua orang tua penulis yang tercinta, Bapak H. Bakar dan Ibu Hj. Mustika Nurhayati yang telah senantiasa mendoakan, memberikan semangat, dukungan, dan kasih sayang.
3. Saudara penulis, kakak Mayuarsih Kartika dan kakak Fenta Kharisma yang telah memberikan semangat, dukungan dan motivasi untuk penulis dalam menyelesaikan proses pendidikan sarjana.
4. Kakek dan nenek penulis yang telah berpulang ke rumah Alloh SWT, penulis telah diberikan kasih sayang sejak lahir dan telah diberikan teladan bagaimana harus bersikap di masa depan.
5. dr. Asri Hendrawati, M.Sc., selaku pembimbing yang telah memberikan banyak arahan, saran, motivasi, dan bimbingan dalam penyusunan karya tulis ilmiah ini.

6. dr. Linda Rosita, M.Kes, Sp.PK selaku Dekan Fakultas Kedokteran Universitas Islam Indonesia dan selaku penguji yang telah memberikan penulis masukan, arahan, serta bimbingan dalam penyusunan karya tulis ilmiah ini.
7. dr. Umatul Khoiriyah, M.Med.Ed., Ph.D selaku Ketua Program Studi Pendidikan Dokter Fakultas Kedokteran Universitas Islam Indonesia;
8. dr. Ukhti Jamil Rustiasari Sp. P.A. selaku DPA yang telah memberikan saran, masukan, dan motivasi pada setiap tahapan pendidikan preklinik.
9. Teman-teman penelitian daun kembang bulan, Danita Syifa, Della Bintari, dan Dosan Surya yang telah memberikan semangat pantang menyerah dalam menyelesaikan penelitian disaat pandemi covid 19.
10. Teman-teman ACASHA FKUII 2016 yang telah kebersamai selama masa perkuliahan.
11. Audina Dhiya, Yoan Yolanda, Evina Loviani, Kanesti Ismirajna, Erita Damayanti, Danita Syifa, dan Fatih Henggar yang telah memberikan kasih sayang, doa, dukungan, motivasi dan selalu mengingatkan penulis dalam setiap tahapan untuk menyelesaikan pendidikan S1.
12. Semua pihak yang terlibat dan telah membantu dalam penelitian dan penulisan karya tulis ilmiah ini yang tidak dapat saya sebutkan satu persatu.

Dalam proses penulisan karya tulis ilmiah ini penulis menyadari masih terdapat banyak kekurangan dan ketidaksempurnaan didalamnya, oleh sebab itu penulis mengharapkan kritik dan saran yang membangun sehingga karya tulis ilmiah ini dapat diperbaiki dan menjadi lebih baik. Semoga karya tulis ilmiah yang penulis buat ini dapat memberikan manfaat bagi penulis, pembaca, agama, bangsa, dan pengembangan ilmu pengetahuan. Aamiin.

Billahitaufiq walhidayah, Walhamdulillah.

Wassalamu'alaikum warahmatullahi wabarakatuh.

Yogyakarta, 8 September 2020



Savitri Indrasari

PENGARUH EKSTRAK ETANOL DAUN KEMBANG BULAN (*Tithonia diversifolia*) TERHADAP KADAR SERUM KREATININ PADA TIKUS GALUR WISTAR YANG DIINDUKSI DIABETES MELITUS DENGAN STREPTOZOTOCIN

Savitri Indrasari¹, Asri Hendrawati², Linda Rosita³

¹Mahasiswa Pendidikan Dokter Fakultas Kedokteran Universitas Islam Indonesia

²Departemen Biokimia Fakultas Kedokteran Universitas Islam Indonesia

³Departemen Patologi Klinik Fakultas Kedokteran Universitas Islam Indonesia

INTISARI

Latar Belakang : Hiperglikemia yang terjadi pada DM memiliki efek jangka panjang yaitu salah satunya adalah nefropati diabetik. Salah satu tumbuhan yang memiliki aktivitas antihiperglikemia adalah daun dari tumbuhan kembang bulan atau *Tithonia diversifolia*. Penelitian sebelumnya menyebutkan bahwa daun kembang bulan digunakan sebagai obat antidiabetes karena memiliki kandungan antioksidan.

Tujuan : Untuk mengetahui pengaruh pemberian ekstrak etanol daun kembang bulan dengan dosis 50 mg/kgBB, 250 mg/kgBB, dan 500 mg/kgBB terhadap penurunan kadar kreatinin serum pada tikus galur Wistar yang diinduksi DM dengan STZ.

Metode : Penelitian ini menggunakan metode *true experimental* untuk mengukur kadar serum kreatinin. Subyek penelitian adalah 20 ekor tikus galur wistar jantan diinduksi DM dengan streptozotocin.

Hasil : Pengujian ekstrak etanol daun kembang bulan terhadap kadar serum kreatinin menunjukkan hasil uji *one way anova* yang signifikan dengan nilai $p < 0.05$. Uji *post-hoc* LSD menunjukkan perbedaan yang signifikan antara kelompok KP-P1 ($p = 0.019$), kelompok KP-P3 ($p = 0.039$), kelompok KN-P1 ($p = 0.019$), dan kelompok KN-P3 ($p = 0.039$). Hasil pengujian *post-hoc* LSD yang menunjukkan perbedaan yang tidak signifikan terdapat antara kelompok KP-KN ($p = 1.000$), kelompok KP-P2 ($p = 0.100$), kelompok KN-P2 ($p = 0.100$), kelompok P1-P2 ($p = 0.394$), kelompok P1-P3 ($p = 0.720$), dan kelompok P2-P3 ($p = 0.616$). Kadar serum kreatinin hewan coba pada seluruh kelompok berada dalam rentang normal.

Kesimpulan : Pemberian ekstrak etanol daun kembang bulan dengan dosis 50 mg/kgBB, 250 mg/kgBB, dan 500 mg/kgBB tidak menurunkan kadar serum kreatinin pada tikus galur wistar yang diinduksi DM dengan STZ.

Kata Kunci : Ekstrak etanol daun kembang bulan, diabetes melitus, kadar serum kreatinin.

THE EFFECT OF GIVING KEMBANG BULAN (TITHONIA DIVERSIFOLIA) LEAF ETHANOL EXTRACT ON SERUM CREATININE LEVELS IN STREPTOZOTOCIN INDUCED DIABETIC WISTAR RATS

Savitri Indrasari¹, Asri Hendrawati², Linda Rosita³

¹Student of Faculty of Medicine, Universitas Islam Indonesia

²Departement of Biochemistry Faculty of Medicine, Universitas Islam Indonesia

³Departement of Clinical Pathology, Faculty of Medicine, Universitas Islam Indonesia

ABSTRACT

Backgorund : Hyperglycemia that occurs in DM has long-term effects, one of the effect is diabetic nephropathy. One of the plants that has antihyperglycemic activity is the leaves of the kembang bulan plant or *Tithonia diversifolia*. Previous research states that the leaves of the kembang bulan are used as an anti-diabetic drug because they contain antioxidants.

Objective : To determine the effect of giving the Kembang bulan leaves ethanol extract with a dose of 50 mg/kgBW, 250 mg/kgBW, and 500 mg/kgBW on decreasing of serum creatinine levels.

Methods : This research used true experimental method to measure the serum creatinine levels. The research subjects were 20 male Wistar rats induced DM with streptozotocin.

Result : Testing the Kembang bulan leaves ethanol extract on serum creatinine levels showed significant one way anova test results with p value <0.05 . The post-hoc LSD test showed a significant difference between the KP-P1 group ($p = 0.019$), the KP-P3 group ($p = 0.039$), the KN-P1 group ($p = 0.019$), and the KN-P3 group ($p = 0.039$). The results of the post-hoc LSD test showed that there was no significant difference between the KP-KN group ($p = 1,000$), the KP-P2 group ($p = 0.100$), the KN-P2 group ($p = 0.100$), the P1-P2 group ($p = 0.394$), the P1-P3 group ($p = 0.720$), and the P2-P3 group ($p = 0.616$). The serum creatinine levels of experimental animals in all groups was within the normal range.

Conclusion : Giving Kembang bulan leaves ethanol extract with a dose of 50 mg/kgBW, 250 mg/kgBW, and 500 mg/kgBW did not reduce serum creatinie levels.

Keywords : Kembang bulan leaves ethanol extract, diabetes mellitus, serum creatinine levels.

BAB I. PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

Diabetes melitus (DM) adalah penyakit kronis yang terjadi karena pankreas tidak dapat memproduksi cukup insulin atau tubuh tidak bisa secara efektif menggunakan insulin (World Health Organization, 2016). Prevalensi penderita DM di Indonesia menurut World Health Organization (WHO) pada tahun 2000 adalah sebesar 8.4 juta jiwa dan diperkirakan akan mengalami kenaikan menjadi 21.3 juta jiwa pada tahun 2030. Data dari International Diabetes Federation (IDF) juga memprediksikan bahwa penderita DM di Indonesia akan mengalami kenaikan dari 9,1 juta jiwa pada tahun 2014 menjadi 14,1 juta jiwa pada tahun 2035. Berdasarkan data IDF Indonesia menempati peringkat ke lima diseluruh dunia untuk penyakit DM (Eliana, 2015).

Hiperglikemia yang terjadi pada DM memiliki efek jangka panjang yaitu kerusakan, disfungsi, dan kegagalan pada berbagai organ, terutama pada mata, ginjal, saraf, dan jantung (Dabla, P.K., 2010). Efek jangka panjang DM salah satunya adalah komplikasi mikrovaskular. Komplikasi mikrovaskular yang umum terjadi adalah retinopati diabetik dan nefropati diabetik (Putri, R.I., 2015). Komplikasi di ginjal tersebut dapat terjadi pada diabetes melitus tipe 1 maupun tipe 2, 20% pasien setelah mengalami diabetes selama 10-20 tahun dapat mengembangkan nefropati diabetik (Vallon, V. dan Thomson, S.C., 2012). Nefropati diabetik berkembang bahkan pada pasien diabetes melitus yang mengalami kadar glukosa darah yang terkontrol dalam waktu yang lama (Rini, S *et al.*, 2018).

Nefropati diabetik (ND) merupakan penyakit ginjal yang bersifat progresif yang disebabkan oleh perubahan struktur kapiler dan tubular glomerulus akibat dari terganggunya homeostasis glukosa di dalam tubuh (Sharma, K *et al.*, 2003). Nefropati diabetik adalah salah satu komplikasi paling serius dari diabetes melitus dan telah menjadi penyebab utama terjadinya end-stage renal disease (ESRD). Stadium lanjut dari ND juga akan menghasilkan gangguan pada sistem kardiovaskular sehingga dapat meningkatkan angka kematian akibat gangguan pada ginjal dan sistem kardiovaskular (Reutens, 2013).

Nefropati diabetik merupakan penyakit yang didasari oleh perubahan yang bersifat patologis seperti penebalan membran basal, atrofi, fibrosis interstisial dan arteriosklerosis. Perubahan patologis tersebut akan menghasilkan hiperfiltrasi glomerulus dan kemudian ginjal akan mengalami penurunan fungsi secara progresif (Thomas, M.C *et al.*, 2015). Indikator yang digunakan untuk menilai fungsi ginjal salah satunya adalah kadar kreatinin serum (Isniaty, 2007). Selama beberapa tahun terakhir, kreatinin serum telah menjadi penanda atau biomarker untuk mengetahui fungsi ginjal. Pemeriksaan kadar kreatinin serum juga membantu dokter untuk menentukan apakah gangguan fungsi ginjal yang dialami oleh pasien memerlukan tindakan hemodialisa atau tidak. Disfungsi ginjal yang terjadi pada nefropati diabetik akibat hiperglikemia akan menyebabkan kemampuan filtrasi kreatinin di ginjal menurun sehingga menghasilkan peningkatan kadar kreatinin pada serum. Peningkatan kadar kreatinin serum sebesar dua kali lipat dapat mengindikasikan adanya penurunan fungsi ginjal sebesar 50% (Alfonso, A.A *et al.*, 2016).

Hiperglikemia yang menyebabkan nefropati diabetik dapat dikontrol salah satunya dengan cara pemberian obat anti hiperglikemia. Obat anti hiperglikemia yang telah tersedia saat ini bertujuan untuk mengurangi komplikasi mikrovaskular dan neuropati jangka panjang yang diakibatkan oleh diabetes (Nathan, 2009). Salah satu tumbuhan yang memiliki aktivitas antihiperglikemia adalah daun dari tumbuhan kembang bulan atau *Tithonia diversifolia* (Sasmita, 2017). Masyarakat Indonesia telah banyak menggunakan daun kembang bulan sebagai anti-hiperglikemik (Fauziyah *et al.*, 2018). *Tithonia diversifolia* juga telah digunakan oleh masyarakat China sebagai pengobatan antidiabetes dengan menggunakan lima lembar daun *Tithonia diversifolia* (Sasmita, 2017). Daun kembang bulan digunakan sebagai obat antidiabetes karena memiliki kandungan berupa senyawa alkaloid, terpenoid, saponin, tanin dan polifenol (Amanatie, A. dan Sulistyowati, E., 2015). Flavonoid yang terdapat pada daun kembang bulan merupakan antioksidan yang bersifat protektif terhadap kerusakan di sel β pankreas sehingga akan menghasilkan peningkatan sensitivitas insulin dengan hasil akhir menurunkan konsentrasi glukosa darah. Flavonoid terutama *quercetin* juga memiliki fungsi menghambat GLUT 2 (Glucose Transporters 2) di mukosa usus sehingga dapat menurunkan absorpsi glukosa. Penurunan absorpsi glukosa tersebut

akan menurunkan penyerapan glukosa dan fruktosa dari usus sehingga akan menghasilkan penurunan glukosa darah (Ajie, 2015).

Pembahasan di atas memberikan alasan peneliti bahwa senyawa yang terdapat dalam daun kembang bulan dapat digunakan sebagai obat anti hiperglikemia pada penderita DM sehingga akan mencegah dan mengurangi resiko terjadinya komplikasi mikrovaskular berupa nefropati diabetik dan dapat menghasilkan kadar kreatinin serum yang normal. Penelitian mengenai pengaruh daun kembang bulan terhadap kadar kreatinin serum pada tikus galur Wistar yang diinduksi STZ (*streptozotocin*) juga belum pernah dilakukan. Hal-hal tersebut yang mendasari untuk dilakukannya penelitian pengaruh pemberian ekstrak daun kembang bulan terhadap kadar kreatinin serum pada tikus galur Wistar yang diinduksi DM dengan STZ.

1.2 Perumusan Masalah

1. Bagaimanakah pengaruh pemberian ekstrak etanol daun kembang bulan dengan dosis 50 mg/kgBB, 250 mg/kgBB, dan 500 mg/kgBB terhadap penurunan kadar serum kreatinin pada tikus galur Wistar yang diinduksi DM dengan STZ (Streptozotocin)?

1.3 Tujuan Penelitian

1. Mengetahui pengaruh pemberian ekstrak etanol daun kembang bulan dengan dosis 50 mg/kgBB, 250 mg/kgBB, dan 500 mg/kgBB terhadap penurunan kadar serum kreatinin pada tikus galur Wistar yang diinduksi DM dengan STZ.

1.4 Keaslian Penelitian

Tabel 1. Keaslian Penelitian

| Judul Penelitian | Persamaan | Perbedaan |
|---|--|---|
| The Effects of Chard (<i>Beta vulgaris</i> L.var. <i>cicla</i>). Extract on the Kidney Tissue, Serum Urea and Creatinine Levels of Diabetic Rats (Yanardağ, R <i>et al.</i> , 2002) | Daun <i>Chard</i> dan daun kembang bulan telah diteliti memiliki efek antihiperglikemia karena mengandung flavonoid dan saponin. Kandungan tersebut dapat mencegah terjadinya komplikasi DM. | Menggunakan ekstrak daun <i>Chard</i> dan menggunakan tikus betina. |
| Antidiabetic effect of garlic (<i>Allium sativum</i> L.) in normal and streptozotocin-induced diabetic rats (Eidi, A <i>et al.</i> , 2006) | Ekstrak bawang putih yang memiliki kandungan antioksidan yang hampir sama dengan daun kembang bulan yaitu salah satunya adalah flavonoid. Antioksidan berupa flavonoid akan menyebabkan penurunan kadar ROS di dalam sel, sehingga dapat mencegah terjadinya kerusakan ginjal. | Penelitian ini menggunakan ekstrak dari bawang putih dan dilakukan dengan cara membandingkan tikus yang normal dan tikus yang mengalami DM. |
| Antidiabetic effect of <i>Olea europaea</i> L. In normal and diabetic rats (Eidi, A <i>et al.</i> , 2009) | Daun kembang bulan dan daun zaitun memiliki kandungan antioksidan berupa quercetin. Quercetin memiliki efek sebagai antidiabetik dan agen hipoglikemia. Efek hipoglikemia dapat menurunkan risiko terjadinya komplikasi pada diabetes melitus. | Penelitian ini menggunakan ekstrak dari daun <i>Olea europaea</i> L. atau tumbuhan zaitun dan dilakukan dengan cara membandingkan tikus yang normal dan tikus yang mengalami DM |

1.5 Manfaat Penelitian

Peneliti berharap bahwa penelitian yang dilakukan dapat memberikan manfaat bagi peneliti maupun pihak-pihak lain, seperti :

1. Peneliti

Penelitian ini dapat bermanfaat bagi peneliti yaitu untuk menambah kemampuan menulis ilmiah dan untuk menambah ilmu pengetahuan mengenai pengaruh ekstrak etanol daun kembang bulan (*Tithonia diversifolia*) terhadap penurunan kadar kreatinin serum darah pada tikus galur wistar yang diinduksi diabetes melitus tipe 2.

2. Institusi

Penelitian ini diharapkan dapat memajukan Fakultas Kedokteran Universitas Islam Indonesia dan Universitas Islam Indonesia dalam hal publikasi ilmiah. Penelitian ini juga diharapkan dapat untuk melengkapi data kepustakaan mengenai pengaruh ekstrak etanol daun kembang bulan (*Tithonia diversifolia*) terhadap penurunan kadar kreatinin serum darah pada tikus galur wistar yang diinduksi diabetes melitus tipe 2.

3. Kemajuan Ilmu Kedokteran

Penelitian yang dilakukan diharapkan dapat menambah informasi dan landasan ilmiah mengenai pengaruh dan manfaat ekstrak etanol daun kembang bulan (*Tithonia diversifolia*) terhadap penurunan kadar kreatinin serum darah pada tikus galur wistar yang diinduksi diabetes melitus tipe 2.

BAB II. TINJAUAN PUSTAKA

2.1 Telaah Pustaka

2.1.1 Daun Kembang Bulan

Tanaman kembang bulan atau *Tithonia diversifolia* (Hemsl.) A. Gray disebut juga sebagai bunga matahari Meksiko (Miranda *et al.*, 2015). Kembang bulan merupakan tanaman semak yang awalnya diperkenalkan dari Amerika Tengah ke Kenya sebagai tanaman hias. Tanaman ini umumnya tumbuh di daerah dengan ketinggian 550-1950 meter, dengan rata-rata suhu tahunan sekitar 15-31°C, dan dengan curah hujan tahunan rata-rata antara 100-2000 mm. Tanaman asli Meksiko ini juga tumbuh di beberapa bagian Afrika, Australia, Asia, dan negara-negara lain di Amerika Utara (Di Giacomo *et al.*, 2015). *Tithonia diversifolia* (Hemsl.) A. Gray memiliki berbagai nama di Indonesia seperti “Kembang Bulan”, “Rondo Noleh”, “Rondo Semoyo”, “Kirinyu” di Sunda, dan “Kayu Paik” di Minang. Masyarakat Indonesia telah banyak menggunakan daun kembang bulan sebagai anti-hiperglikemik (Fauziyah *et al.*, 2018).

Klasifikasi tumbuhan kembang bulan atau *Tithonia diversifolia* (Hemsl.) A. Gray sebagai berikut:

Tabel 2. Klasifikasi tumbuhan kembang bulan (Amanatie, A. dan Sulistyowati, E., 2015)

| | |
|------------|---|
| Divisi | : Spermatophyta |
| Sub Divisi | : Angiospermae |
| Kelas | : Dicotyledoneae |
| Bangsa | : Asterales |
| Suku | : Asteraceae |
| Marga | : <i>Tithonia</i> |
| Jenis | : <i>Tithonia diversifolia</i> (Hemsl.) A. Gray |

Tithonia diversifolia (Hemsl.) A. Gray adalah tumbuhan yang dikenal juga sebagai tumbuhan insulin. Tumbuhan ini dapat mencapai tinggi sampai dengan 9 meter, bertunas dan dapat juga merayap di dalam tanah. Tumbuhan insulin secara umum tumbuh liar di tempat-tempat yang curam seperti di tebing-tebing, di tepi-tepi

sungai, dan di selokan. Kembang bulan biasanya dimanfaatkan pada bagian daunnya. Daun kembang bulan digunakan sebagai obat antidiabetes karena memiliki kandungan berupa senyawa alkaloid, terpenoid, saponin, tanin dan polifenol (Amanatie, A. dan Sulistyowati, E., 2015).

Tithonia diversifolia (Hemsl.) A. Gray dan ekstraknya sudah digunakan secara tradisional untuk pengobatan diabetes, diare, nyeri haid, malaria, hematoma, hepatitis, hepatoma, dan untuk penyembuhan luka. Penggunaan tanaman daun kembang bulan sebagai pengobatan tradisional telah diteliti disebabkan oleh efek dari kandungan terpenoid dan flavonoid yang dimilikinya. Terpenoid dan flavonoid merupakan antioksidan yang dapat mencegah pembentukan radikal bebas, menetralkan radikal bebas dengan mekanisme non enzimatis atau dengan cara meningkatkan aktivitas antioksidan endogen. Senyawa polifenol yang terdapat di *Tithonia diversifolia (Hemsl.) A. Gray* telah diteliti memiliki pengaruh dalam menginduksi ekspresi kuat dari HO-1 (Heme Oxygenase - 1) dengan memberikan efek perlindungan. Penurunan aktivitas antioksidan telah dikaitkan dengan peningkatan pembentukan radikal bebas, radikal bebas dapat menyebabkan peningkatan proliferasi dan diferensiasi dari sel adiposit sehingga dapat menyebabkan terjadinya obesitas (Di Giacomo *et al.*, 2015).

Sebuah penelitian menyatakan bahwa *Tithonia diversifolia (Hemsl.) A. Gray* memiliki aktivitas antioksidan yang mempengaruhi ekspresi dari HO-1 dan aktivitas antiadipogenik yang ditemukan pada hMSCs (human Mesenchymal Stem Cells). Aktivitas antiadipogenik tersebut menunjukkan bahwa tanaman kembang bulan memiliki kemampuan untuk menghambat diferensiasi adiposit (Di Giacomo *et al.*, 2015). Penelitian eksperimental yang dilakukan oleh Yulia Fauziah pada tahun 2018 telah membuktikan bahwa daun *Tithonia diversifolia (Hemsl.) A. Gray* yang telah diekstrak dan diberikan secara oral dengan dosis 100 mg/kgBB terbukti dapat meningkatkan berat badan, menekan polifagia, dan menurunkan kadar glukosa darah pada hewan coba (Fauziah *et al.*, 2018).



Gambar 1. Tanaman *Tithonia diversifolia* (Hemsl.) A. Gray (Amanatie, A. dan Sulistyowati, E., 2015)

2.1.2 Komplikasi Diabetes Melitus

Hiperglikemia yang terjadi pada DM dapat menyebabkan komplikasi. Komplikasi DM terdiri dari komplikasi akut dan komplikasi kronis. Komplikasi kronis DM berhubungan dengan penyakit mikrovaskular dan makrovaskular. Komplikasi makrovaskular secara umum memiliki gejala klinik berupa penyakit jantung iskemik, stroke dan kelainan pembuluh darah perifer. Komplikasi mikrovaskular yang secara umum terjadi seperti retinopati diabetik, neuropati diabetik, dan nefropati diabetik. Nefropati diabetik merupakan komplikasi yang berhubungan dengan ginjal akibat dari DM tipe 1 dan DM tipe 2. Nefropati diabetik juga sering disebut sebagai *diabetic kidney disease* (DKD) (Putri, 2015).

Diabetic kidney disease (DKD) dikenal juga sebagai nefropati diabetik yang dapat terjadi pada pasien dengan diabetes melitus tipe 1 maupun diabetes melitus tipe 2. Penyebab utama terjadinya DKD adalah efek jangka panjang dari hiperglikemia yang tidak terkontrol. Definisi dari DKD adalah perubahan struktur dan fungsi dari ginjal. Perubahan struktural ginjal yang utama terjadi pada DKD meliputi ekspansi mesangial, sklerosis glomerulus dan penebalan membran basal dan tubular glomerulus. Manifestasi yang dapat terjadi pada DKD adalah albuminuria persisten, peningkatan tekanan darah, dan penurunan berkelanjutan dari *glomerular filtration rate* (GFR) (Dabla, P.K., 2010). Pada pasien dengan diabetes melitus dapat mengalami proteinuria dengan persentase sekitar 15-40% untuk penderita DM tipe 1 dan sekitar

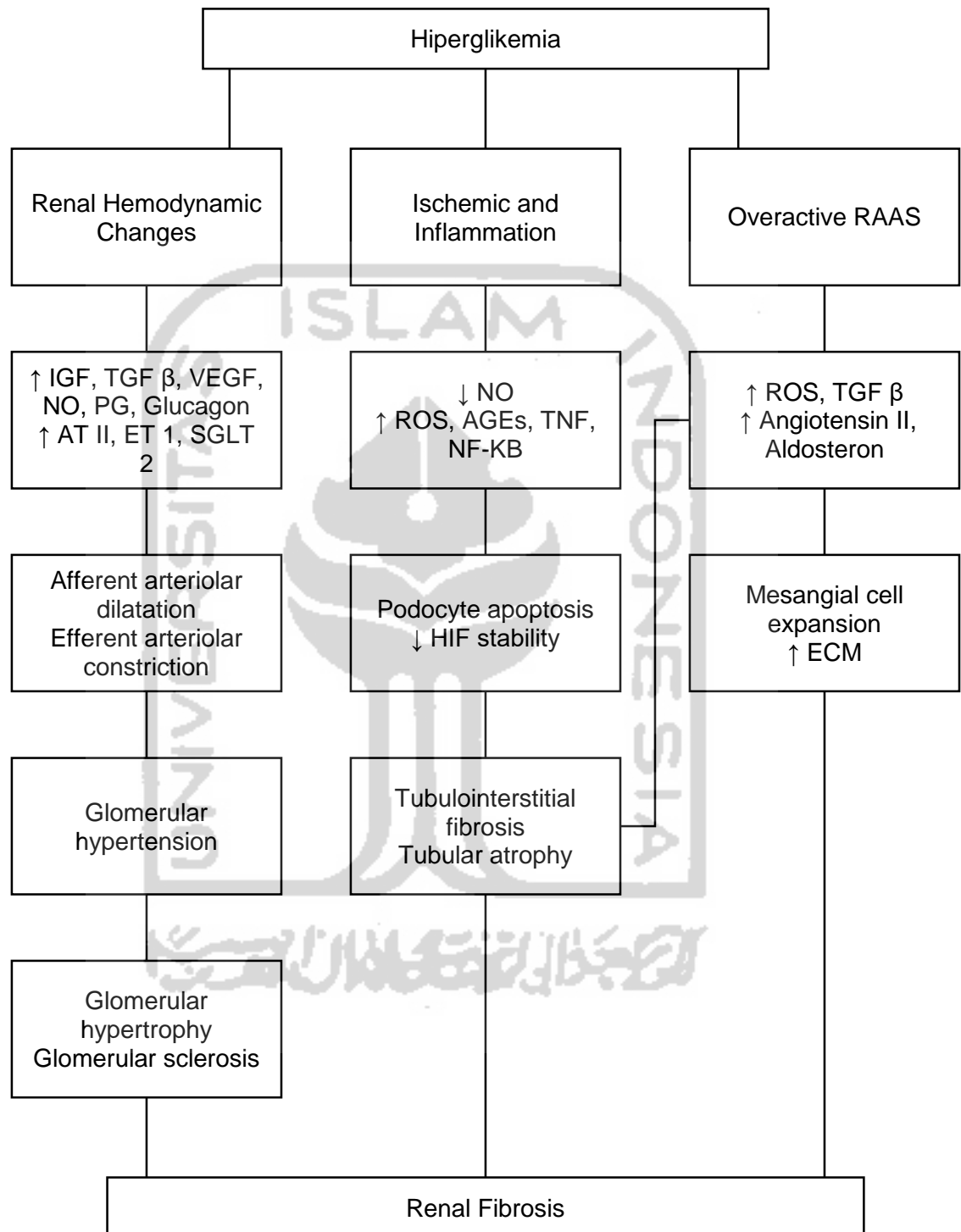
5-20% untuk penderita DM tipe 2. Prevalensi terjadinya DKD lebih tinggi pada orang Afrika-Amerika, Asia dan penduduk asli Amerika (Chawla, A *et al.*, 2016).

Fibrosis renal merupakan hasil akhir patofisiologi DKD karena diabetes melitus. *Diabetic kidney disease* merupakan hasil dari tiga mekanisme yaitu perubahan hemodinamik ginjal, iskemia dan abnormalitas metabolisme glukosa yang menyebabkan peningkatan dari stres oksidatif, dan proses inflamasi dan peningkatan aktivitas renin angiotensis aldosteron system (RAAS). Perubahan hemodinamik ginjal disebabkan oleh terjadinya hiperfiltrasi glomerulus yang menyebabkan terjadinya DKD. Hiperglikemi pada diabetes melitus akan menyebabkan pelepasan mediator vasoaktif seperti insulin like growth factor 1 (IGF 1), glukagon, nitric oxide (NO), vascular endothelial growth factor (VEGF) dan prostaglandin. Mediator vasoaktif yang terlepas tersebut akan menyebabkan dilatasi dari arteriol aferen. Fungsi tubulus ginjal juga mengalami perubahan akibat tingkat kontrol glikemik yang dilakukan oleh tubuh. Hiperglikemia akan menyebabkan tubulus meningkatkan filtrasi glukosa, reabsorpsi glukosa dan natrium klorida (NaCl). Peningkatan ini akan menyebabkan up-regulasi dari sodium glucose cotransporter 2 (SGLT2) di dalam tubulus proksimal, sehingga kadar NaCl di makula densa menurun, kemudian akan mengakibatkan dilatasi arteriol aferen karena umpan balik dari tubuloglomerular. Penyempitan arteriol eferen akan terjadi juga pada saat yang sama karena peningkatan dari angiotensin II. Dilatasi arteriol aferen dan kontriksi arteriol eferen akan menghasilkan perubahan autoregulasi dan hipertensi glomerulus. Hiperinsulinemia juga dapat meningkatkan endothelin 1 (ET-1) yang akan menghasilkan vasokonstriksi dan disfungsi pembuluh darah. Aktivasi reseptor endothelin pada ginjal terkait juga dengan kerusakan podosit, stres oksidatif, inflamasi dan fibrosis (Lin, Y.C *et al.*, 2018):

Lesi awal glomerulus dan vaskular pada DKD akan mengurangi suplai oksigen sehingga selanjutnya menyebabkan hipoksia pada ginjal dan disfungsi tubulus ginjal. Hypoxia inducible factor (HIF) merupakan faktor yang akan mengalami peningkatan, HIF memiliki fungsi untuk mengatasi keadaan hipoksia. Hiperglikemia yang terjadi pada diabetes melitus dapat mengganggu stabilitas HIF sehingga mempercepat terjadinya kerusakan ginjal sampai fibrosis ginjal. Hiperglikemia juga akan menyebabkan kelebihan mitokondria yang akan menyebabkan peningkatan produksi

ROS, produksi ROS yang meningkat selanjutnya akan mengakibatkan kerusakan podosit glomerulus dan meningkatkan apoptosis podosit glomerulus (Lin, Y.C *et al.*, 2018).





Gambar 2. Patogenesis hiperglikemia menyebabkan renal fibrosis (Lin, Y.C et al., 2018)

2.1.3 Pemeriksaan Fungsi Ginjal

Ginjal merupakan organ vital yang berfungsi penting untuk tubuh. Pemeriksaan laboratorium yang bertujuan untuk mengevaluasi dan mengidentifikasi fungsi ginjal pada pasien diabetes melitus akan membantu proses pengobatan pada pasien (Bjornstad, P *et al.*, 2015). Pemeriksaan laboratorium merupakan pemeriksaan penunjang yang dilakukan untuk membantu penegakan diagnosis suatu penyakit dan untuk mengevaluasi perkembangan suatu penyakit. Salah satu pemeriksaan ginjal yang dapat dilakukan adalah analisis urin atau dapat juga disebut sebagai urinalisis. Urinalisis didefinisikan sebagai pemeriksaan secara kimiawi dan mikroskopis terhadap air kencing atau urin. Urinalisis adalah pemeriksaan yang menggunakan sampel berupa urin dan diperiksa secara fisik, kimia, dan mikroskopik. Tujuan dari urinalisis secara umum yaitu untuk mendeteksi kelainan ginjal, saluran kemih, serta mendeteksi kelainan kelainan di berbagai organ lain seperti hati, saluran empedu, pankreas, dan lain sebagainya. Tujuan lain dari urinalisis juga untuk membantu penegakan diagnosis, untuk penapisan penyakit yang bersifat asimtomatik (tidak bergejala), penyakit kongenital, untuk membantu menilai prognosis penyakit, dan untuk memantau efektifitas pengobatan atau komplikasi (Mustopa, 2016).

Urinalisis merupakan pemeriksaan yang terdiri dari tiga komponen pemeriksaan yaitu pemeriksaan makroskopik, pemeriksaan mikroskopik, dan pemeriksaan kimia urin. Pemeriksaan fisik atau makroskopik meliputi tes warna, kejernihan, dan berat jenis. Pemeriksaan mikroskopik untuk melihat sedimen urine seperti eritrosit, leukosit, sel epitel, kristal, dan lain-lain. Pemeriksaan kimia meliputi tes protein, glukosa, keton, darah, bilirubin, urobilinogen, nitrit, dan lekosit esterase (Mustopa, 2016).

Pasien dengan diabetes melitus memiliki kuantitas urin yang lebih banyak dibandingkan dengan pasien non-diabetes melitus. Urin pada penderita ND menunjukkan hasil yang lebih keruh, hasil tersebut diperkirakan karena urin mengandung protein dan glukosa. Akumulasi dari protein dalam urin juga akan terlihat pada kondisi urin yang berbusa. Berat jenis urin pada penderita diabetes melitus dapat menghasilkan nilai normal atau meningkat. Berat jenis urin yang meningkat dapat terjadi karena urin mengandung partikel partikel padat seperti protein dan glukosa. Pemeriksaan mikroskopis urin pada pasien dengan nefropati diabetik akan

mendapatkan hasil glukosa di dalam urin, protein urin yang melebihi 0,5 gram/24 jam dalam 3 kali pengukuran dan laju ekskresi albumin urin sebesar 20-200 µg/menit atau 30-300 mg/24 jam pada 2 dari 3 pemeriksaan (Mustopa, 2016).

Hasil pemeriksaan urinalisis yang menunjukkan laju ekskresi albumin urin sebesar 20-200 µg/menit atau 30-300 mg/24 jam pada 2 dari 3 pemeriksaan dapat disebut sebagai kondisi mikroalbuminuria. Kondisi mikroalbuminuria pada penderita diabetes melitus merupakan tanda dini dari terjadinya nefropati diabetik sehingga perlu dilakukan monitoring fungsi ginjal dengan tujuan untuk mencegah terjadinya nefropati diabetik atau gagal ginjal (American Diabetes Association, 2015). Pemeriksaan fungsi ginjal yang umum digunakan adalah pemeriksaan serum kreatinin dan ureum. Kreatinin dan ureum adalah senyawa yang dapat diekskresikan oleh ginjal. Ureum adalah hasil akhir dari metabolisme protein. Kadar ureum memiliki keterkaitan dengan makanan yang dikonsumsi dan fungsi hati dalam pembentukan ureum. Kreatinin merupakan hasil perombakan keratin yang berisi nitrogen dan terutama ada di dalam otot. Kadar kreatinin yang diproduksi dan disekresikan berbanding lurus dengan massa otot (Heriansyah, H *et al.*, 2019). Kadar kreatinin secara umum berada dalam keadaan yang relatif konstan, sehingga banyak digunakan untuk pengukuran fungsi ginjal yang lebih baik. Kreatinin merupakan produk hasil metabolisme tubuh yang secara konstan difiltrasi oleh ginjal, tidak direabsorpsi, dan disekresikan oleh tubulus proksimal (Sadikin, R.S.H, 2016).

2.1.4 Serum Kreatinin

Ginjal merupakan organ vital yang berfungsi penting untuk tubuh. Pemeriksaan laboratorium yang bertujuan untuk mengevaluasi dan mengidentifikasi fungsi ginjal pada pasien diabetes melitus akan membantu proses pengobatan pada pasien (Bjornstad, P *et al.*, 2015). Salah satu pemeriksaan fungsi ginjal yang paling umum dan murah adalah pemeriksaan kadar serum kreatinin. Pemeriksaan serum kreatinin juga telah digunakan sebagai indikator dalam menentukan pasien yang memerlukan tindakan hemodialisa (Alfonso, A.A *et al.*, 2016). Pengujian kadar serum kreatinin darah saat ini telah digunakan lebih dari 80% laboratorium klinis di seluruh dunia (Inker, L.A *et al.*, 2012).

Kreatinin merupakan hasil metabolisme dari kreatin dan fosfokreatin. Kreatinin memiliki berat molekul sebesar 113-Da (Dalton) (Alfonso, A.A *et al.*, 2016). Kreatinin dalam urin berasal dari filtrasi glomerulus dan sekresi oleh tubulus proksimal ginjal. Berat molekulnya kecil sehingga dapat secara bebas masuk dalam filtrat glomerulus (Levey, 2003; Remer *et al.* 2002; Henry, 2001).

Kreatin terutama ditemukan di jaringan otot (sampai dengan 94%). Kreatin dari otot diambil dari darah karena otot tidak mampu mensintesis kreatin. Kreatin darah berasal dari makanan dan biosintesis yang melibatkan berbagai organ terutama hati. Proses awal biosintesis kreatin berlangsung di ginjal yang melibatkan asam amino arginin dan glisin. Menurut salah satu penelitian *in vitro*, kreatin secara konstan akan diubah menjadi kreatinin dalam jumlah 1,1% per hari. Kreatinin yang terbentuk kemudian akan berdifusi keluar sel otot untuk diekskresi dalam urin. Pembentukan kreatinin dari kreatin berlangsung secara konstan dan tidak ada mekanisme reuptake oleh tubuh, sehingga sebagian besar kreatinin yang terbentuk dari otot diekskresi lewat ginjal, oleh sebab itu ekskresi kreatinin dapat digunakan untuk menggambarkan filtrasi glomerulus (Wyss, 2000).

Kreatinin serum merupakan merupakan metabolit dari kreatin dan hampir semua terletak di otot rangka. Kadar kreatinin normal adalah 0,8 sampai 1,4 mg/dl, secara umum kadar kreatinin pada wanita lebih rendah yaitu sekitar 0,6 sampai 1,2 mg/dl. Perbedaan tingkat kadar kreatinin pada wanita dan laki-laki tersebut disebabkan oleh massa otot yang lebih sedikit pada wanita. Kadar kreatinin serum yang lebih rendah juga dikaitkan dengan peningkatan risiko DM tipe 2 karena dapat mencerminkan volume otot rangka yang lebih rendah pada orang dengan peningkatan risiko DM tipe 2. Otot rangka adalah jaringan target utama dari kerja insulin, sehingga volume otot rangka yang lebih rendah dapat dikaitkan dengan peningkatan resistensi insulin dan kadar serum kreatinin yang lebih rendah (Dabla, P.K., 2010).

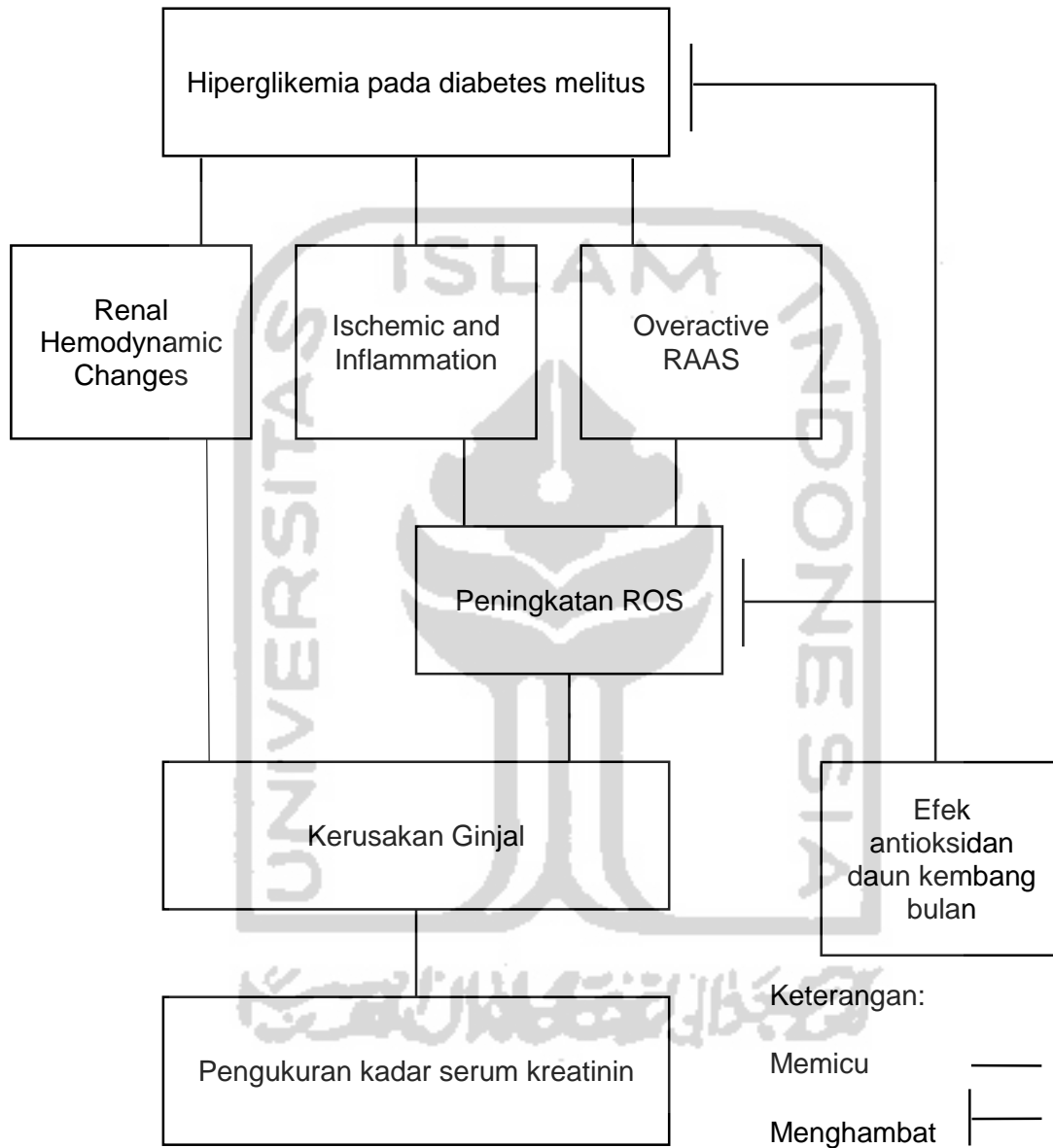
Penurunan kadar kreatinin juga dapat dipengaruhi oleh beberapa keadaan lainnya seperti glomerulonefritis, nekrosis tubular akut, polycystic kidney disease, gagal jantung kongestif, syok, dan dehidrasi. Kreatinin memiliki kadar yang relatif stabil di dalam tubuh sehingga dapat dijadikan sebagai penanda filtrasi ginjal yang baik. Kreatinin juga telah disebutkan sebagai zat yang ideal untuk mengukur fungsi

ginjal karena kreatinin adalah produk hasil metabolisme tubuh yang diproduksi secara konstan, difiltrasi oleh ginjal, tidak direabsorpsi dan sekresikan oleh tubulus proksimal (Sadikin, R.S.H, 2016).

Kreatinin serum merupakan salah satu produk atau biomarker yang sering diukur di laboratorium kimia klinis di seluruh dunia untuk menentukan tingkat kerusakan yang terjadi di ginjal. Pengukuran dan analisis kreatinin serum juga tidak terlalu mahal. Oleh sebab alasan tersebut kreatinin serum darah dianggap mudah dan reliabel untuk dilakukan (Delanaye, P *et al.*, 2017).

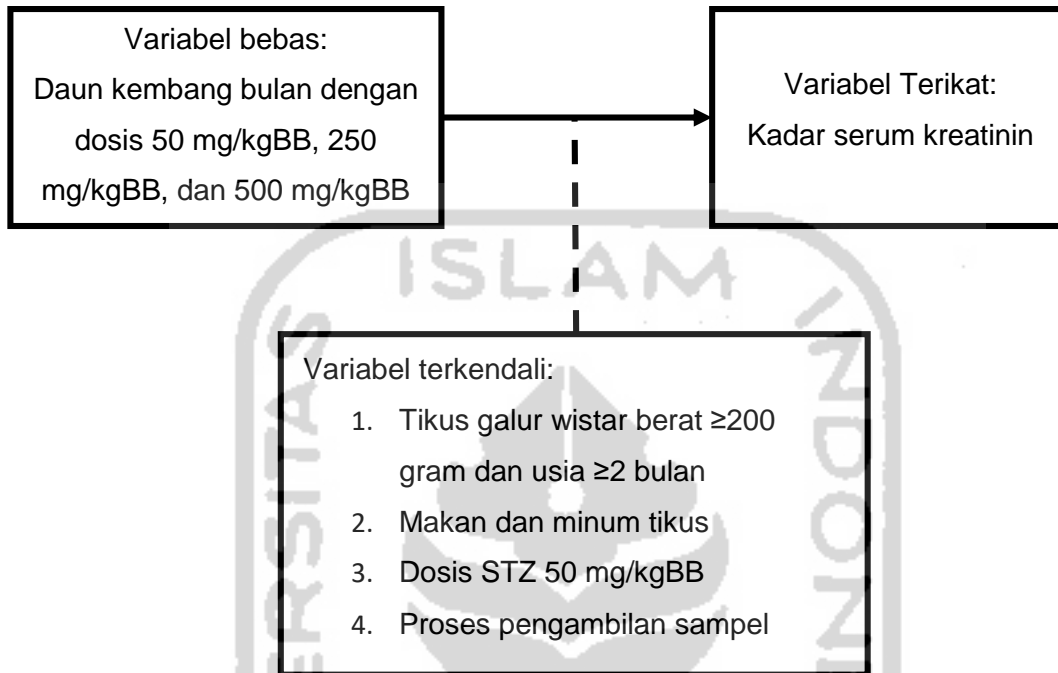


2.2 Kerangka Teori



Gambar 3. Kerangka Teori

2.3 Kerangka Konsep



Gambar 4. Kerangka Konsep

2.4 Hipotesis

Ekstrak etanol daun kembang bulan (*Tithonia diversifolia* (Hemsl.) A. Gray) dengan dosis 50 mg/kgBB, 250 mg/kgBB, dan 500 mg/kgBB memiliki pengaruh terhadap penurunan kadar kreatinin serum darah (penanda kerusakan ginjal) pada tikus galur wistar yang diinduksi DM.

BAB III. METODE PENELITIAN

3.1 Jenis dan Rancangan Penelitian

Penelitian ini adalah penelitian yang dilakukan dengan menggunakan metode *true experimental* dan dengan desain penelitian *post test control group design* untuk mengukur kadar serum kreatinin pada tikus galur Wistar yang diinduksi DM dengan STZ. Pengukuran kadar kreatinin serum darah dilakukan setelah peneliti melakukan intervensi pada hewan coba.

3.2 Waktu dan Tempat Penelitian

Penelitian ini dilakukan pada bulan Juni sampai dengan bulan Juli 2020. Pembuatan ekstrak etanol daun kembang bulan dilakukan di Laboratorium Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Islam Indonesia. Proses penelitian seperti aklimatisasi, induksi, intervensi, dan pengambilan sampel dilaksanakan di Laboratorium Terpadu Fakultas Kedokteran Universitas Islam Indonesia. Kemudian pengukuran atau pengujian kadar kreatinin serum darah dilakukan di Laboratorium Pengujian dan Penelitian Terpadu Universitas Gadjah Mada (LPPT UGM).

3.3 Subyek Penelitian

Populasi penelitian adalah hewan coba tikus putih (*Rattus norvegicus*) jantan dewasa galur Wistar diabetes yang didapatkan dari Laboratorium Riset Fakultas Kedokteran Universitas Islam Indonesia. Sampel penelitian ditentukan dengan cara pengelompokan *simple random sampling*. *Simple random sampling* merupakan teknik sampling yang diambil sedemikian rupa sehingga setiap hewan coba dari populasi memiliki kesempatan yang sama untuk dipilih sebagai sampel pada setiap kelompok penelitian (Sastoasmoro dan Ismael, 2011). Besarnya sampel penelitian ditentukan dengan menggunakan rumus Resource Equation yang digunakan oleh Charan dan Kantahria tahun 2013, sebagai berikut:

$$E = N-T$$

Nilai E merupakan komponen eror dan digunakan untuk estimasi varian yang dianggap optimal jika berada didalam rentang 10-20. Nilai N menunjukkan jumlah unit eksperimen. Nilai T adalah jumlah kelompok yang akan digunakan dalam penelitian. Penelitian ini menggunakan 5 kelompok perlakuan sehingga perhitungan sampel seperti berikut:

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

$$10-20 = (N-1) - (5-1)$$

$$N = 15 - 25$$

Penelitian ini dilakukan dengan menggunakan besar sampel penelitian yang dibutuhkan sebanyak 15 sampai 25 ekor hewan coba. Sampel penelitian terbagi menjadi 5 kelompok perlakuan.

Kriteria inklusi pada penelitian ini adalah:

- a. Hewan coba pada penelitian ini adalah tikus putih galur wistar jantan dengan massa tubuh rata-rata 254 gram dan usia rata-rata 2 bulan
- b. Hewan coba dalam keadaan sehat. Hewan coba dikategorikan sehat apabila dapat bergerak dengan aktif (Susilorini, I.U. dan Soffan, M., 2013).
- c. Hewan coba tidak mengalami kondisi kecacatan secara fisik.

Kriteria eksklusi pada penelitian ini adalah:

- a. Hewan coba sakit.
- b. Hewan coba mati selama penelitian berlangsung.

3.4 Variabel Penelitian

3.4.1 Variabel Bebas

Variabel bebas dalam penelitian ini adalah ekstrak etanol daun kembang bulan (*Tithonia diversifolia*) dengan dosis 50 mg/kgBB, 250 mg/kgBB, dan 500 mg/kgBB (Frayuda, E.J., 2019; Prasetyo *et al*, 2016).

3.4.2 Variabel Terikat

Variabel terikat pada penelitian ini adalah kadar kreatinin serum darah tikus.

3.4.3 Variabel Terkendali

Variabel terkontrol pada penelitian ini adalah:

- a. Tikus putih galur wistar jantan, berat badan rata-rata 254 gram dan usia rata-rata 2 bulan.
- b. Pakan standar dan minuman tikus
Semua tikus diberikan pakan dan minum yang sama. Makanan yang diberikan yaitu pakan ayam berjenis Ad 2 sebagai pengganti makan tikus.
- c. Tempat dan cara pemeliharaan tikus
Tikus ditempatkan di dalam kandang ukuran standar dan dijaga suhu ruang standar (37°C) dan kelembapan standar. Tidak terdapat perbedaan antara suhu dan kelembapan untuk semua tikus.
- d. Streptozotocin
Dosis STZ yang digunakan adalah dosis tunggal 50 mg/kgBB melalui injeksi intraperitoneal (Mustika, A *et al.*, 2017).

Variabel pengganggu yang tidak dapat dikendalikan oleh peneliti adalah kondisi psikologis tikus seperti stres.

3.5 Definisi Operasional

Tabel 3. Definisi Operasional

| Variabel | Definisi Operasional | Jenis Data | Kategori |
|---|--|------------|--|
| Kelompok Kontrol | Kelompok hewan coba yang berfungsi sebagai pembanding pada kelompok uji penelitian | Ordinal | <ul style="list-style-type: none"> • Kontrol positif • Kontrol negatif |
| Kelompok Perlakuan/Intervensi (Ekstrak etanol daun kembang bulan) | Ekstrak etanol daun kembang bulan adalah daun kembang bulan yang telah melalui proses determinasi, pengeringan, penghalusan, perendaman dengan larutan etanol 96%, pemisahan antara ampas dengan filtrat dan pemekatan filtrat yang menghasilkan ekstrak murni dari daun kembang bulan. Pemberian ekstrak kembang etanol daun kembang bulan terbagi menjadi tiga dosis yaitu 50 mg/kgBB, 250 mg/kgBB, dan 500 mg/kgBB. | Ordinal | <ul style="list-style-type: none"> • Perlakuan 1 (50 mg/kgBB) • Perlakuan 2 (250 mg/kgBB) • Perlakuan 3 (500 mg/kgBB) |
| Kadar Serum Kreatinin | Sampel akan didapatkan dari darah yang diambil melalui retro-orbita, kemudian sampel darah tersebut akan disentrifus dengan kecepatan 3000 rpm selama 10 menit (El-Baz, F.K <i>et al.</i> , 2016). Kreatinin serum akan diuji menggunakan metode <i>Jaffe</i> dengan nilai serum kreatinin normal pada tikus galur wistar adalah 0.20-0.80 mg/dL (Laksmi, N.L.G.M.C <i>et al.</i> , 2014). | Ratio | Angka (mg/dL) |

3.6 Instrumen Penelitian

3.6.1 Ekstrak daun kembang bulan

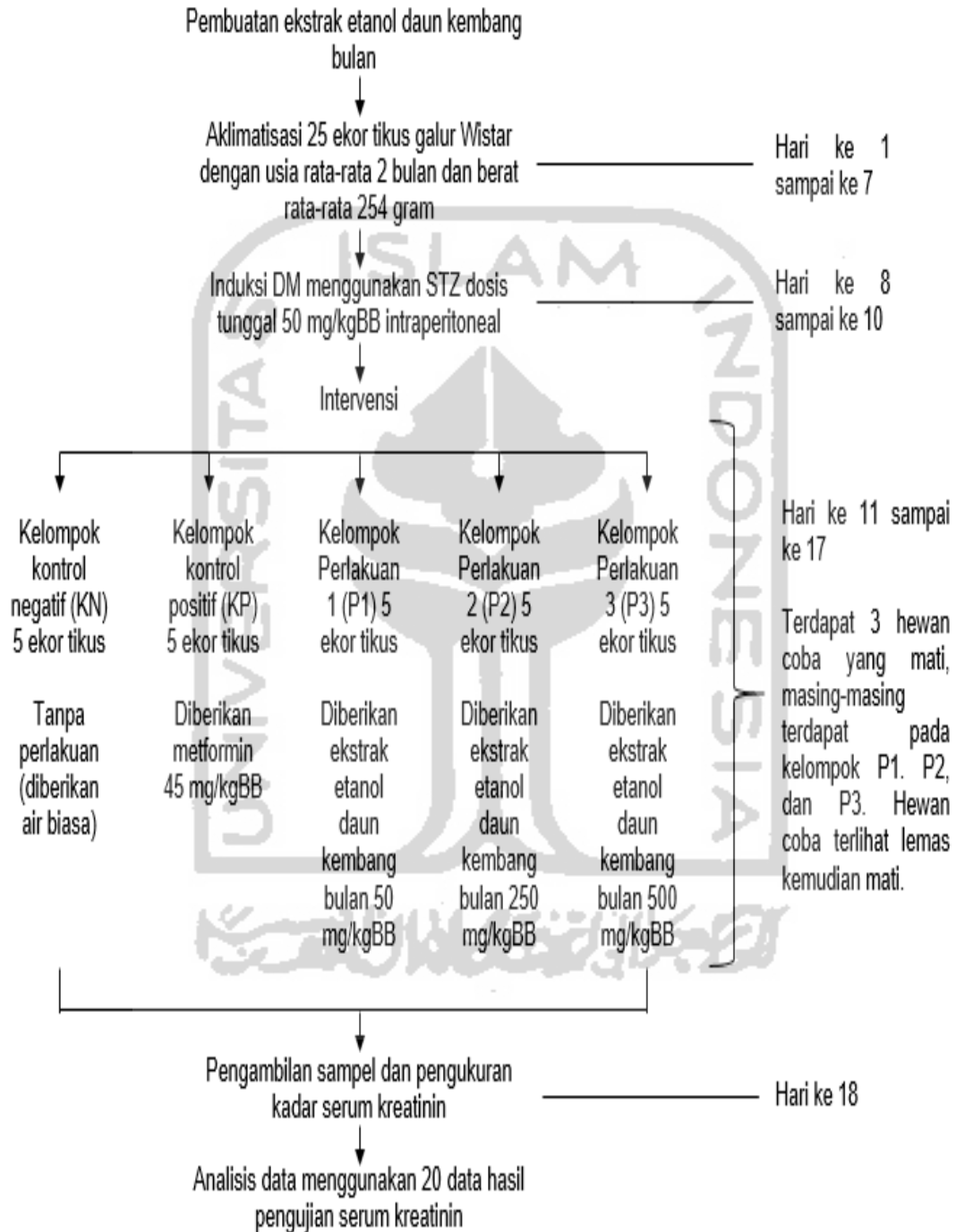
Alat yang dibutuhkan adalah bejana dan *rotary evaporator*. Bahan yang digunakan untuk membuat ekstrak daun kembang bulan adalah daun kembang bulan yang telah dideterminasi dan kertas penyaring. Daun kembang bulan yang dipakai merupakan daun yang dipetik dan didapatkan dari tanaman kembang bulan liar yang berada di kecamatan Ngemplak, Sleman, Yogyakarta.

3.6.2 Perlakuan hewan coba

Alat yang dibutuhkan untuk perlakuan hewan coba pada penelitian ini adalah kandang tikus, timbangan tikus, sonde oral, masker, sarung tangan, gelas ukur, tempat makan tikus, dan tempat minum tikus. Bahan yang diperlukan adalah makanan dan minuman tikus sesuai standar laboratorium, larutan saline, STZ, ekstrak daun kembang bulan, metformin, tikus galur wistar jantan usia rata-rata 2 bulan dengan massa tubuh rata-rata 254 gram, dan sekam.

Penelitian ini menggunakan tikus galur Wistar yang telah diinduksi diabetes melitus dengan menggunakan STZ. Hewan coba akan diberikan larutan sukrosa 10% sepanjang malam pertama setelah penginduksian STZ untuk menghindari *sudden hypoglycemic post injection* (Mustika, A *et al.*, 2017). Tiga hari setelah induksi akan dilakukan pengukuran glukosa darah menggunakan glukometer dengan cara ujung ekor hewan coba akan dipotong dengan gunting sekitar 1 mm, kemudian darah dari ujung ekor tersebut akan disentuh pada ujung *stick* glukometer. Hewan coba akan dikategorikan diabetes melitus apabila glukosa darah sewaktu ≥ 200 mg/dL (Saputra, N.T *et al.*, 2018).

3.7 Alur Penelitian



Gambar 5. Alur Penelitian

3.7.1 Mekanisme penelitian

Penelitian ini menggunakan 5 kelompok penelitian. Ekstrak etanol daun kembang bulan sebagai intervensi dalam penelitian ini dibuat di Laboratorium Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Islam Indonesia. Proses penelitian dilakukan di Laboratorium Terpadu Fakultas Kedokteran Universitas Islam Indonesia.

a. Ekstrak etanol daun kembang bulan

Daun kembang bulan dipetik dan didapatkan dari tanaman kembang bulan liar yang berada di kecamatan Ngemplak, Sleman, Yogyakarta. Daun kembang bulan tersebut kemudian dideterminasi sehingga dapat diolah menjadi ekstrak. Daun kembang bulan dikeringkan dan dihaluskan. Kemudian dilakukan proses maserasi kinetik menggunakan larutan etanol 96% sehingga akan didapatkan pemisahan antara ampas dan filtrat daun kembang bulan. Filtrat yang telah terkumpul dipekatkan dengan *rotary evaporator*, setelah itu dilanjutkan dengan proses penguapan di atas *waterbath* sampai didapatkan bobot yang konstan. Hasil akhir dari proses tersebut didapatkan ekstrak murni yang siap untuk diencerkan sesuai dengan kadar yang diinginkan.

b. Perawatan dan aklimatisasi hewan coba

Penelitian dilakukan terhadap 25 tikus jantan galur Wistar yang berusia rata-rata 2 bulan dan berat rata-rata 254 gram. Proses adaptasi tempat baru pada hewan coba dilakukan selama 7 hari di dalam kandang standar (Mustika, A *et al.*, 2017). Pemberian makan dan minum sesuai dengan standar Laboratorium Fakultas Kedokteran Universitas Islam Indonesia. Makanan yang diberikan yaitu pakan ayam berjenis Ad 2 sebagai pengganti makan tikus. Hewan coba ditempatkan di dalam kandang ukuran standar dan dijaga suhu ruang standar (37°C) dan kelembapan standar. Tidak terdapat perbedaan antara suhu dan kelembapan untuk semua tikus.

c. Induksi DM hewan coba

Induksi hewan coba dilakukan setelah proses aklimatisasi selesai dilakukan. Hewan coba diinjeksikan STZ dengan dosis tunggal 50 mg/kgBB intraperitoneal. Hewan coba diberikan larutan sukrosa 10% sepanjang malam pertama setelah penginduksian STZ untuk menghindari *sudden hypoglycemic post injection* (Mustika,

A *et al.*, 2017). Tiga hari setelah induksi dilakukan pengukuran glukosa darah menggunakan glukometer atau *rapid test*. Hewan coba dikategorikan diabetes melitus apabila glukosa darah sewaktu ≥ 200 mg/dL (Saputra, N.T *et al.*, 2018).

d. Intervensi hewan coba

Intervensi pada penelitian ini dilakukan selama 7 hari melalui sondasi lambung satu kali setiap hari dan dimulai 24 jam setelah hewan coba dinyatakan diabetes melitus. Intervensi yang diberikan pada KN berupa pemberian air biasa atau aquades, KP berupa pemberian metformin dengan dosis 45 mg/kgBB, P1 diberikan ekstrak etanol daun kembang bulan dengan dosis 50 mg/kgBB, P2 diberikan ekstrak etanol daun kembang bulan 250 mg/kgBB dan P3 juga diberikan ekstrak etanol daun kembang bulan sebesar 500 mg/kgBB. Selama proses intervensi dilakukan terdapat 3 hewan coba yang terlihat lemas kemudian mati, hewan coba yang mati terdapat pada kelompok P1, P2, dan P3.

e. Pengambilan sampel dan pengukuran kadar serum kreatinin

Sampel didapatkan dari darah yang diambil melalui retro-orbita, kemudian sampel darah tersebut disentrifus dengan kecepatan 3000 rpm selama 10 menit, sehingga menghasilkan sampel berupa serum. Serum yang telah dipisahkan dengan komponen darah lainnya dapat digunakan untuk analisis kadar kreatinin darah (El-Baz, F.K *et al.*, 2016). Kreatinin serum diuji menggunakan metode *Jaffe*. Metode ini akan mengukur kadar serum kreatinin menggunakan analisis spektrofotometri yang mendeteksi perubahan warna yang terjadi antara reagen dan kreatinin di dalam serum sehingga didapatkan kadar serum kreatinin.

f. Analisis data

Analisis data dilakukan setelah peneliti mendapatkan hasil dari pengukuran kadar serum kreatinin dari 20 ekor hewan coba agar jumlah subjek penelitian seimbang pada semua kelompok.

3.8 Analisis Data

Data hasil pengukuran kadar serum kreatinin dianalisis menggunakan *software* SPSS. Sampel pada penelitian ini berjumlah <50 sampel sehingga dilakukan uji normalitas dengan uji *Shapiro Wilk*. Hasil uji yang didapatkan adalah semua data

menunjukkan distribusi data yang normal ($p > 0.05$). Pengujian data kemudian dilanjutkan menggunakan uji *one way anova*. Hasil uji menunjukkan bahwa *Lavene's Test* menunjukkan variansi data yang tidak homogen ($p < 0.05$) dan hasil uji *anova* menunjukkan terdapat perbedaan kadar serum kreatinin tikus yang signifikan minimal pada dua kelompok uji ($p < 0.05$). Uji homogenitas dan uji *one way anova* yang menunjukkan hasil $p < 0.05$ dilanjutkan dengan pengujian hubungan perbandingan antar kelompok menggunakan uji *Post-Hoc LSD*. Data yang diperoleh dikatakan signifikan apabila nilai *p value* < 0.05 (Dahlan, 2014).

3.9 Etika Penelitian

Penelitian dilakukan setelah mendapatkan izin dari Komite Etik Fakultas Kedokteran Universitas Islam Indonesia dengan nomor protokol 1/Ka.Kom.Et/70/KE/II/2020. Penelitian dimulai dengan proses perizinan kepada Laboratorium Terpadu Universitas Islam Indonesia. Penelitian ini menggunakan hewan coba berupa tikus galur Wistar yang dipelihara dan dirawat sesuai dengan standar laboratorium.

BAB IV. HASIL DAN PEMBAHASAN

4.1 Hasil

Penelitian dilaksanakan pada bulan Juni sampai dengan bulan Juli 2020 setelah mendapatkan izin dari komite etik Fakultas Kedokteran Universitas Islam Indonesia dengan nomor protokol 1/Ka.Kom.Et/70/KE/II/2020. Penelitian menggunakan metode *true experimental* dan dengan desain *post test only group design*. Sampel berupa serum kreatinin yang didapatkan dari 20 ekor tikus galur wistar.

Subyek penelitian terbagi menjadi 5 kelompok dengan menggunakan teknik *simple random sampling* dan masing-masing kelompok berisikan 4 ekor tikus. Hewan coba terbagi menjadi 5 kelompok yaitu kelompok kontrol negatif (tanpa perlakuan), kelompok kontrol positif (metformin 45 mg/kgBB), kelompok perlakuan 1 (ekstrak etanol daun kembang bulan dosis 50 mg/kgBB), kelompok perlakuan 2 (ekstrak etanol daun kembang bulan 250 mg/kgBB), dan kelompok perlakuan 3 (ekstrak etanol daun kembang bulan 500 mg/kgBB). Hewan coba yang telah dikelompokkan kemudian menjalani proses aklimatisasi (7 hari), penginduksian DM (3 hari), intervensi (7 hari) dan pembuatan sampel di Laboratorium Terpadu Universitas Islam Indonesia. Pengukuran sampel berupa serum kreatinin dilakukan di Laboratorium Pengujian dan Penelitian Terpadu Universitas Gadjah Mada (LPPT UGM) menggunakan metode *Jaffe*. Data yang didapatkan dari pengukuran kemudian dianalisis menggunakan *software* SPSS dan uji *one way anova*. Berikut ini adalah hasil nilai rata-rata kadar serum kreatinin darah tikus galur wistar pada Tabel 4.

Tabel 4. Rerata Kadar Serum Kreatinin

| Kelompok Penelitian | Jumlah Sampel | Mean Kadar Serum Kreatinin (mg/dL) | Nilai P |
|----------------------|---------------|------------------------------------|---------|
| Kontrol Positif (KP) | 4 | 0.40 ± 0.05 | 0.005 |
| Kontrol Negatif (KN) | 4 | 0.40 ± 0.03 | |
| Perlakuan 1 (P1) | 4 | 0.31 ± 0.02 | |
| Perlakuan 2 (P2) | 4 | 0.34 ± 0.01 | |
| Perlakuan 3 (P3) | 4 | 0.32 ± 0.07 | |

Tabel 4 menunjukkan bahwa mean atau rerata kadar serum kreatinin tertinggi terdapat pada kelompok KP (0.40 ± 0.05 mg/dL), diikuti oleh kelompok KN (0.40 ±

0.03 mg/dL), kelompok P2 (0.34 ± 0.01 mg/dL), kelompok P3 (0.32 ± 0.07 mg/dL), dan kelompok P1 (0.31 ± 0.02 mg/dL). Data dari hasil pengukuran kadar serum kreatinin dilakukan uji normalitas menggunakan uji *Shapiro-Wilk*. Uji normalitas yang digunakan adalah *Shapiro-Wilk* karena jumlah sampel <50 sampel. Berdasarkan uji normalitas tersebut didapatkan kelompok KP $p = 0.348$, kelompok KN $p = 1.00$, kelompok P1 $p = 0.577$, kelompok P2 $p = 0.683$, dan kelompok P3 $p = 0.269$. Hasil uji normalitas memiliki tujuan untuk mengetahui persebaran data penelitian, persebaran data dikatakan normal apabila nilai signifikansi $p > 0.05$. (Dahlan, 2014) Oleh sebab indikator tersebut dapat disimpulkan bahwa semua data memiliki persebaran yang normal atau data berdistribusi dengan normal.

Data yang berdistribusi normal dilanjutkan dengan uji *one way anova*. Hasil dari pengujian tersebut didapatkan hasil uji homogenitas menggunakan *Levene statistic* $p = 0.000$ ($p < 0.05$) dan uji anova $p = 0.046$ ($p < 0.05$). Hasil tersebut dapat diinterpretasikan bahwa variansi di dalam data penelitian tidak homogen dan terdapat perbedaan kadar serum kreatinin tikus yang signifikan minimal pada dua kelompok uji. Uji homogenitas dan uji *one way anova* yang menunjukkan hasil $p < 0.05$ dilanjutkan dengan pengujian hubungan perbandingan antar kelompok menggunakan uji *Post-Hoc LSD* (Dahlan, 2014).

Tabel 5. Post-Hoc LSD

| Kelompok Penelitian | | Nilai P |
|---------------------|----|--------------|
| KP | KN | 1.000 |
| | P1 | 0.019 |
| | P2 | 0.100 |
| | P3 | 0.039 |
| KN | KP | 1.000 |
| | P1 | 0.019 |
| | P2 | 0.100 |
| | P3 | 0.039 |
| P1 | KP | 0.019 |
| | KN | 0.019 |
| | P2 | 0.394 |
| | P3 | 0.720 |
| P2 | KP | 0.100 |
| | KN | 0.100 |
| | P1 | 0.394 |
| | P3 | 0.616 |
| P3 | KP | 0.039 |
| | KN | 0.039 |
| | P1 | 0.720 |
| | P2 | 0.616 |

Hasil *Post-Hoc LSD* dikatakan memiliki perbedaan yang signifikan apabila nilai signifikansi $p < 0.05$. (Dahlan, 2014) Oleh sebab itu, dapat ditarik kesimpulan bahwa antara kelompok KP-P1 ($p=0.019$), kelompok KP-P3 ($p=0.039$), kelompok KN-P1 ($p=0.019$), dan kelompok KN-P3 ($p=0.039$) memiliki perbedaan kadar serum kreatinin yang signifikan atau bermakna. Hasil kadar serum kreatinin antar kelompok menunjukkan hasil yang tidak signifikan atau tidak bermakna pada kelompok KP-KN ($p=1.000$), kelompok KP-P2 ($p=0.100$), kelompok KN-P2 ($p=0.100$), kelompok P1-P2 ($p=0.394$), kelompok P1-P3 ($p=0.720$), dan kelompok P2-P3 ($p=0.616$).

4.2 Pembahasan

Hasil analisis data antara kelompok KP-P1 ($p=0.019$), kelompok KP-P3 ($p=0.039$), kelompok KN-P1 ($p=0.019$), dan kelompok KN-P3 ($p=0.039$) yang menunjukkan kelompok yang diberikan metformin 45 mg/kgBB dan kelompok hewan coba yang tidak diberikan perlakuan memiliki perbedaan rerata kadar serum kreatinin yang signifikan atau bermakna dengan kelompok yang diberikan ekstrak etanol daun

kembang bulan dosis 50 mg/kgBB dan 500 mg/kgBB. Hasil tersebut juga diperkuat dengan rerata kadar serum kreatinin pada kelompok P1 = 0.31 ± 0.02 dan kelompok P3 = 0.32 ± 0.07 . Rerata kadar serum kreatinin pada kelompok pemberian ekstrak etanol daun kembang bulan 50 mg/kgBB dan 500 mg/kgBB lebih rendah dibandingkan dengan kelompok yang diberikan metformin 45 mg/kgBB dan kelompok yang tidak mendapatkan perlakuan apapun.

Hal tersebut didukung oleh hasil penelitian yang dilakukan oleh Khoerul Anwar pada tahun 2016 bahwa ekstrak etanol daun kembang bulan memiliki kandungan kimia berupa alkaloid, saponin, flavonoid dan tanin. Kandungan kimia yang dimiliki ekstrak etanol daun kembang bulan bekerja secara sinergi untuk menimbulkan efek antidiabetes atau antihiperlikemia. Alkaloid memiliki fungsi untuk melepaskan insulin dari sel β pankreas dan efek perlindungan pada sel β pankreas akibat induksi DM pada hewan coba. Saponin berfungsi sebagai antioksidan yang dapat melindungi sel β pankreas dan memberikan efek pengurangan degranulasi, saponin juga memiliki mekanisme kerja yang mirip dengan penghambat α glukosidase. Flavonoid membantu proses regenerasi sel β pankreas dengan cara menangkal radikal bebas, meningkatkan pelepasan insulin dan menstimulasi penyerapan kalsium atau Ca^{2+} . Tanin merupakan antioksidan yang dapat menginduksi fosforilasi reseptor insulin dengan membentuk GLUT 4 (Anwar, K., 2017).

Penelitian yang dilakukan oleh Nanda Dwi Mahara pada tahun 2016 mengemukakan bahwa hiperglikemia yang terjadi pada kondisi diabetes melitus dan ditekan oleh efek antioksidan dari ekstrak etanol daun kembang bulan memiliki hubungan dengan kadar serum kreatinin. Semakin besar kadar glukosa darah maka akan semakin tinggi kadar serum kreatinin (Mahara, N.D., 2016). Hal tersebut disebabkan oleh kadar glukosa yang terkendali atau stabil akan menurunkan produksi *Advanced Glycosilation Product* (AGEs) sehingga akan mencegah terjadinya perubahan protein struktur dan disfungsi vaskular, lesi glomerulus, proteinuria dan akan berakhir dengan gagal ginjal (ES, H.S *et al.*, 2018). Hiperglikemia pada DM dapat mengkatalis pembentukan ROS sehingga jika terjadi kontrol glukosa yang baik akan menurunkan produksi ROS dan menghasilkan pencegahan terjadinya kerusakan ginjal atau ND (Widowati, 2008).

Berdasarkan hasil analisis data antara kelompok KP-P2 ($p=0.100$) dan kelompok KN-P2 ($p=0.100$) menunjukkan kelompok hewan coba kontrol negatif atau kelompok tanpa perlakuan dengan kelompok P2 yang diberikan ekstrak etanol daun kembang bulan 250 mg/kgBB tidak memiliki perbedaan kadar serum kreatinin secara signifikan. Hal yang sama juga terjadi antara kelompok kontrol positif yang diberikan metformin dengan dosis 45 mg/kgBB dan kelompok P2 yang diberikan ekstrak etanol daun kembang bulan 250 mg/kgBB. Hasil penelitian ini dapat terjadi karena terdapat bias dalam penelitian seperti yang dikemukakan oleh Parawansah pada penelitiannya. Bias yang dapat mempengaruhi penelitian adalah faktor biologis seperti faktor yang terdapat pada hewan coba, makanan yang kurang, kandang yang tidak sesuai, pelarut yang digunakan dalam mengekstraksi sampel seperti pelarut yang tidak dapat menarik semua zat-zat yang terkandung dalam sampel (Parawansah, P *et al.*, 2016).

Kreatinin merupakan produk sampingan katabolisme otot yang berasal dari hasil penguraian kreatin fosfat otot (Priyanto, I. dan Budiwiyono, I., 2019). Kreatinin berasal dari otot dan hampir seluruhnya disaring di glomerulus (Anna, I.L *et al.*, 2017). Kadar kreatinin dalam tubuh juga dipengaruhi oleh beberapa hal faktor seperti perubahan massa otot, aktifitas fisik yang berlebihan dapat meningkatkan kadar kreatinin, usia dan jenis kelamin (Priyanto, I. dan Budiwiyono, I., 2019).

Hasil rerata kadar serum kreatinin pada penelitian ini dapat dilihat pada Tabel 4. Nilai normal serum kreatinin untuk tikus galur wistar jantan adalah 0.20-0.80 mg/dL (Laksmi, N.L.G.M.C *et al.*, 2014). Penelitian ini menunjukkan bahwa kadar serum kreatinin hewan coba pada seluruh kelompok berada dalam rentang normal dan berdasarkan hasil analisis data didapatkan KP dan KN dengan nilai $p = 1.000$ yang menunjukkan bahwa tidak terdapat perbedaan yang signifikan pada kadar serum kreatinin antara kelompok hewan coba yang diberikan metformin 45 mg/kgBB dan kelompok hewan coba yang tidak diberikan perlakuan. Hasil analisis tersebut juga diperkuat dengan rerata kadar serum kreatinin yang sama pada kelompok KP = 0.40 ± 0.05 dan KN = 0.40 ± 0.03 .

Hal tersebut dapat terjadi karena ginjal belum mengalami kerusakan secara signifikan. Penelitian sebelumnya menunjukkan bahwa 48 jam pertama setelah

induksi DM dengan STZ mulai terjadi peningkatan ekskresi NO urin, peningkatan produksi NO menyebabkan kondisi hiperfiltrasi dan hipertrofi pada tahap awal kerusakan ginjal. Produksi NO akan dimulai pada minggu pertama setelah induksi dan mengalami peningkatan secara signifikan pada minggu ke 2 sampai 8 setelah induksi STZ (Levin-laina, N *et al.*, 2011). Pemberian STZ dengan dosis 35-65 mg/kgBB secara intraperitoneal akan menyebabkan kondisi DM yang stabil (Mostafavinia, A *et al.*, 2016). Dosis tersebut awalnya akan menimbulkan hiperglikemia akan tetapi mekanisme perbaikan segera teraktivasi dengan cara mengurangi atau menghentikan glikosuria (Firdaus, F *et al.*, 2016).

Nefropati diabetik memiliki tahapan atau stadium penyakit yang terdiri dari tahap 1 sampai dengan tahap V. Tahap I ND sudah terjadi hiperfiltrasi dan hipertrofi tetapi kadar serum kreatinin masih normal. Tahap I pada ND juga belum mengalami albuminuria. Tahap II ND disebut juga sebagai *silent stage* karena pada tahapan ini terjadi lesi glomerular tanpa gejala klinis, tahap ini ditandai dengan penebalan membran basal dan proliferasi mesangial, tetapi kadar serum kreatinin masih normal. Tahap III merupakan tahap mikroalbuminuria dan sudah mulai terjadi peningkatan kadar serum kreatinin. Tahap IV yaitu tahap gagal ginjal kronis dengan kondisi makroalbuminuria dan peningkatan kadar serum kreatinin yang signifikan. Tahap terakhir adalah tahap V atau *end stage renal disease* (ESRD) (Pasau, 2014). Hiperfiltrasi merupakan mekanisme awal patogenik dalam kerusakan ginjal. Ginjal yang mengalami pengurangan fungsi akan melakukan kompensasi dengan cara meningkatkan filtrasi glomerulus yang sehat sehingga kondisi hiperfiltrasi dan hipertrofi pada tahap I ND belum menyebabkan peningkatan kadar serum kreatinin pada hewan coba (Alfarisi, S *et al.*, 2013).

Hasil kadar serum kreatinin yang masih dalam rentang normal dapat terjadi karena penelitian memiliki keterbatasan dalam pelaksanaannya. Salah satu keterbatasan dalam penelitian ini adalah durasi penelitian yang singkat. Durasi waktu penelitian terbagi menjadi dua yaitu waktu penginduksian DM dan waktu pemberian perlakuan. Hal tersebut didukung oleh penelitian yang dilakukan oleh Muhammad Zafar pada tahun 2009 yang menyatakan bahwa gangguan fungsi ginjal yang dapat menyebabkan mikroalbuminuria dan peningkatan serum kreatinin terjadi pada minggu

ke 1 sampai 3 setelah penginduksian dengan STZ (Zafar, M *et al.*, 2009). Penelitian yang dilakukan oleh Eidi dkk pada tahun 2006 dan 2009 yang menunjukkan bahwa terdapat peningkatan kadar serum kreatinin dengan durasi waktu penelitian yang terbagi menjadi 5 hari induksi DM dengan STZ dan 14 hari pemberian perlakuan (Eidi, A *et al.*, 2006; Eidi, A *et al.*, 2009). Penelitian lain yang telah menunjukkan adanya peningkatan kadar serum kreatinin juga telah dilakukan oleh Yanardağ dkk dengan pembagian durasi waktu 14 hari untuk penginduksian DM dan 28 hari pemberian perlakuan atau intervensi (Yanardağ, R *et al.*, 2002).

Analisis data pada kelompok P1-P2 ($p=0.394$), kelompok P1-P3 ($p=0.720$), dan kelompok P2-P3 ($p=0.616$) menunjukkan bahwa kelompok yang diberikan ekstrak etanol daun kembang bulan sebesar 50 mg/kgBB, 250 mg/kgBB dan 500 mg/kgBB tidak memiliki perbedaan kadar serum kreatinin yang bermakna. Hasil analisis tersebut juga memiliki kesamaan dengan hasil penelitian yang dilakukan oleh Rizki Maulida pada tahun 2019 yang menyebutkan bahwa tidak terdapat dosis optimum pemberian ekstrak daun kembang bulan untuk mengurangi kadar serum kreatinin. Hal tersebut dapat terjadi karena belum terjadi perubahan gambaran histopatologi ginjal atau sudah terjadi perubahan gambaran histopatologi ginjal tetapi tidak menimbulkan gejala klinis pada hewan coba (Maulida, 2019). Oleh sebab itu tidak dapat ditentukan dosis optimum pemberian ekstrak etanol daun kembang bulan yang dapat mempengaruhi kadar serum kreatinin.

BAB V SIMPULAN DAN SARAN

5.1 Simpulan

Pemberian ekstrak etanol daun kembang bulan dengan dosis 50 mg/kgBB, 250 mg/kgBB, dan 500 mg/kgBB tidak menurunkan kadar serum kreatinin pada tikus galur wistar yang diinduksi DM dengan STZ.

5.2 Saran

Saran yang dapat peneliti berikan berdasarkan hasil analisis penelitian yang telah dilakukan sebagai berikut:

1. Perlu dilakukan penelitian dengan durasi waktu yang lebih lama untuk mengetahui pengaruh pemberian ekstrak daun kembang bulan terhadap kadar serum kreatinin.
2. Perlu dilakukan pemeriksaan kadar serum kreatinin sebelum perlakuan diberikan untuk mengetahui fungsi organ ginjal.
3. Perlu dilakukan uji toksisitas terhadap ekstrak etanol daun kembang bulan sehingga dapat digunakan sebagai obat yang aman dan terstandar.

DAFTAR PUSTAKA

- Ajie, R.B., 2015. White dragon fruit (*Hylocereus undatus*) potential as Diabetes Mellitus treatment. *Jurnal Majority*, 4(1).
- Alfarisi, S., Basuki, W. and Susantiningsih, T., 2013. Perbedaan kadar kreatinin serum pasien diabetes melitus tipe 2 yang terkontrol dengan yang tidak terkontrol di RSUD Dr. H. Abdul Moeloek Bandar Lampung Tahun 2012. *Jurnal Majority*, 2(5).
- Alfonso, A.A., Mongan, A.E. and Memah, M.F., 2016. Gambaran kadar kreatinin serum pada pasien penyakit ginjal kronik stadium 5 non dialisis. *eBiomedik*, 4(1).
- Amanatie, A. and Sulistyowati, E., 2015. Structure elucidation of the leaf of *Tithonia diversifolia* (Hemsl) gray. *Jurnal Sains dan Matematika Universitas Diponegoro*, 23, pp.101-106.
- American Diabetes Association, 2015. Standards of Medical Care in Diabetes. Volume 38, Supplement 1.
- Amir, N., Suprayitno, E., Hardoko, H. and Nursyam, H., 2016. Pengaruh Sipermetrin Pada Jambal Rotiterhadap Kadaru Reum dan Kreatinin Tikus Wistar (*Rattus norvegicus*). *Jurnal IPTEKS Pemanfaatan Sumberdaya Perikanan*, 2(3).
- Anna, I.L., Fauziah, F. and Firdus, F., 2017. Efek pemberian ekstrak etanol kayu manis (*Cinnamomum burmannii* Ness Ex Bl.) terhadap kadar ureum dan kreatinin tikus (*Rattus novergicus*). *Jurnal Bioleuser*, 1(2).
- Anwar, K., Hariadi, R.E.P., Kamalia, N., Santoso, H.B. and Ngindra, A.P.L., 2017. Perbandingan Efek Ekstrak Etanol, Fraksi N-Butanol, dan Fraksi Petroleum Eter Daun Kembang Bulan (*Tithonia diversifolia* (Hemsley) A. Gray) Terhadap Penurunan Kadar Glukosa Darah Mencit Jantan Yang Diinduksi Aloksan. *Jurnal Pharmascience*, 3(2).
- Arista, M., 2013. Aktivitas antioksidan ekstrak etanol 80% dan 96% daun katuk (*Sauropus androgynus* (L.) Merr.). *Calyptra*, 2(2), pp.1-16.
- Bjornstad, P., Cherney, D.Z. and Maahs, D.M., 2015. Update on estimation of kidney function in diabetic kidney disease. *Current diabetes reports*, 15(9), p.57.
- Chawla, A., Chawla, R. and Jaggi, S., 2016. Microvascular and macrovascular complications in diabetes mellitus: distinct or continuum?. *Indian journal of endocrinology and metabolism*, 20(4), p.546.
- Dabla, P.K., 2010. Renal function in diabetic nephropathy. *World journal of diabetes*, 1(2), p.48.
- Dahlan M.S., 2014, Statistik untuk Kedokteran dan Kesehatan Deskriptif, Bivariat, dan Multivariat (6th ed.), Jakarta: Epidemiologi Indonesia
- Delanaye, P., Cavalier, E. and Pottel, H., 2017. Serum creatinine: not so simple!. *Nephron*, 136(4), pp.302-308.
- Dewi, P.R.P., Hairrudin, H. and Normasari, R., 2016. Pengaruh Stres Fisik terhadap Kadar Kreatinin Serum Tikus Wistar Jantan (*Rattus norvegicus*)(The Effect of Physical Stress on Serum Creatinine of Male *Rattus norvegicus*). *Pustaka Kesehatan*, 4(2), pp.218-221.
- Di Giacomo, C., Vanella, L., Sorrenti, V., Santangelo, R., Barbagallo, I., Calabrese, G., Genovese, C., Mastrojeni, S., Ragusa, S. and Acquaviva, R., 2015. Effects

- of *Tithonia diversifolia* (Hemsl.) A. Gray extract on adipocyte differentiation of human mesenchymal stem cells. *Plos one*, 10(4), p.e0122320.
- Eidi, A., Eidi, M. and Esmaeili, E., 2006. Antidiabetic effect of garlic (*Allium sativum* L.) in normal and streptozotocin-induced diabetic rats. *Phytotherapy*, 13(9-10), pp.624-629.
- Eidi, A., Eidi, M. and Darzi, R., 2009. Antidiabetic effect of *Olea europaea* L. in normal and diabetic rats. *Phytotherapy Research: An International Journal Devoted to Pharmacological and Toxicological Evaluation of Natural Product Derivatives*, 23(3), pp.347-350
- Eliana, F., SpPD, K.E.M.D. and Yarsi, B.P.D.F., 2015. Penatalaksanaan DM Sesuai Konsensus Perkeni 2015. *PB. Perkeni. Jakarta*.
- El-Baz, F.K., Aly, H.F., Abdo, S.M., Mahmoud, R. and Saad, S.A., 2016. *Dunaliella salina* alleviates renal dysfunction and suppresses inflammatory cytokines in STZ-induced diabetic rats. *Int. J. Pharm. Sci. Rev. Res*, 38, pp.210-215.
- ES, H.S., Decroli, E. and Afriwardi, A., 2018. Faktor Risiko Pasien Nefropati Diabetik yang dirawat di Bagian Penyakit Dalam RSUP Dr. M. Djamil Padang. *Jurnal Kesehatan Andalas*, 7(2), pp.149-153.
- Fauziyah, Y., Sunarti, S., Hanoum, I.F. and Wahyuningsih, M.S.H., 2018. Ethanol Extract of *Tithonia diversifolia* (Hemsl.) A Gray Standardized Ameliorates Hyperglycemia, Polyphagia, and Weight Loss in Diabetic Rats. *Molekul*, 13(1), pp.72-79.
- Firdaus, F., Rimbawan, R., Marliyati, S.A. and Roosita, K., 2016. Model tikus diabetes yang diinduksi streptozotocin-sukrosa untuk pendekatan penelitian diabetes melitus gestasional. *Media Kesehatan Masyarakat Indonesia*, 12(1), pp.29-34.
- Frayuda, e.j., 2019. *Pengaruh ekstrak etanol daun kembang bulan (tithonia diversifolia (hemsley) a. Gray) terhadap kadar aspartat transaminase (ast) dan gambaran histopatologi aorta pada tikus wistar jantan yang diinduksi streptozotocin-nikotinamid* (doctoral dissertation, universitas islam indonesia).
- Henry, J.B. 2001. *Clinical Diagnosis and Management by Laboratory Methods*. 20th edition. WB Saunders Company. Philadelphia.
- Heriansyah, H., Humaedi, A. and Widada, N.S., 2019. Gambaran Ureum Dan Kreatinin Pada Pasien Gagal Ginjal Kronis Di Rsud Karawang. *Binawan Student Journal*, 1(1), Pp.8-14.
- Inker, L.A., Schmid, C.H., Tighiouart, H., Eckfeldt, J.H., Feldman, H.I., Greene, T., Kusek, J.W., Manzi, J., Van Lente, F., Zhang, Y.L. and Coresh, J., 2012. Estimating glomerular filtration rate from serum creatinine and cystatin C. *New England Journal of Medicine*, 367(1), pp.20-29.
- Isniaty, D., 2007. *Pengaruh Pemberian Aspirin Berbagai Dosis Per Oral Terhadap Kadar Ureum Dan Kreatinin Serum Tikus Wistar* (Doctoral Dissertation, Faculty Of Medicine)
- Laksmi, N.L.G.M.C., Dada, I.K.A. and Damriyasa, I.M., 2014. Bioaktivitas Ekstrak Daun Tapakdara (*Catharanthus roseus*) terhadap Kadar Kreatinin dan Kadar Ureum Darah Tikus Putih (*Rattus norvegicus*). *Buletin Veteriner Udayana*, 6(2), pp.2085-2495.

- Levey, A.S., Coresh, J., Balk, E., Kausz, A., Levin, A., Steffes, M.W., *et al.* 2003. *National Kidney Foundation Practice Guidelines for Chronic Kidney Disease: Evaluation, Classification, and Stratification*. *Ann Intern Med*.
- Levin-Iaina, N., Iaina, A. and Raz, I., 2011. The emerging role of NO and IGF-1 in early renal hypertrophy in STZ-induced diabetic rats. *Diabetes/metabolism research and reviews*, 27(3), pp.235-243.
- Lin, Y.C., Chang, Y.H., Yang, S.Y., Wu, K.D. and Chu, T.S., 2018. Update of pathophysiology and management of diabetic kidney disease. *Journal of the Formosan Medical Association*, 117(8), pp.662-675.
- Mahara, N.D., 2016. *Hubungan Kadar Kreatinin Serum Dengan Kadar Gula Darah Puasa Pada Pasien Diabetes Melitus Tipe 2 Di Rsud Dr. Sayidiman Kabupaten Magetan* (Doctoral dissertation, Universitas Muhammadiyah Surakarta).
- Maulida, R., 2019. *Pengaruh Ekstrak Etanol Daun Kembang Bulan (Tithonia Diversifolia (Hemsley) A. Gray) Terhadap Kadar Kreatinin Dan Gambaran Histopatologi Ginjal Pada Tikus Wistar Jantan Yang Diinduksi Streptozotocin-Nikotinamid* (Doctoral Dissertation, Universitas Islam Indonesia).
- Miranda, M.A., Varela, R.M., Torres, A., Molinillo, J.M., Gualtieri, S.C. and Macías, F.A., 2015. Phytotoxins from *Tithonia diversifolia*. *Journal of natural products*, 78(5), pp.1083-1092.
- Mostafavinia, A., Amini, A., Ghorishi, S.K., Pouriran, R. and Bayat, M., 2016. The effects of dosage and the routes of administrations of streptozotocin and alloxan on induction rate of type 2 diabetes mellitus and mortality rate in rats. *Laboratory animal research*, 32(3), pp.160-165.
- Mustika, A., Indrawati, R. and Sari, G.M., 2017. Efek Ekstrak Daun Singawalang (*Petiveria alliacea*) dalam Menurunkan Kadar Glukosa Darah melalui Peningkatan Ekspresi AMPK- α 1 pada Tikus Model Diabetes Melitus. *Jurnal Farmasi Klinik Indonesia*, 6(1), pp.22-31.
- Mustopa, F.L., 2016. Gambaran Hasil Pemeriksaan Urinalisis Pada Penderita Nefropati Diabetik Di Rsud Abdul Moeloek Bandar Lampung Tahun 2015. *Jurnal Medika Malahayati*, 3(3), Pp.111-116.
- Nathan, D.M., Buse, J.B., Davidson, M.B., Ferrannini, E., Holman, R.R., Sherwin, R. and Zinman, B., 2009. Medical management of hyperglycaemia in type 2 diabetes mellitus: a consensus algorithm for the initiation and adjustment of therapy. *Diabetologia*, 52(1), p.17.
- Parawansah, P., Nuralifah, N. And Hasputra, R., 2016. Uji Efek Antidiabetes Ekstrak Daun Kembang Bulan (*Tithonia Difersivolia*) Pada mencit yang Diinduksi Streptozotocin. *WARTA FARMASI*, 5(2), Pp.72-80.
- Pasau, A.S.Y., 2014. Hubungan Hiperurisemia Dengan Kejadian Nefropati Diabetik Pada Penderita Diabetes Melitus Di Rumah Sakit Universitas Hasanuddin Makassar Periode Januari 2014-September 2017. *Universitas*, 2017.
- Prasetyo, A., Denashurya, T.G., Putri, W.S. and In'am Ilimiawan, M., 2016. Perbandingan Efek Hipoglikemik Infusa Daun Kembang Bulan (*Tithonia diversifolia (Hamsley) A. Gray*) dan Metformin pada Tikus yang Diinduksi Aloksan. *Cermin Dunia Kedokteran*, 43(2), pp.91-94.

- Priyanto, I. and Budiwiyo, I., 2019. Hubungan Kadar Kreatinin Dengan Formula Huge (Hematocrit, Urea, Gender) Pada Pasien Penyakit Ginjal Kronik. *Media Medika Muda*, 3(2).
- Putri, R.I., 2015. Faktor Determinan Nefropati Diabetik pada penderita Diabetes Mellitus di RSUD Dr. M. Soewandhie Surabaya. *Jurnal Berkala Epidemiologi*, 3(10), pp.109-121.
- Remer, T., Neubert, A., Maser-Gluth, C. 2002. *Anthropometry-based reference values for 24-h urinary creatinine excretion during growth and their use in endocrine and nutritional research*. American Journal of Clinical Nutrition.
- Reutens, A.T., 2013. Epidemiology of diabetic kidney disease. *Medical Clinics*, 97(1), pp.1-18.
- Rianto, B., 2019. Uji Aktivitas Antidiabetes dan Identifikasi Senyawa Biji Oyong (*Luffa acutangula* (L.) Roxb) Serta Pengaruhnya Terhadap Jumlah Glucose Transporter 4 Membran Jaringan Otot Pada Tikus Resisensi (Doctoral dissertation, Fakultas Farmasi).
- Rini, S., Hadisaputro, S., Lestariningsih, L., Nugroho, H. and Budijitno, S., 2018. Faktor Risiko Penyakit Ginjal Kronik Diabetes (PGK-DM) pada Diabetes Mellitus Tipe-2 (Studi di RSUD DR Soedarso Kota Pontianak Provinsi Kalimantan Barat). *Jurnal Epidemiologi Kesehatan Komunitas*, 3(2), pp.101-108.
- Sadikin, R.S.H., Pemeriksaan Fungsi Ginjal. 2016
- Saputra, N.T., Suartha, I.N. and Dharmayudha, A.A.G.O., 2018. Agen Diabetagonik Streptozotocin untuk Membuat Tikus Putih Jantan Diabetes Mellitus. *Buletin Veteriner Udayana*, 10(2), pp.116-121.
- Sasmitha, F.W., Susetyarini, E., Husamah, H. and Pantiwati, Y., 2017. Efek Ekstrak Daun Kembang Bulan (*Tithonia diversifolia*) terhadap Kadar Glukosa Darah Tikus Wistar (*Rattus norvegicus*) yang Diinduksi Alloxan. *Majalah Ilmiah Biologi BIOSFERA: A Scientific Journal*, 34(1), pp.22-31.
- Sastroasmoro, S. and Ismael, S. (2011) *Dasar-dasar Metodologi Penelitian Klinis Edisi ke-4*. 4th edn. Jakarta: Sagung Seto.
- Sharma, K., McCue, P. and Dunn, S.R., 2003. Diabetic kidney disease in the db/db mouse. *American Journal of Physiology-Renal Physiology*, 284(6), pp.F1138-F1144.
- Susilorini, I.U. and Soffan, M., 2013. Pengaruh ekstrak alium sativum terhadap diameter glomeruli ginjal tikus sprague dawley jantan yang diinduksi streptozotoci. *Sains Medika*, 5(1), pp.11-6.
- Thomas, M.C., Brownlee, M., Susztak, K., Sharma, K., Jandeleit-Dahm, K.A., Zoungas, S., Rossing, P., Groop, P.H. and Cooper, M.E., 2015. Diabetic kidney disease. *Nature Reviews Disease Primers*, 1(1), pp.1-20.
- Vallon, V. and Thomson, S.C., 2012. Renal function in diabetic disease models: the tubular system in the pathophysiology of the diabetic kidney. *Annual review of physiology*, 74, pp.351-375.
- Widowati, W., 2008. Potensi antioksidan sebagai antidiabetes. *Maranatha Journal of Medicine and Health*, 7(2), p.149640.
- World Health Organization, 2016. Global report on diabetes.
- Wyss, M. and Kaddurah-daouk, R. 2000. *Creatine and creatinine metabolism*. Physiological reviews

- Yanardağ, R., Bolkent, Ş., Özsoy-Saçan, Ö. and Karabulut-Bulan, Ö., 2002. The effects of chard (*Beta vulgaris* L. var. *cicla*) extract on the kidney tissue, serum urea and creatinine levels of diabetic rats. *Phytotherapy Research: An International Journal Devoted to Pharmacological and Toxicological Evaluation of Natural Product Derivatives*, 16(8), pp.758-761.
- Zafar, M., Naqvi, S.N.U.H., Ahmed, M. and Kaimkhani, Z.A., 2009. Altered Kidney Morphology and Enzymes in Streptozotocin Induced Diabetic Rats. *International Journal of Morphology*, 27(3).



LAMPIRAN

Lampiran 1. Surat Keterangan Lolos Kaji Etik

 **UNIVERSITAS ISLAM INDONESIA**

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

Nomer : L/Ka.Kom.Et/70/KE/II/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 :

"Pengaruh Ekstrak Etanol Daun Kembang Bulan (*Tithonia Diversifolia*) terhadap Sel β Pankreas Tikus Diabetes Melitus"

Peneliti Utama : dr. R. Edi Fitriyanto, M.Gizi
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, 7 Februari 2020
Ketua
Komite Etik Penelitian Kesehatan
dr. Rahma Yuliantari, 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 tengah 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*

PENGARUH EKSTRAK ETANOL DAUN KEMBANG BULAN (*Tithonia diversifolia*) TERHADAP KADAR SERUM KREATININ PADA TIKUS *GALUR WISTAR* YANG DIINDUKSI DIABETES MELITUS DENGAN STREPTOZOTOCIN

Naskah Publikasi

untuk Memenuhi Sebagian Syarat
Memperoleh Derajat Sarjana Kedokteran

Program Studi Kedokteran

Program Sarjana



oleh:

Savitri Indrasari

16711072

**FAKULTAS KEDOKTERAN
UNIVERSITAS ISLAM INDONESIA
YOGYAKARTA**

2020

**THE EFFECT OF GIVING KEMBANG BULAN (TITHONIA DIVERSIFOLIA) LEAF
ETHANOL EXTRACT ON SERUM CREATININE LEVELS IN STREPTOZOTOCIN
INDUCED DIABETIC WISTAR RATS**

Publication Manuscript

Submitted as Fulfillment

To Obtain the Medical Degree

Undergraduate Program in Medicine



by :

Savitri Indrasari

16711072

**FACULTY OF MEDICINE
UNIVERSITAS ISLAM INDONESIA
YOGYAKARTA
2020**

NASKAH PUBLIKASI

PENGARUH EKSTRAK ETANOL DAUN KEMBANG BULAN (*Tithonia diversifolia*) TERHADAP KADAR SERUM KREATININ PADA TIKUS *GALUR WISTAR* YANG DIINDUKSI DIABETES MELITUS DENGAN STREPTOZOTOCIN

Disusun dan diajukan oleh:

ISLAM

Savitri Indrasari

16711072

Telah diseminarkan tanggal: 31 Agustus 2020

dan telah disetujui oleh:

Pembimbing



dr. Asri Hendrawati, M.Sc

UNIVERSITAS ISLAM INDONESIA
الجامعة الإسلامية
الاندونيسية

PENGARUH EKSTRAK ETANOL DAUN KEMBANG BULAN (*Tithonia diversifolia*) TERHADAP KADAR SERUM KREATININ PADA TIKUS GALUR WISTAR YANG DIINDUKSI DIABETES MELITUS DENGAN STREPTOZOTOCIN

Savitri Indrasari¹, Asri Hendrawati², Linda Rosita³

¹Mahasiswa Pendidikan Dokter Fakultas Kedokteran Universitas Islam Indonesia

²Departemen Biokimia Fakultas Kedokteran Universitas Islam Indonesia

³Departemen Patologi Klinik Fakultas Kedokteran Universitas Islam Indonesia

INTISARI

Latar Belakang : Hiperglikemia yang terjadi pada DM memiliki efek jangka panjang yaitu salah satunya adalah nefropati diabetik. Salah satu tumbuhan yang memiliki aktivitas antihiperglikemia adalah daun dari tumbuhan kembang bulan atau *Tithonia diversifolia*. Penelitian sebelumnya menyebutkan bahwa daun kembang bulan digunakan sebagai obat antidiabetes karena memiliki kandungan antioksidan.

Tujuan : Untuk mengetahui pengaruh pemberian ekstrak etanol daun kembang bulan dengan dosis 50 mg/kgBB, 250 mg/kgBB, dan 500 mg/kgBB terhadap penurunan kadar kreatinin serum pada tikus galur Wistar yang diinduksi DM dengan STZ.

Metode : Penelitian ini menggunakan metode *true experimental* untuk mengukur kadar serum kreatinin. Subyek penelitian adalah 20 ekor tikus galur wistar jantan diinduksi DM dengan streptozotocin.

Hasil : Pengujian ekstrak etanol daun kembang bulan terhadap kadar serum kreatinin menunjukkan hasil uji *one way anova* yang signifikan dengan nilai $p < 0.05$. Uji *post-hoc* LSD menunjukkan perbedaan yang signifikan antara kelompok KP-P1 ($p = 0.019$), kelompok KP-P3 ($p = 0.039$), kelompok KN-P1 ($p = 0.019$), dan kelompok KN-P3 ($p = 0.039$). Hasil pengujian *post-hoc* LSD yang menunjukkan perbedaan yang tidak signifikan terdapat antara kelompok KP-KN ($p = 1.000$), kelompok KP-P2 ($p = 0.100$), kelompok KN-P2 ($p = 0.100$), kelompok P1-P2 ($p = 0.394$), kelompok P1-P3 ($p = 0.720$), dan kelompok P2-P3 ($p = 0.616$). Kadar serum kreatinin hewan coba pada seluruh kelompok berada dalam rentang normal.

Kesimpulan : Pemberian ekstrak etanol daun kembang bulan dengan dosis 50 mg/kgBB, 250 mg/kgBB, dan 500 mg/kgBB tidak menurunkan kadar serum kreatinin pada tikus galur wistar yang diinduksi DM dengan STZ.

Kata Kunci : Ekstrak etanol daun kembang bulan, diabetes melitus, kadar serum kreatinin.

THE EFFECT OF GIVING KEMBANG BULAN (TITHONIA DIVERSIFOLIA) LEAF ETHANOL EXTRACT ON SERUM CREATININE LEVELS IN STREPTOZOTOCIN INDUCED DIABETIC WISTAR RATS

Savitri Indrasari¹, Asri Hendrawati², Linda Rosita³

¹Student of Faculty of Medicine, Universitas Islam Indonesia

²Departement of Biochemistry Faculty of Medicine, Universitas Islam Indonesia

³Departement of Clinical Pathology, Faculty of Medicine, Universitas Islam Indonesia

ABSTRACT

Backgorund : Hyperglycemia that occurs in DM has long-term effects, one of the effect is diabetic nephropathy. One of the plants that has antihyperglycemic activity is the leaves of the kembang bulan plant or *Tithonia diversifolia*. Previous research states that the leaves of the kembang bulan are used as an anti-diabetic drug because they contain antioxidants.

Objective : To determine the effect of giving the Kembang bulan leaves ethanol extract with a dose of 50 mg/kgBW, 250 mg/kgBW, and 500 mg/kgBW on decreasing of serum creatinine levels.

Methods : This research used true experimental method to measure the serum creatinine levels. The research subjects were 20 male Wistar rats induced DM with streptozotocin.

Result : Testing the Kembang bulan leaves ethanol extract on serum creatinine levels showed significant one way anova test results with p value <0.05. The post-hoc LSD test showed a significant difference between the KP-P1 group (p = 0.019), the KP-P3 group (p = 0.039), the KN-P1 group (p = 0.019), and the KN-P3 group (p = 0.039). The results of the post-hoc LSD test showed that there was no significant difference between the KP-KN group (p = 1,000), the KP-P2 group (p = 0.100), the KN-P2 group (p = 0.100), the P1-P2 group (p = 0.394), the P1-P3 group (p = 0.720), and the P2-P3 group (p = 0.616). The serum creatinine levels of experimental animals in all groups was within the normal range.

Conclusion : Giving Kembang bulan leaves ethanol extract with a dose of 50 mg/kgBW, 250 mg/kgBW, and 500 mg/kgBW did not reduce serum creatinie levels.

Keywords : Kembang bulan leaves ethanol extract, diabetes mellitus, serum creatinine levels

PENDAHULUAN

Prevalensi penderita DM di Indonesia menurut World Health Organization (WHO) pada tahun 2000 adalah sebesar 8.4 juta jiwa dan diperkirakan akan mengalami kenaikan menjadi 21.3 juta jiwa pada tahun 2030. Data dari International Diabetes Federation (IDF) juga memprediksikan bahwa penderita DM di Indonesia akan mengalami kenaikan dari 9,1 juta jiwa pada tahun 2014 menjadi 14,1 juta jiwa pada tahun 2035. Berdasarkan data IDF Indonesia menempati peringkat ke lima diseluruh dunia untuk penyakit DM. ⁽¹⁾

Hiperglikemia yang terjadi pada DM dapat menyebabkan komplikasi. Komplikasi DM terdiri dari komplikasi akut dan komplikasi kronis. Komplikasi kronis DM berhubungan dengan penyakit mikrovaskular dan makrovaskular. Komplikasi makrovaskular secara umum memiliki gejala klinik berupa penyakit jantung iskemik, stroke dan kelainan pembuluh darah perifer. Komplikasi mikrovaskular yang secara umum terjadi seperti retinopati diabetik, neuropati diabetik, dan nefropati diabetik. Nefropati diabetik merupakan komplikasi yang berhubungan dengan ginjal akibat dari DM tipe 1 dan DM tipe 2. Nefropati diabetik juga sering disebut sebagai *diabetic kidney disease* (DKD). ⁽²⁾ *Diabetic kidney disease* merupakan hasil dari tiga mekanisme yaitu perubahan hemodinamik ginjal, iskemia dan abnormalitas metabolisme glukosa yang menyebabkan peningkatan dari stres oksidatif, dan proses inflamasi dan peningkatan aktivitas renin angiotensis aldosteron system (RAAS). ⁽³⁾

Salah satu tumbuhan yang memiliki aktivitas antihiperglikemia adalah daun dari tumbuhan kembang bulan atau *Tithonia diversifolia*. ⁽⁴⁾ Masyarakat Indonesia telah banyak menggunakan daun kembang bulan sebagai anti-hiperglikemik. ⁽⁵⁾ Tanaman ini umumnya tumbuh di daerah dengan ketinggian 550-1950 meter, dengan rata-rata suhu tahunan sekitar 15-31°C, dan dengan curah hujan tahunan rata-rata antara 100-2000 mm. Tanaman asli Meksiko ini juga tumbuh di beberapa bagian Afrika, Australia, Asia, dan negara negara lain di Amerika Utara. ⁽⁶⁾ *Tithonia diversifolia* (Hemsl.) A. Gray memiliki berbagai nama di Indonesia seperti “Kembang Bulan”, “Rondo Noleh”, “Rondo Semoyo”, “Kirinyu” di Sunda, dan “Kayu Paik” di Minang. Masyarakat Indonesia telah banyak menggunakan daun kembang bulan sebagai anti-hiperglikemik. ⁽⁵⁾ *Tithonia diversifolia* (Hemsl.) A. Gray adalah tumbuhan yang dikenal

juga sebagai tumbuhan insulin. Tumbuhan ini dapat mencapai tinggi sampai dengan 9 meter, bertunas dan dapat juga merayap di dalam tanah. ⁽⁷⁾

Daun kembang bulan digunakan sebagai obat antidiabetes karena memiliki kandungan berupa senyawa alkaloid, terpenoid, saponin, tanin dan polifenol. ⁽⁷⁾ *Tithonia diversifolia* (Hemsl.) A. Gray dan ekstraknya sudah digunakan secara tradisional untuk pengobatan diabetes, diare, nyeri haid, malaria, hematoma, hepatitis, hepatoma, dan untuk penyembuhan luka. Penggunaan tanaman daun kembang bulan sebagai pengobatan tradisional telah diteliti disebabkan oleh efek dari kandungan terpenoid dan flavonoid yang dimilikinya. Terpenoid dan flavonoid merupakan antioksidan yang dapat mencegah pembentukan radikal bebas, menetralkan radikal bebas dengan mekanisme non enzimatis atau dengan cara meningkatkan aktivitas antioksidan endogen. Senyawa polifenol yang terdapat di *Tithonia diversifolia* (Hemsl.) A. Gray telah diteliti memiliki pengaruh dalam menginduksi ekspresi kuat dari HO-1 (Heme Oxygenase - 1) dengan memberikan efek perlindungan. Penurunan aktivitas antioksidan telah dikaitkan dengan peningkatan pembentukan radikal bebas, radikal bebas dapat menyebabkan peningkatan proliferasi dan diferensiasi dari sel adiposit sehingga dapat menyebabkan terjadinya obesitas. ⁽⁶⁾

Sebuah penelitian menyatakan bahwa *Tithonia diversifolia* (Hemsl.) A. Gray memiliki aktivitas antioksidan yang mempengaruhi ekspresi dari HO-1 dan aktivitas antiadipogenik yang ditemukan pada hMSCs (human Mesenchymal Stem Cells). Aktivitas antiadipogenik tersebut menunjukkan bahwa tanaman kembang bulan memiliki kemampuan untuk menghambat diferensiasi adiposit. ⁽⁶⁾ Penelitian eksperimental yang dilakukan oleh Yulia Fauziah pada tahun 2018 telah membuktikan bahwa daun *Tithonia diversifolia* (Hemsl.) A. Gray yang telah diekstrak dan diberikan secara oral dengan dosis 100 mg/kgBB terbukti dapat meningkatkan berat badan, menekan polifagia, dan menurunkan kadar glukosa darah pada hewan coba. ⁽⁵⁾

Ginjal merupakan organ vital yang berfungsi penting untuk tubuh. Pemeriksaan laboratorium yang bertujuan untuk mengevaluasi dan mengidentifikasi fungsi ginjal pada pasien diabetes melitus akan membantu proses pengobatan pada pasien. ⁽⁸⁾

Hasil pemeriksaan urinalisis yang menunjukkan laju ekskresi albumin urin sebesar 20-200 µg/menit atau 30-300 mg/24 jam pada 2 dari 3 pemeriksaan dapat disebut sebagai kondisi mikroalbuminuria. Kondisi mikroalbuminuria pada penderita diabetes melitus merupakan tanda dini dari terjadinya nefropati diabetik sehingga perlu dilakukan monitoring fungsi ginjal dengan tujuan untuk mencegah terjadinya nefropati diabetik atau gagal ginjal. ⁽⁹⁾ Pemeriksaan fungsi ginjal yang umum digunakan adalah pemeriksaan serum kreatinin dan ureum. Kreatinin dan ureum adalah senyawa yang dapat diekskresikan oleh ginjal. Ureum adalah hasil akhir dari metabolisme protein. Kadar ureum memiliki keterkaitan dengan makanan yang dikonsumsi dan fungsi hati dalam pembentukan ureum. Kreatinin merupakan hasil perombakan keratin yang berisi nitrogen dan terutama ada di dalam otot. Kadar kreatinin yang diproduksi dan disekresikan berbanding lurus dengan massa otot. ⁽¹⁰⁾ Kadar kreatinin secara umum berada dalam keadaan yang relatif konstan, sehingga banyak digunakan untuk pengukuran fungsi ginjal yang lebih baik. Kreatinin merupakan produk hasil metabolisme tubuh yang secara konstan difiltrasi oleh ginjal, tidak direabsorpsi, dan disekresikan oleh tubulus proksimal. ⁽¹¹⁾

Pengujian kadar serum kreatinin darah saat ini telah digunakan lebih dari 80% laboratorium klinis di seluruh dunia. ⁽¹²⁾ Kreatinin merupakan hasil metabolisme dari kreatin dan fosfokreatin. Kreatinin memiliki berat molekul sebesar 113-Da (Dalton). ⁽¹³⁾ Kreatinin dalam urin berasal dari filtrasi glomerulus dan sekresi oleh tubulus proksimal ginjal. Berat molekulnya kecil sehingga dapat secara bebas masuk dalam filtrat glomerulus. ^(14; 15; 16) Kreatinin serum merupakan metabolit dari kreatin dan hampir semua terletak di otot rangka. Kadar kreatinin normal adalah 0,8 sampai 1,4 mg/dl, secara umum kadar kreatinin pada wanita lebih rendah yaitu sekitar 0,6 sampai 1,2 mg/dl. Perbedaan tingkat kadar kreatinin pada wanita dan laki-laki tersebut disebabkan oleh massa otot yang lebih sedikit pada wanita. Kadar kreatinin serum yang lebih rendah juga dikaitkan dengan peningkatan risiko DM tipe 2 karena dapat mencerminkan volume otot rangka yang lebih rendah pada orang dengan peningkatan risiko DM tipe 2. Otot rangka adalah jaringan target utama dari kerja insulin, sehingga volume otot rangka yang lebih rendah dapat dikaitkan dengan peningkatan resistensi insulin dan kadar serum kreatinin yang lebih rendah. ⁽¹⁷⁾

METODE PENELITIAN

Penelitian ini adalah penelitian yang dilakukan dengan menggunakan metode *true experimental* dan dengan desain penelitian *post test control group design* untuk mengukur kadar serum kreatinin pada tikus galur Wistar yang diinduksi DM dengan STZ. Pengukuran kadar kreatinin serum darah dilakukan setelah peneliti melakukan intervensi pada hewan coba.

Waktu dan tempat penelitian

Penelitian ini dilakukan pada bulan Juni sampai dengan bulan Juli 2020. Pembuatan ekstrak etanol daun kembang bulan dilakukan di Laboratorium Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Islam Indonesia. Proses penelitian dilaksanakan di Laboratorium Terpadu Fakultas Kedokteran Universitas Islam Indonesia. Kemudian pengukuran atau pengujian kadar kreatinin serum darah dilakukan di Laboratorium Pengujian dan Penelitian Terpadu Universitas Gadjah Mada (LPPT UGM).

Subjek penelitian

Hewan coba pada penelitian ini adalah tikus putih galur wistar jantan dengan massa tubuh rata-rata 254 gram dan usia rata-rata 2 bulan, hewan coba dalam keadaan sehat. Hewan coba dikategorikan sehat apabila dapat bergerak dengan aktif⁽¹⁸⁾, dan hewan coba tidak mengalami kondisi kecacatan secara fisik.

Sampel penelitian ditentukan dengan cara pengelompokan *simple random sampling*. Besarnya sampel penelitian ditentukan dengan menggunakan rumus Resource Equation yang digunakan oleh Charan dan Kantahria tahun 2013, sebagai berikut:

$$E = N - T$$

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

$$10 - 20 = (N - 1) - (5 - 1)$$

$$N = 15 - 25$$

Penelitian ini dilakukan dengan menggunakan besar sampel penelitian yang dibutuhkan sebanyak 15 sampai 25 ekor hewan coba. Sampel penelitian terbagi menjadi 5 kelompok perlakuan.

Instrumen penelitian

Bahan yang digunakan untuk membuat ekstrak daun kembang bulan adalah daun kembang bulan yang telah dideterminasi dan kertas penyaring. Daun kembang bulan yang dipakai merupakan daun yang dipetik dan didapatkan dari tanaman kembang bulan liar yang berada di kecamatan Ngemplak, Sleman, Yogyakarta.

Alat yang dibutuhkan untuk perlakuan hewan coba pada penelitian ini adalah kandang tikus, timbangan tikus, sonde oral, masker, sarung tangan, gelas ukur, tempat makan tikus, dan tempat minum tikus. Bahan yang diperlukan adalah makanan dan minuman tikus sesuai standar laboratorium, larutan saline, STZ, ekstrak daun kembang bulan, metformin, tikus galur wistar jantan dan sekam.

Ekstrak etanol daun kembang bulan

Daun kembang bulan dipetik dan didapatkan dari tanaman kembang bulan liar yang berada di kecamatan Ngemplak, Sleman, Yogyakarta. Daun kembang bulan tersebut kemudian dideterminasi sehingga dapat diolah menjadi ekstrak etanol daun kembang bulan 96%.

Perawatan dan aklimatisasi hewan coba

Penelitian dilakukan terhadap 25 tikus jantan galur Wistar yang berusia rata-rata 2 bulan dan berat rata-rata 254 gram. Proses adaptasi tempat baru pada hewan coba dilakukan selama 7 hari di dalam kandang standar. ⁽¹⁹⁾ Tidak terdapat perbedaan perlakuan untuk semua tikus.

Induksi DM hewan coba

Induksi hewan coba dilakukan setelah proses aklimatisasi selesai dilakukan. Hewan coba diinjeksikan STZ dengan dosis tunggal 50 mg/kgBB intraperitoneal. Hewan coba diberikan larutan sukrosa 10% sepanjang malam pertama setelah penginduksian STZ untuk menghindari *sudden hypoglycemic post injection*. ⁽¹⁹⁾ Tiga hari setelah induksi dilakukan pengukuran glukosa darah menggunakan glukometer atau *rapid test*. Hewan coba dikategorikan diabetes melitus apabila glukosa darah sewaktu ≥ 200 mg/dl. ⁽²⁰⁾

Intervensi hewan coba

Intervensi pada penelitian ini dilakukan selama 7 hari melalui sondasi lambung satu kali setiap hari dan dimulai 24 jam setelah hewan coba dinyatakan diabetes

melitus. Intervensi yang diberikan pada KN berupa pemberian air biasa atau aquades, KP berupa pemberian metformin dengan dosis 45 mg/kgBB, P1 diberikan ekstrak etanol daun kembang bulan dengan dosis 50 mg/kgBB, P2 diberikan ekstrak etanol daun kembang bulan 250 mg/kgBB dan P3 juga diberikan ekstrak etanol daun kembang bulan sebesar 500 mg/kgBB.

Pengambilan sampel dan pengukuran kadar serum kreatinin

Sampel didapatkan dari darah yang diambil melalui retro-orbita, kemudian sampel darah tersebut disentrifus dengan kecepatan 3000 rpm selama 10 menit, sehingga menghasilkan sampel berupa serum. Serum yang telah dipisahkan dengan komponen darah lainnya dapat digunakan untuk analisis kadar kreatinin darah. ⁽²²⁾ Kreatinin serum diuji menggunakan metode *Jaffe*.

Analisis Data

Data hasil pengukuran kadar serum kreatinin yang berjumlah 20 sampel dianalisis menggunakan *software* SPSS. Sampel pada penelitian ini berjumlah <50 sampel sehingga dilakukan uji normalitas dengan uji *Shapiro Wilk*. Hasil uji yang didapatkan adalah semua data menunjukkan distribusi data yang normal ($p > 0.05$). Pengujian data kemudian dilanjutkan menggunakan uji *one way anova*. Hasil uji menunjukkan bahwa *Lavene's Test* menunjukkan variansi data yang tidak homogen ($p < 0.05$) dan hasil uji anova menunjukkan terdapat perbedaan kadar serum kreatinin tikus yang signifikan minimal pada dua kelompok uji ($p < 0.05$). Uji homogenitas dan uji *one way anova* yang menunjukkan hasil $p < 0.05$ dilanjutkan dengan pengujian hubungan perbandingan antar kelompok menggunakan uji *Post-Hoc LSD*. Data yang diperoleh dikatakan signifikan apabila nilai *p value* < 0.05 . ⁽²²⁾

HASIL PENELITIAN DAN PEMBAHASAN

Hasil

Penelitian dilaksanakan pada bulan Juni sampai dengan bulan Juli 2020 setelah mendapatkan izin dari komite etik Fakultas Kedokteran Universitas Islam Indonesia dengan nomor protokol 1/Ka.Kom.Et/70/KE/II/2020. Penelitian menggunakan metode *true experimental* dan dengan desain *post test only group design*. Sampel berupa serum kreatinin yang didapatkan dari 20 ekor tikus galur wistar.

Subyek penelitian terbagi menjadi 5 kelompok dengan menggunakan teknik *simple random sampling* dan masing-masing kelompok berisikan 4 ekor tikus. Hewan coba terbagi menjadi 5 kelompok yaitu kelompok kontrol negatif (tanpa perlakuan), kelompok kontrol positif (metformin 45 mg/kgBB), kelompok perlakuan 1 (ekstrak etanol daun kembang bulan dosis 50 mg/kgBB), kelompok perlakuan 2 (ekstrak etanol daun kembang bulan 250 mg/kgBB), dan kelompok perlakuan 3 (ekstrak etanol daun kembang bulan 500 mg/kgBB). Hewan coba yang telah dikelompokkan kemudian menjalani proses aklimatisasi (7 hari), penginduksian DM (3 hari), intervensi (7 hari) dan pembuatan sampel di Laboratorium Terpadu Universitas Islam Indonesia. Pengukuran sampel berupa serum kreatinin dilakukan di Laboratorium Pengujian dan Penelitian Terpadu Universitas Gadjah Mada (LPPT UGM) menggunakan metode *Jaffe*. Berikut ini adalah hasil nilai rata-rata kadar serum kreatinin darah tikus galur wistar pada Tabel 1.

Tabel 1. Rerata Kadar Serum Kreatinin

| Kelompok Penelitian | Jumlah Sampel | Mean Kadar Serum Kreatinin (mg/dL) | Nilai P |
|----------------------|---------------|------------------------------------|---------|
| Kontrol Positif (KP) | 4 | 0.40 ± 0.05 | 0.005 |
| Kontrol Negatif (KN) | 4 | 0.40 ± 0.03 | |
| Perlakuan 1 (P1) | 4 | 0.31 ± 0.02 | |
| Perlakuan 2 (P2) | 4 | 0.34 ± 0.01 | |
| Perlakuan 3 (P3) | 4 | 0.32 ± 0.07 | |

Tabel 1 menunjukkan bahwa mean atau rerata kadar serum kreatinin tertinggi terdapat pada kelompok KP (0.40 ± 0.05 mg/dL), diikuti oleh kelompok KN (0.40 ± 0.03 mg/dL), kelompok P2 (0.34 ± 0.01 mg/dL), kelompok P3 (0.32 ± 0.07 mg/dL), dan kelompok P1 (0.31 ± 0.02 mg/dL). Data dari hasil pengukuran kadar serum kreatinin dilakukan uji normalitas menggunakan uji *Shapiro-Wilk*. Uji normalitas yang digunakan adalah *Shapiro-Wilk* karena jumlah sampel <50 sampel. Berdasarkan uji normalitas tersebut didapatkan kelompok KP p = 0.348, kelompok KN p = 1.00, kelompok P1 p = 0.577, kelompok P2 p = 0.683, dan kelompok P3 p = 0.269. Hasil uji normalitas memiliki tujuan untuk mengetahui persebaran data penelitian, persebaran data dikatakan normal apabila nilai signifikansi p > 0.05. ⁽²²⁾ Oleh sebab indikator tersebut

dapat disimpulkan bahwa semua data memiliki persebaran yang normal atau data berdistribusi dengan normal.

Data yang berdistribusi normal dilanjutkan dengan uji *one way anova*. Hasil dari pengujian tersebut didapatkan hasil uji homogenitas menggunakan *Levene statistic* $p = 0.000$ ($p < 0.05$) dan uji anova $p = 0.046$ ($p < 0.05$). Hasil tersebut dapat diinterpretasikan bahwa variansi di dalam data penelitian tidak homogen dan terdapat perbedaan kadar serum kreatinin tikus yang signifikan minimal pada dua kelompok uji. Uji homogenitas dan uji *one way anova* yang menunjukkan hasil $p < 0.05$ dilanjutkan dengan pengujian hubungan perbandingan antar kelompok menggunakan uji *Post-Hoc LSD*.⁽²²⁾

Tabel 2. Post-Hoc LSD

| Kelompok Penelitian | | Nilai P |
|---------------------|----|--------------|
| KP | KN | 1.000 |
| | P1 | 0.019 |
| | P2 | 0.100 |
| | P3 | 0.039 |
| KN | KP | 1.000 |
| | P1 | 0.019 |
| | P2 | 0.100 |
| | P3 | 0.039 |
| P1 | KP | 0.019 |
| | KN | 0.019 |
| | P2 | 0.394 |
| | P3 | 0.720 |
| P2 | KP | 0.100 |
| | KN | 0.100 |
| | P1 | 0.394 |
| | P3 | 0.616 |
| P3 | KP | 0.039 |
| | KN | 0.039 |
| | P1 | 0.720 |
| | P2 | 0.616 |

Hasil *Post-Hoc LSD* dikatakan memiliki perbedaan yang signifikan apabila nilai signifikansi $p < 0.05$.⁽²²⁾ Oleh sebab itu, dapat ditarik kesimpulan bahwa antara kelompok KP-P1 ($p = 0.019$), kelompok KP-P3 ($p = 0.039$), kelompok KN-P1 ($p = 0.019$), dan kelompok KN-P3 ($p = 0.039$) memiliki perbedaan kadar serum kreatinin yang signifikan atau bermakna. Hasil kadar serum kreatinin antar kelompok menunjukkan

hasil yang tidak signifikan atau tidak bermakna pada kelompok KP-KN ($p=1.000$), kelompok KP-P2 ($p=0.100$), kelompok KN-P2 ($p=0.100$), kelompok P1-P2 ($p=0.394$), kelompok P1-P3 ($p=0.720$), dan kelompok P2-P3 ($p=0.616$).

Pembahasan

Hasil analisis data antara kelompok KP-P1 ($p=0.019$), kelompok KP-P3 ($p=0.039$), kelompok KN-P1 ($p=0.019$), dan kelompok KN-P3 ($p=0.039$) yang menunjukkan kelompok yang diberikan metformin 45 mg/kgBB dan kelompok hewan coba yang tidak diberikan perlakuan memiliki perbedaan rerata kadar serum kreatinin yang signifikan atau bermakna dengan kelompok yang diberikan ekstrak etanol daun kembang bulan dosis 50 mg/kgBB dan 500 mg/kgBB. Hasil tersebut juga diperkuat dengan rerata kadar serum kreatinin pada kelompok P1 = 0.31 ± 0.02 dan kelompok P3 = 0.32 ± 0.07 . Rerata kadar serum kreatinin pada kelompok pemberian ekstrak etanol daun kembang bulan 50 mg/kgBB dan 500 mg/kgBB lebih rendah dibandingkan dengan kelompok yang diberikan metformin 45 mg/kgBB dan kelompok yang tidak mendapatkan perlakuan apapun. Hal tersebut didukung oleh hasil penelitian yang dilakukan oleh Khoerul Anwar pada tahun 2016 bahwa ekstrak etanol daun kembang bulan memiliki kandungan kimia berupa alkaloid, saponin, flavonoid dan tanin. Kandungan kimia yang dimiliki ekstrak etanol daun kembang bulan bekerja secara sinergi untuk menimbulkan efek antidiabetes atau antihiperlikemia. ⁽²³⁾

Berdasarkan hasil analisis data antara kelompok KP-P2 ($p=0.100$) dan kelompok KN-P2 ($p=0.100$) menunjukkan kelompok hewan coba kontrol negatif atau kelompok tanpa perlakuan dengan kelompok P2 yang diberikan ekstrak etanol daun kembang bulan 250 mg/kgBB tidak memiliki perbedaan kadar serum kreatinin secara signifikan. Hal yang sama juga terjadi antara kelompok kontrol positif yang diberikan metformin dengan dosis 45 mg/kgBB dan kelompok P2 yang diberikan ekstrak etanol daun kembang bulan 250 mg/kgBB. Hasil penelitian ini dapat terjadi karena terdapat bias dalam penelitian seperti yang dikemukakan oleh Parawansah pada penelitiannya. Bias yang dapat mempengaruhi penelitian adalah faktor biologis seperti faktor yang terdapat pada hewan coba, makanan yang kurang, kandang yang tidak sesuai, pelarut yang digunakan dalam mengekstraksi sampel seperti pelarut yang tidak dapat menarik semua zat-zat yang terkandung dalam sampel. ⁽²⁴⁾

Kreatinin merupakan produk sampingan katabolisme otot yang berasal dari hasil penguraian kreatin fosfat otot. ⁽²⁵⁾ Kreatinin berasal dari otot dan hampir seluruhnya disaring di glomerulus. ⁽²⁶⁾ Kadar kreatinin dalam tubuh juga dipengaruhi oleh beberapa hal faktor seperti perubahan massa otot, aktifitas fisik yang berlebihan dapat meningkatkan kadar kreatinin, usia dan jenis kelamin. ⁽²⁵⁾

Hasil rerata kadar serum kreatinin pada penelitian ini dapat dilihat pada Tabel 4. Nilai normal serum kreatinin untuk tikus galur wistar jantan adalah 0.20-0.80 mg/dL. ⁽²⁷⁾ Penelitian ini menunjukkan bahwa kadar serum kreatinin hewan coba pada seluruh kelompok berada dalam rentang normal dan berdasarkan hasil analisis data didapatkan KP dan KN dengan nilai $p = 1.000$ yang menunjukkan bahwa tidak terdapat perbedaan yang signifikan pada kadar serum kreatinin antara kelompok hewan coba yang diberikan metformin 45 mg/kgBB dan kelompok hewan coba yang tidak diberikan perlakuan. Hasil analisis tersebut juga diperkuat dengan rerata kadar serum kreatinin yang sama pada kelompok KP = 0.40 ± 0.05 dan KN = 0.40 ± 0.03 .

Hasil kadar serum kreatinin yang masih dalam rentang normal dapat terjadi karena penelitian memiliki keterbatasan dalam pelaksanaannya. Salah satu keterbatasan dalam penelitian ini adalah durasi penelitian yang singkat. Durasi waktu penelitian terbagi menjadi dua yaitu waktu penginduksian DM dan waktu pemberian perlakuan. Hal tersebut didukung oleh penelitian yang dilakukan oleh Muhammad Zafar pada tahun 2009 yang menyatakan bahwa gangguan fungsi ginjal yang dapat menyebabkan mikroalbuminuria dan peningkatan serum kreatinin terjadi pada minggu ke 1 sampai 3 setelah penginduksian dengan STZ. ⁽²⁸⁾ Penelitian yang dilakukan oleh Eidi dkk pada tahun 2006 dan 2009 yang menunjukkan bahwa terdapat peningkatan kadar serum kreatinin dengan durasi waktu penelitian yang terbagi menjadi 5 hari induksi DM dengan STZ dan 14 hari pemberian perlakuan. ^(29; 30) Penelitian lain yang telah menunjukkan adanya peningkatan kadar serum kreatinin juga telah dilakukan oleh Yanardağ dkk dengan pembagian durasi waktu 14 hari untuk penginduksian DM dan 28 hari pemberian perlakuan atau intervensi. ⁽³¹⁾

Analisis data pada kelompok P1-P2 ($p=0.394$), kelompok P1-P3 ($p=0.720$), dan kelompok P2-P3 ($p=0.616$) menunjukkan bahwa kelompok yang diberikan ekstrak etanol daun kembang bulan sebesar 50 mg/kgBB, 250 mg/kgBB dan 500 mg/kgBB

tidak memiliki perbedaan kadar serum kreatinin yang bermakna. Hasil analisis tersebut juga memiliki kesamaan dengan hasil penelitian yang dilakukan oleh Rizki Maulida pada tahun 2019 yang menyebutkan bahwa tidak terdapat dosis optimum pemberian ekstrak daun kembang bulan untuk mengurangi kadar serum kreatinin. Hal tersebut dapat terjadi karena belum terjadi perubahan gambaran histopatologi ginjal atau sudah terjadi perubahan gambaran histopatologi ginjal tetapi tidak menimbulkan gejala klinis pada hewan coba. ⁽³²⁾ Oleh sebab itu tidak dapat ditentukan dosis optimum pemberian ekstrak etanol daun kembang bulan yang dapat mempengaruhi kadar serum kreatinin.

UCAPAN TERIMA KASIH

Proses penelitian, penyusunan, hingga Karya Tulis Ilmiah ini selesai, tentunya terdapat kesulitan yang dialami penulis. Untuk itu penulis ingin menyampaikan penghargaan dan rasa terima kasih kepada:

1. Alloh SWT yang telah memberikan kemampuan sehingga dapat menyelesaikan karya tulis ilmiah ini.
2. Kedua orang tua penulis yang tercinta, Bapak H. Bakar dan Ibu Hj. Mustika Nurhayati yang telah senantiasa mendoakan, memberikan semangat, dukungan, dan kasih sayang.
3. Saudara penulis, kakak Mayuarsih Kartika dan kakak Fenta Kharisma yang telah memberikan semangat, dukungan dan motivasi untuk penulis dalam menyelesaikan proses pendidikan sarjana.
4. Kakek dan nenek penulis yang telah berpulang ke rumah Alloh SWT, penulis telah diberikan kasih sayang sejak lahir dan telah diberikan teladan bagaimana harus bersikap di masa depan.
5. dr. Asri Hendrawati, M.Sc., selaku pembimbing yang telah memberikan banyak arahan, saran, motivasi, dan bimbingan dalam penyusunan karya tulis ilmiah ini.
6. dr. Linda Rosita, M.Kes, Sp.PK selaku Dekan Fakultas Kedokteran Universitas Islam Indonesia dan selaku penguji yang telah memberikan penulis masukan, arahan, serta bimbingan dalam penyusunan karya tulis ilmiah ini.

7. dr. Umatul Khoiriyah, M.Med.Ed., Ph.D selaku Ketua Program Studi Pendidikan Dokter Fakultas Kedokteran Universitas Islam Indonesia;
8. dr. Ukhti Jamil Rustiasari Sp. P.A. selaku DPA yang telah memberikan saran, masukan, dan motivasi pada setiap tahapan pendidikan preklinik.
9. Teman-teman penelitian daun kembang bulan, Danita Syifa, Della Bintari, dan Dosan Surya yang telah memberikan semangat pantang menyerah dalam menyelesaikan penelitian disaat pandemi covid 19.
10. Teman-teman ACASHA FKUII 2016 yang telah kebersamai selama masa perkuliahan.
11. Audina Dhiya, Yoan Yolanda, Evina Loviani, Kanesti Ismirajna, Erita Damayanti, Danita Syifa, dan Fatih Henggar yang telah memberikan kasih sayang, doa, dukungan, motivasi dan selalu mengingatkan penulis dalam setiap tahapan untuk menyelesaikan pendidikan S1.
12. Semua pihak yang terlibat dan telah membantu dalam penelitian dan penulisan karya tulis ilmiah ini yang tidak dapat saya sebutkan satu persatu.

Dalam proses penulisan karya tulis ilmiah ini penulis menyadari masih terdapat banyak kekurangan dan ketidaksempurnaan didalamnya, oleh sebab itu penulis mengharapkan kritik dan saran yang membangun sehingga karya tulis ilmiah ini dapat diperbaiki dan menjadi lebih baik. Semoga karya tulis ilmiah yang penulis buat ini dapat memberikan manfaat bagi penulis, pembaca, agama, bangsa, dan pengembangan ilmu pengetahuan.

KESIMPULAN DAN SARAN

Kesimpulan

Pemberian ekstrak etanol daun kembang bulan dengan dosis 50 mg/kgBB, 250 mg/kgBB, dan 500 mg/kgBB tidak menurunkan kadar serum kreatinin pada tikus galur wistar yang diinduksi DM dengan STZ.

Saran

Saran yang dapat peneliti berikan berdasarkan hasil analisis penelitian yang telah dilakukan sebagai berikut:

1. Perlu dilakukan penelitian dengan durasi waktu yang lebih lama untuk mengetahui pengaruh pemberian ekstrak daun kembang bulan terhadap kadar serum kreatinin.
2. Perlu dilakukan pemeriksaan kadar serum kreatinin sebelum perlakuan diberikan untuk mengetahui fungsi organ ginjal.
3. Perlu dilakukan uji toksisitas terhadap ekstrak etanol daun kembang bulan sehingga dapat digunakan sebagai obat yang aman dan terstandar.



DAFTAR PUSTAKA

1. Eliana, F., SpPD, K.E.M.D. and Yarsi, B.P.D.F., 2015. Penatalaksanaan DM Sesuai Konsensus Perkeni 2015. *PB. Perkeni. Jakarta*.
2. Putri, R.I., 2015. Faktor Determinan Nefropati Diabetik pada penderita Diabetes Mellitus di RSUD Dr. M. Soewandhie Surabaya. *Jurnal Berkala Epidemiologi*, 3(10), pp.109-121.
3. Lin, Y.C., Chang, Y.H., Yang, S.Y., Wu, K.D. and Chu, T.S., 2018. Update of pathophysiology and management of diabetic kidney disease. *Journal of the Formosan Medical Association*, 117(8), pp.662-675.
4. Sasmita, F.W., Susetyarini, E., Husamah, H. and Pantiwati, Y., 2017. Efek Ekstrak Daun Kembang Bulan (*Tithonia diversifolia*) terhadap Kadar Glukosa Darah Tikus Wistar (*Rattus norvegicus*) yang Diinduksi Alloxan. *Majalah Ilmiah Biologi BIOSFERA: A Scientific Journal*, 34(1), pp.22-31.
5. Fauziah, Y., Sunarti, S., Hanoum, I.F. and Wahyuningsih, M.S.H., 2018. Ethanol Extract of *Tithonia diversifolia* (Hemsley) A Gray Standardized Ameliorates Hyperglycemia, Polyphagia, and Weight Loss in Diabetic Rats. *Molekul*, 13(1), pp.72-79.
6. Di Giacomo, C., Vanella, L., Sorrenti, V., Santangelo, R., Barbagallo, I., Calabrese, G., Genovese, C., Mastrojeni, S., Ragusa, S. and Acquaviva, R., 2015. Effects of *Tithonia diversifolia* (Hemsl.) A. Gray extract on adipocyte differentiation of human mesenchymal stem cells. *Plos one*, 10(4), p.e0122320.
7. Amanatie, A. and Sulistyowati, E., 2015. Structure elucidation of the leaf of *Tithonia diversifolia* (Hemsl) gray. *Jurnal Sains dan Matematika Universitas Diponegoro*, 23, pp.101-106.
8. Bjornstad, P., Cherney, D.Z. and Maahs, D.M., 2015. Update on estimation of kidney function in diabetic kidney disease. *Current diabetes reports*, 15(9), p.57.
9. American Diabetes Association, 2015. Standards of Medical Care in Diabetes. Volume 38, Supplement 1.
10. Heriansyah, H., Humaedi, A. and Widada, N.S., 2019. Gambaran Ureum Dan Kreatinin Pada Pasien Gagal Ginjal Kronis Di RSUD Karawang. *Binawan Student Journal*, 1(1), Pp.8-14.
11. Sadikin, R.S.H., Pemeriksaan Fungsi Ginjal. 2016
12. Inker, L.A., Schmid, C.H., Tighiouart, H., Eckfeldt, J.H., Feldman, H.I., Greene, T., Kusek, J.W., Manzi, J., Van Lente, F., Zhang, Y.L. and Coresh, J., 2012. Estimating glomerular filtration rate from serum creatinine and cystatin C. *New England Journal of Medicine*, 367(1), pp.20-29.
13. Alfonso, A.A., Mongan, A.E. and Memah, M.F., 2016. Gambaran kadar kreatinin serum pada pasien penyakit ginjal kronik stadium 5 non dialisis. *eBiomedik*, 4(1).
14. Levey, A.S., Coresh, J., Balk, E., Kausz, A., Levin, A., Steffes, M.W., et al. 2003. *National Kidney Foundation Practice Guidelines for Chronic Kidney Disease: Evaluation, Classification, and Stratification*. Ann Intern Med.

15. Remer, T., Neubert, A., Maser-Gluth, C. 2002. *Anthropometry-based reference values for 24-h urinary creatinine excretion during growth and their use in endocrine and nutritional research*. American Journal of Clinical Nutrition.
16. Henry, J.B. 2001. *Clinical Diagnosis and Management by Laboratory Methods*. 20th edition. WB Saunders Company. Philadelphia.
17. Dabla, P.K., 2010. Renal function in diabetic nephropathy. *World journal of diabetes*, 1(2), p.48.
18. Susilorini, I.U. and Soffan, M., 2013. Pengaruh ekstrak alium sativum terhadap diameter glomeruli ginjal tikus sprague dawley jantan yang diinduksi streptozotoci. *Sains Medika*, 5(1), pp.11-6.
19. Mustika, A., Indrawati, R. and Sari, G.M., 2017. Efek Ekstrak Daun Singawalang (*Petiveria alliacea*) dalam Menurunkan Kadar Glukosa Darah melalui Peningkatan Ekspresi AMPK- α 1 pada Tikus Model Diabetes Melitus. *Jurnal Farmasi Klinik Indonesia*, 6(1), pp.22-31.
20. Saputra, N.T., Suartha, I.N. and Dharmayudha, A.A.G.O., 2018. Agen Diabetagonik Streptozotocin untuk Membuat Tikus Putih Jantan Diabetes Mellitus. *Buletin Veteriner Udayana*, 10(2), pp.116-121.
21. El-Baz, F.K., Aly, H.F., Abdo, S.M., Mahmoud, R. and Saad, S.A., 2016. *Dunaliella salina* alleviates renal dysfunction and suppresses inflammatory cytokines in STZ-induced diabetic rats. *Int. J. Pharm. Sci. Rev. Res*, 38, pp.210-215.
22. Dahlan M.S., 2014, *Statistik untuk Kedokteran dan Kesehatan Deskriptif, Bivariat, dan Multivariat (6th ed.)*, Jakarta: Epidemiologi Indonesia
23. Anwar, K., Hariadi, R.E.P., Kamalia, N., Santoso, H.B. and Ngindra, A.P.L., 2017. Perbandingan Efek Ekstrak Etanol, Fraksi N-Butanol, dan Fraksi Petroleum Eter Daun Kembang Bulan (*Tithonia diversifolia* (Hemsley) A. Gray) Terhadap Penurunan Kadar Glukosa Darah Mencit Jantan Yang Diinduksi Aloksan. *Jurnal Pharmascience*, 3(2).
24. Parawansah, P., Nuralifah, N. And Hasputra, R., 2016. Uji Efek Antidiabetes Ekstrak Daun Kembang Bulan (*Tithonia Difersivolia*) Pada mencit yang Diinduksi Streptozotocin. *WARTA FARMASI*, 5(2), Pp.72-80.
25. Priyanto, I. and Budiwiyono, I., 2019. Hubungan Kadar Kreatinin Dengan Formula Huger (Hematocrit, Urea, Gender) Pada Pasien Penyakit Ginjal Kronik. *Media Medika Muda*, 3(2).
26. Anna, I.L., Fauziah, F. and Firdus, F., 2017. Efek pemberian ekstrak etanol kayu manis (*Cinnamomum burmannii* Ness Ex Bl.) terhadap kadar ureum dan kreatinin tikus (*Rattus norvegicus*). *Jurnal Bioleuser*, 1(2).
27. Laksmi, N.L.G.M.C., Dada, I.K.A. and Damriyasa, I.M., 2014. Bioaktivitas Ekstrak Daun Tapakdara (*Catharanthus roseus*) terhadap Kadar Kreatinin dan Kadar Ureum Darah Tikus Putih (*Rattus norvegicus*). *Buletin Veteriner Udayana*, 6(2), pp.2085-2495.
28. Zafar, M., Naqvi, S.N.U.H., Ahmed, M. and Kaimkhani, Z.A., 2009. Altered Kidney Morphology and Enzymes in Streptozotocin Induced Diabetic Rats. *International Journal of Morphology*, 27(3).

29. Eidi, A., Eidi, M. and Esmaeili, E., 2006. Antidiabetic effect of garlic (*Allium sativum* L.) in normal and streptozotocin-induced diabetic rats. *Phytomedicine*, 13(9-10), pp.624-629.
30. Eidi, A., Eidi, M. and Darzi, R., 2009. Antidiabetic effect of *Olea europaea* L. in normal and diabetic rats. *Phytotherapy Research: An International Journal Devoted to Pharmacological and Toxicological Evaluation of Natural Product Derivatives*, 23(3), pp.347-350
31. Yanardağ, R., Bolkent, Ş., Özsoy-Saçan, Ö. and Karabulut-Bulan, Ö., 2002. The effects of chard (*Beta vulgaris* L. var. *cicla*) extract on the kidney tissue, serum urea and creatinine levels of diabetic rats. *Phytotherapy Research: An International Journal Devoted to Pharmacological and Toxicological Evaluation of Natural Product Derivatives*, 16(8), pp.758-761.
32. Maulida, R., 2019. *Pengaruh Ekstrak Etanol Daun Kembang Bulan (Tithonia Diversifolia (Hemsley) A. Gray) Terhadap Kadar Kreatinin Dan Gambaran Histopatologi Ginjal Pada Tikus Wistar Jantan Yang Diinduksi Streptozotosin-Nikotinamid* (Doctoral Dissertation, Universitas Islam Indonesia).

