

**PENGARUH PEMBERIAN EKSTRAK DAUN KEMBANG  
BULAN (*Tithonia diversifolia*) TERHADAP GAMBARAN  
HISTOLOGI GINJAL TIKUS WISTAR YANG DIINDUKSI  
DIABETES MELITUS DENGAN STREPTOZOTOCIN**

Karya Tulis Ilmiah

Untuk Memenuhi Sebagian Syarat  
Memperoleh Derajat Sarjana Kedokteran

**Program Studi Kedokteran  
Program Sarjana**



Oleh :

**Dosan Surya Sidharta  
16711121**

**FAKULTAS KEDOKTERAN  
UNIVERSITAS ISLAM INDONESIA  
YOGYAKARTA  
2020**

**THE EFFECT OF GIVING KEMBANG BULAN  
(*Tithonia diversifolia*) EXTRACT ON THE HISTOLOGICAL  
DESCRIPTION OF THE KIDNEY OF WISTAR RATS  
INDUCED BY DIABETES MELITUS WITH  
STREPTOZOTOCIN**

**Scientific Writing**

**as A Requirement for the Degree of Undergraduate Program in Medicine**

**Undergraduate Program in Medicine**



**By :**

**Dosan Surya Sidharta  
16711121**

**FACULTY OF MEDICINE  
INDONESIAN ISLAMIC UNIVERSITY  
2020**

**HALAMAN PENGESAHAN**

**PENGARUH PEMBERIAN EKSTRAK DAUN KEMBANG BULAN  
(*Tithonia diversifolia*) TERHADAP GAMBARAN HISTOLOGI GINJAL TIKUS  
WISTAR YANG DIINDUKSI DIABETES MELITUS DENGAN  
STREPTOZOTOCIN**

**Karya Tulis Ilmiah**

**Disusun dan diajukan oleh:**



**Dosan Surya Sidharta  
16711121**

**Telah diseminarkan tanggal: 15 Oktober 2020  
dan telah disetujui oleh:**

**Penguji**

**dr. Zainuri Sabta Nugraha M.Sc  
NIK : 027110430**

**Pembimbing**

**dr. R. Edi Fitriyanto M.Gizi  
NIK : 017110417**

**Ketua Program Studi Kedokteran  
Program Sarjana**

**dr. Umatul Khoiriyah, M.Med.Ed, PhD  
NIK : 047110101  
Disahkan  
Dekan**



**dr. Linda Rosita, M.Kes, Sp.PK  
NIK : 017110102**

## PERNYATAAN PUBLIKASI

*Bismillahirrahmaanirrahiim*

Yang bertanda tangan di bawah ini, saya

Nama : Dosan Surya Sidharta  
NIM : 16711121  
Judul KTI : PENGARUH PEMBERIAN EKSTRAK DAUN  
KEMBANG BULAN (*Tithonia diversifolia*) TERHADAP  
GAMBARAN HISTOLOGI GINJAL TIKUS WISTAR  
YANG DIINDUKSI DIABETES MELITUS DENGAN  
STREPTOZOTOCIN

Dosen Pembimbing : dr. R. Edi Fitriyanto, M.Gizi

Dengan ini menyatakan bahwa :

- Memberi Ijin** kepada Perpustakaan FK UII mempublikasikan di repository UII, berupa :
- Laporan KTI (full text)

Demikian pernyataan ini dibuat dengan sesungguhnya dan dapat dipergunakan sebagaimana mestinya.

Yogyakarta, 04 November 2020

Dosen Pembimbing



dr. R. Edi Fitriyanto, M.Gizi  
NIK : 027110430

Yang Menyatakan



Dosan Surya Sidharta  
NIM : 16711121

## DAFTAR ISI

HALAMAN JUDUL(BAHASA INDONESIA) .....	i
HALAMAN JUDUL(BAHASA INGGRIS).....	ii
LEMBAR PENGESAHAN.....	iii
LEMBAR PERNYATAAN PUBLIKASI .....	iv
DAFTAR ISI .....	v
DAFTAR TABEL .....	vi
DAFTAR GAMBAR .....	vii
HALAMAN PERNYATAAN.....	viii
KATA PENGANTAR.....	ix
INTISARI.....	xi
ABSTRACT.....	xii
<b>BAB I PENDAHULUAN</b>	
1.1 Latar Belakang .....	1
1.2 Rumusan Masalah.....	2
1.3 Tujuan Penelitian .....	3
1.4 Keaslian Penelitian .....	3
1.5 Manfaat Penelitian .....	3
<b>BAB II TINJAUAN PUSTAKA</b>	
2.1 Telaah Pustaka.....	5
2.2 Kerangka Teori .....	17
2.3 Kerangka Konsep .....	17
2.4 Hipotesis .....	17
<b>BAB III METODOLOGI PENELITIAN</b>	
3.1 Jenis & Desain Penelitian .....	18
3.2 Tempat & Waktu Penelitian .....	18
3.3 Subjek Penelitian.....	18
3.4 Identifikasi Variabel .....	19
3.5 Definisi Operasional.....	19
3.6 Instrumen Penelitian .....	20
3.7 Alur Penelitian .....	20
3.8 Metode Analisis Data .....	22
3.9 Etika Penelitian.....	22
<b>BAB IV HASIL DAN PEMBAHASAN</b>	
4.1 Gambaran Penelitian .....	23
4.2 Hasil Penelitian.....	24
4.3 Pembahasan .....	29
<b>BAB V KESIMPULAN DAN SARAN</b>	
5.1 Kesimpulan.....	33
5.2 Saran.....	33
DAFTAR PUSTAKA .....	35

## DAFTAR TABEL

Tabel 1. Keaslian Penelitian .....	3
Tabel 2. Hasil Uji statistik penelitian.....	27
Tabel 3. Uji <i>Post Hoc</i> LSD .....	28
Tabel 4. Hasil Uji Farmakognosi ekstrak etanol daun Kembang Bulan .....	32

## DAFTAR GAMBAR

Gambar 1. Diagnosis DM.....	7
Gambar 2. Histologi Ginjal Tikus DM .....	12
Gambar 3. Histo-PA Ginjal tikus normal dan DM .....	13
Gambar 4. Mekanisme STZ menginduksi DM.....	14
Gambar 5. Daun <i>Tithonia diversifolia</i> .....	16
Gambar 6. Kerangka teori penelitian.....	17
Gambar 7. Kerangka konsep penelitian .....	17
Gambar 8. Alur Penelitian .....	21
Gambar 9. KN1_lp1-1000x .....	25
Gambar 10. P1.7_lp8-1000x.....	25
Gambar 11. P1.5_lp2-1000x.....	25
Gambar 12. P3.4_lp5-1000x.....	25
Gambar 13. KN.9_lp2-1000x .....	26
Gambar 14. P3.9_lp6-1000x.....	26
Gambar 15. Nilai rasio rata-rata sampel .....	26
Gambar 16. Data deskriptif kelompok perlakuan.....	27
Gambar 17. Piknosis, karioreksis, dan kariolisis .....	30

## PERNYATAAN

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

Yogyakarta, 27 Oktober 2020



Dosan Surya Sidharta



## KATA PENGANTAR

*Assalamu'alaikum Wr.Wb.*

*Alhamdulillah rabbil 'alamin*, puji syukur kehadiran Allah S.W.T. yang telah memberi rahmat dan karunia-Nya sehingga penulis dapat menyelesaikan Karya Tulis Ilmiah (KTI) sebagai syarat mendapatkan gelar Sarjana Strata (S1) Program Studi Sarjana Kedokteran, Fakultas Kedokteran Universitas Islam Indonesia.

Shalawat serta salam tak lupa kami haturkan kepada Nabi Muhammad

*Sholallahu'alaihi Wassalam* yang telah membawa kami dari zaman kegelapan hingga zaman yang terang benderang dan penuh hidayah saat ini.

Penyusunan karya tulis ilmiah ini tidak terlepas dari doa, bantuan, dan dukungan dari Allah dan tangan-tangan Allah melalui perantara orang tua, dosen, maupun teman-teman diberbagai pihak baik secara langsung maupun tidak. Oleh karena itu, penulis hendak mengucapkan terimakasih kepada :

1. Allah *Subhanahu Wa Ta'ala* yang memberikan kemudahan, kelancaran, kekuatan dan kesabaran kepada penulis untuk menyelesaikan penyusunan skripsi ini.
2. Kepada Ibu dan Ayah tercinta, Ibu Trianik Prihatini dan Bapak Siswoko selaku orang tua Penulis yang telah mendukung proses pembuatan karya tulis ilmiah ini dalam bentuk doa, kasih sayang, kesabaran dan motivasi secara fisik maupun rohani sehingga dapat menyelesaikan proses pembuatan karya tulis ilmiah dengan baik dan lancar.
3. dr. R. Edi Fitriyanto, M.Gizi selaku dosen pembimbing karya tulis ilmiah yang telah membimbing penulis sejak awal masuk preklinik, memberikan nasihat dan masukan, serta telah banyak meluangkan waktunya untuk berdiskusi dan mengoreksi karya tulis ilmiah ini. Terimakasih atas segala wejangan, ilmu dan doa yang telah diberikan. Terimakasih yang luar biasa untuk jasa dokter yang selalu mensupport penulis, dengan kesibukan yang sangat padat, dokter tak pernah lelah mendengar keluh kesah dan selalu memberikan solusi dan bimbingan yang luar biasa hingga rampungnya penyusunan skripsi ini.
4. dr. Zainuri Sabta Nugraha, M.Sc selaku dosen penguji karya tulis ilmiah yang telah memberi kritik, saran, dukungan serta doa agar karya ini menjadi lebih baik. Terimakasih untuk segala ilmu yang telah diberikan.
5. dr. R. Edi Fitriyanto, M.Gizi selaku dosen pembimbing akademik (DPA) yang telah membantu penulis selama pendidikan preklinik.
6. dr. Linda Rosita, M. Kes, Sp. PK., selaku dekan Fakultas Kedokteran Universitas Islam Indonesia yang telah membantu penulis selama pendidikan preklinik.
7. dr. Ummatul Khoiriyah, M. Med. Ed., Ph. D selaku ketua Program Studi Sarjana Kedokteran, Fakultas Kedokteran Universitas Islam Indonesia yang telah membantu penulis selama pendidikan preklinik.
8. Sahabat-sahabat terbaik yang selalu mendukung, memberi semangat, menemani, memotivasi dan membantu penulis dalam penyusunan skripsi, Nurjihan Dwinoviri, Lilia Nur Rahmawati, Andia Rizki, Della Bintari, dan Afrizal Kurniawan.
9. Seluruh teman-teman sejawat Fakultas Kedokteran Universitas Islam Indonesia angkatan 2016 yang selalu membantu dengan berbagai macam bentuk selama proses perkuliahan.

Penulis menyadari bahwa dalam penyusunan karya tulis ilmiah ini masih terdapat banyak kekurangan. Oleh karena itu, penulis mengharapkan kritik dan saran yang membangun untuk karya tulis ilmiah ini. Semoga karya tulis ilmiah ini bermanfaat bagi penulis, pembaca, FK UII, dan bagi ilmu pengetahuan kedepannya.

*Wassalamua'alaikum wr.wb*

Yogyakarta, 27 Oktober 2020

Dosan Surya Sidharta

# **PENGARUH PEMBERIAN EKSTRAK DAUN KEMBANG BULAN (*Tithonia diversifolia*) TERHADAP GAMBARAN HISTOLOGI GINJAL TIKUS WISTAR YANG DIINDUKSI DIABETES MELITUS DENGAN STREPTOZOTOCIN**

**Dosan Surya Sidharta<sup>1</sup>, R.Edi Fitriyanto<sup>2</sup>**

<sup>1</sup>Mahasiswa Kedokteran, Fakultas Kedokteran Universitas Islam Indonesia

<sup>2</sup>Departemen Biokimia, Fakultas Kedokteran Universitas Islam Indonesia

## **INTISARI**

**Latar Belakang:** Indonesia merupakan salah satu negara yang termasuk dalam sepuluh besar pengidap diabetes melitus tertinggi, tepatnya pada peringkat enam dengan jumlah 10,3 juta jiwa pengidap diabetes melitus dan diperkirakan meningkat menjadi 16,7 juta pada tahun 2045. Diabetes dapat menyebabkan komplikasi Makroangiopati yang merupakan komplikasi yang melibatkan makrovaskuler seperti penyakit jantung koroner, sedangkan mikroangiopati meliputi komplikasi pada mikrovaskuler seperti retinopati diabetik, neuropati diabetik dan nefropati diabetik. Nefropati diabetikum ini disebabkan oleh berbagai mekanisme yang terjadi pada tubuh seorang pasien diabetes melitus, seperti peningkatan laju filtrasi glomerulus, glikasi matriks protein, ekspansi mesangial, mikroangiopati renal, hingga statis urine yang disebabkan oleh disfungsi vesica urinaria polineuropatik dan ISK berulang. Obat antihiperqlikemik yang digunakan saat ini dapat menimbulkan efek samping seperti gangguan pencernaan, hipoglikemia dan meningkatnya berat badan. *Tithonia diversifolia* merupakan tanaman indonesia yang diketahui memiliki kandungan alkaloid, tannin, flavonoid, saponin, dan fenol paling tinggi pada bagian daun. *Tithonia diversifolia* diharapkan bisa menjadi tumbuhan dengan implikasi terapeutik yang signifikan dan aman. **Metode :** Penelitian ini merupakan penelitian *post-test only control group design*. Tikus galur wistar (*Rattus norvegicus*) jantan dengan berat 250-350 gram, usia 3-4 bulan diaklimatisasi selama 1minggu, kemudian diinduksi DM dengan menggunakan Streptozotocin dosis tunggal 0,045mg/grBB intraperitoneal. Pemberian ekstrak DKB dengan cara sondase dilakukan selama 1 minggu kemudian dilakukan terminasi dan pembuatan preparat ginjal dengan pewarnaan Hematoksilin-Eosin. **Hasil :** Terdapat perbedaan nilai rasio jumlah kerusakan sel yang signifikan antara kelompok intervensi dengan kelompok kontrol ( $P = 0.000$ ) saat dilakukan uji *One-way ANOVA*. Kemudian juga terdapat perbedaan nilai rasio jumlah kerusakan sel yang signifikan antar kedua kelompok intervensi, dan antar kelompok intervensi dan kelompok kontrol ( $P = 0.000$ ) saat dilakukan uji Post-Hoc LSD dengan nilai *Mean difference* paling besar antara KN dan P3 (0.176111). **Kesimpulan :** Pemberian ekstrak daun Kembang Bulan (*Tithonia diversifolia*) dengan dosis 0,05mg/grBB dan 0,25mg/grBB berpengaruh pada gambaran histologi ginjal tikus galur wistar (*Rattus norvegicus*) yang diinduksi diabetes melitus dengan streptozotocin. Pemberian ekstrak Daun Kembang Bulan (*Tithonia diversifolia*) paling signifikan berpengaruh pada gambaran histologi ginjal tikus wistar dengan dosis 0,25mg/grBB.

**Kata kunci :** Diabetes melitus, Daun Kembang Bulan (*Tithonia diversifolia*), Histologi ginjal, tkus galur wistar (*Rattus norvegicus*), Streptozotocin.

**THE EFFECT OF GIVING KEMBANG BULAN LEAF (*Tithonia diversifolia*)  
EXTRACT ON THE HISTOLOGICAL DESCRIPTION OF THE KIDNEY OF  
WISTAR RUS INDUCED BY DIABETES MELLITUS WITH  
STREPTOZOTOCIN**

**Dosan Surya Sidharta<sup>1</sup>, R.Edi Fitriyanto<sup>2</sup>**

<sup>1</sup>Medical Student, Faculty of Medicine, Islamic University of Indonesia

<sup>2</sup>Department of Biochemistry, Faculty of Medicine, Islamic University of Indonesia

**ABSTRACT**

**Background :** Indonesia is one of the countries that is included in the top ten people with diabetes mellitus, to be precise at sixth place with 10.3 million people with diabetes mellitus and it is estimated that it will increase to 16.7 million in 2045. Diabetes can cause complications of macroangiopathy which is a complication that is involving macrovascular such as coronary heart disease, whereas microangiopathy includes complications in microvascular such as diabetic retinopathy, diabetic neuropathy and diabetic nephropathy. Diabetic nephropathy is caused by various mechanisms that occur in a patient with diabetes mellitus, such as an increase in glomerular filtration rate, glycation of protein matrix, mesangial expansion, renal microangiopathy, to urine static caused by polyneuropathic bladder dysfunction and recurrent UTI. The antihyperglycemic drugs used today can cause side effects such as indigestion, hypoglycemia and weight gain. *Tithonia diversifolia* is an Indonesian plant that is known to contain the highest levels of alkaloids, tannins, flavonoids, saponins and phenols in the leaves. *Tithonia diversifolia* is expected to be a plant with significant and safe therapeutic implications. **Method :** This study was a post-test only control group design. Male wistar rats (*Rattus norvegicus*) weighing 250-350 grams, aged 3-4 months were acclimatized for 1 week, then induced DM using a single dose of 0.045mg / grBB intraperitoneal Streptozotocin. The DKB extract was administered by means of sondase for 1 week, then terminated and made renal preparations by using Hematoxylin-Eosin staining. **Result :** There was a significant difference in the ratio of the number of cell damage between the intervention group and the control group ( $P = 0.000$ ) when the One-way ANOVA test was performed. Then there was also a significant difference in the ratio of the number of cell damage between the two intervention groups, and between the intervention group and the control group ( $P = 0.000$ ) when the LSD Post-Hoc test was carried out with the greatest mean difference between KN and P3 (0.176111). **Conclusion :** The administration of Kembang Bulan (*Tithonia diversifolia*) leaf extract at doses of 0.05 mg / grBW and 0.25 mg / grBW affected the histological picture of the kidney of Wistar rats (*Rattus norvegicus*) induced diabetes mellitus with streptozotocin. The administration of the Kembang Bulan (*Tithonia diversifolia*) leaf extract had the most significant effect on the histological picture of the kidney of Wistar rats at a dose of 0.25 mg / grBW.

**Keyword :** Diabetes mellitus, Kembang Bulan Leaf (*Tithonia diversifolia*), Kidney Histology, wistar rats (*Rattus norvegicus*), Streptozotocin.

## **BAB I. PENDAHULUAN**

### **1.1 Latar Belakang Masalah**

Diabetes melitus termasuk salah satu masalah kesehatan global terbesar pada abad ke-21 dan merupakan salah satu penyebab kematian terbesar di dunia. *International Diabetic Federation* (IDF) menyebutkan bahwa terdapat 425 juta jiwa atau 8,8% dari populasi dengan usia 20-79 tahun yang diperkirakan mengidap diabetes melitus pada tahun 2017 dan jumlahnya diperkirakan akan terus meningkat menjadi 629 juta orang pada tahun 2045. Indonesia merupakan salah satu negara yang termasuk dalam sepuluh besar pengidap diabetes melitus tertinggi, tepatnya pada peringkat enam dengan jumlah 10,3 juta jiwa pengidap diabetes melitus dan diperkirakan meningkat menjadi 16,7 juta pada tahun 2045 (*International Diabetes Federation, 2017*).

Diabetes melitus tipe 2 merupakan tipe yang paling banyak ditemukan diperkirakan 90-95% dari seluruh penderita diabetes, DM tipe 2 atau *adult onset diabetes* disebabkan oleh keadaan resistensi insulin pada jaringan perifer sehingga kadar insulin bisa tampak normal atau meningkat sehingga menyebabkan defisiensi insulin relatif (*American Diabetes Association, 2014*). Semua tipe diabetes ditandai dengan adanya kondisi hiperglikemia yang akan menyebabkan terjadinya stress oksidatif, yaitu ketidakseimbangan kadar radikal bebas dan sistem pembersihan yaitu anti-oksidan (Mathebula, 2014)

Diabetes melitus apabila tidak ditangani dengan tepat maka akan menyebabkan terjadinya komplikasi kronik maupun komplikasi akut. Komplikasi kronik yang dapat terjadi adalah makroangiopati dan mikroangiopati. Makroangiopati merupakan komplikasi yang melibatkan makrovaskuler seperti penyakit jantung koroner, sedangkan mikroangiopati meliputi komplikasi pada mikrovaskuler seperti retinopati diabetik, neuropati diabetik dan nefropati diabetik. Komplikasi akut atau dalam jangka waktu pendek terdiri dari kondisi hipoglikemia, ketoasidosis diabetik dan koma hiperosmolar hiperglikemik nonketotik (Sudoyo *et al*, 2009; Asmat *et al*, 2016). Kerusakan sel-sel pada ginjal mengakibatkan nephropathy diabetik, terjadi sebanyak 24,7% pasien DM di Manado (Singgih B, 2003). Kejadian nefropati diabetikum ini dapat disebabkan oleh berbagai mekanisme yang terjadi pada tubuh seorang pasien diabetes melitus, mulai dari peningkatan laju filtrasi glomerulus, glikasi matriks protein,

ekspansi mesangial, mikroangiopati renal, hingga statis urine yang disebabkan oleh disfungsi vesica urinaria polineuropatik dan ISK berulang (Mathebula, 2014).

Obat untuk pengidap diabetes melitus berupa obat antihiperqlikemik yang pada umumnya dikonsumsi sepanjang hidup pasien tersebut. (Shrestha *et al*, 2018) Dari penelitian yang dilakukan oleh Shresta *et al* pada tahun 2018, obat antihiperqlikemik yang digunakan saat ini dapat menimbulkan efek samping seperti gangguan pencernaan, hipoglikemia dan meningkatnya berat badan. *Tithonia diversifolia* atau daun kembang bulan adalah tumbuhan yang masuk dalam *family Asteraceae* dan dimanfaatkan untuk berbagai keluhan seperti anti-inflamasi, anti-malaria, anti-mkroba, anti-diare dan antiobesitas. Komponen yang dimiliki oleh *Tithonia diversifolia* adalah alkaloid, tannin, flavonoid, saponin, dan fenol yang dapat ditemukan pada bagian daun, batang dan akar (Tagne *et al*, 2018). Menurut penelitian yang dilakukan oleh Olayinka *et al* pada tahun 2015 menemukan bahwa kandungan flavonoid, saponin dan terpenoid tertinggi didapatkan pada bagian daun. Komponen utama yang diyakini berperan dalam menghambat terjadinya oksidasi lipid maupun molekul lain adalah asam fenolik dan flavonoid (Thongsom *et al*, 2013). Flavonoid menurunkan kadar ROS dengan beberapa mekanisme seperti menetralsir elemen radikal bebas, menekan enzim yang berkaitan dengan pembentukan radikal bebas dan menstimulasi enzim antioksidan internal (Banjarnahor dan Artanti, 2015). Dengan berbagai manfaat tersebut, *Tithonia diversifolia* diharapkan bisa menjadi tumbuhan dengan implikasi terapeutik yang signifikan dan aman. Aplikasi klinis *Tithonia diversifolia* juga diharapkan akan menurunkan efek samping terkait penggunaan obat antihiperqlikemik (Tagne *et al*, 2018).

## 1.2 Perumusan Masalah

1. Apakah pemberian ekstrak etanol daun kembang bulan (*Tithonia diversifolia*) berpengaruh terhadap gambaran histopatologi parenkim ginjal pada tikus galur wistar yang diinduksi diabetes melitus?

### 1.3 Tujuan Penelitian

1. Mengetahui pengaruh pemberian ekstrak etanol daun kembang bulan (*Tithonia diversifolia*) terhadap gambaran histopatologi parenkim ginjal pada tikus galur wistar yang diinduksi diabetes melitus.

### 1.4 Keaslian Penelitian

Tabel 1. Keaslian Penelitian

Judul Penelitian	Persamaan	Perbedaan
Pengaruh Suspensi Bubuk Kedelai Kuning terhadap Struktur Histologik Tikus Diabetik Diinduksi Streptozotocin (Ika F, 2011)	Menggunakan streptozotosin dan nikotinamid sebagai penginduksi diabetes melitus. Variabel terikat yang diteliti adalah struktur histologi ginjal.	Penelitian ini dilakukan untuk mengetahui efektifitas suspensi bubuk kedelai kuning untuk mengurangi komplikasi nefropati diabetik pada ginjal.
Efek Ekstrak Daun Kembang Bulan ( <i>Tithonia diversifolia</i> ) terhadap Kadar Glukosa Darah Tikus Wistar ( <i>Rattus norvegicus</i> ) yang Diinduksi Alloxan (Sasmita <i>et al</i> , 2017)	Objek penelitian yang digunakan merupakan tikus wistar ( <i>Rattus norvegicus</i> ).	Meneliti kadar glukosa darah pada tikus wistar ( <i>Rattus norvegicus</i> ) setelah diinduksi STZ dan diberikan ekstrak Daun Kembang Bulan
<i>Histological changes in the kidneys of experimental diabetic rats fed with Momordica charantia (bitter gourd) extract</i> (Teoh S.L, 2010)	Menggunakan streptozotosin sebagai penginduksi DM. Variabel terikat yang diteliti adalah struktur histologi ginjal.	Variabel bebas yang digunakan adalah ekstrak <i>Momordica charantia</i> . Tikus yang digunakan adalah tikus jantan Sprague-Dawley.

### 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 ilmu pengetahuan mengenai pengaruh ekstrak etanol daun kembang bulan (*Tithonia diversifolia*) terhadap gambaran histopatologi parenkim ginjal pada tikus galur wistar yang diinduksi diabetes melitus.

#### 2. Institusi

Memajukan Fakultas Kedokteran Universitas Islam Indonesia dan Universitas Islam Indonesia dalam publikasi ilmiah dan melengkapi data kepustakaan mengenai pengaruh ekstrak etanol daun kembang

bulan (*Tithonia diversifolia*) terhadap gambaran histopatologi parenkim ginjal pada tikus galur wistar yang diinduksi diabetes melitus.

### 3. Kemajuan Ilmu Kedokteran

Menambah informasi dan landasan ilmiah mengenai pengaruh dan manfaat ekstrak etanol daun kembang bulan (*Tithonia diversifolia*) terhadap gambaran histopatologi parenkim ginjal pada tikus galur wistar yang diinduksi diabetes melitus.



## **BAB II. TINJAUAN PUSTAKA**

### **2.1. Telaah Pustaka**

#### **2.1.1 Diabetes Melitus**

Diabetes melitus merupakan suatu kondisi kronik yang terjadi ketika terdapat peningkatan kadar glukosa dalam darah karena tubuh tidak dapat menghasilkan insulin atau tubuh tidak dapat menggunakan insulin secara efektif (*International Diabetes Federation, 2017*). Diabetes melitus diklasifikasikan menjadi beberapa tipe diantaranya yaitu diabetes melitus tipe 1 dan diabetes melitus tipe 2. Diabetes melitus tipe 1 merupakan diabetes yang jarang ditemukan karena diperkirakan hanya menyumbang 5-10% dari seluruh populasi penderita diabetes yang disebabkan oleh reaksi autoimun yang mendestruksi sel  $\beta$  pankreas dengan predisposisi genetik sehingga terjadi defisiensi insulin absolut. Diabetes melitus terbagi menjadi dua kelompok berdasarkan mekanisme yang mendasarinya, yaitu diabetes melitus tipe 1 yang disebabkan adanya kerusakan sel beta pankreas karena proses autoimun, kondisi ini ditandai dengan defisiensi absolut dari sekresi insulin dan yang kedua adalah diabetes melitus tipe 2 yang disebabkan oleh adanya gabungan resistensi perifer terhadap kerja insulin dan respon insulin kompensatorik yang tidak adekuat dari sel beta pancreas, kondisi ini ditandai dengan adanya defisiensi insulin relatif. Diabetes melitus lainnya disebabkan oleh sebab lain yang monogenik dan bersifat sekunder (Kumar, 2015).

Diabetes melitus tipe 1 merupakan suatu penyakit autoimun dengan kerusakan pulau langerhans yang terutama disebabkan oleh sel efektor imun bereaksi terhadap antigen sel beta endogen (Kumar, 2015). Gen *Human Leucocyte Antigen* (HLA) sangat penting dalam mengatur respon imun, karena gen ini berperan dalam menyandi protein permukaan sel yang terlibat dalam presentasi antigen dan toleransi diri (Zaccardi, *et al.*, 2015). Penelitian terkait *genome-wide* telah mengidentifikasi lebih dari 20 lokus. Lokus yang memiliki kerentanan utama untuk terjadi diabetes melitus tipe 1 adalah regio kromosom 6p21 (HLA-D) yang mengkode molekul MHC kelas II. Gen lain yang terlibat dalam diabetes melitus tipe 1 yaitu gen yang mengkode insulin. Selain terjadi polimorfisme gen, kondisi lain seperti infeksi merupakan penyebab diabetes tipe 1 yaitu infeksi virus *mumps*, *rubella* dan *coxsackie B* (Kumar, 2015).

Diabetes melitus tipe 2 dalam PERKENI tahun 2015 secara garis besar disebabkan oleh delapan hal (*omnious octet*), yaitu : (Eliana F, 2015)

1. Kegagalan sel beta pankreas : Fungsi sel beta pankreas dalam menghasilkan insulin sudah sangatlah berkurang
2. Liver : Resistensi insulin yang berat memicu terjadinya proses glukoneogenesis sehingga produksi glukosa oleh hepar meningkat (*hepatic glucose production*).
3. Otot : Terdapat gangguan kinerja insulin di intramioselular, akibat gangguan fosforilasi tirosin sehingga timbul gangguan transport glukosa dalam sel otot, sintesis glikogen dan oksidasi glukosa menurun.
4. Sel lemak : Terjadi resistensi sel lemak terhadap efek antilipolisis insulin, menyebabkan terjadinya peningkatan proses lipolisis dan kadar asam lemak bebas. Peningkatan asam lemak bebas tersebut akan berakibat pada proses glukoneogenesis, dan mecatuskan terjadinya resistensi insulin pada orga liver dan otot.
5. Usus : Pada penderita diabetes tipe 2 terdapat defisiensi *Glucagon like peptide 1* (GLP-1) dan resisten terhadap *Gastric inhibitory polypeptide* (GIP). Selain itu, incretin juga akan segera dipecah oleh enzim *Dipeptidyl Peptidase-4* (DPP-4), sehingga hanya akan bekerja dalam beberapa menit. Usus juga mempunyai enzim yang berperan dalam penyerapan karbohidrat yaitu alfa-glukosidase yang akan memecah polisakarida menjadi monosakarida untuk diserap oleh usus dan berakibat pada peningkatan kadar glukosa darah.
6. Sel alfa pankreas : Sel alfa berfungsi untuk mensintesis glukagon yang kadarnya akan meningkat pada saat puasa. Peningkatan ini menyebabkan produksi glukosa oleh hepar meningkat dalam keadaan basal.
7. Ginjal : Terjadi peningkatan ekspresi gen Sodium Glucose cotransporter 2 (SGLT -2) yang berfungsi untuk proses absorpsi 90% glukosa yang sudah terfiltrasi.
8. Otak : Pada orang yang obesitas baik menderita DM maupun tidak, akan didapatkan kondisi hiperinsulinemia sebagai mekanisme kompensasi. Pada golongan ini terjadi peningkatan asupan makanan

karena adanya resistensi insulin pada otak, sedangkan insulin merupakan penekan nafsu makan yang kuat di otak.

Diabetes melitus memiliki gejala yang terdiri dari gejala khas dan tidak khas. Gejala khas diabetes berupa poliuria, polidipsia, polifagia dan penurunan berat badan tanpa sebab yang jelas. Gejala tidak khas diabetes terdiri dari lemas, kesemutan, luka yang sulit sembuh, gatal, mata kabur, disfungsi ereksi pada pria dan *pruritus* vulva pada vagina. Pada manusia, apabila ditemukan gejala khas diabetes melitus dan dengan pemeriksaan glukosa darah menunjukkan hasil yang tidak normal pada satu kali pemeriksaan maka sudah cukup untuk menegakkan diagnosis DM. Sedangkan, jika tidak ditemukan gejala khas tetapi hasil pemeriksaan glukosa darah dilakukan dua kali dan menunjukkan hasil tidak normal maka pasien tersebut bisa didiagnosis DM (Sudoyo *et al*, 2009).

Selain yang telah disebutkan diparagraf sebelumnya, diagnosis diabetes melitus juga dapat ditegakkan dengan menggunakan kriteria berikut :

---

Pemeriksaan glukosa plasma puasa  $\geq 126$  mg/dL. Puasa adalah kondisi tanpa asupan kalori selama 8 jam. **(B)**

Atau

Pemeriksaan glukosa plasma  $\geq 200$  mg/dL 2 jam setelah Tes Toleransi Glukosa Oral (TTGO) dengan beban glukosa 75gram. **(B)**

Atau

Pemeriksaan glukosa plasma sewaktu  $\geq 200$ mg/dL dengan keluhan klasik positif.

Atau

Pemeriksaan HbA1c  $\geq 6,5\%$  dengan menggunakan metode yang terstandarisasi oleh *National Glycohaemoglobin Standardization Program* (NGSP). **(B)**

---

Gambar 1. Diagnosis DM (Eliana, 2015)

Diabetes melitus apabila tidak ditangani dengan tepat maka akan menyebabkan terjadinya komplikasi kronik maupun komplikasi akut. Komplikasi kronik yang dapat terjadi adalah makroangiopati dan mikroangiopati. Makroangiopati merupakan komplikasi yang melibatkan makrovaskuler seperti penyakit jantung koroner, sedangkan mikroangiopati meliputi komplikasi pada mikrovaskuler seperti retinopati diabetik, neuropati diabetik dan nefropati

diabetik. Komplikasi akut atau dalam jangka waktu pendek terdiri dari kondisi hipoglikemia, ketoasidosis diabetik dan koma hiperosmolar hiperglikemik nonketotik (Sudoyo *et al*, 2009; Asmat *et al*, 2016)

Penatalaksanaan DM memerlukan integrasi dan kombinasi antara terapi obat, diet dan olahraga. Pencegahan dan terapi DM dipengaruhi oleh gaya hidup yang meliputi jenis makanan dan aktivitas (Shaw *et al.*, 2010). Penatalaksanaan DM dimulai dengan menerapkan pola hidup sehat (terapi nutrisi medis/kontrol kalori dan aktivitas fisik/olahraga) bersamaan dengan intervensi farmakologis dengan obat anti hiperglikemia secara oral dan/atau injeksi. Obat anti hiperglikemia oral dapat diberikan sebagai terapi tunggal atau kombinasi (PERKENI, 2015). Terapi nutrisi medis (TNM) merupakan hal yang penting dalam upaya preventif dan manajemen DM serta pencegahan atau memperlambat perkembangan komplikasi DM (ADA, 2008). Penderita DM memerlukan konseling dalam diet makanan sehat dan aktifitas fisik yang disesuaikan dengan kemampuan tiap individu. Meskipun pedoman manajemen diet DMT2 yang ada tidak memberikan rekomendasi yang sama, tetapi semuanya menyetujui untuk mengurangi asupan kalori untuk pasien dengan kelebihan berat badan (*overweight*) dan obes, mengganti lemak jenuh dengan lemak tak jenuh, asupan serat makanan sama atau lebih tinggi dari yang dianjurkan untuk masyarakat umum, menghindari penambahan gula, menghindari tembakau (rokok) dan mengurangi konsumsi alkohol yang berlebihan (WHO, 2016). Berdasarkan penelitian yang dilakukan pada tahun 1975-1978, Tjokroprawiro (2011) telah berhasil menyusun dan meneliti Diet-B untuk pasien DM. Diet-B tersebut memiliki komposisi 68% kalori karbohidrat, 20% kalori lemak, dan 12% kalori protein. Menurut Tjokroprawiro (2011) bahwa diet tinggi karbohidrat bentuk kompleks (bukan monosakarida), yang diberikan dalam dosis terbagi, dapat meningkatkan dan memperbaiki *glukose uptake* jaringan perifer serta memperbaiki kepekaan sel  $\beta$  pankreas untuk sekresi insulin. Diet-B tersebut juga banyak mengandung serat yang berasal dari sayuran. Tingginya serat dapat menekan kenaikan kadar kolesterol darah (Tjokroprawiro, 2011). Sebuah penelitian menyatakan mengkonsumsi makanan tinggi serat (~50 g/hari) dapat menurunkan kadar glukosa darah pada pasien

DMT1 dan DMT2 serta menurunkan hiperinsulinemia, dan lipemia pada pasien DMT2 (ADA, 2008).

Latihan jasmani juga merupakan salah satu pilar dalam pengelolaan DMT2 apabila tidak disertai adanya nefropati. Kegiatan jasmani sehari-hari dan latihan jasmani dilakukan secara teratur sebanyak 3-5 kali perminggu selama sekitar 30-45 menit, dengan total 150 menit perminggu. Latihan jasmani selain untuk menjaga kebugaran juga dapat menurunkan berat badan dan memperbaiki sensitivitas insulin sehingga akan memperbaiki kendali glukosa darah. Latihan jasmani yang dianjurkan berupa latihan jasmani yang bersifat aerobik dengan intensitas sedang (50-70% denyut jantung maksimal) seperti: jalan cepat, bersepeda santai, *jogging*, dan berenang. Denyut jantung maksimal dihitung dengan cara mengurangi angka 220 dengan usia pasien (PERKENI, 2015).

Terapi farmakologis diberikan bersama dengan pengaturan makan dan latihan jasmani (gaya hidup sehat). Terapi farmakologis terdiri dari obat oral dan bentuk suntikan.

#### 1) Obat Antihiperglikemia Oral

Berdasarkan cara kerjanya, obat antihiperglikemia oral dibagi menjadi 5 golongan:

- a) Pemacu Sekresi Insulin (Insulin Secretagogue) terdiri dari sulfonylurea dan glinid
- b) Peningkat Sensitivitas terhadap Insulin terdiri dari metformin dan tiazolidindion
- c) Penghambat Absorpsi Glukosa di saluran pencernaan:  
Penghambat Alfa Glukosidase.
- d) Penghambat DPP-IV (Dipeptidyl PeptidaseIV)
- e) Penghambat SGLT-2 (Sodium Glucose Cotransporter 2)

#### 2) Obat Antihiperglikemia suntik

Termasuk anti hiperglikemia suntik, yaitu insulin, agonis GLP-1 dan kombinasi insulin dan agonis GLP-1 (PERKENI, 2015).

### 2.1.2 Nefropati pada Diabetes Melitus

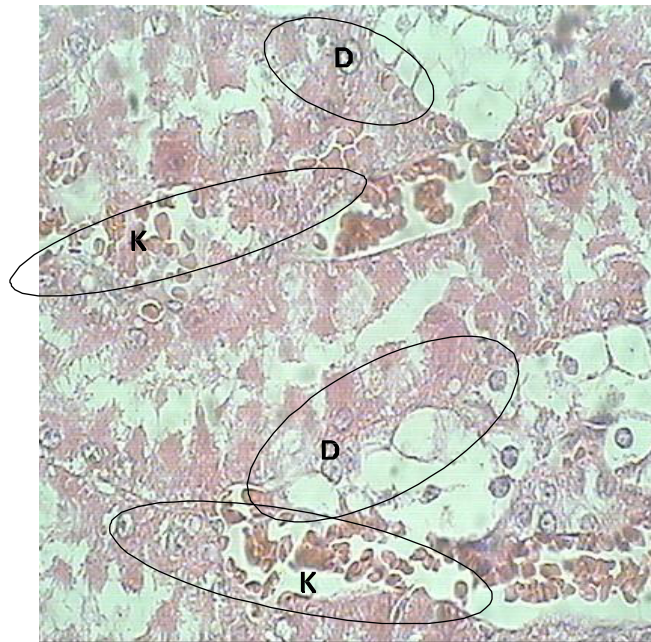
Diabetes Melitus merupakan sebuah penyakit atau sindrom yang ditandai dengan keadaan Hiperglikemia atau peningkatan kadar gula darah. Diabetes Control and Complication Trial (DCCT) dan U.K. Prospective Diabetes Study menunjukkan dan membuktikan bahwa kondisi Hiperglikemia merupakan penyebab awal terjadinya kerusakan jaringan yang mengakibatkan berbagai macam komplikasi Diabetes Melitus. Sel yang paling peka untuk terjadinya kerusakan akibat kondisi Hiperglikemia adalah sel endotel dan sel mesangial seperti, Sel endotel kapiler di retina yang apabila rusak menimbulkan komplikasi Retinopati diabetik, Sel mesangial glomerulus ginjal yang apabila rusak menimbulkan Nefropati diabetik, dan Sel Schwann pada jaringan saraf perifer yang apabila rusak akan menimbulkan neuropati perifer (Kimoto K, Suzuki K, Kizaki T, Hitomi Y, Ishida H, Katsuta H, *et al*, 2003). Ekspansi mesangial yang terjadi pada sel mesangial glomerulus terjadi akibat kondisi hiperglikemia. Kondisi hiperglikemia ini mengakibatkan peningkatan produksi dan augmentasi matriks ekstraselular, atau glikasi matriks protein. Sklerosis glomerular yang terjadi diakibatkan oleh hipertensi intraglomerular yang diinduksi oleh dilatasi arteriol afferen glomerulus karena cedera iskemik jaringan glomerulus (Fioretto, 2007).

Nefropati diabetik atau penyakit ginjal akibat diabetes merupakan salah satu contoh ESRD atau End Stage Renal Disease yang paling umum dari berbagai jenis penyakit ginjal yang ada di Eropa maupun Amerika. Sebanyak kurang lebih 41% dari seluruh pasien penyakit ginjal stadium akhir/ESRD harus melakukan dialisis terus menerus karena ginjal tidak dapat melakukan filtrasi protein dengan baik. Penderita mengalami kekurangan protein, namun kelebihan banyak asam urat (American Diabetes Association, 2004).

Kejadian CKD/ Chronic Kidney Disease pada pasien diabetes sebenarnya bisa memang murni dikarenakan adanya Nefropati diabetik, namun CKD pada pasien juga dapat terjadi karena hipertensi, ISK berulang, makroangiopati, dan Disfungsi Vesica Urinaria polineuropatik yang semuanya juga sering terjadi pada pasien Diabetes Melitus (Dean J, 2012). Hiperglikemia pada pasien Diabetes Melitus menyebabkan hiperfiltrasi, prediktor dari penyakit ginjal yang progresif dan perubahan morfologi ginjal yang pada akhirnya menimbulkan kerusakan Podosit dan hilangnya permukaan filtrasi glomerulus (Fakhrudin, 2017). Bentuk

atau gambaran lesi pada ginjal karena DM khususnya pada DM tipe1 dapat dilihat predominan pada glomerulus dengan bentuk lesi seperti penebalan membrana basalis dan ekspansi mesangial. Pada penyakit ginjal stadium akhir karena DM tipe1 dapat ditemukan gambaran lesi seperti perubahan morfologis dari sel podosit, arteriol, interstitium, dan tubulus renalis. Penebalan membrana basalis glomerulus paling cepat dapat dilihat secara mikroskopik pada pasien yang sudah 1,5-2,5 tahun didiagnosis DM tipe1. Penebalan membrana basalis glomerulus dapat bermanifestasi sebagai adanya Hipertensi, proteinuria, dan penurunan laju filtrasi ginjal (Fioretto, 2007).

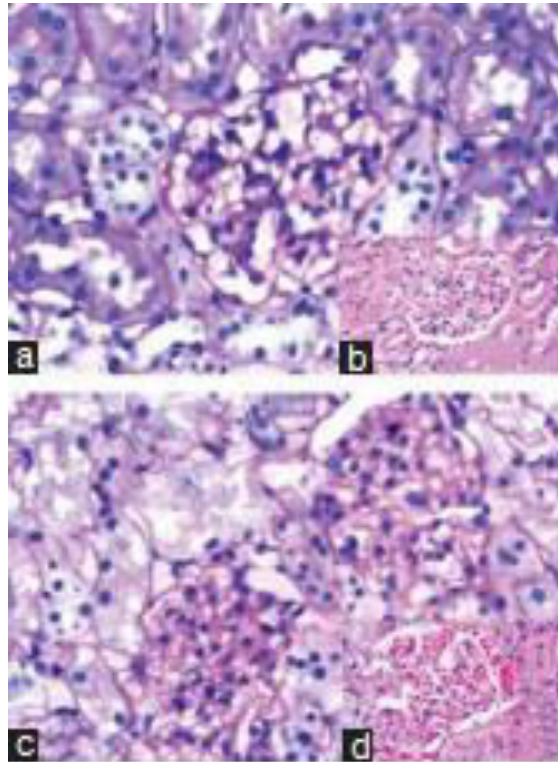
Gambaran Histopatologi ginjal pada nefropati diabetik karena DM tipe2 bervariasi menjadi dua jenis, yakni glomerulonefritis kronik, dan glomerulonefritis mesangial proliferasif. Nefropati diabetik sendiri diklasifikasikan menjadi 3 kategori. Kategori pertama adalah pasien ND(Nefropati Diabetik) dengan mikroalbuminuria 35%, proteinuria 15%, serta memiliki hasil biopsi ginjal dengan hasil normal dan perubahan sangat ringan pada pembuluh darah, tubulus ginjal, dan glomerulus. Kategori kedua adalah pasien ND dengan mikroalbuminuria 30%, proteinuria 50%, serta hasil biopsi ginjal dengan gambaran yang mirip dengan gambaran histologik parenkim ginjal pasien DM tipe 1. Sedangkan kategori ketiga adalah pasien ND dengan mikroalbuminuria 35%, proteinuria, serta mempunyai gambaran histologik biopsi ginjal seperti fibrosis interstisial, atrofi tubulus, penebalan membrana basalis tubulus, dan hialinosis arteri tubulus(Fakhruddin, 2017).



Gambar 2. Histologi ginjal tikus DM

Gambaran histologi jaringan ginjal Tikus DM yang tidak mendapat perlakuan apapun : banyak mengalami kerusakan berupa K: daerah dengan kongesti atau pelebaran pembuluh darah dan D: daerah dengan degenerasi (pengamatan dengan mikroskop cahaya, perbesaran 10X40)  
(Fidianingsih, 2011).





Gambar 3. Gambaran Histo-PA ginjal tikus normal dan Diabetes melitus  
 A :Tikus normal dengan gambaran parenkim ginjal normal; pewarnaan dengan PAS x 400. B : Gambaran parenkim ginjal tikus normal dengan pewarnaan Hematoksillin-Eosin; x 400. C : Gambaran parenkim ginjal tikus diabetik yang menunjukkan adanya ekspansi dan proliferasi mesangial yang ditunjukkan dengan penebalan kapiler glomerulus. Glikosuria juga dapat dilihat pada bagian tubulus ginjal; PAS x 400. D : Gambaran parenkim ginjal tikus diabetik yang menunjukkan adanya glomerulosklerosis dan hiperseluleritas ; Hematoksillin-Eosin x 400  
 (Shiju, 2013).

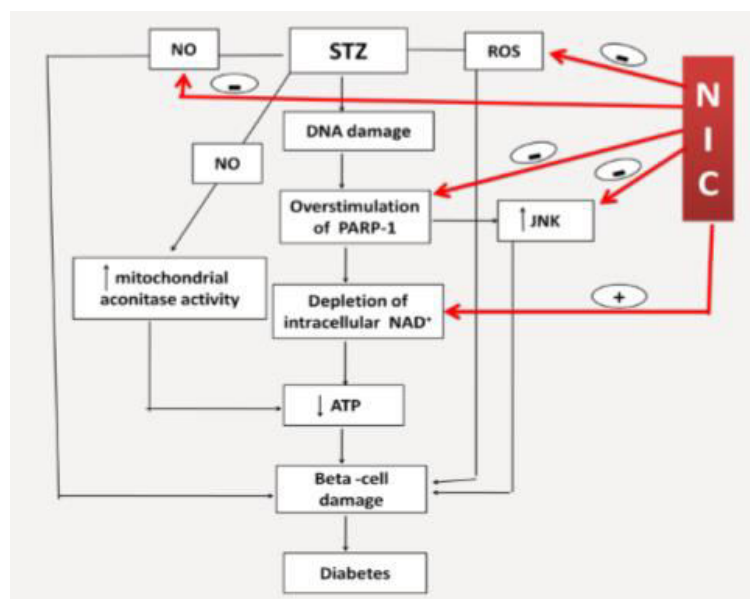
### 2.1.3 Mekanisme Streptozocin menginduksi Diabetes Melitus

*Streptozotocin* merupakan senyawa glukosamin-nitrosourea yang berasal dari *Streptomyces achromogenes*. *Streptozotocin* mempunyai afinitas yang tinggi terhadap membran sel  $\beta$  pankreas, efek toksik yang selektif terhadap sel  $\beta$  dan kapasitas yang rendah untuk melawan adanya radikal bebas (Ghasemi *et al.*, 2014). Menurut Szkudelski pada tahun 2012 dalam *journal of endocrinology and thyroid research*. Paparan STZ terhadap sel  $\beta$  pankreas menghasilkan kerusakan melalui beberapa mekanisme yang berbeda :

- a. *Streptozotocin* medesruksi sel  $\beta$  dengan terlebih dahulu menghancurkan makromolekul seperti proses alkilasi DNA. Alkilasi DNA akan

mengakibatkan fragmentasi DNA pada sel  $\beta$ , keadaan tersebut memicu stimulasi berlebih pada *Poly(ADP-ribose) polymerase 1* (PARP-1). Enzim tersebut mengkatalisa sintesis poli(ADP-ribose) intraseluler yang menghasilkan adanya interupsi DNA (Kishore *et al.*, 2017). Selain itu, hiperaktifitas PARP-1 akan menyebabkan terjadinya penurunan substrat PARP-1 intraseluler yaitu  $\text{NAD}^+$ . Penurunan kadar  $\text{NAD}^+$  sebagai molekul penting untuk metabolisme energi dalam sel akan mengakibatkan deplesi ATP.

- b. *Streptozotosin* menurunkan aktivitas mitokondria, konsumsi oksigen dan menurunkan membran potensial mitokondria.
- c. Peningkatan pembentukan nitrit oksida dalam sel  $\beta$  pankreas
- d. *Streptozotosin* menghasilkan sejumlah ROS dalam sel  $\beta$  pankreas. Hal ini akan berpengaruh terhadap kerusakan sel  $\beta$  karena melemahnya pertahanan anti-oksidan di dalam sel.
- e. Sitotoksitas dari STZ dipengaruhi juga oleh aktifitas *c-Jun N-terminal kinase* (JNK). Peningkatan aktifitas enzim ini akan mengakibatkan stres seluler dan kematian pada sel.



Gambar 4. Mekanisme STZ menginduksi DM

Diabetes melitus yang diinduksi oleh *streptozotosin* mempunyai karakteristik, sebagai berikut :

1. Hiperglikemia stabil sedang (tidak puasa) maka tidak membutuhkan adanya insulin eksogen (Ghasemi, *et al.*, 2014).
2. Penurunan jumlah sel  $\beta$  dan menurunnya simpanan insulin dalam pankreas sebesar 60% (Ghasemi, *et al.*, 2014).
3. Intoleransi glukosa (Ghasemi, *et al.*, 2014).
4. Terdapat sekresi insulin yang distimulasi oleh glukosa (Ghasemi, *et al.*, 2014).
5. Berespon terhadap obat golongan *sulfonylurea* (glibenklamid) (Ghasemi, *et al.*, 2014).
6. Terjadi polifagi dan polidipsi (Ghasemi, *et al.*, 2014).

#### **2.1.4 Daun Kembang Bulan(*Thithonia diversifolia*)**

##### **2.1.4.1 Karakteristik dan kandungan daun kembang bulan**

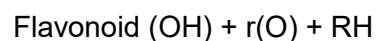
Kembang bulan adalah tumbuhan yang berasal dari *family Asteraceae*. Tumbuhan ini merupakan tumbuhan yang berperan penting untuk berbagai keluhan kesehatan dan sudah dikenal oleh masyarakat umum untuk keluhan yang luas seperti sakit perut, sakit tenggorokan dan penyakit hepar. Hal ini disebabkan oleh karena kembang bulan memiliki berbagai macam kandungan aktif (Kawlni *et al.*, 2017). Bagian dari tumbuhan kembang bulan yang memiliki kandungan komponen aktif paling tinggi dalam penelitian sebelumnya adalah bagian daun (Olayinka *et al.*, 2015). Salah satu kandungan aktif yang bermanfaat dari daun kembang bulan adalah komponen fenol (fenol total, tannin dan flavonoid) terutama flavonoid sebagai anti-oksidan yang akan melindungi sel dari efek peningkatan kadar ROS (Gama *et al.*, 2014).



Gambar 5. Daun *Tithonia diversifolia*

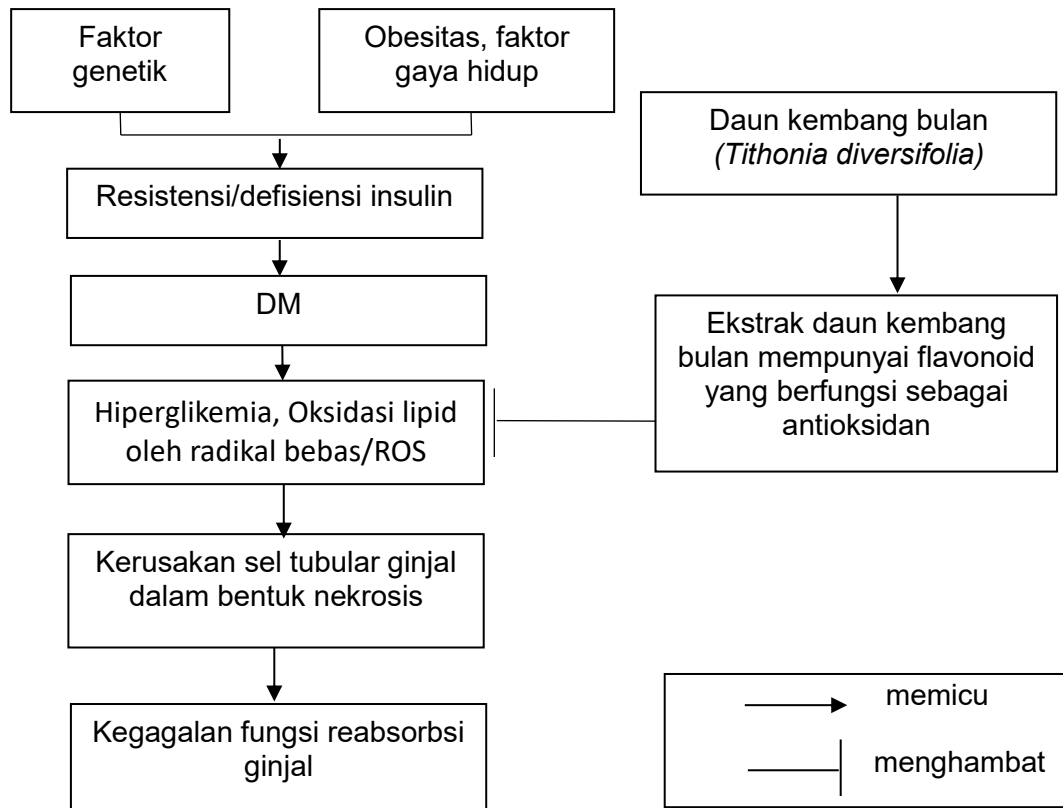
#### 2.1.4.2 Mekanisme anti oksidan komponen flavonoid

Flavonoid adalah kelompok senyawa fenolik tanaman yang tersebar hampir pada semua bagian tumbuhan. Flavonoid dapat mencegah dan melindungi sel dari proses peroksidasi lipid yang berkaitan erat dengan berbagai penyakit seperti aterosklerosis, diabetes, hepatotoksik dan inflamasi. Flavonoid didalam tubuh akan dioksidasi oleh radikal bebas membuat radikal bebas menjadi stabil dan kurang reaktif. Proses oksidasi tersebut dapat dijelaskan oleh persamaan berikut : (Panche *et al*, 2016)



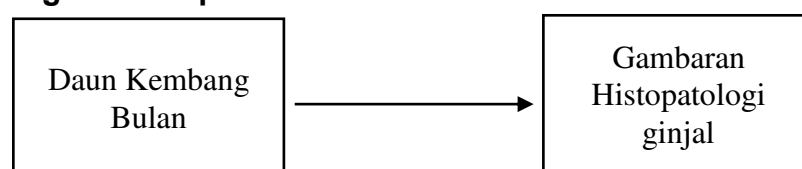
Radikal bebas adalah R dan oksigen radikal bebas adalah O. Mekanisme lain yang terlibat adalah menurunkan proses pembentukan ROS dengan menghambat enzim yang berperan, seperti *mikrosomal mono-oksigenase*, *glutathion-S-transferase*, *mitokondria suksinooksidase*, NADH oksidase dan lainnya (Panche *et al*, 2016).

## 2.2 Kerangka Teori



Gambar 6. Kerangka teori penelitian

## 2.3 Kerangka konsep



Gambar 7. Kerangka Konsep penelitian

## 2.4 Hipotesis

Berdasarkan latar belakang dan tinjauan pustaka yang telah diuraikan, maka dapat ditarik hipotesis dalam penelitian ini:

Ekstrak etanol daun kembang bulan (*Tithonia diversifolia*) efektif dalam menurunkan rasio jumlah sel tubulus ginjal yang rusak/nekrosis dibanding total sel tubulus ginjal pada gambaran histopatologi ginjal tikus wistar yang diinduksi diabetes melitus.

## BAB III. METODE PENELITIAN

### 3.1 Jenis dan Desain Penelitian

Penelitian ini adalah penelitian *true experimental* dengan desain penelitian *posttest only control group design* untuk memeriksa gambaran histopatologi parenkim ginjal tikus *galur wistar* yang diinduksi diabetes melitus setelah pemberian ekstrak etanol daun kembang bulan (*Tithonia diversifolia*).

### 3.2 Tempat dan Waktu Penelitian

Penelitian dilaksanakan pada bulan Maret-April 2020 di Laboratorium Fisiologi Universitas Islam Indonesia dan Laboratorium Histologi Fakultas Kedokteran Universitas Islam Indonesia.

### 3.3 Sampel

#### 3.3.1 Populasi

Populasi dalam penelitian ini adalah tikus jantan *galur wistar* yang didapat dari Laboratorium Hewan Coba Fakultas Kedokteran Universitas Islam Indonesia.

#### 3.3.2 Subyek Penelitian

Kriteria inklusi subyek yang digunakan dalam penelitian yaitu tikus *galur wistar* (*Rattus norvegicus*) jantan dengan berat 250-350 gram, usia 3-4 bulan, sehat tanpa kelainan morfologis dan tidak pernah digunakan untuk penelitian sebelumnya. Kriteria eksklusi subyek penelitian yaitu adanya perubahan perilaku pada tikus seperti tikus tampak tidak lincah, tidak aktif, lemah dan menurunnya kegiatan makan dan minum, mati saat penelitian berlangsung.

Sampel dikelompokkan berdasarkan metode *simple random sampling*. Sampel minimal yang digunakan pada setiap kelompok berjumlah 5 tikus dan jumlah keseluruhan subyek yang digunakan adalah 25 tikus. Jumlah sampel yang digunakan ditentukan dengan rumus Federer :

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

$$(3-1)(n-1) \geq 15$$

$$2(n-1) \geq 15$$

$$2n \geq 17$$

$$n \geq 8,5$$

$$n \geq 9$$

Keterangan :    n = besar sampel setiap kelompok t = jumlah kelompok
---

### 3.4 Identifikasi Variabel

#### 3.4.1 Variabel Bebas

Variabel bebas penelitian ini yaitu ekstrak daun kembang bulan (*Tithonia diversifolia*) yang sebelumnya didapatkan melalui proses maserasi dengan ekstrak etanol dalam dosis 0,05mg/grBB dan 0,25mg/grBB.

#### 3.4.2 Variabel Terikat

Variabel terikat penelitian ini yaitu gambaran histologis parenkim ginjal tikus *galur wistar* yang diinduksi diabetes melitus tipe 2 melalui proses pengamatan mikroskop setelah sebelumnya dilakukan pengecatan hematoksilin eosin (HE).

#### 3.4.3 Variabel Terkendali

Variabel terkontrol pada penelitian, yaitu :

- a. Tikus *galur wistar*, berat badan 120-300 gram dan usia 3-4 bulan
- b. Pakan standar laboratorium dan minum tikus berupa air mineral yang diberikan secara *ad libitum*
- c. Tempat dan cara pemeliharaan tikus
- d. Dosis streptozotosin
- e. Dosis metformin
- f. Larutan DMSO

### 3.5 Definisi Operasional

#### 3.5.1 Ekstrak daun kembang bulan

Ekstrak daun kembang bulan (*Tithonia diversifolia*) yang didapatkan melalui proses maserasi dengan ekstrak etanol dalam dosis 0,05mg/grBB, dan 0,25mg/grBB.

#### 3.5.2 Streptozotosin

Streptozotosin merupakan senyawa yang berasal dari *Streptomyces achromogenes* sebagai senyawa yang digunakan untuk induksi diabetes melitus dengan dosis 0,045mg/grBB sebagai dosis tunggal.

#### 3.5.3 Gambaran histologi parenkim ginjal

Gambaran histologis parenkim ginjal tikus *galur wistar* yang diinduksi diabetes melitus tipe 2 melalui proses pengamatan mikroskop setelah sebelumnya dilakukan pengecatan hematoksilin eosin (HE). Bagian yang diperhatikan dalam pengamatan histologis ini adalah jumlah Sel tubulus kontortus proksimal ginjal yang rusak, kemudian dibandingkan dengan jumlah

seluruh sel yang ada dalam satu lapang pandang tersebut. Penghitungan jumlah sel ini dilakukan pada perbesaran mikroskop 1000x, pada seluruh sampel penelitian dengan minimal sepuluh lapang pandang pada setiap preparat ginjal sampel penelitian. Kemudian nantinya akan dilakukan rata rata hasil proporsi sel rusak banding total sel pada seluruh lapang pandang(lapang pandang 1- lapang pandang 10).

### **3.6 Instrumen Penelitian**

#### **3.6.1 Ekstrak Daun Kembang Bulan**

Ekstrak daun kembang bulan diperoleh dari proses pembuatan ekstrak di Laboratorium Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Universitas Islam Indonesia.

#### **3.6.2 Perlakuan Hewan Coba**

Alat yang digunakan yaitu kandang tikus, timbangan tikus, sonde oral, APD berupa masker dan sarung tangan, gelas ukur, tempat makan dan minum tikus. Bahan yang digunakan yaitu makanan dan minum tikus sesuai standar laboratorium, streptozotosin, larutan akuades, ekstrak daun kembang bulan, metformin, hewan coba berupa tikus *galur wistar* jantan dengan berat badan 120-350 gram.

### **3.7 Alur Penelitian**

#### **3.7.1 Perawatan Hewan Coba**

Tikus *galur wistar* jantan dengan berat badan 120-350 gram dilakukan adaptasi terlebih dahulu selama 7 hari dalam kandang standar dan diletakan dalam suhu ruangan. Pemberian makan dan minum tikus sesuai dengan standar Laboratorium Fakultas Kedokteran Universitas Islam Indonesia yang diberikan secara *ad libitum*.

#### **3.7.2 Induksi Diabetes Melitus**

Induksi diabetes melitus pada tikus dilakukan melalui injeksi intraperitoneal streptozotosin dengan dosis 0,045mg/grBB. Setelah proses induksi maka kadar glukosa darah akan diukur dalam jangka waktu  $\pm$  48 jam. Tikus dikatakan mengalami hiperglikemia jika kadar glukosa darah didapatkan >126mg/dL.



### 3.7.3 Pemberian Ekstrak Daun Kembang Bulan

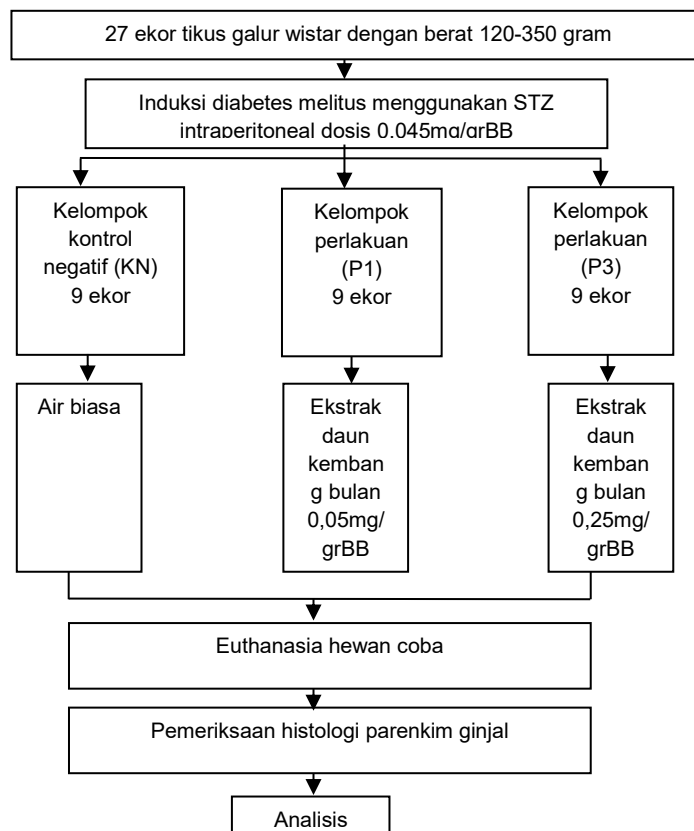
Ekstrak daun kembang bulan diberikan dengan cara sondasi satu kali per hari selama 7 hari dengan dosis sesuai dengan berat badan tikus. Ekstrak daun kembang bulan dilarutkan dalam cairan DMSO hingga mencapai konsentrasi yang diinginkan.

### 3.7.4 Eutanasia

Eutanasia dilakukan dengan pemberian eter inhalasi dosis tinggi dikarenakan memiliki efek kematian yang lebih cepat dan rasa sakit yang relatif minimal (Harms, C.A. , 2013).

### 3.7.5 Pemeriksaan Gambaran Histologi Parenkim Ginjal

Melihat ada tidaknya perbedaan signifikan kerusakan struktur parenkim ginjal dalam bentuk kongesti vaskular dan degenerasi jaringan ginjal pada semua kelompok tikus.



Gambar 8. Alur Penelitian

1. KN : tikus dengan induksi STZ dengan glukosa darah yang dinyatakan meningkat. Selama penelitian, tikus diberikan air biasa secara sondasi selama 7 hari. Setelah hari ke 7 maka gambaran histologis parenkim ginjal tikus akan diperiksa.
2. P1 : tikus dengan induksi STZ dengan glukosa darah yang dinyatakan meningkat. Selama penelitian, tikus diberikan ekstrak daun kembang bulan dengan dosis 0,05mg/grBB sekali sehari selama 7 hari melalui sondasi lambung. Setelah hari ke 7 maka gambaran histologis parenkim ginjal tikus akan diperiksa.
3. P3 : tikus dengan induksi STZ dengan glukosa darah yang dinyatakan meningkat. Selama penelitian, tikus diberikan ekstrak daun kembang bulan dengan dosis 0,25mg/grBB sekali sehari selama 7 hari melalui sondasi lambung. Setelah hari ke 7 maka gambaran histologis parenkim ginjal tikus akan diperiksa

### **3.8 Rencana Analisis Data**

Analisis data dilakukan menggunakan *software* SPSS. Data yang didapat dari jumlah sampel <50 akan dilakukan uji normalitas distribusi data terlebih dahulu melalui uji *Shapiro Wilk*. Apabila didapatkan hasil  $p > 0,05$  maka data yang didapat dikatakan terdistribusi normal. Data yang terdistribusi normal akan dilakukan uji hipotesis *One Way ANNOVA* dengan *post-hoc* LSD. Hasil dikatakan terdapat perbedaan yang signifikan jika didapat  $p < 0,05$  (Sastroasmoro dan Ismael, 2011).

### **3.9 Etika Penelitian**

Penelitian dilakukan jika telah disetujui dan mendapatkan izin oleh Komite Etik Fakultas Kedokteran Universitas Islam Indonesia. Permohonan izin *ethical clearance* dan proposal penelitian diajukan sebelum dimulainya proses penelitian. Sampel yang digunakan dalam penelitian ini merupakan tikus *galur wistar* yang dipelihara sesuai dengan standar. Proses euthanasia yang dilakukan menggunakan eter inhalasi dan bangkai tikus akan diolah melalui pihak ketiga.

## BAB IV. HASIL DAN PEMBAHASAN

### 4.1 Gambaran Penelitian

Penelitian dengan judul “Pengaruh Pemberian Ekstrak Daun Kembang Bulan (*Tithonia diversifolia*) Terhadap Gambaran Histologi Ginjal Tikus Wistar yang Diinduksi Diabetes Melitus dengan Streptozotocin telah mendapatkan persetujuan dari komite etik Fakultas Kedokteran Universitas Islam Indonesia dengan nomor 1/Ka.Kom.Et/70/KE/II/2020. Penelitian ini berlangsung selama 4 bulan yakni dari bulan April hingga Agustus 2020 dan menggunakan bahan biologi tersimpan dari tikus jantan galur wistar sebanyak 27 ekor.

Penelitian ini telah menggunakan subjek penelitian yang sesuai dengan seluruh kriteria inklusi dan eksklusi yang telah ditentukan sebelumnya. Adapun kriteria inklusi mencakup tikus jantan yang sehat dan tidak cacat, berumur 3-4 bulan dengan berat badan dalam *range* 250-350 gram yang dipelihara di laboratorium hewan coba FK UII. Penentuan keadaan sehat tikus dilakukan berdasar kondisi fisik tikus yang dapat dinilai seperti keadaan bulu yang bersih, tidak basah atau lengket, tikus yang bergerak aktif, makan, minum dan tidur sesuai siklus hidupnya. Sedangkan kriteria eksklusi pada subjek penelitian ini yaitu tikus yang sakit dan mati selama penelitian berlangsung. Tikus berjumlah 27 ekor yang kemudian dibagi menjadi 3 kelompok dengan *randomized sampling*, dimana masing-masing kelompok terdiri dari 9 ekor tikus yang dihitung berdasarkan rumus Federer :

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

$$(3-1)(n-1) \geq 15$$

$$2(n-1) \geq 15$$

$$2n \geq 17$$

$$n \geq 8,5$$

$$n \geq 9$$

Keterangan :    n = besar sampel setiap kelompok t = jumlah kelompok
---

Kelompok pertama (I) adalah kelompok kontrol negatif yang hanya diberikan perlakuan injeksi stroptozotocin dengan dosis tunggal 0,045mg/grBB intraperitoneal. Sedangkan kelompok kedua (II) dan ketiga (III) merupakan kelompok perlakuan 1 dan 3 yang masing-masing diberikan perlakuan injeksi

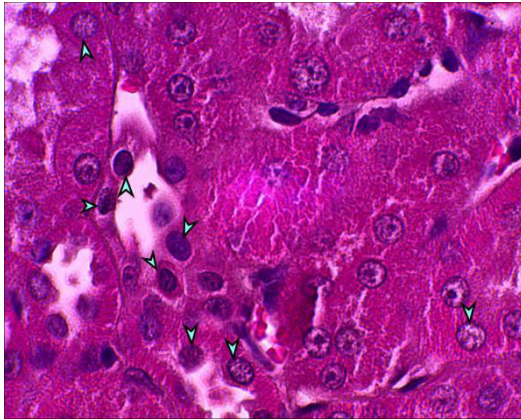
streptozotocin dan sondase ekstrak etanol daun kembang bulan (*Tithonia diversifolia*) dengan dosis secara berurutan 0,05mg/grBB dan 0,25mg/grBB selama 1 minggu. Ekstrak etanol daun kembang bulan ini dilarutkan dalam pelarut ekstrak DMSO hingga mencapai konsentrasi dosis per mililiter yang diinginkan. Seluruh sampel tikus pada setiap kelompok di-*euthanasia* pada hari ke-8 dan dilakukan pengambilan organ ginjal untuk dilakukan pembuatan preparat histologi organ ginjal. Pengamatan preparat histologi dilakukan di Laboratorium Riset FK UII dengan menggunakan mikroskop cahaya dan optilab untuk pengambilan gambar preparat. Setiap sampel preparat diambil pada pebesaran 40x, 100x, 400x, dan 1000x. Pada perbesaran 1000x, diambil gambaran lapang pandang sebanyak 10 gambar, hal ini dilakukan dengan tujuan untuk penghitungan sel tubulus ginjal. Perhitungan jumlah sel rusak (nekrosis) dan seluruh sel tubulus ginjal dalam satu lapang pandang dilakukan dengan menggunakan aplikasi ImageJ. Hasil dari perhitungan sel rusak ini akan dibandingkan dengan seluruh/total sel yang terdapat dalam satu lapang pandang tersebut. Dari proses perhitungan tersebut akan dilakukan rerata hasil rasio tiap lapang pandang sampel dan didapatkan hasil rerata rasio sel rusak:total sel tiap tiap sampel preparat. Gambar dengan perbesaran 40x, 100x, dan 400x hanya diambil satu kali pada tiap-tiap sampel preparat. Hal ini dilakukan dengan tujuan melihat dan menilai adakah tanda kerusakan yang dapat dilihat dari perbesaran kecil hingga besar seperti ada tidaknya area nekrosis, sebaran sel radang, area degenerasi, vakuolisasi jaringan tubulus, dan perdarahan jaringan/kongesti vaskular.

## **4.2 Hasil Penelitian**

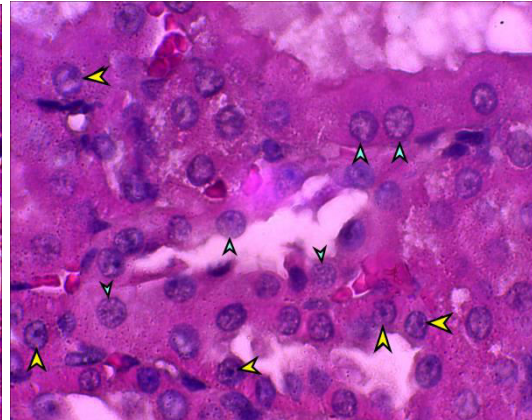
### **4.2.1 Hasil Pengamatan Perbesaran 1000x**

Pada perbesaran 1000x, dapat dinilai bentuk kerusakan sel tubulus ginjal yang diidentifikasi dari warna sitoplasma dan bentuk inti sel tubulus. Setiap sel rusak ini akan dihitung dan dibandingkan dengan jumlah seluruh sel yang ada dalam satu lapang pandang. Setelah dari seluruh lapang pandang didapatkan nilai rasio sel rusak : total sel, maka seluruh nilai rasio tersebut akan di rata-rata dan dijadikan nilai rasio utama dari satu sampel gambaran histologi tikus percobaan. Penilaian kerusakan sel dilihat dari bentuk nekrosis yang dapat terjadi baik dalam

bentuk kariolisis, karioreksis, maupun piknosis. Ketika nekrosis tersebut terjadi pada sl tubulus ginjal, maka sitoplasma sel tersebut akan menjadi merah, dan intisel akan menjadi keruh dan berwarna ungu pekat.

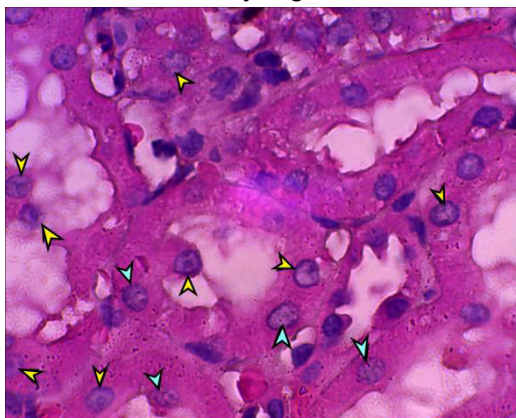


Gambar 9. KN1\_lp1-1000x

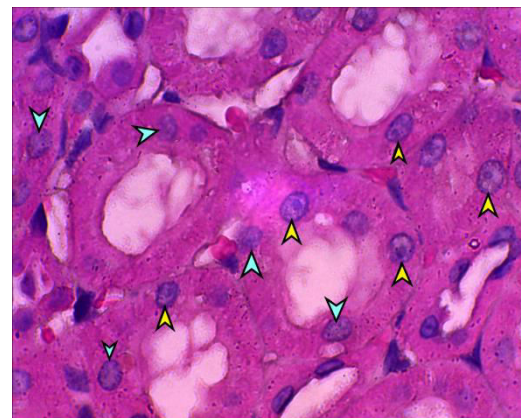


Gambar 10. P1.7\_lp8-1000x

Gambaran Histologi ginjal tikus KN1 lapang pandang 1 dan P1.7 lapang pandang 8 pada perbesaran 1000x ; sel tubulus yang mengalami nekrosis, ditunjukkan dengan panah biru muda, sedangkan sel normal yang ditunjuk dengan panah kuning. Dapat dilihat inti sel berwarna keruh yang menandakan terjadinya kerusakan kromatin dan DNA dalam nukleus, nukleolus juga akan melebur hingga tidak terlihat lagi dalam nukleus. Sementara sitoplasma sel tubulus yang rusak dan tidak rusak sulit untuk dibedakan dikarenakan keterbatasan alat yang tidak dapat membedakan dinding sel tubulus dengan baik. Sel normal yang tidak mengalami nekrosis dapat dilihat dengan ciri nukleolus yang masih terlihat utuh, bulat, dan nukleus yang tidak keruh.



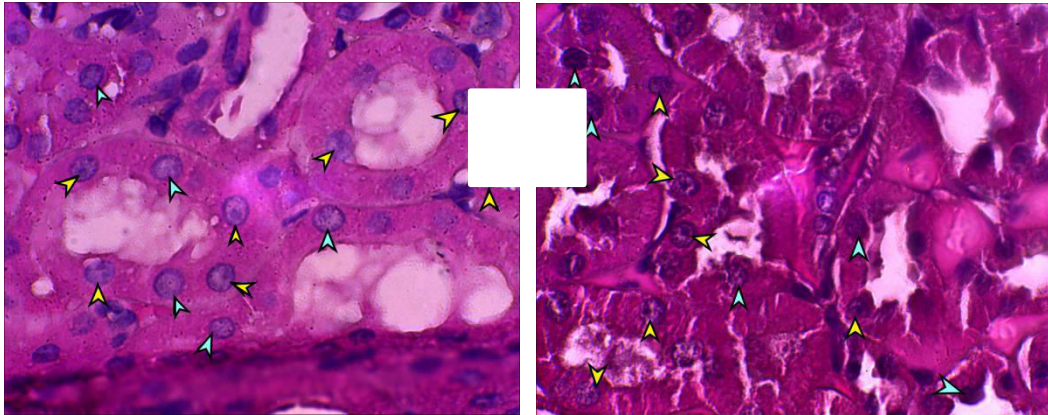
Gambar 11. P1.5\_lp2-1000x



Gambar 12. P3.4\_lp5-1000x

Gambaran Histologi ginjal tikus P1.5 lapang pandang 2 dan P3.4 lapang

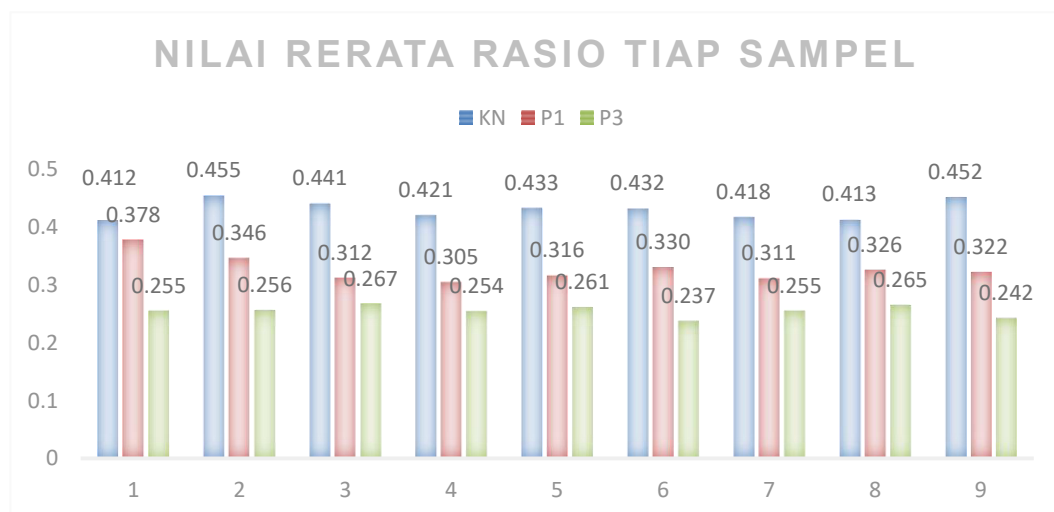
pandang 5 pada perbesaran 1000x ; dapat dilihat sel tubulus yang mengalami nekrosis, ditunjukkan dengan panah biru muda, sementara contoh sel normal ditunjuk oleh panah kuning.



Gambar 13. KN.9\_lp2-1000x

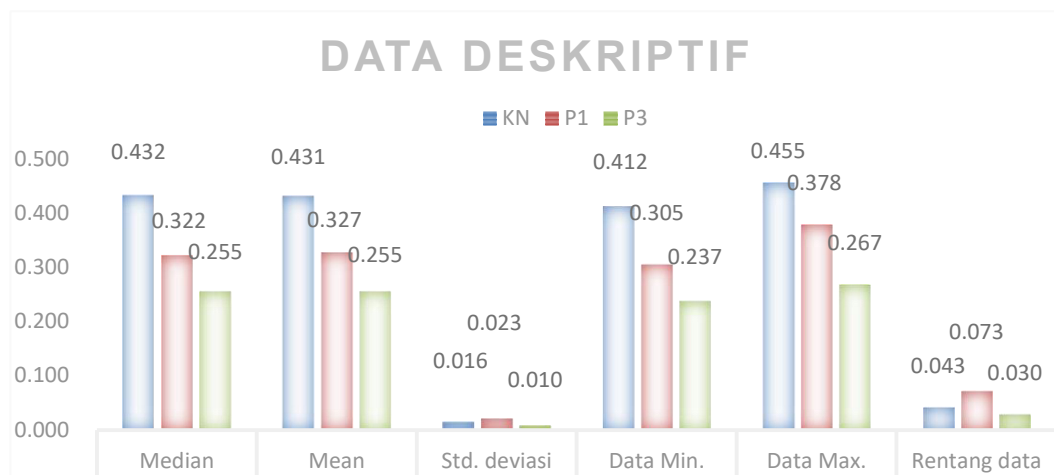
Gambar 14. P3.9\_lp6-1000x

Gambaran Histologi ginjal tikus KN.9 lapang pandang 2 dan P3.9 lapang pandang 6 pada perbesaran 1000x ; dapat dilihat sel tubulus yang mengalami nekrosis, ditunjukkan dengan panah biru muda, sementara contoh sel normal ditunjuk oleh panah kuning. Setelah seluruh foto lapang pandang preparat didapatkan, maka dilakukan penghitungan jumlah sel nekrosis dan sel total dalam tiap lapang pandang yang nantinya akan dijadikan rasio lapang pandang dan rasio rata-rata sampel.



Gambar 15. Nilai rasio rata-rata sampel

Grafik tersebut merupakan data rasio rata-rata dari seluruh sampel penelitian, yakni kelompok KN, P1, dan P3 dari nomor sampel 1-9. Dapat dilihat sekilas bahwa seluruh sampel dari kelompok KN memiliki nilai rasio sel nekrosis : total sel yang paling tinggi, sementara sampel P3 memiliki nilai rasio rata-rata yang paling kecil dari semua kelompok. Setelah didapatkan nilai rata-rata rasio dari seluruh sampel, maka dilakukan analisis statistik dengan menggunakan *software* SPSS.



Gambar 16. Data deskriptif kelompok perlakuan

Tabel 2. Hasil uji statistik penelitian

	KN	P1	P3
Saphiro wilk		0,379	0,071
Levene			0,192
One way ANOVA			0,000

Setelah didapatkan hasil nilai rasio utama dari masing masing sampel Histologi tiap kelompok, maka dilakukan uji normalitas data terlebih dahulu. Uji normalitas yang akan dipakai adalah uji Saphiro Wilk dikarenakan jumlah total sampel yang dipakai dalam penelitian ini kurang dari 50 sampel, yakni hanya berjumlah 27 sampel Histologs dari seluruh kelompok perlakuan. Uji normalitas Saphiro Wilk bermakna normal/distribusi data yang normal apabila signifikansi / nilai  $P \geq 0,05$ . Dari hasil uji normalitas, didapatkan nilai Sig/P pada masing-masing kelompok  $\geq 0,05$  yang artinya data dari setiap kelompok terdistribusi normal.

Setelah didapatkan hasil uji normalitas data yang normal, maka dilakukan uji homogenitas data dengan Levene statistic test. Data dapat dikatakan homogen apabila nilai Sig./P  $\geq 0,05$ . Dari hasil homogenitas, didapatkan nilai Sig/P  $\geq 0,05$  yang artinya variansi data dari setiap kelompok penelitian ini homogen.

Setelah dilakukan uji homogenitas data, dilakukan uji Statistik numerik One-way Anova, yakni uji komparatif yang digunakan untuk menguji perbedaan mean (rata-rata) antar kelompok perlakuan penelitian. Uji One-way Anova dipakai dikarenakan kelompok penelitian berjumlah lebih dari dua kelompok. Hasil uji ini dikatakan berbeda secara signifikan apabila hasil Sig./P  $\leq 0,05$ . Uji Anova pada ketiga kelompok penelitian ini menunjukkan hasil yang signifikan ( $P \leq 0,000$ ) sehingga dapat dikatakan ada perbedaan rata-rata yang signifikan pada dua atau lebih kelompok perlakuan.

Setelah mengetahui adanya perbedaan rata rata/*mean* yang signifikan pada dua kelompok atau lebih perlakuan , maka dilakukan uji *Multiple comparison* / Uji Post Hoc untuk mengetahui kelompok perlakuan manakah yang memiliki perbedaan bermakna/signifikan dibanding dengan kelompok perlakuan/kontrol lainnya. Uji Post Hoc yang dipilih adalah Uji Post Hoc LSD. Uji ini dikatakan signifikan apabila nilai Sig./P  $\leq 0,05$  , kemudian untuk melihat kelompok manakah yang memiliki hasil yang paling berbeda/signifikan, dapat dilihat di bagian *Mean Difference*. Nilai *Mean Difference* yang paling besar menandakan bahwa kelompok tersebut memiliki perbedaan/signifikansi yang paling besar. Pada uji Post Hoc LSD ini didapatkan hasil  $P \leq 0,05$  dan *Mean Difference* paling besar pada uji antara kelompok KN dan P3 yang berarti kelompok P3 memiliki perbedaan/pengaruh paling berbeda dibanding kelompok lainnya.



Tabel 3. Uji *Post-Hoc*

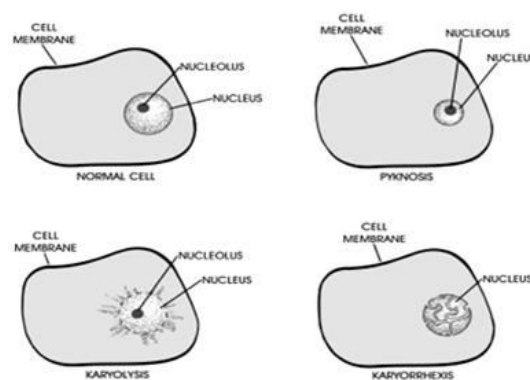
Kelompok (I)	Kelompok (J)	Mean Difference (I-J)	Std. Error	Sig.
LSD KN	P1	0.103444	0.008011	0.000
	P3	0.176111	0.008011	0.000
P1	KN	(-)0.103444	0.008011	0.000
	P3	0.072667	0.008011	0.000
P3	KN	(-)0.176111	0.008011	0.000
	P1	(-)0.072667	0.008011	0.000

### 4.3 Pembahasan

Penelitian ini meneliti tentang efek pemberian ekstrak Daun Kembang Bulan yang memiliki zat flavonoid yang bersifat anti radikal bebas(ROS) pada tikus yang diinduksi Diabetes Melitus dengan injeksi Streptozotocin. Gambaran Histologi kerusakan tubulus ginjal tikus pada penelitian ini sesuai dengan beberapa teori yang telah dibahas di bab sebelumnya (tinjauan pustaka). Perjalanan perubahan struktur histologis ginjal tikus ini terjadi dikarenakan berbagai mekanisme akibat hiperglikemia yang terjadi karena induksi Diabetes melitus.

Perubahan histologi ginjal yang dilihat pada penelitian ini adalah munculnya keadaan atau gambaran nekrosis sel tubulus yang terjadi. Sitoplasma dari sel yang mengalami nekrosa akan terlihat lebih merah (Asidofilik). Hal ini dikarenakan terjadinya denaturasi protein sitoplasma dan kerusakan pada ribosom, dimana pada kondisi norma ribosom merupakan organel sel yang bertanggung jawab pada warna basofilik sel (biru). Perubahan morfologi sel ini paling jelas terlihat pada bagian nukleus sel dimana nukleus dapat mengalami piknosis, kariolisis, ataupun karioreksis. Apabila sel mengalami piknosis, maka nukleus/inti sel akan menjadi lebih gelap/hitam, mengecil dan lebih bundar. Hal ini disebabkan oleh pengendapan kromatin dalam nukleus yang memadat sehingga nukleus mengecil dan menghitam/ bertambah gelap. Kemudian, apabila inti sel mengalami karioreksis, maka nukleus akan hancur dan

mengalami fragmentasi sehingga kromatin dari dalam nukleus akan tersebar dalam sitoplasma. Bentuk terakhir yang dapat terlihat adalah keadaan kariolisis dimana intisel/nukleus telah sepenuhnya lisis sehingga nukleus terlihat benar-benar telah hilang dari dalam sel (Seely, 2018).



Gambar 17. Piknosis, karioreksis, dan kariolisis

Nekrosis yang ditemukan pada penelitian ini merupakan salah satu contoh ATN (*Acute Tubule Necrosis*) yang terjadi pada sel tubulus tikus yang diinduksi Diabetes Melitus. ATN merupakan salah satu bentuk lesi yang paling sering dijumpai pada kasus toksisitas ginjal yang disebabkan oleh iskemia tubulus, injuri sekunder tubulus, dan keracunan zat kimia. ATN memiliki karakteristik spektrum perubahan morfologi/histologi ginjal yang bermacam-macam mulai dari peningkatan atau penurunan eosinofilia sitoplasma, pembengkakan sitoplasma, hilangnya *brush border* dan *blebbing* membran sel apikal, fragmentasi inti, dan peluruhan sel nekrotik ke dalam tubulus lumen. Adanya marginasi sel inflamasi akut di pembuluh darah adalah bukti lebih lanjut dari nekrosis tubulus. Jika derajat nekrosis telah melibatkan jumlah sel lapisan epi thelial yang cukup banyak, maka dapat ditemukan gambaran granular dari debris seluler dapat terlihat (Seely, 2018).

Pada awalnya hiperglikemia menyebabkan terjadinya peningkatan ekspresi GLUT-1 pada sel mesangial dan glomerulus ginjal sehingga terjadi peningkatan ambilan glukosa. Beberapa jalur yang telah teridentifikasi menjadi aktif akibat peningkatan ambilan glukosa antara lain: AGEs (*Advance Glicosylated End-products*), jalur polioliol, *Renin Angiotensin System* (RAS), dan stress oksidatif yang akan mengaktifkan jalur PKC (Protein Kinase C) (Kanwar, 2012).

Hiperglikemia akan menyebabkan peningkatan produk glikosilasi dengan proses non enzimatis yang disebut AGEs (*Advanced Glycosylation End Products*). Proses ini dapat berlangsung di intraseluler dan ekstraseluler. AGEs intraseluler akan mengaktifkan PKC, *Mitogen-Activated Protein Kinase* (MAPK), serta *nuclear factor kappa B* (NF- $\kappa$ B). Aktivasi ketiga zat ini akan meningkatkan ekspresi *transforming growth factor  $\beta$*  (TGF- $\beta$ ) pada sel mesangial dan sel endotel glomerulus (Kanwar, 2012). TGF- $\beta$  memainkan peran penting dalam terjadinya glomerulosklerosis dan fibrosis tubulointerstisial dengan menstimulasi sintesis matriks ekstraseluler kolagen tipe I, III, IV dan fibronektin serta menghambat degenerasi matriks ekstraseluler melalui hambatan matriks metaloproteinase (Ziyadeh, 2004). AGEs di ekstraseluler dapat berikatan dengan reseptornya yaitu RAGEs (*Receptor for Advanced Glycosylation End Products*), yang terletak pada membran sel endotel dan sel mesangial (Brownlee, 2005). Ikatan AGEs dengan RAGE akan menyebabkan peningkatan pembentukan radikal bebas dan penipisan sistem antioksidan seluler seperti *glutathion peroksidase* (Goldin *et al.*, 2006). Hal tersebut selanjutnya menimbulkan peradangan pembuluh darah, trombogenesis dan merangsang produksi faktor pertumbuhan prosklerotik seperti *Transforming Growth Factor  $\beta$*  - (TGF- $\beta$ ) dan *Connective Tissue Growth Factor* (CTGF) melalui MAPK, NF- $\kappa$ B dan / atau jalur protein kinase C (PKC) di kedua mesangial dan sel tubulointerstisial ginjal (Fukami *et al.*, 2008).

Hiperglikemia juga akan mengaktifkan jalur poliol. Jalur poliol terjadi melalui dua reaksi, yaitu reduksi glukosa menjadi sorbitol dan oksidasi sorbitol menjadi fruktosa. Reduksi glukosa menjadi sorbitol diperantarai oleh enzim aldosa reduktase dan kofaktor NADPH. Oksidasi sorbitol menjadi fruktosa diperantarai oleh enzim sorbitol dehidrogenase dan kofaktor NAD<sup>+</sup> (Ohshiro, 2005). Aktifnya jalur poliol ditandai dengan peningkatan aldosa reduktase (AR) pada korteks ginjal tikus dengan DM (Lanaspa *et al.*, 2014).

Dalam keadaan normal, konsentrasi sorbitol di dalam sel rendah. Akan tetapi, apabila terjadi keadaan hiperglikemia, konsentrasi sorbitol meningkat. Degradasi sorbitol ini berjalan lambat sehingga sorbitol menumpuk dalam sel, sehingga dapat menyebabkan peningkatan tekanan osmotik dan selanjutnya dapat merusak sel tubulus proksimal dan mengalami nekrosis sel (Schrijvers 2004).

Fruktosa (secara endogen) juga dihasilkan melalui jalur poliol. Sebuah penelitian menyatakan bahwa produksi fruktosa endogen atau fruktoneogenesis pada tikus DM di tubulus proksimal dapat menyebabkan kerusakan ginjal dengan ciri inflamasi dan disfungsi tubulointerstisial. Hal tersebut disebabkan oleh metabolisme fruktosa endogen oleh fruktokinase-ketoheksokinase (KHK) (Lanaspa *et al.*, 2014).

Hiperglikemia pada DM juga dapat memicu peningkatan *reactive oxygen species* (ROS). Stress oksidatif merupakan keadaan penurunan fungsi enzim-enzim antioksidan karena produksi ROS yang berlebihan. Kadar ROS yang berlebihan menstimulasi pengeluaran sitokin pro inflamasi. Sitokin pro inflamasi tersebut adalah IL-1, IL-6, IL-8, *tumor necrosis factor- $\alpha$*  (TNF- $\alpha$ ), NF $\kappa$ B, MCP-1, *cellular adhesion molecules* (CAMs), nitric oxide (NO), peroksinitrit (ONOO-), CTGF, dan TGF- $\beta$  yang mengakibatkan kerusakan struktural dan fungsional ginjal (Elmarakby & Sullivan 2010).

Pemberian ekstrak Daun Kembang Bulan (*Tithonia diversifolia*), khususnya dengan dosis 0,05mg/grBB dan 0,25mg/grBB selama 7 hari pada tikus yang diinduksi diabetes melitus, telah terbukti dapat menurunkan kadar gula darah tikus. Uji farmakognosi pada ekstrak daun Kembang Bulan menunjukkan adanya kandungan zat flavonoid, alkaloid, saponin, dan polifenol. Flavonoid merupakan senyawa polifenolik yang memiliki karakteristik dan sifat anti-oksidatif dan juga dapat memodulasi sekresi insulin pankreas sehingga dapat menimbulkan efek hipoglikemik (Miura, 2003., Thongsom, 2013).

Efek hipoglikemik yang ditimbulkan dari ekstrak daun Kembang bulan ini juga didukung oleh hasil penghitungan kadar MDA (malondyaldehyde) yang merupakan senyawa hasil/produk peroksidasi lipid penanda adanya aktifitas oksidatif yang terjadi pada sampel penelitian. Kadar MDA pada kelompok tikus uji coba terbukti lebih rendah daripada kelompok kontrol. Hal ini menandakan bahwa efek hipoglikemik dari ekstrak daun Kembang Bulan ini juga memiliki efek penghambat rantai peroksidasi lipid pada jaringan vaskular tikus kelompok perlakuan (Thongsom, 2013., Claudia, 2015).

Efek hipoglikemik dari ekstrak daun Kembang Bulan terjadi karena adanya mekanisme perbaikan sensitivitas insulin pada jaringan dan mekanisme aktivitas agonis pada reseptor PPAR-gamma (*Peroxisome Proliferator activated*

*Receptor-gamma*) yang dilakukan oleh salah satu kandungan ekstrak daun Kembang Bulan, yakni zat zat derivat terpenoid (Lin H, 2012., Olukunle, 2016).

Tabel 4. Hasil Uji Farmakognosi ekstrak etanol daun Kembang Bulan (*Tithonia diversifolia*) (Fitriyanto, 2020).

<b>Compound Identification</b>	<b>Result</b>
Flavonoid	+
Alkaloid	+
Saponin	+
Polyphenol	+
Terpenoid	-

## **BAB V. KESIMPULAN DAN SARAN**

### **5.1 Kesimpulan**

Berdasarkan hasil penelitian dan pembahasan yang telah dilakukan, maka dapat ditarik beberapa kesimpulan bahwa :

1. Pemberian ekstrak daun Kembang Bulan (*Tithonia diversifolia*) dengan dosis 0,05mg/grBB dan 0,25mg/grBB berpengaruh pada gambaran histologi ginjal tikus galur wistar (*Rattus norvegicus*) yang diinduksi diabetes melitus dengan streptozotocin.

2. Pemberian ekstrak Daun Kembang Bulan (*Tithonia diversifolia*) dengan dosis 0,25mg/grBB menunjukkan penurunan kerusakan gambaran histologi ginjal tikus wistar yang paling besar .

### **5.2 Saran**

Berdasarkan hasil penelitian dan pembahasan yang telah dilakukan, maka penulis memberikan beberapa saran untuk penelitian selanjutnya sebagai berikut :

1. Perlu dilakukan penelitian lebih lanjut yang membahas efek pemberian ekstrak daun Kembang Bulan pada ginjal tikus yang diinduksi diabetes melitus dengan variabel penelitian yang lain seperti perubahan fungsi ginjal atau perubahan struktur histologis lain seperti glomeruloskleritis dan sebagainya.

2. Perlu dilakukan penelitian lebih lanjut dengan menggunakan dosis perlakuan dan pemberian ekstrak daun Kembang Bulan yang lebih bervariasi untuk mendapatkan hasil yang paling akurat.

3. Perlu dilakukan penelitian lebih lanjut dengan menggunakan jumlah sampel yang lebih banyak untuk mendapatkan hasil penelitian yang lebih akurat.

## DAFTAR PUSTAKA

- American Diabetes Association. Nephropathy in Diabetes. *Diabetes Care* 2004;27(1):S79-S85.
- American Diabetes Association. (2014) 'Diagnosis and Classification of Diabetes Mellitus', 37(January), pp. 81–90. doi: 10.2337/dc14-S081.
- Asmat, U., Abad, K., & Ismail, K. (2016). Diabetes mellitus and oxidative stress—A concise review. *Saudi Pharmaceutical Journal*, 24(5), 547–553. doi:10.1016/j.jsps.2015.03.013
- Banjarnahor, S. D. S., & Artanti, N. (2015). *Antioxidant properties of flavonoids. Medical Journal of Indonesia*, 239. doi:10.13181/mji.v23i4.1015
- Brownlee, M. 2005. The Pathobiology of Diabetic Complications a Unifying Mechanism. *Diabetes*. 54: 1615–1625
- Claudia Di Giacomo, Luca Vanella, Valeria Sorrenti, Rosa Santangelo, Ignazio Barbagallo, Giovanna Calabrese, Carlo Genovese, Silvana Mastrojeni, Salvatore Ragusa RA. Effects of Tithonia diversifolia (Hemsl.) A. Gray extract on edipocyte differentiation of human mesenchymal stem cells. *Plos One*. 2015;
- Dean J. Organising care for people with diabetes and renal disease. *J Ren Care* 2012; 38 Suppl 1: 23–9; DOI: <http://dx.doi.org/10.1111/j.1755-6686.2012.00272.x>.
- Eliana, F. 2015. "Penatalaksanaan DM sesuai konsensus perkeni 2015". <http://www.pdui-pusat.com/wp-content/uploads/2015/12/SATELITSIMPOSIUM-6.1-DM-UPDATE-DAN-Hb1C-OLEH-DR.-Dr.-FatimahEliana-SpPD-KEMD.pdf>. Akses 14 jan 2017
- Elmarakby, A. A. dan J. C. Sullivan. 2010. Relationship Between Oxidative Stress and Inflammatory Cytokines. *Cardiovascular Therapeutics*. 00. 1–11.
- Fakhrudin, Alanazi W, Jackson KE. Diabetes-Induced Reactive Oxygen Species: Mechanism of Their Generation and Role in Renal Injury. *Journal of Diabetes Research* 2017; DOI: <http://dx.doi.org/10.1155/2017/8379327>.
- Fioretto, Mauer M. 2007. Histopathology Of Diabetic Nephropathy. *Semin Nephrol* 2007; 27(2):195–207.
- Fitriyanto, R. E., Sugiarto, S. and Ardiyanto, D. T. (2020) 'Effects of methanol extractsof insulin leaves (Tithonia diversifolia (hemsl.) A. Gray) on insulin resistance and secretion of alloxan induced-obese diabetic rats', *Jurnal*

- Kedokteran dan Kesehatan Indonesia*, 11(2), pp. 180–190. doi: 10.20885/jkki.vol11.iss2.art11.
- Fukami, K., S. Yamagishi, S. Ueda, dan S. Okuda. 2008. Role of AGEs in Diabetic Nephropathy. *Current Pharmaceutical Design*. 14: 946-952.
- Gama, R. M. da *et al.* (2014) 'Phytochemical screening and antioxidant activity of ethanol extract of *Tithonia diversifolia* (Hemsl) A. Gray dry flowers', *Asian Pacific Journal of Tropical Biomedicine*, 4(9), pp. 740–742. doi: 10.12980/APJTB.4.2014APJTB-2014-0055.
- Ghasemi, A., Khalifi, S., & Jedi, S. (2014). *Streptozotocin-nicotinamide-induced rat model of type 2 diabetes (review)*. *Acta Physiologica Hungarica*, 101(4), 408–420. doi:10.1556/aphysiol.101.2014.4.2
- Goldin, Alison., Beckman, A. Joshua, Schmidt, A. Marie, Creager. dan A. Mark. 2006. Advanced Glycation End Products sparking the development of diabetic vascular injury. <http://circ.ahajournals.org/content/114/6/597.full>. [Diakses pada 6 Desember 2015]
- Harms, C. A. (2013) *AVMA Guidelines for the Euthanasia of Animals : 2013 Edition ACZM Job Analysis – Task Elements*.
- International Diabetes Federation (IDF), 2015, IDF Diabetes Atlas 87h Edition 2017, URL : <http://www.idf.org> [di akses tanggal 28 Agustus 2019]
- Kanwar, Y. S., J. Wada, L. Sun, P. Xie, dan W. Elisabeth. 2012. Diabetic Nephropathy: Mechanisms of Renal Disease Progression. *Experimental and Biology Medicine*. 233: 4-11.
- Kawlani, L., Bora, M. (2017) 'Pharmacological Profile of *Tithonia diversifolia* ( Hemsl .) A . Gray : A Comprehensive Review', 2(September), pp. 183–187.
- Kimoto K, Suzuki K, Kizaki T, Hitomi Y, Ishida H, Katsuta H, *et al.* Gliclazide protects pancreatic  $\beta$ -cells from damage by hydrogen peroxide. *Biochem Biophys Res Commun* 2003; 303:112-119.
- Lanaspa, M. A., T. Ishimoto, C. Cicerchi, Y. Tamura, C. A. Roncal-Jimenez, W. Chen, K. Tanabe, A. Andres-Hernando, D. J. Orlicky, E. Finol, S. Inaba, N. Li, C. J. Rivard, T. Kosugi, L. G. Sanchez-Lozada, J. M. Petrush, Y. Y. Sautin, A. A. Ejaz, W. Kitagawa, G. E. Garcia, D. T. Bonthron, A. Asipu, C.P. Diggie, B. Rodriguez-Iturbe, T. Nakagawa, dan R. J. Johnson. 2014. Endogenous fructose production and fructokinase activation mediate renal injury in diabetic nephropathy. *Journal of The American Society Nephrology*. 25: 2526–2538.
- Lin H. Sesquiterpene lactones from *Tithonia diversifolia* act as peroxisome proliferator-activated receptor agonists. *Bioorganic & Medical Chemistry Letters*. 2012;22:2954–8.



- Mabou Tagne, A., Marino, F., & Cosentino, M. (2018). *Tithonia diversifolia (Hemsl.) A. Gray as a medicinal plant: A comprehensive review of its ethnopharmacology, phytochemistry, pharmacotoxicology and clinical relevance. Journal of Ethnopharmacology, 220, 94–116.* doi:10.1016/j.jep.2018.03.025
- Medika, M. and Fidianingsih, I. (2011) 'Pengaruh Suspensi Bubuk Kedelai Kuning terhadap Struktur Histologik Ginjal Tikus Diabetik Diinduksi Streptozotocin The Effects of Yellow Soybean Powder Suspended on Histological Structure of The Kidney in Streptozotocin-Induced Diabetic Rats', 11(2), pp. 79–87.
- Miura T, Nosaka K, Ishii H, Ishida T. The herb *Tithonia diversifolia*, in KK-Ay diabetic mice. *biological and Pharmaceutical Bulletin Journal.* 2003;28:2152–4.
- Nam Han Cho. (2017) *Eighth edition 2017, IDF Diabetes Atlas, 8th edition.* doi: [http://dx.doi.org/10.1016/S0140-6736\(16\)31679-8](http://dx.doi.org/10.1016/S0140-6736(16)31679-8).
- Ohshiro, Y., L. Lee, dan G. L. King. 2005. Mechanism of Diabetic Nephropathy : Role of Protein Kinase-C Activation. *Advanced Studies in Medicine.* 5(1A): 5-19.
- Olayinka, B. U., Raiyemo, D. A. and Etereje, E. O. (2015) 'Phytochemical and proximate Compositon of *Tithonia diversifoila ( Hemsl .)* PHYTOCHEMICAL AND PROXIMATE COMPOSITION OF *Tithonia diversifolia ( Hemls .)* A . Gray , a perennial broad-leaved weed species reported ornamental plant ( Akobundu and Agyakwa , Sc', *Annals Food Science and Technology*, 16(1).
- Olukunle JO, Okediran BS, Sogebi EA, Jacobs EB. Hypoglycaemic and hypolipidaemic effects of the aqueous leaf ekstrak of *tithonia diversifolia*. *Annual Research and Review in Biology.* 2016;4:2656–62.
- Ozougwu, J., Obimba, K., Belonwu, C., and Unakalamba, C. The pathogenesis and pathophysiology of type 1 and type 2 diabetes mellitus. *Journal of Physiology and Pathofisiology.* 2013 Sep 4 (4): 46-57.
- Panche, A. N., Diwan, A. D. and Chandra, S. R. (2016) 'Flavonoids: An overview', *Journal of Nutritional Science*, 5. doi: 10.1017/jns.2016.41.
- Prasanna Kumar, K. (2015). *Incidence trends for childhood type 1 diabetes in India. Indian Journal of Endocrinology and Metabolism, 19(7), 34.* doi:10.4103/2230-8210.155378
- Sastroasmoro, S dan Ismael, S. 2011. *Dasar-dasar Metodologi Penelitian Klinis.* Binarupa Aksara : Jakarta.

- Schrijvers, B. F., A. S. de Vriese, dan A. Flyvbjerg. 2004. From Hyperglycemia to Diabetic Kidney Disease: The Role of Metabolic, Hemodynamic, Intracellular Factors and Growth factors/Cytokines Endocrine. *Reviews*. 25(6): 971–1010.
- SD. Mathebula. *et al.* (2014) 'Polyol pathway : A possible mechanism of diabetes complications in the eye The polyol pathway', pp. 1–5. doi: 10.4102/aveh.v74i1.13.
- Seely, J. C., Hard, G. C. and Blankenship, B. (2018) *Chapter 11. Kidney, Boorman's Pathology of the Rat*. Elsevier Inc. doi: 10.1016/B978-0-12-391448-4.00011-3.
- Shiju, T. M., Rajesh, N. G. and Viswanathan, P. (2013) 'Renoprotective effect of aged garlic extract in streptozotocin-induced diabetic rats', *Indian Journal of Pharmacology*, 45(1), pp. 18–23. doi: 10.4103/0253-7613.106429.
- Shrestha, A., Karmacharya, B. M., Khudyakov, P., Weber, M. B., & Spiegelman, D. (2018). Dietary interventions to prevent and manage diabetes in worksite settings: a meta-analysis. *Journal of Occupational Health*, 60(1), 31–45. doi:10.1539/joh.17-0121-ra
- Singgih B, Jim E, Pandelaki K. 2003. Pola Komplikasi Kronik Diabetes Mellitus Tipe II pada Lansia Di RSUP Manado. *Cermin Dunia Kedokteran*; 2003;140:5-7
- Sudoyo A W, Setyohadi B, Alwi I dkk. Buku Ajar Ilmu Penyakit Dalam. Jilid III Edisi V. Jakarta: Interna Publishing Pusat Penerbitan Ilmu Penyakit Dalam. 2009 ; 2773-2779
- Thongsom, M. *et al.* (2013) 'Antioxidant and Hypoglycemic Effects of *Tithonia diversifolia* Aqueous Leaves Extract', 7(9), pp. 2116–2125.
- Zaccardi, F., Webb, D. R., Yates, T., & Davies, M. J. (2015). *Pathophysiology of type 1 and type 2 diabetes mellitus: a 90-year perspective. Postgraduate Medical Journal*, 92(1084), 63–69. doi:10.1136/postgradmedj-2015-133281
- Ziyadeh FN. 2004. Mediators of diabetic renal disease: the case for TGF-beta as the major mediator. *Journal of the American Society of Nephrology*. 15(1): 555–557.

## LAMPIRAN

### Lampiran 1. Hasil Analisis Data

#### Tests of Normality

KELOMPOK	Kolmogorov-Smirnov <sup>a</sup>			Shapiro-Wilk		
	Statistic	df	Sig.	Statistic	df	Sig.
PERBANDINGAN_SEL KN	.173	9	.200 <sup>*</sup>	.918	9	.379
P1	.231	9	.183	.848	9	.071
P3	.251	9	.108	.914	9	.346

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

a. Lilliefors Significance Correction

#### Test of Homogeneity of Variances

PERBANDINGAN\_SEL

Levene Statistic	df1	df2	Sig.
1.771	2	24	.192

#### ANOVA

PERBANDINGAN\_SEL

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	.141	2	.070	244.082	.000
Within Groups	.007	24	.000		
Total	.148	26			

#### Post Hoc Tests

##### Multiple Comparisons

Dependent Variable: PERBANDINGAN\_SEL

	(I) KELOMPOK	(J) KELOMPOK	Mean Difference (I-J)	Std. Error	Sig.	95% Confidence Interval	
						Lower Bound	Upper Bound
LSD	KN	P1	.103444 <sup>*</sup>	.008011	.000	.08691	.11998
		P3	.176111 <sup>*</sup>	.008011	.000	.15958	.19265
	P1	KN	-.103444 <sup>*</sup>	.008011	.000	-.11998	-.08691
		P3	.072667 <sup>*</sup>	.008011	.000	.05613	.08920
	P3	KN	-.176111 <sup>*</sup>	.008011	.000	-.19265	-.15958
		P1	-.072667 <sup>*</sup>	.008011	.000	-.08920	-.05613
Bonferroni	KN	P1	.103444 <sup>*</sup>	.008011	.000	.08283	.12406
		P3	.176111 <sup>*</sup>	.008011	.000	.15549	.19673
	P1	KN	-.103444 <sup>*</sup>	.008011	.000	-.12406	-.08283
		P3	.072667 <sup>*</sup>	.008011	.000	.05205	.09328
	P3	KN	-.176111 <sup>*</sup>	.008011	.000	-.19673	-.15549
		P1	-.072667 <sup>*</sup>	.008011	.000	-.09328	-.05205

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

Lampiran 2. *Ethical Clearance*



UNIVERSITAS  
ISLAM  
INDONESIA

**FAKULTAS  
KEDOKTERAN**

Gedung Dr. Soekman Wirgandjojo  
Kampus Terpadu Universitas Islam Indonesia  
Jl. Kalirejo km 14,5 Yogyakarta 55584  
T. (0274) 898444 ext. 2096, 2097  
F. (0274) 898459 ext. 2007  
E. [fk@uii.ac.id](mailto:fk@uii.ac.id)  
W. [fk.uil.ac.id](http://fk.uil.ac.id)

Nomor : 1/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  $\beta$  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  
*Chairman*  
Dr. Rahma Yudiantari, M.Sc, Sp.PK



**\*Ethical Approval** berlaku satu tahun dari tanggal persetujuan  
**\*\*Peneliti berkewajiban**

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