



**PENGARUH EKSTRAK ALGA COKELAT (*Sargassum sp.*)
TERHADAP DERAJAT PROTEINURIA TIKUS WISTAR
YANG DIINDUKSI STREPTOZOTOCIN SEBAGAI
PREVENSI NEFROPATI DIABETIK**

SKRIPSI

Oleh

**Putri Maura Widyatri
NIM 132010101022**

**FAKULTAS KEDOKTERAN
UNIVERSITAS JEMBER
2016**



**PENGARUH EKSTRAK ALGA COKELAT (*Sargassum sp.*)
TERHADAP DERAJAT PROTEINURIA TIKUS WISTAR
YANG DIINDUKSI STREPTOZOTOCIN SEBAGAI
PREVENSI NEFROPATI DIABETIK**

SKRIPSI

diajukan guna melengkapi tugas akhir dan memenuhi salah satu syarat untuk menyelesaikan studi pada Program Studi Pendidikan Dokter (S-1) dan mencapai gelar Sarjana Kedokteran

Oleh

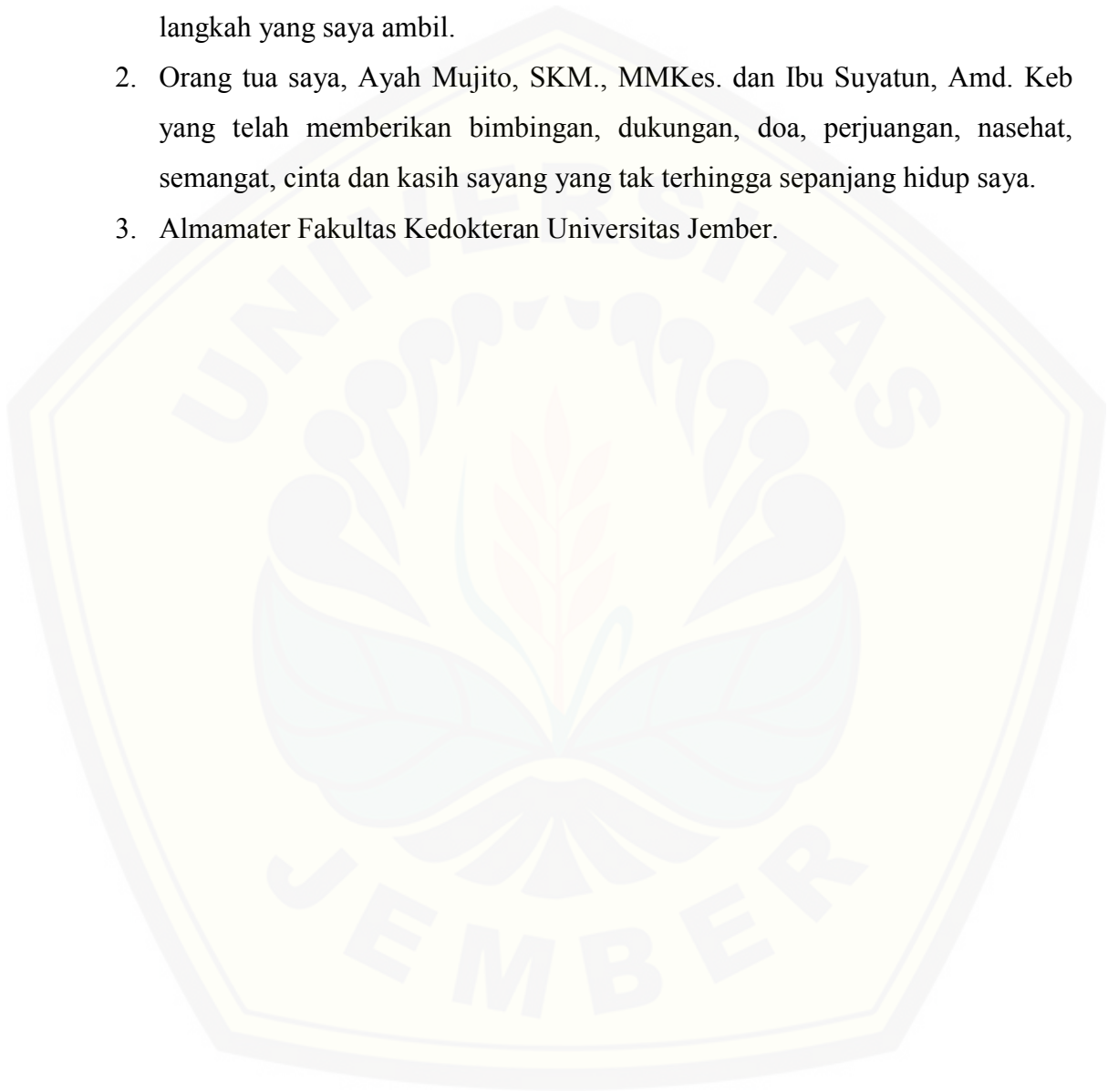
**Putri Maura Widyaratri
NIM 132010101022**

**FAKULTAS KEDOKTERAN
UNIVERSITAS JEMBER
2016**

PERSEMBAHAN

Skripsi ini saya persembahkan untuk :

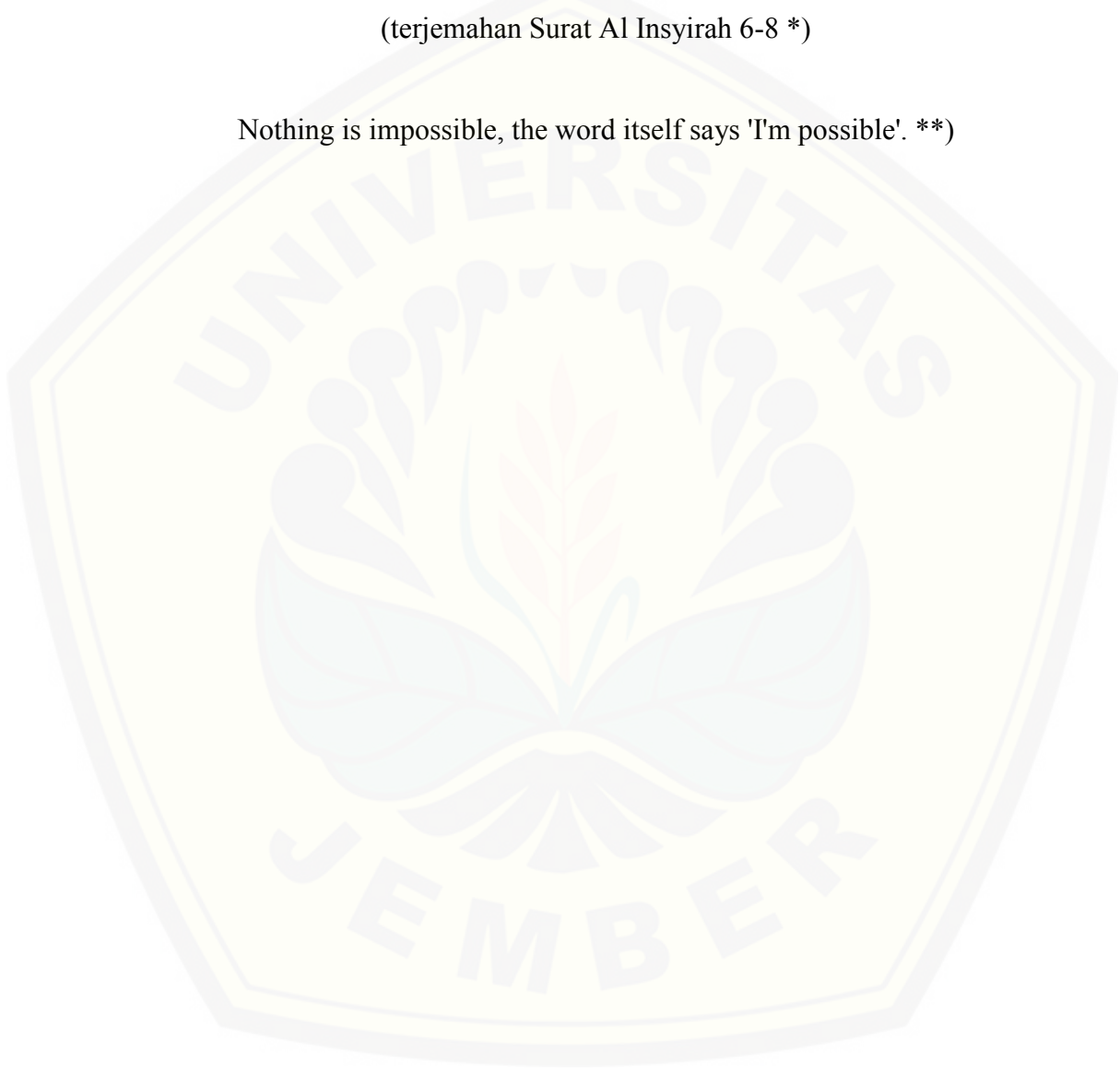
1. Allah SWT yang telah memberi hidayah, rahmat dan kesehatan dalam setiap langkah yang saya ambil.
2. Orang tua saya, Ayah Mujito, SKM., MMKes. dan Ibu Suyatun, Amd. Keb yang telah memberikan bimbingan, dukungan, doa, perjuangan, nasehat, semangat, cinta dan kasih sayang yang tak terhingga sepanjang hidup saya.
3. Almamater Fakultas Kedokteran Universitas Jember.



MOTO

Sesungguhnya, sesudah kesulitan itu ada kemudahan. Maka apabila kamu telah selesai (dari sesuatu urusan), kerjakanlah dengan sungguh-sungguh (urusan) yang lain, dan hanya kepada Rabb-mulah hendaknya kamu berharap.
(terjemahan Surat Al Insyirah 6-8 *)

Nothing is impossible, the word itself says 'I'm possible'. **)



*) Departemen Agama RI. 2006. *Al Qur'an dan Terjemahannya*. Jakarta: Pustaka Agung Harapan.

***) Hepburn, Audrey. 2001. *Audrey Hepburn's Enchanted Tales*. England: New Millenium Audio.

PERNYATAAN

Saya yang bertanda tangan dibawah ini:

Nama : Putri Maura Widyaratri

NIM : 132010101022

Menyatakan sesungguhnya bahwa karya ilmiah yang berjudul “Pengaruh Ekstrak Alga Cokelat (*Sargassum sp.*) terhadap Derajat Proteinuria Tikus Wistar yang Diinduksi Streptozotocin sebagai Prevensi Nefropati Diabetik” adalah benar-benar hasil karya sendiri, kecuali jika dalam pengutipan substansi disebutkan sumbernya, dan belum pernah diajukan pada institusi manapun, serta bukan karya jiplakan. Saya bertanggung jawab atas keabsahan dan kebenaran isinya sesuai dengan sikap ilmiah yang harus dijunjung tinggi.

Demikian pernyataan ini saya buat dengan sebenarnya, tanpa adanya tekanan dan paksaan dari pihak manapun serta bersedia mendapat sanksi akademik jika ternyata di kemudian hari pernyataan ini tidak benar.

Jember, 6 Desember 2016

Yang menyatakan,

Putri Maura Widyaratri
NIM 132010101022

SKRIPSI

**PENGARUH EKSTRAK ALGA COKELAT (*Sargassum sp.*)
TERHADAP DERAJAT PROTEINURIA TIKUS WISTAR
YANG DIINDUKSI STEPTOZOTOCIN SEBAGAI
PREVENSI NEFROPATI DIABETIK**

Oleh

**Putri Maura Widyaratri
NIM 132010101022**

Pembimbing

Dosen Pembimbing Utama : dr. Elly Nurus Sakinah, M.Si

Dosen Pembimbing Anggota : dr. Yuli Hermansyah, Sp. PD

PENGESAHAN

Skripsi berjudul “Pengaruh Ekstrak Alga Cokelat (*Sargassum sp.*) terhadap Derajat Proteinuria Tikus Wistar yang Diinduksi Streptozotocin sebagai Prevensi Nefropati Diabetik” telah diuji dan disahkan pada:

hari/tanggal : Selasa / 6 Desember 2016

tempat : Fakultas Kedokteran Universitas Jember

Tim Penguji:

Penguji I

Penguji II

dr. Desie D. Wisudanti, M.Biomed
NIP. 19821211 200812 2 002

dr. Dwita Aryadina R., M.Kes
NIP. 19801027 200812 2 002

Penguji III

Penguji IV

dr. Elly Nurus Sakinah, M.Si
NIP. 19840916 200801 2 003

dr. Yuli Hermansyah, Sp.PD
NIP. 19660711 199601 1 001

Mengesahkan
Dekan Fakultas Kedokteran Universitas Jember

dr. Enny Suswati, M.Kes
NIP. 19700214199903 2 001

RINGKASAN

Pengaruh Ekstrak Alga Cokelat (*Sargassum sp.*) terhadap Derajat Proteinuria Tikus Wistar yang Diinduksi Streptozotocin sebagai Prevensi Nefropati Diabetik; Putri Maura Widyaratri, 132010101022; 2016; Fakultas Kedokteran Universitas Jember.

Diabetes merupakan penyakit gangguan metabolik kronis akibat pankreas yang tidak cukup menghasilkan hormon insulin yang mengatur keseimbangan kadar glukosa darah atau tubuh tidak dapat menggunakan insulin yang diproduksi secara efektif. Data WHO menunjukkan angka morbiditas diabetes sebanyak 422 juta jiwa pada 2014 dan menduduki posisi keempat angka mortalitas secara global sebanyak 1,5 juta jiwa. Penyakit kardiovaskuler memiliki angka mortalitas sebanyak 17,5 juta jiwa, kanker sebanyak 8,2 juta jiwa, dan Penyakit Paru Obstruktif Kronis (PPOK) sebanyak 4 juta jiwa. Nefropati Diabetik (ND) merupakan komplikasi diabetes pada ginjal yang disebabkan oleh kerusakan kapiler ginjal akibat hiperglikemia yang ditandai dengan peningkatan derajat proteinuria, *Elevated Urinary Albumin Excretion Rate* (UAER), peningkatan tekanan darah dan penurunan fungsi ginjal. Komplikasi ND salah satunya diperankan oleh *Advanced Glycation End Products* (AGEs) dalam peningkatan stres oksidatif. AGEs yang berikatan dengan reseptornya (RAGE) pada endotel dan sel mesangial di glomerulus dapat menghambat aktivitas nitrit oksida (NO) sehingga mengganggu sintesis sel endotel dan menyebabkan berbagai komplikasi secara vaskuler. AGEs memicu respons inflamasi dan apoptosis sel glomerulus ginjal, meningkatkan pembentukan *Extra Cellular Matrix* (ECM), mengubah GF- β 1 dan *Vascular Endothelial Growth Factor* dalam sitokin sebagai respons inflamasi, mengakibatkan penipisan sel podosit, dan meningkatkan permeabilitas kapiler glomerulus. Peningkatan permeabilitas kapiler intraglomerulus menyebabkan hiperfiltrasi glomerulus dan menimbulkan proteinuria yang didefinisikan sebagai keadaan ditemukannya protein di dalam urin manusia yang melebihi nilai normalnya yaitu lebih dari 150 mg/24 jam. Proteinuria merupakan manifestasi besar penyakit ginjal dan merupakan indikator perburukan fungsi ginjal yang dianggap sebagai faktor prognostik yang bermakna dan mikroalbuminuria menjadi salah satu tanda tahap awal terjadinya ND. Survei yang dilakukan oleh Andresdottir menunjukkan tingginya angka kematian ND meskipun penyandang telah mendapatkan terapi yang lebih baik dengan antihipertensi dan dialisis sehingga perlu upaya preventif salah satunya menggunakan antioksidan. Alga cokelat (*Sargassum sp.*) memiliki kandungan antioksidan yang cukup tinggi, yakni: *sargachromenol* yang merupakan salah satu derivat *chromene* dari gugus *tocotrienol* (vitamin E), *phlorotannin* (golongan tanin dari senyawa fenolat), dan vitamin C dengan kadar diatas 20%. Tujuan dari penelitian ini adalah untuk mengetahui pengaruh ekstrak alga cokelat (*Sargassum*

sp.) terhadap derajat proteinuria pada tikus wistar yang diinduksi Streptozotocin sebagai prevensi Nefropati Diabetik.

Desain penelitian yang digunakan adalah eksperimental murni (*true experimental design*) secara *in vivo* dengan rancangan *post test only randomized control group design* pada 25 ekor tikus wistar jantan (*Rattus norvegicus strain Wistar*). Penelitian dilakukan dengan menginduksi streptozotocin dosis 55mg/Kgbb secara intraperitoneal pada tikus putih kemudian dilakukan pemberian ekstrak *Sargassum sp.* selama 14 hari. Jumlah kelompok penelitian ada 5, yaitu: kelompok normal, kontrol negatif, kelompok P1 dengan pemberian ekstrak dosis 150 mg/Kgbb, Kelompok P2 dengan pemberian ekstrak dosis 300 mg/Kgbb, dan kelompok P3 dengan pemberian ekstrak dosis 450 mg/Kgbb. Data yang diamati berupa kadar gula darah sebagai konfirmasi status diabetes dan derajat proteinuria yang diukur secara semi kuantitatif menggunakan strip dipstik. Data yang didapatkan dianalisis dengan uji *Kruskal Wallis* yang dilanjutkan uji *Mann Whitney* dengan perbedaan tiap kelompok dinilai bermakna atau signifikan apabila $p < 0,05$.

Pada penelitian ini didapatkan kelompok kontrol normal memiliki skor 1 yakni hasil negatif atau kadar proteinuria kurang dari 15 mg/dl. Kelompok kontrol negatif memiliki skor 3 yakni proteinuria derajat +2 atau sekitar 30-100 mg/dl dan skor 2 yakni proteinuria derajat +1 atau sekitar 15-30 mg/dl. Kelompok P1 dan P2 memiliki skor 1 yakni hasil negatif atau kadar proteinuria kurang dari 15 mg/dl. Kelompok P3 memiliki skor 2 yakni derajat +1 atau kadar proteinuria dalam rentang 15-30 mg/dl. Hasil uji beda *Kruskal Wallis* skor derajat proteinuria didapatkan perbedaan signifikan dengan nilai $p = 0,007$. Analisis *Post hoc Mann Whitney* didapatkan hasil $p < 0,05$ pada kelompok normal dengan kontrol negatif, P1, P2, dan P3. Pemberian ekstrak alga cokelat (*Sargassum sp.*) dosis 150 mg/Kgbb, 300mg/Kgbb, dan 450 mg/Kgbb selama 14 hari dapat memberikan efek preventif terhadap peningkatan derajat proteinuria dalam nefropati diabetik tikus wistar yang diinduksi streptozotocin ditunjukkan dengan adanya perbedaan signifikan skor derajat proteinuria tikus pada kelompok P1, P2, dan P3 terhadap kelompok kontrol negatif. Efek tersebut didapatkan karena Alga cokelat (*Sargassum sp.*) mengandung beberapa senyawa kimia yang bersifat antioksidan, yakni: *sargachromenol* yang merupakan salah satu derivat *chromene* dari gugus tokotrienol (vitamin E), vitamin C, dan *phlorotannin* yang merupakan golongan tanin pada metabolisme sekunder senyawa fenolat. Ketiga senyawa ini bekerja sebagai antioksidan pada mekanisme *radical scavenger* dengan mendonorkan elektron atau atom hidrogen sehingga dapat menangkap dan menetralkan radikal bebas AGEs. Penurunan jumlah radikal bebas AGEs diharapkan dapat seimbang dengan enzim antioksidan alami tubuh sehingga tidak timbul stres oksidatif. Akhirnya peningkatan derajat proteinuria dari induksi streptozotocin dapat dicegah. Dari hasil penelitian yang telah dilakukan dapat disimpulkan bahwa terdapat pengaruh pemberian ekstrak alga cokelat (*Sargassum sp.*) terhadap derajat proteinuria tikus wistar yang diinduksi streptozotocin sebagai prevensi nefropati diabetik.

PRAKATA

Puji syukur ke hadirat Allah SWT atas segala rahmat dan hidayah-Nya sehingga penulis dapat menyelesaikan skripsi yang berjudul “Pengaruh Ekstrak Alga Cokelat (*Sargassum* sp.) terhadap Derajat Proteinuria Tikus Wistar yang Diinduksi Streptozotocin sebagai Prevensi Nefropati Diabetik”. Skripsi ini disusun untuk memenuhi salah satu syarat menyelesaikan pendidikan strata satu (S-1) pada Fakultas Kedokteran Universitas Jember.

Penyusunan skripsi ini tidak lepas dari bantuan berbagai pihak. Oleh karena itu, penulis menyampaikan terima kasih kepada:

1. dr. Enny Suswati, M.Kes selaku Dekan Fakultas Kedokteran Universitas Jember;
2. dr. Elly Nurus Sakinah, M.Si selaku Dosen Pembimbing Utama, dr. Yuli Hermansyah, Sp. PD selaku Dosen Pembimbing Anggota yang telah meluangkan waktu, pikiran, serta perhatiannya untuk memberikan bimbingan dan pengarahan demi terselesaikannya penulisan skripsi ini;
3. dr. Desie Dwi Wisudanti, M.Biomed dan dr. Dwita Aryadina, M.Kes, selaku dosen penguji yang telah banyak memberikan kritik, saran, dan masukan yang membangun dalam penulisan skripsi ini;
4. Ayah Mujito, SKM., MMKes. dan Ibu Suyatun, Amd. Keb tersayang, atas dukungan moril, doa, semangat, nasehat serta kasih sayang yang tiada henti sepanjang perjalanan saya;
5. Faizah Giftari Fitriana sahabatku, Ni Nyoman Yuniasih, Adi Wahyu, dan Laras Prasasti dalam kelompok penelitian *Sargassum* yang telah memberikan dukungan, waktu, doa, senyum dan semangat;
6. Rizka Rahmawati, Shinta Madyaning, Cahya Kusumawardani, Emma Enggar, sahabat dan keluarga yang selalu memberi semangat dan doa;
7. Teman-teman sejawat angkatan 2013 (Vesalius) atas dukungan dan motivasi demi mendapatkan gelar sarjana kedokteran;
8. Krisnha Dian Ayuningtyas, M. Dimas Arya C.P. dan Valentin Putri selaku kakak senior NIM 22 yang telah memberikan motivasi, dukungan, dan doa;

9. Teman-teman keluarga besar KKN 116 Suling Wetan, Maria Galuh, Vanadia Anissa, Wio Reflia, Ratih Swesty, Trisna Haryanti, Ahmad, yang telah memberikan dukungan, dan semangat;
10. Mas Agus Murdojohadi P. selaku analis Lab. Biomed Fakultas Kedokteran Gigi UNEJ yang telah membantu menyelesaikan penelitian saya;
11. Semua pihak yang telah membantu dalam penyusunan skripsi ini, yang tidak dapat penulis sebutkan satu persatu.

Penulis juga menerima segala kritik dan saran yang membangun dari semua pihak demi kesempurnaan skripsi ini. Akhirnya penulis berharap, semoga skripsi ini dapat bermanfaat.

Jember, 6 Desember 2016

Penulis

DAFTAR ISI

	Halaman
HALAMAN JUDUL	i
HALAMAN PERSEMBAHAN	ii
HALAMAN MOTO	iii
HALAMAN PERNYATAAN	iv
HALAMAN PEMBIMBINGAN	iv
HALAMAN PENGESAHAN	vi
RINGKASAN	vii
PRAKATA	ix
DAFTAR ISI	xi
DAFTAR TABEL	xiv
DAFTAR GAMBAR	xiv
DAFTAR LAMPIRAN	xvi
BAB 1. PENDAHULUAN	1
1.1 Latar Belakang	1
1.2 Rumusan Masalah	4
1.3 Tujuan	4
1.4 Manfaat	4
1.4.1 Manfaat Ilmiah	4
1.4.2 Manfaat Praktis	4
BAB 2. TINJAUAN PUSTAKA	5
2.1 Alga Cokelat (<i>Sargassum sp.</i>)	5
2.1.1 Taksonomi Alga Cokelat (<i>Sargassum sp.</i>)	5
2.1.2 Habitat dan Penyebaran	6
2.1.3 Kandungan Antioksidan dalam Alga Cokelat (<i>Sargassum sp.</i>)	6
2.2 Antioksidan	9
2.2.1 Definisi Antioksidan	9
2.2.2 Mekanisme Kerja Antioksidan	9
2.2.3 Jenis Antioksidan	9
2.2.4 Vitamin E (Tokoferol dan Tokotrienol)	10
2.2.5 Vitamin C	11
2.2.6 Senyawa Fenolat Phlorotannin	11

2.3 Ginjal (Renal)	12
2.3.1 Anatomi Ginjal	12
2.3.2 Histologi Ginjal.....	13
2.3.3 Fisiologi Ginjal dalam Pembentukan Urin	16
2.3.4 Filtrasi Protein pada Ginjal	17
2.4 Nefropati Diabetik (ND)	18
2.4.1 Definisi ND.....	18
2.4.2 Patofisiologi ND	18
2.4.3 Proteinuria.....	20
2.5 Model Hewan Coba Nefropati Diabetik	25
2.6 Kerangka Konsep	26
2.7 Hipotesis Penelitian	28
BAB 3. METODE PENELITIAN	29
3.1 Jenis Penelitian	29
3.2 Rancangan Penelitian	29
3.3 Penentuan Populasi dan Sampel	30
3.3.1 Populasi Penelitian.....	30
3.3.2 Sampel Penelitian	30
3.3.3 Besar Sampel Penelitian	31
3.4 Tempat dan Waktu Penelitian	31
3.5 Alat dan Bahan	31
3.5.1 Alat	31
3.5.2 Bahan	32
3.6 Variabel Penelitian	32
3.6.1 Variabel Bebas.....	32
3.6.2 Variabel Terikat	33
3.6.3 Variabel Terkendali	33
3.7 Definisi Operasional	33
3.7.1 Ekstrak Alga Cokelat (<i>Sargassum sp.</i>).....	33
3.7.2 Derajat Proteinuria	33
3.7.3 Dosis Streptozotocin	34
3.7.4 Hewan Coba.....	34
3.8 Prosedur Penelitian	34

3.8.1 Pemilihan Hewan Coba	34
3.8.2 Persiapan Hewan Coba	35
3.8.3 Pembagian Tiap Kelompok	35
3.8.4 Pembuatan Ekstrak Alga Cokelat (<i>Sargassum sp.</i>).....	35
3.8.5 Pengukuran Glukosa Darah Puasa.....	36
3.8.6 Penginduksian Streptozotocin.....	36
3.8.7 Perlakuan terhadap Hewan Coba.....	36
3.8.8 Pengukuran Derajat Proteinuria.....	37
3.9 Analisis Data	38
3.10 Uji Kelayakan Etik	38
3.11 Alur Penelitian	39
BAB 4. HASIL DAN PEMBAHASAN	40
4.1 Hasil Penelitian	40
4.1.1 Data Kadar Glukosa Darah Puasa.....	40
4.1.2 Efek Pemberian Ekstrak Alga Cokelat (<i>Sargassum sp.</i>) terhadap Derajat Proteinuria.....	41
4.1.3 Analisis Data.....	43
4.2 Pembahasan	43
4.2.1 Pengaruh Induksi Streptozotocin pada GDP.....	43
4.2.2 Pengaruh Streptozotocin pada Derajat Proteinuria	44
4.2.3 Pengaruh Ekstrak Alga Cokelat (<i>Sargassum sp.</i>)	46
BAB 5. KESIMPULAN DAN SARAN	50
5.1 Kesimpulan	50
5.2 Saran	50
DAFTAR PUSTAKA	51
LAMPIRAN	58

DAFTAR TABEL

	Halaman
Tabel 2. 1 Daftar kandungan alga cokelat (<i>Sargassum sp.</i>).....	8
Tabel 2. 2 Nilai normal urinalisis.....	17
Tabel 2. 3 Tahapan nefropati diabetik oleh Mogensen.....	19
Tabel 2. 4 Derajat proteinuria.....	23
Tabel 3. 1 Pembagian kelompok penelitian.....	35
Tabel 4. 1 Rata-rata kadar glukosa darah puasa sebelum dan setelah induksi streptozotocin.....	40
Tabel 4. 2 Nilai skoring derajat proteinuria.....	41
Tabel 4. 3 Hasil analisis uji <i>Mann Whitney</i>	43

DAFTAR GAMBAR

	Halaman
Gambar 2.1 Semak alga cokelat (<i>Sargassum sp.</i>)	5
Gambar 2.2 Gelembung udara alga cokelat (<i>Sargassum sp.</i>)	6
Gambar 2.3 Struktur kimia <i>sargachromenol</i>	7
Gambar 2.4 Struktur kimia phlorotannin	7
Gambar 2.5 Struktur kimia vitamin C	7
Gambar 2.6 Anatomi ginjal	12
Gambar 2.7 Unit fungsional ginjal	14
Gambar 2.8 Struktur histologis korpuskulum ginjal	15
Gambar 2.9 Kerangka konsep penelitian	26
Gambar 3.1 Rancangan penelitian.....	30
Gambar 3.2 Skema alur penelitian.....	39
Gambar 4.1 Grafik rata-rata kadar glukosa darah puasa setelah induksi streptozotocin	40
Gambar 4.2 Grafik skor derajat proteinuria	42

DAFTAR LAMPIRAN

	Halaman
Lampiran 3. 1 Perhitungan dan pemberian dosis streptozotocin (STZ).....	59
Lampiran 3. 2 Perhitungan dosis ekstrak alga cokelat (Sargassum Sp.).....	60
Lampiran 3. 3 Lembar persetujuan etik	62
Lampiran 4. 1 Hasil kadar gula darah puasa sebelum dan setelah induksi streptozotocin	64
Lampiran 4. 2 Hasil pengukuran derajat proteinuria	65
Lampiran 4. 3 Analisis data	66
Lampiran 4. 4 Dokumentasi penelitian	72

BAB 1. PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

Diabetes Melitus (DM) menjadi penyakit *silent killer* karena sering tidak disadari oleh penyandanginya dan saat diketahui sudah terjadi komplikasi yang cukup berat. Diabetes merupakan penyakit gangguan metabolik kronis akibat pankreas yang tidak cukup menghasilkan hormon insulin yang mengatur keseimbangan kadar glukosa darah atau tubuh tidak dapat menggunakan insulin yang diproduksi secara efektif (Depkes, 2014). Diabetes menjadi satu dari empat prioritas Penyakit Kronis Non Infeksi atau *Non Communicable Disease* (NCDs) yang prevalensinya meningkat dalam tiga dekade terakhir ini. Data WHO (2016:28) dalam *Global Reports* menunjukkan angka morbiditas diabetes sebanyak 422 juta jiwa pada 2014 dan menduduki posisi keempat angka mortalitas secara global sebanyak 1,5 juta jiwa yang diawali oleh penyakit kardiovaskuler sebanyak 17,5 juta jiwa, kanker sebanyak 8,2 juta jiwa, dan Penyakit Paru Obstruktif Kronis (PPOK) sebanyak 4 juta jiwa. Risesdas oleh Depkes RI (2014:2) pada tahun 2013 menunjukkan prevalensi diabetes di Indonesia sebanyak 12 juta jiwa dengan usia diatas 15 tahun. Angka ini dapat bertambah dengan perkiraan Risesdas sebanyak lebih dari 8 juta jiwa penyandang diabetes yang tidak terdiagnosis.

WHO (2016:13) mengemukakan bahwa beberapa komplikasi berat dapat ditimbulkan diabetes, yakni kerusakan pada ginjal, pembuluh darah, mata, syaraf dan peningkatan risiko gagal jantung serta stroke. Nefropati Diabetik (ND) merupakan komplikasi diabetes pada ginjal yang disebabkan oleh kerusakan kapiler ginjal akibat hiperglikemia (Sudoyo *et al.*, 2009). Komplikasi ND ditandai dengan peningkatan derajat proteinuria, *Elevated Urinary Albumin Excretion Rate* (UAER), peningkatan tekanan darah dan penurunan fungsi ginjal (Okada *et al.*, 2013). Rata-rata penyandang diabetes dengan komplikasi ND yang tidak terkontrol memiliki prognosis angka harapan hidup 5-7 tahun (Andresdottir *et al.*, 2015). ND menjadi penyebab utama gagal ginjal terminal atau *End-Stage Renal*

Disease (ESRD) dan banyak menimbulkan kematian pada negara maju (Mohamed *et al.*, 2014).

Komplikasi ND salah satunya diperankan oleh *Advanced Glycation End Products* (AGEs) dalam peningkatan stres oksidatif. Kadar glukosa yang tinggi dapat mengikat residu amino secara non-enzimatik menjadi bentuk akhir glikasi yaitu AGEs yang bersifat radikal bebas. AGEs yang berikatan dengan reseptornya (RAGE) pada endotel dan sel mesangial di glomerulus dapat menghambat aktivitas *nitric oxide* (NO) sehingga mengganggu sintesis sel endotel dan menyebabkan berbagai komplikasi secara vaskuler (Goldin *et al.*, 2006). AGEs juga berperan dalam ekspresi adhesi molekul seperti penarikan sel-sel mononuklear, hipertrofi sel, dan sintesis matriks ekstraseluler (Luo *et al.*, 2015). AGEs yang telah terbentuk memicu respons inflamasi dan apoptosis sel glomerulus ginjal, meningkatkan pembentukan *Extra Cellular Matrix* (ECM), mengubah GF- β 1 dan *Vascular Endothelial Growth Factor* dalam sitokin sebagai respons inflamasi, mengakibatkan penipisan sel podosit, dan meningkatkan permeabilitas kapiler glomerulus. Peningkatan permeabilitas kapiler intraglomerulus dapat menyebabkan hiperfiltrasi glomerulus dan menimbulkan proteinuria (Sudoyo *et al.*, 2009).

Proteinuria didefinisikan sebagai keadaan ditemukannya protein di dalam urin manusia yang melebihi nilai normalnya yaitu lebih dari 150 mg/24 jam. Proteinuria merupakan manifestasi besar penyakit ginjal dan merupakan indikator perburukan fungsi ginjal yang dianggap sebagai faktor prognostik yang bermakna dan paling akurat (Sudoyo *et al.*, 2009). Proteinuria sebagai tanda komplikasi ND menjadi gejala ketiga yang paling banyak ditemukan pada pasien diabetes di RSCM Jakarta tahun 2011 (Depkes RI, 2014).

Obat antihipertensi golongan *Angiotensin Converting Enzyme Inhibitor* (ACE-I) atau *Angiotensin Receptor Blocker* (ARB) menjadi salah satu tatalaksana ND yang bersifat kuratif terhadap proteinuria walaupun tekanan darah pasien normal (Sudoyo *et al.*, 2009). Survei yang dilakukan oleh Andresdottir *et al.* (2014:417) menunjukkan tingginya angka kematian pasien ND akibat jatuh pada kondisi ESRD meskipun penyandang telah mendapatkan terapi yang lebih baik

dengan antihipertensi dan dialisis sehingga perlu upaya preventif salah satunya menggunakan antioksidan. *Food and Drug Administration* (FDA) atau Badan Pengawas Obat dan Makanan di Amerika Serikat memberikan persetujuan untuk beberapa senyawa yang berperan sebagai antioksidan pada pasien diabetes, yakni *Alpha Lipoic Acid* (ALA), vitamin E, dan vitamin C (Bhattacharjee *et al.*, 2016).

Chromene sintetik dilaporkan dapat mencegah terbentuknya AGEs melalui mekanisme adisi nukleofilik prekursor AGEs (Ishii *et al.*, 2000). *Sargachromenol* yang merupakan derivat *chromene* dari gugus *tocotrienol* (vitamin E) dapat ditemukan dalam jumlah yang cukup tinggi pada alga cokelat genus *Sargassum* (Seo *et al.*, 2007). Kandungan antioksidan lain dalam *Sargassum sp.*, yakni *phlorotannin* (golongan tanin dari senyawa fenolat), vitamin C yang berpotensi tinggi dengan kadar di atas 20% (FDA, 2008). *Sargassum sp.* dilaporkan memiliki antioksidan dengan daya penghambatan DPPH yang lebih baik dari kulit manggis (Siampa *et al.*, 2016). Kandungan zat kimia lainnya berkhasiat sebagai anti hiperglikemia, anti inflamasi, faktor alfa nekrosis sel tumor, dan interleukin-6 (Iwashima *et al.*, 2005; Namvar *et al.*, 2013; Yende, 2014; Dhasa *et al.*, 2016).

Penelitian oleh Firdaus *et al.* (2010) membuktikan bahwa ekstrak *Sargassum echinocarpum* pada dosis tertentu dapat memperbaiki stres oksidatif dan mencegah disfungsi sel endotel aorta tikus yang diinduksi streptozotocin. Streptozotocin merupakan agen diabetogenik yang sering digunakan pada penelitian dengan hewan coba (Sima, 2005). Motshakeri *et al.* (2014) juga telah membuktikan bahwa ekstrak *Sargassum polycystum* pada dosis 150 mg/Kgbb dapat mengurangi kerusakan ginjal dan hati tikus hiperglikemia.

Berdasarkan uraian di atas sampai saat ini belum terdapat penelitian yang membuktikan alga cokelat *Sargassum sp.* mampu menghambat radikal bebas dalam pembentukan AGEs. Terdapatnya aktivitas antioksidan pada alga cokelat (*Sargassum sp.*) yang telah dibuktikan dari penelitian-penelitian sebelumnya membuat peneliti bermaksud ingin mengetahui pengaruh ekstrak alga cokelat (*Sargassum sp.*) terhadap derajat proteinuria tikus wistar yang diinduksi streptozotocin sebagai prevensi Nefropati Diabetik.

1.2 Rumusan Masalah

Berdasarkan latar belakang di atas, rumusan masalah yang diambil adalah apakah terdapat pengaruh ekstrak alga cokelat (*Sargassum sp.*) terhadap derajat proteinuria pada tikus wistar yang diinduksi streptozotocin sebagai prevensi Nefropati Diabetik?

1.3 Tujuan

Berdasarkan rumusan masalah di atas, tujuan dari penelitian ini adalah untuk mengetahui pengaruh ekstrak alga cokelat (*Sargassum sp.*) terhadap derajat proteinuria pada tikus wistar yang diinduksi streptozotocin sebagai prevensi Nefropati Diabetik.

1.4 Manfaat

1.4.1 Manfaat Ilmiah

Penelitian ini diharapkan dapat memberikan informasi ilmiah sebagai acuan untuk penelitian selanjutnya tentang manfaat alga cokelat (*Sargassum sp.*) sebagai antioksidan dan upaya prevensi kerusakan ginjal.

1.4.2 Manfaat Praktis

Penelitian ini diharapkan dapat memberikan wawasan dan informasi bagi masyarakat umum tentang salah satu manfaat alga cokelat (*Sargassum sp.*) sebagai antioksidan dalam mencegah kerusakan ginjal.

BAB 2. TINJAUAN PUSTAKA

2.1 Alga Cokelat (*Sargassum sp.*)

Alga cokelat (*Sargassum sp.*), umumnya dikenal sebagai *Japan wireweed*, merupakan alga berwarna cokelat yang tumbuh berumpun membentuk semak-semak dengan gelembung udara yang khas atau disebut *swimming bladders* pada setiap percabangannya dapat dilihat pada Gambar 2.1. Gelembung udara (Gambar 2.2) ini berfungsi untuk menopang cabang talus yang panjangnya dapat mencapai 1-3 meter agar terapung di permukaan air.



Gambar 2.1 Semak Alga Cokelat (*Sargassum sp.*)(Sumber: Thomas, 2002).

2.1.1 Taksonomi Alga Cokelat (*Sargassum sp.*)

Alga cokelat (*Sargassum sp.*) dalam taksonomi tumbuhan diklasifikasikan sebagai berikut.

Domain	: Eukaryota
Kerajaan	: Chromista
Divisi	: Ochrophyta
Kelas	: Phaeophyceae
Ordo	: Fucales
Famili	: Sargassaceae
Genus	: <i>Sargassum</i>
Spesies	: <i>Sargassum sp.</i>

(Fensholt, 1955)



Gambar 2.2 Gelembung udara Alga Cokelat (*Sargassum sp.*) (Guiry *et al.*, 2016).

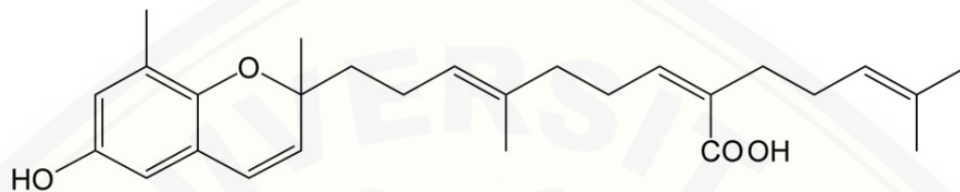
2.1.2 Habitat dan Penyebaran

Alga cokelat (*Sargassum sp.*) yang tumbuh di perairan hangat tropis dan subtropis berasal dari perairan Jepang, Cina dan Alaska (Thomas, 2002). Alga ini memiliki tingkat pertumbuhan dan reproduksi yang tinggi serta mampu menyebar secara vegetatif di perairan Indonesia, Malaysia, dan Filipina hingga perairan Eropa seperti Inggris, Perancis, Skandinavia, Laut Baltik, Belanda, Irlandia serta perairan Mediteranea (Frensholt, 1955). Di Indonesia persebaran beberapa jenis alga cokelat (*Sargassum sp.*) dapat ditemukan pada perairan yang tenang dan menempel pada batu karang di pantai Pulau Jawa dimulai dari garis pantai hingga kedalaman 10 meter (Basmal *et al.*, 2013). Alga cokelat (*Sargassum sp.*) pada kehidupan sehari-hari sering dikonsumsi dalam bentuk salad, jeli atau sup. Pada industri pangan, alga cokelat (*Sargassum sp.*) dimanfaatkan sebagai bahan penstabil emulsi es krim, pensuspensi pada susu cokelat dan pengatur kekentalan yogurt (Basmal *et al.*, 2013).

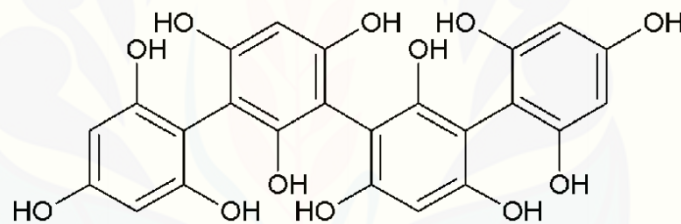
2.1.3 Kandungan Antioksidan dalam Alga Cokelat (*Sargassum sp.*)

Alga cokelat (*Sargassum sp.*) mengandung *Sargachromenol* (struktur kimia pada Gambar 2.3) salah satu derivat *chromene* dari gugus tokotrienol

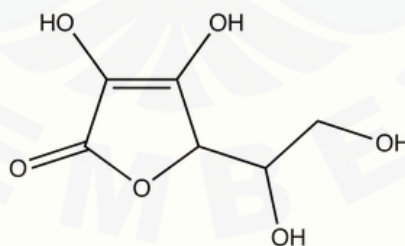
(vitamin E), *phlorotannin* (golongan tanin pada metabolisme sekunder senyawa fenolat, struktur kimia pada Gambar 2.4), senyawa fenolat golongan lain dan vitamin C (struktur kimia pada Gambar 2.5) yang cukup tinggi sebagai antioksidan. Kategori antioksidan dikatakan cukup tinggi apabila memiliki kadar 20% atau lebih dan cukup baik apabila memiliki kadar diantara 10-19% dari *Recommended Daily Intake* (RDI) (FDA, 2008).



Gambar 2.3 Struktur kimia *sargachromenol* (Sumber: Barbosa *et al.*, 2014)



Gambar 2.4 Struktur kimia *phlorotannin* (Sumber: Koivikko, 2008)



Gambar 2.5 Struktur kimia vitamin C (Sumber: Gunawardena, 2015)

Alga coklat (*Sargassum sp.*) dilaporkan mengandung beberapa zat kimia, yakni protein, zat besi (Fe II), lemak, zinc (Zn), tembaga (Cu), mangan (Mn), dan senyawa aktif lainnya, seperti terpenoid, flavonoid, sterol, *sulfated polysaccharides*, polifenol, *sargaquinoic acids*, dan *pheophytine* yang diisolasi dari

beberapa spesies yang berbeda (Yende, 2014; Balboa *et al.*, 2016). Berbagai senyawa isolat ini menunjukkan aktivitas biologis yang beragam seperti analgetik, anti-inflamasi, antioksidan, neuroprotektif, anti-mikroba, anti-tumor, fibrinolitik, *immune-modulatory*, antikoagulan, anti virus, dan hepatoprotektor (Yende, 2014). Tabel 2.1 menunjukkan alga cokelat (*Sargassum sp.*) mengandung senyawa *sargachromenol* sebanyak 133 mg dalam 100 gram ekstrak metanol, dan *phlorotannin* sebanyak 148,97 mg dalam 100 gram alga kering, dan Vitamin C sebanyak 33,8% sampai 43,80% dalam 100 gram alga kering.

Tabel 2. 1 Daftar kandungan alga cokelat (*Sargassum sp.*)

Nama Zat Kimia	Total Kadar (mg dalam 100gr)
<i>Sargachromenol</i> *	133,33
<i>Phlorotannin</i> ³	148,97
Senyawa fenolat lain ¹	74,62 – 83,28
Zat Besi (Fe II) ¹	63,96 – 86,68
Vitamin C ²	33,80 – 43,80%
<i>Monounsaturated fatty acid</i> ²	22,50 – 36,10%
<i>Polyunsaturated fatty acid</i> ²	20,10 – 31,80%
<i>Acid insoluble residue</i> ²	20,00 – 30,00%
Protein ²	7,00 – 11,00%
Total lemak ²	1,60 – 3,20%
Zinc (Zn) ²	1,27 – 4,08
Tembaga (Cu) ²	0,80 – 2,30
Mangan (Mn) ²	0,48 – 1,21

(Sumber: ¹Namvar *et al.*, 2013; ²Balboa *et al.*, 2016; ³Montero *et al.*, 2016;).

*Kandungan dalam ekstrak metanol kasar (Seo, 2007)

Phlorotannin merupakan senyawa fenolat utama pada alga cokelat (*Sargassum sp.*) yang terbagi menjadi tiga bagian, yakni *phlorotannin* larut dari matriks alga atau *phlorotannin* sitoplasma, *phlorotannin* yang melekat pada membran atau dinding sel, dan *phlorotannin* yang dipancarkan ke air laut sekitarnya (Namvar *et al.*, 2013).

Ekstrak metanol alga cokelat genus *Sargassum sp.* memiliki potensi kandungan antioksidan yang lebih tinggi dibandingkan genus *Lyngaria sp.* pada uji *ABTS radical scavenging assay* (Butt *et al.*, 2013). Alga cokelat genus

Sargassum sp. juga memiliki persentase penghambatan DPPH yang lebih tinggi pada konsentrasi 300-600 ppm dibandingkan kulit manggis yang telah digunakan pada penelitian proteinuria sebelumnya (Anggraini, 2013; Siampa *et al.*, 2016).

2.2 Antioksidan

2.2.1 Definisi Antioksidan

Antioksidan adalah inhibitor pada proses oksidasi yang walaupun konsentrasinya sedikit memiliki efek fisiologis yang beragam pada tubuh (Mandal *et al.*, 2009). Antioksidan merupakan senyawa pemberi elektron (*electron donor*) atau reduktan dengan berat molekul kecil yang mampu menginaktivasi berkembangnya reaksi oksidasi dalam mencegah terbentuknya radikal bebas yang dapat merusak sel (Winarsi, 2007).

2.2.2 Mekanisme Kerja Antioksidan

Sistem antioksidan dalam tubuh manusia secara alami berfungsi untuk menangkal reaktivitas radikal bebas, yang secara terus menerus dibentuk sendiri oleh tubuh. Senyawa oksigen reaktif (ROS) pada kondisi yang melebihi jumlah antioksidan dalam tubuh tidak dapat dihambat oleh antioksidan tubuh sehingga menyerang komponen lipid, protein, maupun DNA yang mengakibatkan kerusakan-kerusakan yang disebut stres oksidatif (Winarsi, 2007). Mekanisme kerja antioksidan menghambat reaktivitas radikal bebas melalui tiga cara berikut.

- a. Mencegah atau menghambat pembentukan radikal bebas baru.
- b. Menginaktivasi atau menangkap radikal dan memotong propagasi (pemutusan rantai).
- c. Memperbaiki kerusakan oleh radikal.

2.2.3 Jenis Antioksidan

Antioksidan dapat bersifat enzimatis seperti superoksida dismutase (SOD), katalase (CAT), dan glutathion peroksidase), dan non-enzimatis seperti vitamin (misalnya E, C, A, dan betakaroten), atau senyawa fenolat lain (misalnya tanin,

glutation, flavonoid, albumin, bilirubin, seruloplasmin dan lain-lain) (Winarsi, 2007).

Antioksidan enzimatis merupakan sistem pertahanan utama terhadap kondisi stres oksidatif tubuh yang bekerja dengan cara mencegah terbentuknya senyawa radikal bebas baru (Winarsi 2007). Beberapa enzim bekerja dengan menguraikan ROS, yakni: SOD, CAT, peroksidase (POX), dan glutation peroksidase, dan menginaktivasi produk peroksidasi lipid (LP), yakni: glutation S-transferase, *phospholipid-hydroxyperoxide glutathione peroxidase* (PHGPX), dan *ascorbate peroxidase* (Blokhina *et al.*, 2003).

Antioksidan non-enzimatis yang berupa senyawa nutrisi maupun non-nutrisi disebut juga sebagai antioksidan sekunder karena dapat diperoleh dari asupan bahan makanan seperti vitamin C, E, A, dan betakaroten serta golongan senyawa fenolat seperti tanin, glutation, asam urat, bilirubin, albumin dan flavonoid. Kelompok antioksidan non-enzimatis ini berfungsi menangkap senyawa oksidan dan mencegah terjadinya reaksi berantai dalam proses pembentukan radikal bebas (Winarsi, 2007).

Antioksidan non-enzimatis dibagi dalam dua kelompok, yaitu.

- a. Antioksidan larut dalam lemak seperti vitamin E, vitamin A, flavonoid, quinon dan bilirubin.
- b. Antioksidan larut dalam air seperti vitamin C, asam urat, protein pengikat logam dan protein pengikat heme.

2.2.4 Vitamin E (Tokoferol dan Tokotrienol)

Vitamin E merupakan nama generik untuk dua famili senyawa, tokoferol dan tokotrienol. Vitamin E terdiri atas empat isomer (alfa, beta, gama dan delta) yang secara struktural tersusun oleh kelompok inti *chromene* dan rantai *phytyl* (Blokhina *et al.*, 2003). *Chromene* dari gugus tokotrienol (*Sargachromenol*) ditemukan dalam konsentrasi tinggi pada alga cokelat dalam genus *Sargassum* (Seo *et al.*, 2007).

Vitamin E berfungsi sebagai antioksidan larut lipid di membran sel dan penting dalam mempertahankan fluiditas membran sel. Fungsi utama Vitamin E

sebagai antioksidan pemutus rantai menangkap radikal bebas dengan donor atom hidrogen pada membran sel dan lipoprotein plasma yang bereaksi dengan radikal peroksida lipid oleh peroksidasi asam lemak tak jenuh ganda. Produk radikal tokoferoksil relatif yang dihasilkan tidak bersifat reaktif dan dapat direduksi kembali menjadi tokoferol oleh vitamin C dari plasma. Radikal monodehidroaskorbat yang terbentuk kemudian mengalami reaksi enzimatik dan non-enzimatik menghasilkan askorbat dan dehidroaskorbat yang bukan senyawa radikal. Stabilitas radikal bebas memiliki arti bahwa senyawa ini dapat terus masuk ke dalam sel dan berpotensi memicu reaksi berantai sehingga memiliki efek bifasik pro-oksidan terutama pada konsentrasi tinggi (Murray *et al.*, 2006).

2.2.5 Vitamin C

Vitamin C (asam askorbat) merupakan antioksidan kuat yang paling banyak diteliti. Vitamin C bereaksi dengan radikal bebas dengan mendonasikan elektron dalam jumlah yang banyak pada reaksi enzimatik maupun non-enzimatik sehingga menjadi antioksidan utama yang melawan ROS (Blokhina *et al.*, 2003).

Vitamin C dapat memecah langsung senyawa superoksida, radikal hidroksil dan oksigen tunggal, mereduksi H_2O_2 menjadi air melalui reaksi peroksidasi askorbat, dan meregenerasi bentuk radikal tokoferoksil (vitamin E yang berikatan dengan radikal bebas) kembali menjadi Vitamin E sehingga dapat melindungi membran sel (Murray *et al.*, 2006). Vitamin C memiliki fungsi non-antioksidan, seperti: pengaturan dalam pembelahan sel, tahapan siklus sel dari fase G_1 hingga fase S (sintesis sel), dan pemanjangan sel (Blokhina *et al.*, 2003).

2.2.6 Senyawa Fenolat Phlorotannin

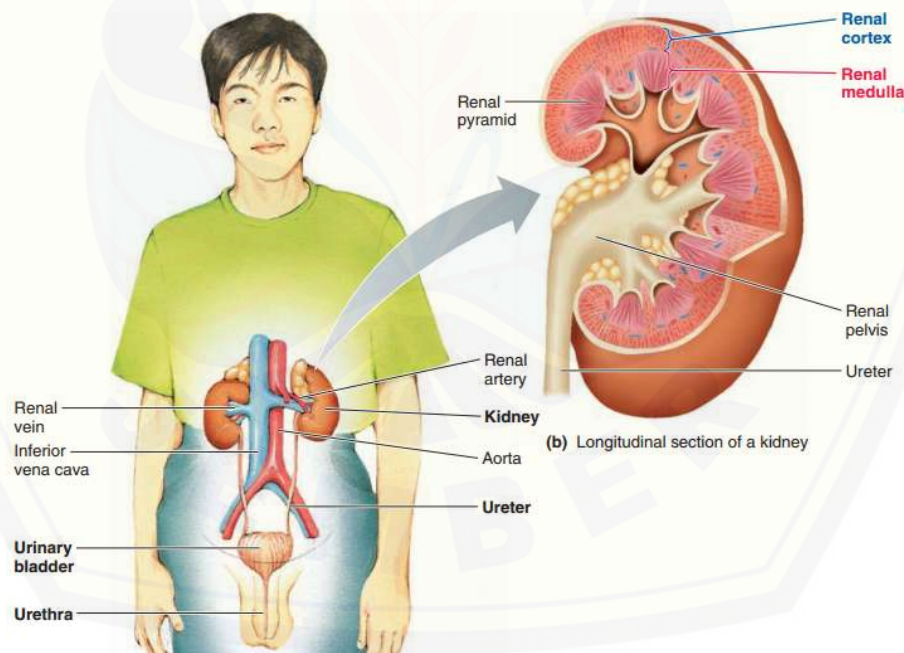
Senyawa fenolat (polifenol) merupakan metabolisme sekunder yang beragam (tanin, flavonoid, ester hidroksinamat, dan lignin) dan banyak ditemukan pada tumbuhan. Polifenol sebagai antioksidan berperan dalam donor ion hidrogen atau elektron pada senyawa radikal bebas menjadi bentuk yang lebih stabil (Blokhina *et al.*, 2003). *Phlorotannin*, salah satu senyawa fenolat golongan tanin dari alga coklat bersifat antioksidan 10-100 kali lebih kuat dan lebih stabil

dengan waktu paruh hingga 12 jam dalam tubuh dibandingkan waktu paruh senyawa polifenol lain yang hanya 30-180 menit (Namvar *et al.*, 2013).

2.3 Ginjal (Renal)

2.3.1 Anatomi Ginjal

Menurut Guyton dan Hall (2008:326) dua ginjal terletak pada dinding posterior abdomen, di luar rongga peritoneum (Gambar 2.6). Setiap ginjal yang berbentuk kacang pada orang dewasa memiliki berat sekitar 150 gram atau kira-kira seukuran kepalan tangan. Sisi medial setiap ginjal merupakan daerah lekukan yang disebut *hilum* menjadi tempat lewatnya arteri dan vena renalis, cairan limfatik, suplai saraf, dan ureter yang membawa urin akhir dari ginjal ke kandung kemei, tempat urin disimpan hingga dikeluarkan. Ginjal dilingkupi oleh selubung fibrosa yang keras untuk melindungi struktur dalamnya yang rapuh.



Gambar 2.6 Anatomi Ginjal (Sumber: Sherwood, 2010)

Ginjal yang dipotong secara longitudinal membentuk dua susunan utama yaitu korteks di bagian luar dan medula di bagian dalam. Medula ginjal terbagi menjadi beberapa masa jaringan berbentuk kerucut yang disebut piramida ginjal. Dasar dari setiap piramida dimulai pada perbatasan korteks dan medula serta

berakhir di papila, yang menonjol ke dalam ruang pelvis ginjal, berupa sambungan dari ujung ureter bagian atas yang berbentuk corong. Batas luar pelvis terbagi menjadi kantong-kantong dengan ujung terbuka yang disebut kalises mayor, yang meluas ke bawah dan terbagi dalam kalises minor, yang mengumpulkan urin dari tubulus setiap papila (Guyton dan Hall, 2008). Arteri renalis memasuki ginjal melalui hilum dan kemudian bercabang-cabang secara progresif membentuk arteri interlobaris, arteri arkuata, arteri interlobaris (juga disebut arteri radialis), dan arteriol aferen (Guyton dan Hall, 2008).

2.3.2 Histologi Ginjal

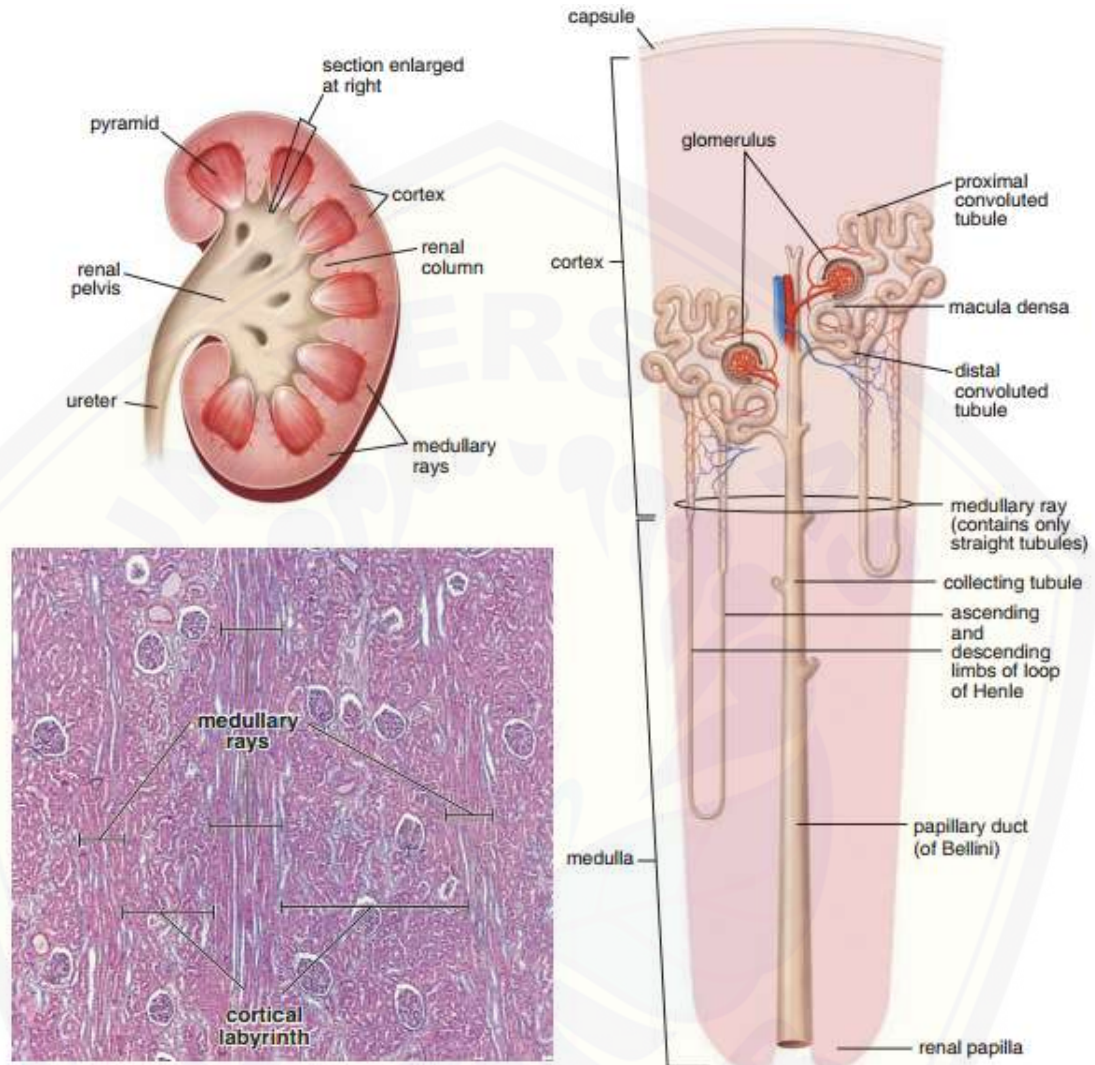
Ginjal memiliki unit fungsional secara mikroskopik yang disebut tubulus uriniferus. Tubulus uriniferus terdiri atas nefron (*nephronum*) yang merupakan unit fungsional ginjal terkecil dan duktus koligentes yang menampung curahan dari nefron (Gambar 2.7). Korteks ginjal mengandung jutaan nefron yang terbagi lagi menjadi dua komponen, yakni korpuskulum ginjal (*corpusculum renale*) dan tubulus ginjal (*tubulus renale*) (Eroschenko, 2013).

Korpuskulum ginjal terletak di antara *stratum parietale* dan *stratum viscerale* kapsul glomerulus. Setiap korpuskulum ginjal mempunyai *polus vascularis* sebagai tempat masuknya arteriol aferen dan keluarnya arteriol eferen dari korpuskulum serta *polus urinarius* pada ujung yang berlawanan (Eroschenko, 2013).

Korteks ginjal tersusun oleh jutaan nefron, sebagai unit fungsional terkecil ginjal. Nefron terdiri atas glomerulus, tubulus kontortus (TC) proksimalis, *Loop of Henle*, tubulus kontortus (TC) distalis, dan duktus koligentes. Medula ginjal yang terletak lebih profundus banyak terdapat duktuli atau saluran kecil yang mengalirkan hasil ultrafiltrasi berupa urin (Purnomo, 2012).

Korpuskulum ginjal terdiri atas suatu kumpulan kapiler yang disebut glomerulus dan dikelilingi oleh dua lapis sel epitel yang disebut kapsul glomerulus (*capsula Bowman*) (Gambar 2.8). *Stratum viscerale* atau lapisan dalam dari kapsul glomerulus terdiri atas sel epitel khusus bercabang disebut podosit (*podocytus*). Podosit berbatasan dan membungkus kapiler glomerulus.

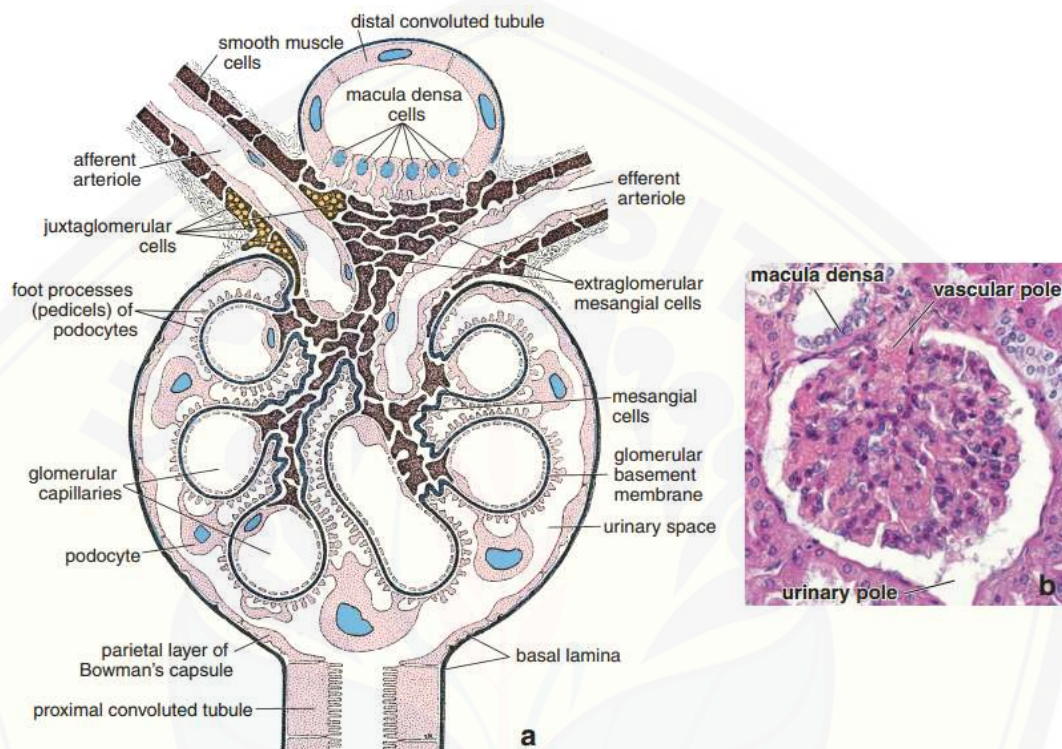
Stratum parietale atau lapisan luar kapsul glomerulus terdiri atas epitel selapis pipih (Eroschenko, 2013).



Gambar 2.7 Unit fungsional ginjal (Sumber: Ross, 2011)

Sel khusus lain yang melekat pada kapiler dan juga glomerulus yaitu sel mesengial (*mesangiocytus*). Sel mesengial membentuk matriks ekstraselular dan membentuk penunjang struktural untuk kapiler glomerulus. Sel mesengial berfungsi sebagai makrofag di daerah intraglomerular dan memfagosit bahan yang tertimbun di saringan glomerulus, sehingga mencegah penyumbatan oleh debris. Sel ini juga terlihat kontraktil dan dapat mengatur aliran darah glomerulus akibat adanya reseptor untuk bahan-bahan vasoaktif (Eroschenko, 2013). Matriks

ekstraseluler (ECM) terdiri atas cairan jaringan, substansia fundamentalis (*ground substance*) tempat terdapatnya berbagai serat protein (kolagen, retikular, dan elastik), berfungsi untuk mengikat, menambat, dan menyokong berbagai sel, jaringan, dan organ tubuh (Eroschenko, 2013).



Keterangan:

- a. Diagram skematik korpuskulum ginjal
- b. Gambaran mikroskopik dengan pewarnaan HE

Gambar 2.8 Struktur Histologis Korpuskulum Ginjal (Sumber: Ross, 2011)

Ross (2011:705) mengatakan bahwa korpuskulum ginjal yang berukuran 200 μm berperan dalam proses filtrasi pembentukan urin karena memiliki barier filtrasi glomerulus yang terdiri atas 3 komponen, yakni:

- a. Endotel kapiler glomerulus yang memiliki pori-pori atau fenestrasi yang lebih besar (berdiameter 70-90 nm) dibanding kapiler pada organ lain. Sel endotel pada kapiler glomerulus mengandung pintu air *aquaporin-1* (AQP-1) yang berfungsi untuk mempercepat filtrasi air pada epitelnya.
- b. *Glomerular basement membrane* (GBM) berupa basal lamina tebal (300-370nm) yang merupakan gabungan dari endotel dan sel podosit. GBM terdiri

atas jaringan kolagen tipe IV, yakni laminin, nidogen atau *entactin* berupa golongan proteoglikan seperti agrin dan perlecan, serta *multiadhesive glycoproteins*.

- c. *Filtration slit* diantara *foot processes* dari sel podosit yang membentuk stratum viseralis kapsul Bowman. Sel podosit memanjang dan membentuk tonjolan-tonjolan kaki (*foot processes*) di sekitar kapiler glomerulus. Sel-sel podosit pada masa embrionik mengalami pembelahan primer untuk membentuk tonjolan atau prosesus di sekitar kapiler dan pembelahan sekunder untuk membentuk *pedicles* atau *foot processes*. *Filtration slit* merupakan celah selebar 40 nm diantara *foot processes* di antara sel-sel podosit yang berdampingan dan memiliki diafragma yang sangat tipis dan meluas diatas GBM.

2.3.3 Fisiologi Ginjal dalam Pembentukan Urin

Pembentukan urin di ginjal terbagi dalam tiga proses dasar, yakni: filtrasi glomerulus, reabsorpsi tubulus dan sekresi tubulus (Guyton dan Hall, 2008).

a. Filtrasi Glomerulus

Pembentukan urin dimulai dengan filtrasi sejumlah besar cairan yang hampir bebas protein dari kapiler glomerulus ke kapsula Bowman. Sebagian besar zat dalam plasma, kecuali protein, difiltrasi secara bebas sehingga konsentrasinya pada filtrat glomerulus dalam kapsula Bowman hampir sama dengan plasma. Ketika cairan yang telah difiltrasi meninggalkan kapsula Bowman dan mengalir melalui melewati tubulus, cairan ini mengalami perubahan akibat adanya reabsorpsi air dan zat terlarut spesifik kembali ke dalam darah atau sekresi zat-zat lain dari kapiler peritubulus ke dalam tubulus (Guyton dan Hall, 2008).

b. Reabsorpsi dan Ekskresi Tubulus

Sebagian besar zat yang harus dibersihkan dari darah, terutama produk akhir metabolisme seperti urea, kreatinin, asam urat, dan garam-garam asam urat, hanya sedikit direabsorpsi dan banyak diekskresi dalam urin. Zat asing dan obat-obatan juga sedikit direabsorpsi tetapi disekresi dari darah ke dalam tubulus dengan laju ekskresi tinggi. Elektrolit seperti ion natrium, klorida, dan bikarbonat

direabsorpsi dalam jumlah besar, sehingga hanya sejumlah kecil saja yang tampak dalam urin. Zat nutrisi tertentu, seperti asam amino dan glukosa, direabsorpsi secara lengkap dari tubulus dan tidak muncul dalam urin meskipun sejumlah besar zat tersebut difiltrasi oleh kapiler glomerulus (Guyton dan Hall, 2008).

Pembentukan urin merupakan fungsi ginjal yang paling esensial dalam mempertahankan homeostatis tubuh. Suplai darah yang mengalir menuju kedua ginjal normalnya sekitar 22% dari curah jantung, atau 1100 ml/menit (Guyton dan Hall, 2008). Sebanyak 180 liter cairan tubuh yang difiltrasi oleh glomerulus dan menghasilkan urin sebanyak 1-2 liter setiap harinya (Purnomo, 2011). Pada keadaan tertentu aliran darah ke ginjal dapat meningkat hingga 30%, misalnya setelah latihan fisik, dan menurun hingga 12% dari curah jantung. Pemeriksaan urinalisis menunjukkan nilai normal urin pada Tabel 2.2.

Tabel 2.2 Nilai normal urinalisis

Parameter	Nilai Normal
Berat jenis spesifik	1,001-1,035
Deskripsi	Kekuning-kuningan, kuning
pH	4,5-8,5
Protein	o-terlacak (Tr); < 0,5 mg/L
Glukosa	Negatif
Keton	Negatif
Darah	Negatif
Sedimen urin	RBC, WBC, sel epitel, bakteri
Pewarnaan Gram	Negatif

Sumber: Pedoman Interpretasi Data Klinik (Depkes, 2011)

2.3.4 Filtrasi Protein pada Ginjal

Sejumlah besar protein dalam darah melewati kapiler glomerulus tetapi tidak memasuki urin. Muatan dan selektivitas dinding glomerulus mencegah transportasi albumin, globulin, dan protein dengan berat molekul besar lainnya untuk menembus dinding glomerulus. Protein yang lebih kecil (<20 kDal) secara bebas disaring tetapi direabsorpsi oleh tubulus proksimal. Pada individu normal ekskresi kurang dari 150 mg/24 jam dari protein total dan albumin hanya sekitar 30 mg/24 jam. Sisa protein pada urin akan diekskresi oleh tubulus (*Tamm Horsfall*,

imunoglobulin A, dan urokinase) atau sejumlah kecil β -2 mikroglobulin, apoprotein, enzim dan hormon peptida (Sudoyo *et al.*, 2009).

Glomerulus endotel pada kondisi normal membentuk sistem barier yang menghalangi sel maupun partikel lain menembus dindingnya. Membran basalis glomerulus menangkap protein besar (>100 kDal) sementara *foot processes* dari epitel/podosit akan memungkinkan lewatnya air dan zat terlarut kecil untuk traspor melalui saluran yang sempit (*filtration slit*). Saluran ini ditutupi oleh anion glikoprotein yang kaya glutamat, aspartat dan asam silat yang bermuatan negatif pada pH fisiologis. Muatan negatif akan menghalangi traspor molekul anion seperti albumin (Sudoyo *et al.*, 2009).

2.4 Nefropati Diabetik (ND)

2.4.1 Definisi ND

Nefropati Diabetik (ND) didefinisikan sebagai sindrom klinis pada pasien diabetes melitus yang ditandai dengan albuminuria menetap (>300 mg/24 jam atau >200 μ g/menit) pada minimal dua kali pemeriksaan dalam kurun waktu 3 sampai 6 bulan (Sudoyo *et al.*, 2009). Kerusakan kapiler ginjal secara histologis menunjukkan gambaran penebalan membran basalis, eskpansi mesangium (berupa akumulasi matriks ekstra seluler dan penimbunan kolagen tipe IV, laminin dan fibronektin) yang kemudian akan menimbulkan glomerulosklerosis noduler dan/atau difus, *hyalinosis* arteriolar aferen dan eferen, serta fibrosis tubulus interstisialis (Sudoyo *et al.*, 2009). Nefropati Diabetik ditandai dengan hilangnya sebagian fungsi ginjal yang berhubungan dengan sindroma nefrotik, terdiri atas proteinuria, glomerulosklerosis, hipertrofi nefron, hilangnya sel podosit, penurunan GFR, dan retensi cairan (Kaur *et al.*, 2015).

2.4.2 Patofisiologi ND

Hiperglikemia pada diabetes melitus tipe 1 maupun tipe 2 akan memicu glukosa untuk membentuk reaksi non-enzimatik dengan residu amino menjadi basa Schiff glikasi hingga mencapai bentuk yang stabil reversibel disebut produk amadori. Kondisi hiperglikemia yang tidak terkontrol menyebabkan reaksi non-

enzimatik ini meningkat dan menghasilkan *Advanced Glycation End Products* (AGEs) yang merupakan radikal bebas ireversibel (Sudoyo *et al.*, 2009)

AGEs yang berikatan dengan reseptornya (RAGE) pada endotel dan sel mesangial di glomerulus dapat menghambat aktivitas Nitric Oxide (NO). Proses ini akan terus berlanjut sampai terjadi ekspansi mesangium dan pembentukan nodul serta fibrosis tubulointerstisial sesuai dengan tahap Mogensen (Tabel 2.3). AGEs juga berperan dalam ekspresi adhesi molekul seperti penarikan sel-sel mononuklear, hipertrofi sel, dan sintesis matriks ekstraseluler (Luo *et al.*, 2015).

AGEs yang telah terbentuk memicu respons inflamasi dan apoptosis sel glomerulus ginjal, meningkatkan pembentukan ECM, mengubah TGF- β 1 dan *Vascular Endothelial Growth Factor* dalam sitokin sebagai respons inflamasi, mengakibatkan penipisan sel podosit, dan meningkatkan permeabilitas kapiler glomerulus. Hipertensi yang timbul bersama kerusakan ginjal juga akan mendorong sklerosis pada ginjal dan meningkatkan permeabilitas kapiler intraglomerulus. Terjadinya hipertrofi dan hiperfiltrasi akibat peningkatan permeabilitas pembuluh darah glomerulus dapat meningkatkan ekskresi albumin dalam urin sehingga menimbulkan peningkatan derajat proteinuria (Sudoyo *et al.*, 2009). Pada awalnya ND tidak menunjukkan gejala, tetapi dalam prosesnya gejala yang timbul berupa mudah lelah, anemia, tidak dapat berpikir jernih, dan gangguan keseimbangan elektrolit yang berbahaya (Germain *et al.*, 2015).

Tabel 2. 3 Tahapan nefropati diabetik Mogensen

Tahap	Kondisi Ginjal	AER	LFG	TD	Prognosis
1	Hipertrofi Hiperfungsi	N	↑	N	Reversibel
2	Kelainan struktur	N	↑	↑/N	Mungkin reversibel
3	Mikroalbuminuria persisten	20-200 mg /menit	↑/N	↑	Mungkin reversibel
4	Makroalbuminuria Proteinuria	> 200 mg /menit	Rendah	Hipertensi	Mungkin bisa stabilisasi
5	Uremia	Tinggi/Rendah	< 10 ml /menit	Hipertensi	Kesintasan 2 tahun +50%

AER = *Albumin Excretion Rate*, LFG = Laju Filtrasi Glomerulus (GFR), N = Normal, TD = Tekanan Darah (Sumber: Sudoyo *et al.*, 2009).

2.4.3 Proteinuria

a. Definisi Proteinuria

Proteinuria adalah adanya protein di dalam urin manusia yang melebihi nilai normalnya yaitu lebih dari 150 mg/24 jam atau pada anak-anak lebih dari 140 mg/m² (Sudoyo *et al.*, 2009). Kadar proteinuria normal pada urin sewaktu berada pada konsentrasi 1-14 mg/dl (Burtis dan Ashwood, 1994). Ekskresi proteinuria yang berlebih dari nilai normal menjadi tanda awal untuk penyakit ginjal yang serius, salah satunya nefropati diabetik. Sudoyo *et al.* (2009:956) menjelaskan proteinuria persisten sebagai proteinuria yang menetap selama tiga bulan atau lebih walaupun jumlahnya hanya sedikit di atas nilai normal. Kadar proteinuria yang melebihi 3500 mg/24 jam disebut proteinuria masif dengan kandungan mayoritas albumin.

Pada kondisi normal, walaupun terdapat sejumlah protein yang cukup besar atau beberapa gram protein plasma yang melewati nefron setiap hari, hanya sedikit yang muncul di urin. Hal ini disebabkan dua faktor utama yang berperan, yaitu filtrasi glomerulus dan reabsorpsi protein tubulus (Sudoyo *et al.*, 2009).

b. Penyebab Proteinuria

Empat mekanisme patofisiologis proteinuria yang meningkat dijelaskan oleh Sudoyo *et al.* (2009:956) dengan cara sebagai berikut:

- 1) Perubahan permeabilitas glomerulus yang mengikuti peningkatan filtrasi dari protein plasma normal terutama albumin.
- 2) Kegagalan tubulus mereabsorpsi protein normal yang difiltrasi.
- 3) Filtrasi glomerulus dari sirkulasi abnormal, *Low Molecular Weight Protein* (LMWP) dalam jumlah melebihi kapasitas reabsorpsi tubulus.
- 4) Sekresi yang meningkat dari makuloprotein uroepitel dan sekresi IgA (Imunoglobulin A) dalam respons untuk inflamasi.

c. Metode Pemeriksaan Proteinuria

Metode yang digunakan untuk mengukur kadar proteinuria sangat beragam. Metode dipstik atau carik celup merupakan salah satu metode pengukuran proteinuria yang praktis dan efisien karena hanya membutuhkan 1-2 ml sampel urin dan menunjukkan hasil dalam 60 detik. Dipstik sangat sensitif

terhadap albumin dan kurang sensitif terhadap hemoglobin, globulin, dan mukoprotein (Henry *et al.*, 2001). Kelemahan metode dipstik ialah dapat memberikan hasil positif palsu bila $\text{pH} > 7,0$, urin yang sangat pekat atau terkontaminasi darah. Urin yang sangat encer atau proteinuria yang tidak mengandung albumin dalam jumlah yang cukup banyak menutupi proteinuria dengan hasil negatif palsu. Beberapa penyakit ginjal dilaporkan dapat menunjukkan hasil proteinuria negatif palsu, yakni: protein *Bence Jones* pada pasien multipel mieloma, penyakit ginjal polikistik, penyakit ginjal obstruksi, penyakit ginjal akibat obat-obatan analgesik, dan kelainan kongenital kista (Sudoyo *et al.*, 2009).

Pengukuran proteinuria menggunakan dipstik atau carik celup menunjukkan angka spesifisitas dan sensitivitas yang beragam dari berbagai sumber. Adapun penelitian Chotayaporn, *et al.* (2011:17) mengatakan sensitivitas pemeriksaan proteinuria metode carik celup berada pada rentang 56–80% dengan spesifisitas 67–92%. Schollum *et al.*, (2013) menyebutkan tingginya spesifisitas dipstik (97–100%) dalam mengukur proteinuria, tetapi memiliki sensitivitas yang rendah (32–46%) sehingga individu dengan diagnosis penyakit ginjal memerlukan metode yang lebih sensitif seperti *Albumin Creatinin Ratio* (ACR). Metode dipstik atau carik celup dapat mendeteksi sebagian besar albumin dan sangat sensitif terhadap mikroalbuminuria (30–300 mg/24 jam) yang merupakan pertanda awal dari penyakit glomerulus yang terlihat untuk memprediksi jejas glomerulus pada awal Nefropati Diabetik (Sudoyo *et al.*, 2009).

Reaksi yang dihasilkan dalam pengukuran derajat proteinuria dengan metode dipstik dikenal sebagai *protein error* dari indikator pH dimana indikator yang mengalami buffer akan berubah warna sesuai dengan kandungan protein ketika indikator melepas ion hidrogen untuk berikatan dengan protein. Warna hijau yang dihasilkan menunjukkan kadar proteinuria pada pH yang stabil. Perubahan warna dari kuning hingga kuning-hijau menunjukkan hasil negatif, dan hijau menjadi hijau-biru sebagai hasil positif. Perubahan warna yang melebihi warna *trace* pada dipstik (kandungan protein sekitar 15 mg/dl) menunjukkan proteinuria yang signifikan sehingga perlu untuk pemeriksaan klinis untuk

mengevaluasi signifikansi dari *trace*. Dipstik dengan merk Verify dapat mengukur proteinuria pada kadar terendah 7,5-15 mg/dL (Henry *et al.*, 2001).

Metode untuk mengukur kadar proteinuria secara kuantitatif dapat menggunakan presipitasi dengan asam sulfosalisilat atau asam trikloroasetat. Metode presipitasi atau yang dikenal sebagai metode Esbach memerlukan sampel urin 24 jam yang kurang praktis. Sebanyak 10 ml dari urin sampel 24 jam yang telah diaduk diambil pada tabung Esbach hingga tanda “U”, dicampur dengan 20 ml reagen Esbach hingga tanda “R” kemudian ditutup dan dibolak balik agar tercampur sempurna kemudian dibiarkan pada suhu ruang selama 24 jam selanjutnya dibaca endapan yang dihasilkan dalam satuan gram per liter. Metode Esbach dinilai kurang akurat pada proteinuria derajat ringan karena hasil yang ditunjukkan berada dalam rentang setengah hingga dua kali jumlah proteinuria yang sebenarnya (Rosenfeld, 1999).

d. Interpretasi Klinik Derajat Proteinuria

Kadar proteinuria sebanyak 150 mg/24 jam atau sekitar 1-14 mg/dl dapat diekskresi oleh ginjal yang normal (Burtis dan Ashwood, 1994; Sudoyo *et al.*, 2009). Proteinuria dalam kandungan normal urin terdiri atas protein yang diekskresi oleh tubulus (*Tamm Horsfall*, Imunoglobulin A dan Urokinase) atau sejumlah kecil β -2 mikroglobulin, apoprotein, enzim, dan hormon peptida. Proteinuria fisiologis ini bersifat sementara pada keadaan demam tinggi, gagal jantung, latihan fisik yang kuat (terutama lari maraton dapat mencapai 1 gram/24 jam), pasien dalam keadaan transfusi darah/plasma, pasien yang kedinginan, pasien hematuria dengan proteinuria masif (bukan karena kebocoran protein dari glomerulus tetapi karena banyaknya protein dari eritrosit yang pecah dalam urin). Proteinuria fisiologis dapat terjadi pada remaja dan juga ortostatik proteinuria dapat timbul karena terlalu lama berdiri (Sudoyo *et al.*, 2009).

Derajat proteinuria diklasifikasikan oleh *Kidney Dialysis Foundation* (KDF) dalam beberapa tingkatan dalam Tabel 2.4 berikut.

Tabel 2. 4 Derajat proteinuria

Derajat Proteinuria	Kadar (mg/24 jam)
Mikroalbuminuria	30-150
Proteinuria ringan	150-500
Proteinuria sedang	500-1.000
Proteinuria berat	>1.000

(Sumber: Kidney Dialysis Foundation, 2010)

KDF menjelaskan beberapa kondisi klinis yang menyebabkan proteinuria, yakni: (1) penyakit ginjal primer yang disebut nefritis oleh berbagai sebab, (2) penyakit ginjal sekunder karena diabetes, hipertensi, kanker, kehamilan, dan obat-obatan, dan (3) penyebab lain seperti berlebihnya berat badan, dan gagal jantung. Proteinuria masif dengan total kadar proteinuria di atas 3 gram/24 jam dapat menyebabkan sindrom nefrotik (hipoalbuminemia, hiperlipidemia, dan edema) yang menunjukkan gejala pembengkakan kaki, distensi perut dan susah bernapas pada saat berbaring (KDF, 2010).

Kondisi mikroalbuminuria (kadar proteinuria 30-300 mg/24 jam) biasanya terdapat pada pasien diabetes melitus (DM) dengan hipertensi dan beberapa penyakit glomerulonefritis (seperti glomerulonefritis proliferatif mesangial difus). Mikroalbuminuria merupakan tanda untuk proteinuria klinis yang disertai penurunan GFR dan penyakit kardiovaskular sistemik serta target keberhasilan pengobatan. Mikroalbuminuria berperan penting pada diagnosis awal dan pencegahan penyakit ginjal dan kardiovaskuler. Pasien diabetes melitus tipe I maupun tipe II penting untuk selalu kontrol ketat gula darah, tekanan darah, dan mikroalbuminuria (Sudoyo *et al.*, 2009).

Proteinuria terisolasi merupakan sejumlah protein yang ditemukan dalam urin tanpa gejala pada pasien sehat yang tidak mengalami gangguan fungsi ginjal atau penyakit sistemik. Proteinuria terisolasi hampir selalu ditemukan secara kebetulan dengan sedimen urin normal yang bersifat menetap/persisten maupun sementara yang mungkin disebabkan oleh posisi lordotik tubuh pasien (proteinuria ortostatik). Pemeriksaan pencitraan ginjal tidak ditemukan gangguan abnormal ginjal atau saluran kemih dan tidak terdapat riwayat gangguan ginjal

sebelumnya. Total ekskresi proteinuria pada proteinuria terisolasi dapat mencapai kurang dari 2 gram/24 jam. Proteinuria terisolasi dibagi dalam 2 kategori: 1). Jinak; fungsional, idiopatik, transien/tidak menetap, ortostatik, dan intermiten; 2). Yang mungkin tidak ortostatik dan timbul secara persisten (Sudoyo *et al.*, 2009)

Schollum (2013:17) menjelaskan beberapa kondisi yang dapat dipertimbangkan pada hasil positif pemeriksaan derajat proteinuria menggunakan metode dipstik sebagai berikut.

- a. Umum ditemukan pada layanan kesehatan primer:
 - Diabetes,
 - Hipertensi,
 - Obesitas, dan
 - Obat-obatan seperti NSAID.
- b. Kondisi sementara/transien:
 - Kontaminasi sekret vagina,
 - Infeksi saluran kemih,
 - Proteinuria ortostatik,
 - Latihan fisik berat, dan
 - Demam.
- c. Diagnosis banding:
 - Gagal jantung kongestif,
 - Glomerulonefritis,
 - Sindrom nefrotik,
 - Kerusakan tubulus akut, dan
 - Pre-eklamsia.
- d. Kondisi yang dapat dipertimbangkan:
 - Penyakit tubulus kongenital, seperti penyakit ginjal polistikistik,
 - Multipel myeloma,
 - *Systemic Lupus Erythematosus* (SLE),
 - Mioglobinuria,
 - Hemoglobinuria, dan
 - Amiloidosis.

2.5 Model Hewan Coba Nefropati Diabetik

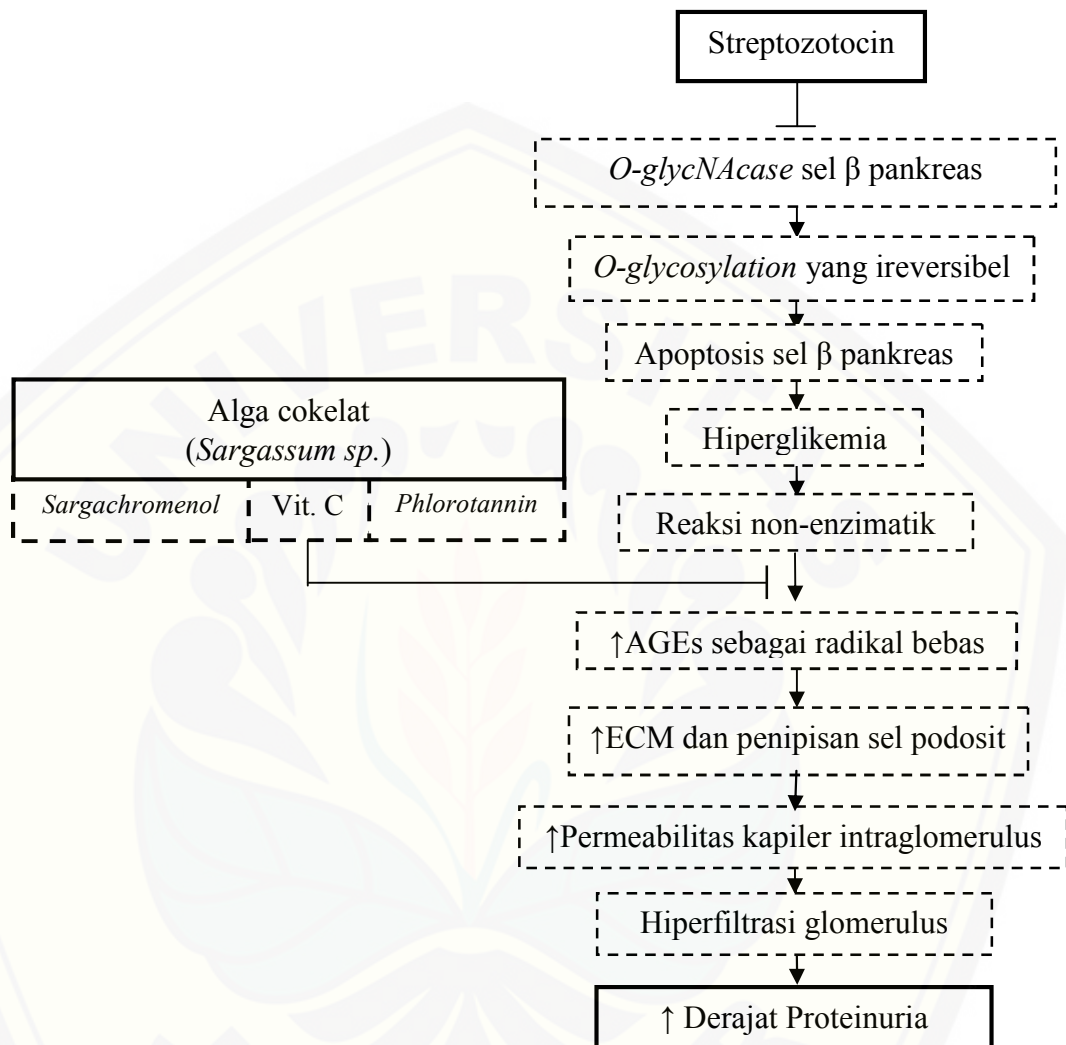
Streptozotocin (STZ) dan Aloksan merupakan dua senyawa yang secara luas digunakan untuk menginduksi diabetes pada hewan coba. Aloksan dengan struktur pirimidin yang mirip dengan asam urat dan glukosa dapat menginduksi diabetes pada kelinci, tikus, anjing, kucing, kambing, monyet, burung dara dan mencit. Aloksan memiliki efek sitotoksik yang kurang spesifik terhadap sel beta pankreas dan dilaporkan memiliki perubahan induksi yang reversibel pada beberapa organ seperti ginjal dan medula adrenalis ketika dosis yang digunakan lebih tinggi dari seharusnya untuk menginduksi diabetes. Streptozotocin merupakan senyawa sitotoksik yang lebih spesifik terhadap sel beta pankreas dan dilaporkan dapat menginduksi diabetes pada tikus, mencit, anjing, babi, dan monyet. Streptozotocin dinilai sebagai agen penginduksi diabetes yang lebih efektif dibandingkan dengan aloksan (Sima, 2005).

Perubahan metabolisme awal yang diakibatkan oleh Streptozotocin berupa hiperglikemia dengan kadar serum keton dan asam lemak bebas dalam plasma tetap normal dibandingkan dengan aloksan yang meningkatkan semua parameter metabolik. Thopson dan Mikhailidis mengatakan bahwa tikus yang diinduksi hiperglikemia oleh streptozotocin menunjukkan beberapa persamaan dengan diabetes melitus pada manusia sehingga dinilai dapat bermanfaat dalam penelitian untuk menemukan terapi diabetes melitus (Sima, 2005:135).

Injeksi streptozotocin secara *single dose* yang dilakukan pada hewan coba yang telah berpuasa dapat menginduksi diabetes yang dapat dikontrol tanpa insulin hingga dua tahun. Angka kematian hewan coba dapat meningkat hingga 75% karena kejang dan koma yang ditimbulkan hipoglikemia berat akibat kerusakan sel beta pankreas dalam 48 jam pertama setelah induksi sehingga perlu kontrol glukosa darah dengan pemberian dekstroza 5% yang dapat menurunkan angka kematian menjadi 23% (Wellman dan Bajada dalam Sima, 2005). Streptozotocin pada dosis 55 mg/kgBB dapat menginduksi Nefropati Diabetik (ND) pada tikus wistar dalam waktu tiga minggu setelah induksi yang ditandai dengan timbulnya peningkatan albuminuria dan serum kreatinin serta kerusakan secara histologis pada ginjal (Tesch dan Allen, 2007).

2.6 Kerangka Konsep

Kerangka konsep pada penelitian ini ditunjukkan pada Gambar 2.9.



Keterangan:

→ : Memicu

⊥ : Menghambat

▭ : Diteliti

⋯ : Tidak diteliti

Gambar 2.9 Kerangka konsep penelitian

Kerangka konsep penelitian pada Gambar 2.9 menjelaskan bahwa streptozotocin yang diinjeksikan intraperitoneal akan diserap masuk ke sistem peredaran darah dan menuju sel β pankreas melalui GLUT 2. Streptozotocin yang merupakan analog *N-acetylglucosamine* (GlcNAc) menghambat enzim *O-GlcNAcase* yang bertugas untuk melepas O-GlcNAc dari protein. Hal ini menyebabkan terjadinya *O-glycosylation* pada protein intrasel secara ireversibel dan apoptosis sel β pankreas. Rusaknya sel β pankreas menginduksi timbulnya hiperglikemia yang tidak terkontrol sehingga menimbulkan reaksi non enzimatis antara glukosa dengan zat sisa dalam tubuh seperti sisa protein maupun lemak. Senyawa hasil reaksi non enzimatis ini membentuk *Advanced Glycation End Products* (AGEs) yang merupakan salah satu bentuk radikal bebas. AGEs yang berikatan dengan reseptornya (RAGE) pada endotel dan sel mesangial glomerulus dapat menghambat aktivitas *Nitric Oxide* (NO) sehingga mengganggu sintesis sel endotel. AGEs dapat mengaktifasi NF- κ B sehingga menimbulkan inflamasi pada ginjal yang berakibat pada penipisan sel podosit. Selain itu, AGEs juga mengubah GF- β 1 dan *Endotel Vaskuler Growth Factor* yang dapat meningkatkan *Extra Cellular Matrix* (ECM). Penipisan sel podosit dan peningkatan ECM meningkatkan permeabilitas kapiler intra glomerulus yang menimbulkan hiperfiltrasi glomerulus dan menyebabkan peningkatan derajat proteinuria sebagai salah satu komplikasi Nefropati Diabetik.

Alga cokelat (*Sargassum sp.*) mengandung beberapa senyawa antioksidan, yakni *sargachromenol* yang merupakan salah satu derivat vitamin E, vitamin C, dan *phlorotannin* yang merupakan senyawa fenolat golongan tanin. Ketiga senyawa ini berperan sebagai antioksidan dengan mendonorkan atom hidrogen maupun elektron dalam menstabilkan radikal bebas termasuk AGEs sehingga peningkatan derajat proteinuria dalam Nefropati Diabetik dapat dicegah.

2.7 Hipotesis Penelitian

Hipotesis pada penelitian ini adalah terdapat pengaruh ekstrak alga cokelat (*Sargassum sp.*) terhadap derajat proteinuria pada tikus wistar yang diinduksi streptozotocin sebagai prevensi nefropati diabetik.



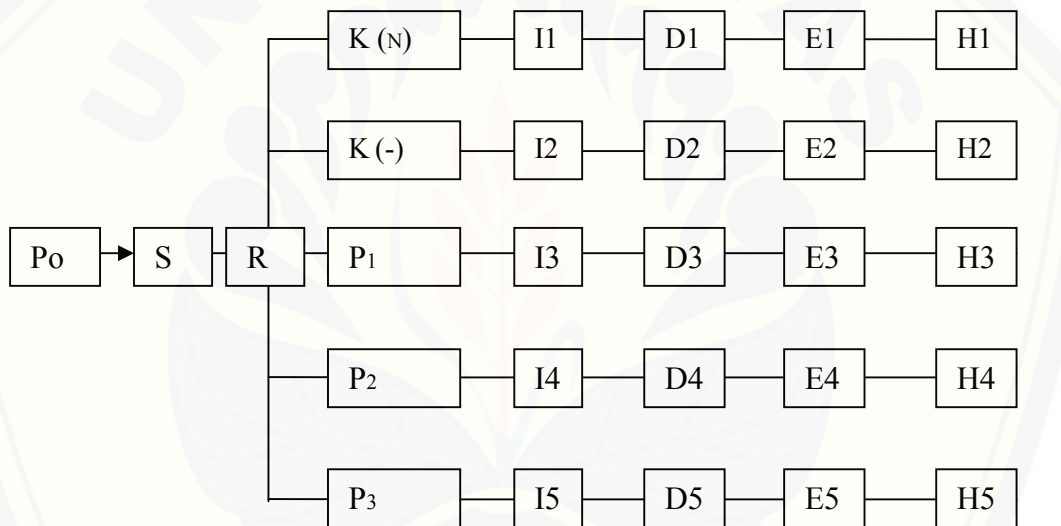
BAB 3. METODE PENELITIAN

3.1 Jenis Penelitian

Penelitian ini menggunakan desain penelitian eksperimental murni (*true experimental design*) secara *in vivo* dengan perlakuan randomisasi dalam pengelompokan sampel. Jenis penelitian ini menggunakan rancangan *Post Test Only Control Group Design*.

3.2 Rancangan Penelitian

Rancangan penelitian akan ditunjukkan pada Gambar 3.1 berikut.



Adaptasi
hari ke 1-7

Induksi
Streptozotocin
hari ke-8

Pengukuran
GDP status
diabetes
hari ke-15

Pengukuran
proteinuria
hari ke 30

Keterangan :

Po : Populasi dari hewan coba

S : Sampel dari hewan coba

R : Proses randomisasi

K(N) : Kelompok normal dengan pemberian NaCMC

K(-) : Kelompok kontrol negatif (diabetes) dengan pemberian streptozotocin dan Na CMC

P1 : Kelompok perlakuan 1 dengan pemberian Streptozotocin dan ekstrak alga cokelat (*Sargassum sp.*) dosis 150mg/kgBB

P2 : Kelompok perlakuan 2 dengan pemberian Streptozotocin dan ekstrak alga cokelat (*Sargassum sp.*) dosis 300 mg/kgBB

P3 : Kelompok perlakuan 3 dengan pemberian Streptozotocin dan ekstrak alga cokelat (*Sargassum sp.*) dosis 450 mg/kgBB

I1 : Induksi kelompok normal dengan *aquadest* pada hari ke-8

- I2 : Induksi kontrol negatif dengan pemberian streptozotocin pada hari ke-8
- I3 : Induksi kelompok perlakuan 1 dengan pemberian streptozotocin pada hari ke-8
- I4 : Induksi kelompok perlakuan 2 dengan pemberian streptozotocin pada hari ke-8
- I5 : Induksi kelompok perlakuan 3 dengan pemberian streptozotocin pada hari ke-8
- D1 : Data glukosa darah puasa kelompok normal setelah induksi hari ke-15
- D2 : Data glukosa darah puasa kontrol negatif setelah induksi hari ke-15
- D3 : Data glukosa darah puasa kelompok perlakuan 1 setelah induksi pada hari ke-15
- D4 : Data glukosa darah puasa kelompok perlakuan 2 setelah induksi pada hari ke-15
- D5 : Data glukosa darah puasa kelompok perlakuan 3 setelah induksi pada hari ke-15
- E1 : Diberikan perlakuan dengan pemberian NaCMC per oral selama 14 hari
- E2 : Diberikan perlakuan dengan pemberian NaCMC per oral selama 14 hari
- E3 : Diberikan perlakuan dengan pemberian ekstrak alga cokelat (*Sargassum sp.*) dosis 150 mg/kgBB per oral selama 14 hari
- E4 : Diberikan perlakuan dengan pemberian ekstrak alga cokelat (*Sargassum sp.*) dosis 300 mg/kgBB per oral selama 14 hari
- E5 : Diberikan perlakuan dengan pemberian ekstrak alga cokelat (*Sargassum sp.*) dosis 450 mg/kgBB per oral selama 14 hari
- H1-5 : Pengambilan sampel urin pada hari ke-30 untuk dicek derajat proteinuria

Gambar 3.1 Rancangan penelitian

3.3 Penentuan Populasi dan Sampel

3.3.1 Populasi Penelitian

Populasi penelitian ini adalah tikus wistar jantan yang diperoleh dari peternakan hewan di Malang, Jawa Timur.

3.3.2 Sampel Penelitian

Sampel pada penelitian ini diseleksi menurut kriteria inklusi dan eksklusi agar didapatkan sampel yang homogen. Kriteria inklusi sampel penelitian sebagai berikut.

- a. Tikus putih galur wistar jantan (*Rattus norvegicus strain Wistar*).
- b. Tikus wistar berbulu putih dan sehat (bergerak aktif) dan tidak memiliki kelainan anatomi.
- c. Umur 6-8 minggu.
- d. Berat 150-200 gram.

Kriteria eksklusi pada sampel penelitian adalah tikus wistar yang tidak mau makan, diare dan mati sebelum proses randomisasi.

3.3.3 Besar Sampel Penelitian

Sampel dipilih dengan menggunakan teknik *simple random sampling* yang kemudian dibagi menjadi 5 kelompok. Besar sampel tiap kelompok dalam penelitian ini dihitung menggunakan rumus *Federer*, yaitu $(n - 1)(p - 1) \geq 15$.

Jika $p = 5$, maka $(n - 1)(5 - 1) \geq 15$

$$4n - 4 \geq 15$$

$$4n \geq 19$$

$$n \geq 4,75$$

Keterangan:

n : jumlah sampel,

p : jumlah perlakuan.

Hasil penghitungan dengan rumus di atas didapatkan $n \geq 4,75$ sehingga jumlah sampel tiap perlakuan kurang lebih 5 ekor tikus wistar. Jadi, dalam penelitian ini jumlah sampel keseluruhan yang digunakan adalah 25 ekor tikus wistar dalam 5 kelompok.

3.4 Tempat dan Waktu Penelitian

Penelitian ini dilaksanakan di Lab. Biomedik Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Jember untuk perawatan, pemberian ekstrak per oral dan pengumpulan sampel urin dengan kandang metabolik, Lab. Biologi Molekular Fakultas Kedokteran Universitas Jember untuk pengukuran derajat proteinuria dan glukosa darah puasa hewan coba. Pembuatan ekstrak alga cokelat (*Sargassum sp.*) dilakukan di Lab. Biomol Fakultas Kedokteran dan *Laboratorium Central for Development of Advanced Sciences and Technology (CDAST)* Universitas Jember. Penelitian dilaksanakan pada bulan April sampai Oktober 2016.

3.5 Alat dan Bahan

3.5.1 Alat

Alat yang digunakan pada penelitian ini adalah sebagai berikut.

- a. Alat untuk pemeliharaan tikus wistar adalah bak plastik, penutup kawat, botol air minum, tempat makan, label, dan timbangan.

- b. Alat untuk pembuatan ekstrak alga cokelat adalah tampah, tali, blender, ayakan 30 mesh, timbangan, pengaduk, tabung 1 liter, kertas saring, labu Erlenmeyer, labu ukur dan *rotary evaporator*.
- c. Alat untuk menyonde ekstrak alga cokelat adalah sarung tangan, masker, *beaker glass*, pengaduk, dan spuit sonde.
- d. Alat untuk menginduksi streptozotocin adalah sarung tangan, masker, beker glass, timbangan, pengaduk, dan spuit 1ml.
- f. Alat untuk pengambilan sampel proteinuria adalah sarung tangan, masker, dan kandang metabolik.
- g. Alat untuk pengamatan hasil proteinuria adalah sarung tangan, masker, bengkok, tabung *Urinalysis Verify*, tisu kering, *stopwatch*, kertas dan alat tulis.

3.5.2 Bahan

Bahan yang digunakan pada penelitian ini sebagai berikut.

- a. Bahan untuk pemeliharaan mencit adalah makanan standar, minuman, dan sekam.
- b. Bahan untuk pembuatan ekstrak alga cokelat (*Sargassum sp.*) adalah alga cokelat (*Sargassum sp.*) segar, air, dan metanol 80%.
- c. Bahan untuk induksi diabetes adalah streptozotocin, buffer sitrat 0,1 M dengan pH 4,5 dan infus D5%.
- d. Bahan untuk perlakuan sonde per oral adalah ekstrak alga cokelat (*Sargassum sp.*) dan NaCMC.
- d. Bahan untuk mengukur pemeriksaan proteinuria adalah sampel urin, tisu kering, dan strip dipstik.

3.6 Variabel Penelitian

3.6.1 Variabel Bebas

Variabel bebas dalam penelitian ini adalah dosis ekstrak alga cokelat (*Sargassum sp.*).

3.6.2 Variabel Terikat

Variabel terikat dalam penelitian ini adalah derajat proteinuria dalam urin tikus wistar.

3.6.3 Variabel Terkendali

Variabel terkontrol dalam penelitian ini adalah sebagai berikut:

- a. jenis tikus wistar (*Rattus norvegicus strain Wistar*);
- b. berat badan tikus 150-200 gram;
- c. usia tikus 6-8 minggu;
- d. jenis kelamin tikus jantan;
- e. pemeliharaan tikus dengan pakan dan minum *ad libitum*;
- f. dosis pemberian streptozotocin 55 mg/Kgbb;

3.7 Definisi Operasional

3.7.1 Ekstrak Alga Cokelat (*Sargassum sp.*)

Ekstrak alga cokelat (*Sargassum sp.*) adalah hasil dari ekstraksi alga cokelat dengan metode maserasi dengan metanol 80% pada perbandingan 1:5. Alga cokelat segar didapatkan dari pantai Pulau Merah Kabupaten Banyuwangi yang diidentifikasi sebagai *Sargassum sp.* dengan mencocokkan gambaran morfologi sampel dengan buku *American Journal of Botany* (Fensholt,1955), *Encyclopedia of Medicinal Plants* (Chevallier,1996), dan *Journal of Algaebase* (Guiry *et al.*, 2016). Dosis ekstrak alga cokelat (*Sargassum sp.*) yang digunakan yaitu 150 mg/kgBB, 300 mg/KgBB dan 450 mg/KgBB yang dilarutkan dalam 1ml NaCMC 0,5 % dan diberikan sekali setiap hari selama 14 hari (Lampiran 3.1).

3.7.2 Derajat Proteinuria

Derajat proteinuria adalah kadar proteinuria hewan coba yang diukur menggunakan dipstik yang dicelupkan dalam urin sewaktu selama 1-3 detik kemudian mengeringkan bagian bawah strip pada tisu kering, selanjutnya dilakukan pembacaan dengan mencocokkan perubahan warna reagen yang dihasilkan pada tabung *Urinalysis Dipstik Verify* dalam waktu 60 detik.

Derajat proteinuria ditunjukkan sebagai data semikuantitatif dimulai dari hasil negatif, +1, +2, +3, +4 dan +5. Skor kadar pada derajat proteinuria dengan strip dipstik adalah sebagai berikut.

- 1 : Negatif atau kadar proteinuria < 15 mg/dl
- 2 : Derajat +1 atau kadar proteinuria dalam rentang 15-30 mg/dl
- 3 : Derajat +2 atau kadar proteinuria dalam rentang 30-100 mg/dl
- 4 : Derajat +3 atau kadar proteinuria dalam rentang 100-300 mg/dl
- 5 : Derajat +4 atau kadar proteinuria dalam rentang 300-2.000 mg/dl
- 6 : Derajat +5 atau kadar proteinuria > 2.000 mg/dl

3.7.3 Dosis Streptozotocin

Dosis streptozotocin adalah dosis yang digunakan untuk menginduksi diabetes dan mampu menimbulkan komplikasi Nefropati Diabetik (ND) pada ginjal tikus. Dosis streptozotocin 55 mg/Kgbb pada tikus wistar dilaporkan dapat menimbulkan diabetes dalam waktu satu minggu. Streptozotocin diberikan *single dose* pada hari ke-8 secara intraperitoneal yang dilarutkan terlebih dahulu dalam buffer sitrat 0,1 M pH 4,5 dengan konsentrasi 22,5 mg/ml buffer. Streptozotocin menimbulkan komplikasi ND dalam tiga minggu sehingga pengukuran derajat proteinuria dilakukan pada hari ke-30 (Tesch dan Allen, 2007).

3.7.4 Hewan Coba

Hewan coba pada penelitian ini adalah tikus wistar (*Rattus novergicus strain Wistar*) yang bergerak aktif, tidak tampak sakit maupun cacat secara anatomi, berbulu putih, berjenis kelamin jantan dengan usia 6-8 minggu, dan berat 150-200 gram. Kriteria eksklusi hewan coba pada penelitian ini tikus yang sakit dan mati.

3.8 Prosedur Penelitian

3.8.1 Pemilihan Hewan Coba

Sampel tiap kelompok perlakuan disesuaikan dengan kriteria inklusi dan eksklusi dari penelitian ini. Kriteria inklusi adalah tikus putih (*Rattus novergicus strain Wistar*) yang bergerak aktif, tidak tampak sakit maupun cacat secara

anatomi, berbulu putih, berjenis kelamin jantan dengan usia 6-8 minggu, dan berat badan 150-200 gram. Kriteria eksklusi hewan coba pada penelitian ini adalah tikus yang sakit dan mati sebelum proses randomisasi.

3.8.2 Persiapan Hewan Coba

Hewan coba diadaptasikan dalam kandang selama satu minggu dimulai pada hari ke 1-7 agar tidak stres terhadap lingkungan baru. Hewan coba diberikan pakan standar, minuman dan pembersihan tempat pakan dari sisa pakan maupun minum setiap hari. Pembersihan kandang, alas kandang, dan kotoran dilakukan setiap dua hari untuk menghindari timbulnya penyakit. Lingkungan tempat tinggal dibuat tenang dan terhindar dari sinar matahari langsung.

3.8.3 Pembagian Tiap Kelompok

Sampel penelitian 25 hewan coba dibagi dalam 5 kelompok dengan metode *random sampling*, tiap kelompok terdiri atas 5 ekor tikus sesuai perhitungan dengan rumus Federer. Pembagian kelompok pada penelitian ini dapat dilihat pada Tabel 3.1 berikut.

Tabel 3.1 Pembagian kelompok penelitian

Kelompok	Bentuk Perlakuan
K (N)	Pemberian NaCMC per oral
K (-)	Pemberian streptozotocin dan NaCMC per oral
P1	Pemberian streptozotocin dan ekstrak alga cokelat (<i>Sargassum sp.</i>) 150 mg/kgBB per oral
P2	Pemberian streptozotocin dan ekstrak alga cokelat (<i>Sargassum sp.</i>) 300 mg/kgBB per oral
P3	Pemberian streptozotocin dan ekstrak alga cokelat (<i>Sargassum sp.</i>) 450 mg/kgBB per oral

3.8.4 Pembuatan Ekstrak Alga Cokelat (*Sargassum sp.*)

Alga cokelat (*Sargassum sp.*) dicuci dengan air bersih yang mengalir untuk membersihkan sisa pasir dan kotoran kemudian diangin-anginkan dengan cara digantung pada tali dalam suhu ruang. Alga cokelat yang telah kering dihaluskan dengan blender hingga menjadi serbuk. Selanjutnya diayak menggunakan ayakan 30 mesh agar didapatkan serbuk halus dan ditimbang.

Serbuk alga cokelat halus dimaserasi selama 48 jam dengan pelarut metanol 80% dalam tabung satu liter dengan perbandingan 1:5 kemudian diulang selama 3 kali. Ekstrak metanol kemudian ditampung di labu Erlenmeyer untuk diuapkan dengan *Rotary Vacuum Evaporator* pada suhu 50°C hingga menghasilkan ekstrak kental (pekat) dengan berat konstan (Motshakeri *et al.*, 2014).

3.8.5 Pengukuran Glukosa Darah Puasa

Pengukuran glukosa darah puasa (selama 8 jam) dilakukan pada hari ke 15 dengan kriteria diagnostik diabetes diatas 126 mg/dl (WHO, 2016). Pengukuran dilakukan dengan alat cek darah portabel *Glucometer* melalui sampel darah ekor tikus yang dilukai dengan pisau bedah dan diteteskan pada sensor yang terdapat pada strip tes. Setelah itu, kadar glukosa dalam darah akan terhitung secara kuantitatif pada monitor alat tersebut.

3.8.6 Penginduksian Streptozotocin

Penginduksian Streptozotocin untuk menginduksi diabetes dilakukan pada hari ke-8 pada kelompok K(-), P₁, P₂ dan P₃. Tikus dipuasakan selama 8 jam lalu diinjeksi streptozotocin intraperitoneal *single dose* pada dosis 55mg/kgBB dalam buffer sitrat 0,1 M pH 4,5. Tempat minum hewan coba diganti dengan D5% selama 48 jam pertama setelah injeksi untuk menghindari kematian akibat hipoglikemia dari peningkatan pelepasan insulin kerusakan sel pankreas akut sebagai efek sitotoksik streptozotocin (Tesch dan Allen, 2007).

3.8.7 Perlakuan terhadap Hewan Coba

Sampel hewan coba sebanyak 25 ekor tikus yang dibagi dalam 5 kelompok perlakuan seperti pada rancangan penelitian, dilakukan adaptasi terlebih dahulu selama 7 hari agar tikus mampu menyesuaikan lingkungan yang baru. Pada hari ke-8 dilakukan pengukuran kadar gula darah puasa yang dilanjutkan dengan penginduksian diabetes dengan streptozotocin pada kelompok K(-), kelompok P₁, P₂ dan P₃. Pada hari ke-15 dilakukan pengukuran kadar glukosa darah puasa untuk mengkonfirmasi status diabetes hewan coba yakni diatas 140

mg/dl (Zulkarnain, 2013). Hewan coba dalam kelompok P₁, kelompok P₂ dan kelompok P₃ yang dinyatakan diabetes diberikan ekstrak alga cokelat (*Sargassum sp.*) pada dosis 150 mg/kgBB, 300mg/kgBB, dan 450 mg/kgBB yang dilarutkan dalam 1 ml NaCMC selama 14 hari secara per oral. Sedangkan untuk kelompok normal dan kontrol negatif diberikan 1 ml NaCMC selama 14 hari secara per oral. Pengumpulan sampel urin sewaktu menggunakan urin pagi. Pada malam hari ke-29 dilakukan pemindahan hewan coba ke dalam kandang metabolik yang telah dibersihkan. Makanan dan minuman dalam kandang metabolik dijaga untuk tidak jatuh ke dalam tabung penampung urin dengan mempersempit saluran tampung urin dan membedakan jalur kotoran dari jalur urin. Pengamatan dan pengukuran derajat proteinuria dilakukan pada pagi hari ke-30 untuk membuktikan pengaruh ekstrak alga cokelat (*Sargassum sp.*) terhadap derajat proteinuria dengan membandingkan derajat proteinuria pada kelompok normal dan kontrol negatif dengan kelompok perlakuan P₁, P₂, dan P₃.

3.8.8 Pengukuran Derajat Proteinuria

Pengukuran derajat proteinuria dilakukan menggunakan dipstik pada urin sewaktu di pagi hari ke-30 sehingga didapatkan hasil semi kuantitatif. Pengukuran ini dilakukan dengan cara mencelupkan strip dipstik ke dalam sampel urin selama 1-3 detik kemudian mengeringkan bagian bawah strip pada tisu kering selanjutnya dilakukan pembacaan dengan mencocokkan perubahan warna reagen yang dihasilkan pada tabung *Urinalysis* dipstik dalam waktu 60 detik.

Skor kadar proteinuria pada pengukuran derajat proteinuria urin tikus wistar dengan strip dipstik adalah sebagai berikut.

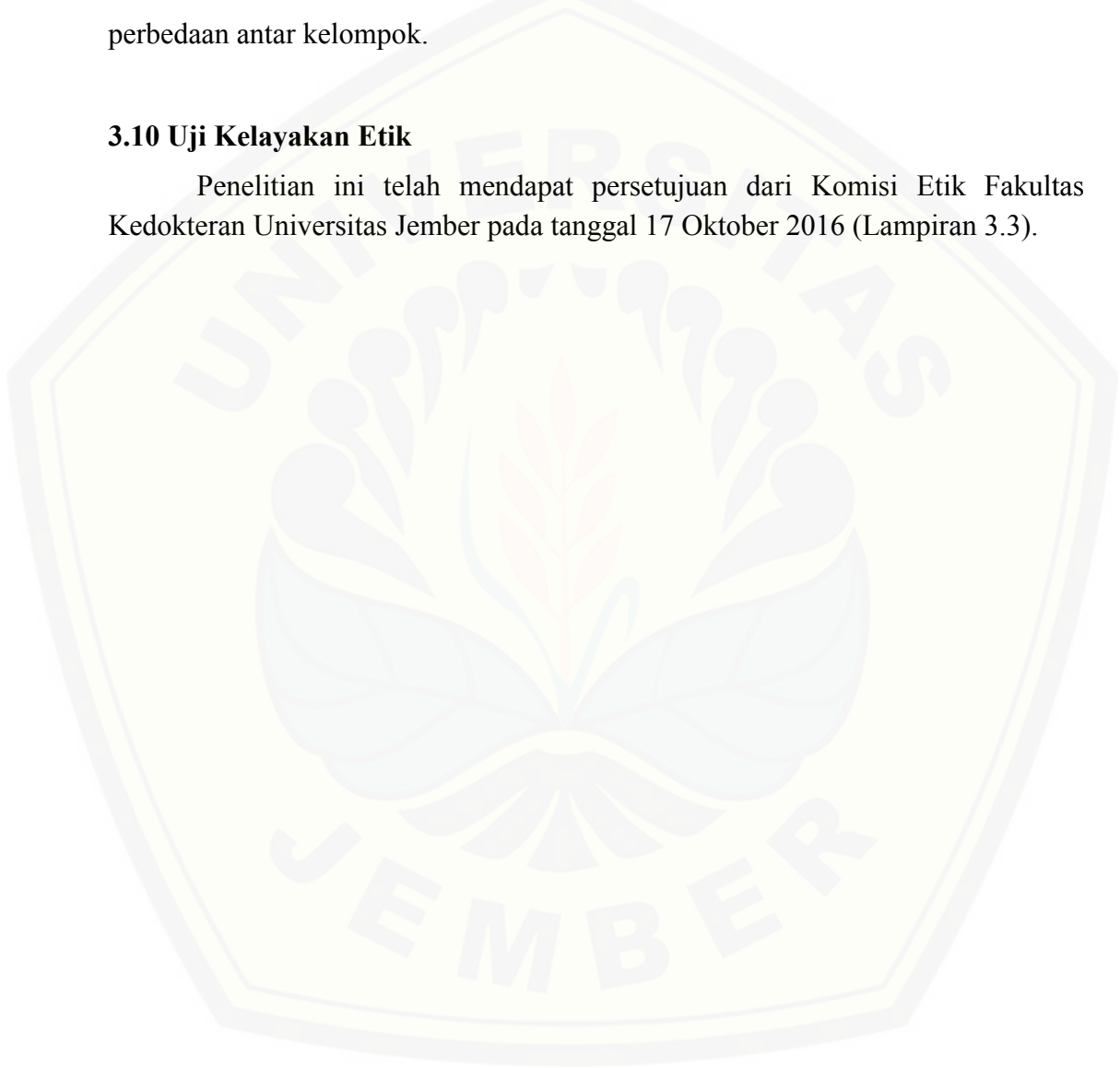
- 1 : Hasil negatif atau kadar proteinuria <15 mg/dl
- 2 : Derajat+1 atau kadar proteinuriadalam rentang 15-30 mg/dl
- 3 : Derajat +2 atau kadar proteinuria dalam rentang 30-100 mg/dl
- 4 : Derajat +3 atau kadar proteinuria dalam rentang 100-300 mg/dl
- 5 : Derajat +4 atau kadar proteinuria dalam rentang 300-2.000 mg/dl
- 6 : Derajat +5 atau kadar proteinuria >2.000 mg/dl

3.9 Analisis Data

Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui perbedaan antar kelompok dengan jumlah lebih dari dua kelompok dan data semikuantitatif sehingga analisis statistik yang digunakan adalah uji *Kruskal Wallis*. Jika terdapat perbedaan bermakna ($p < 0,05$), maka dilakukan uji *Mann Whitney* untuk mengetahui perbedaan antar kelompok.

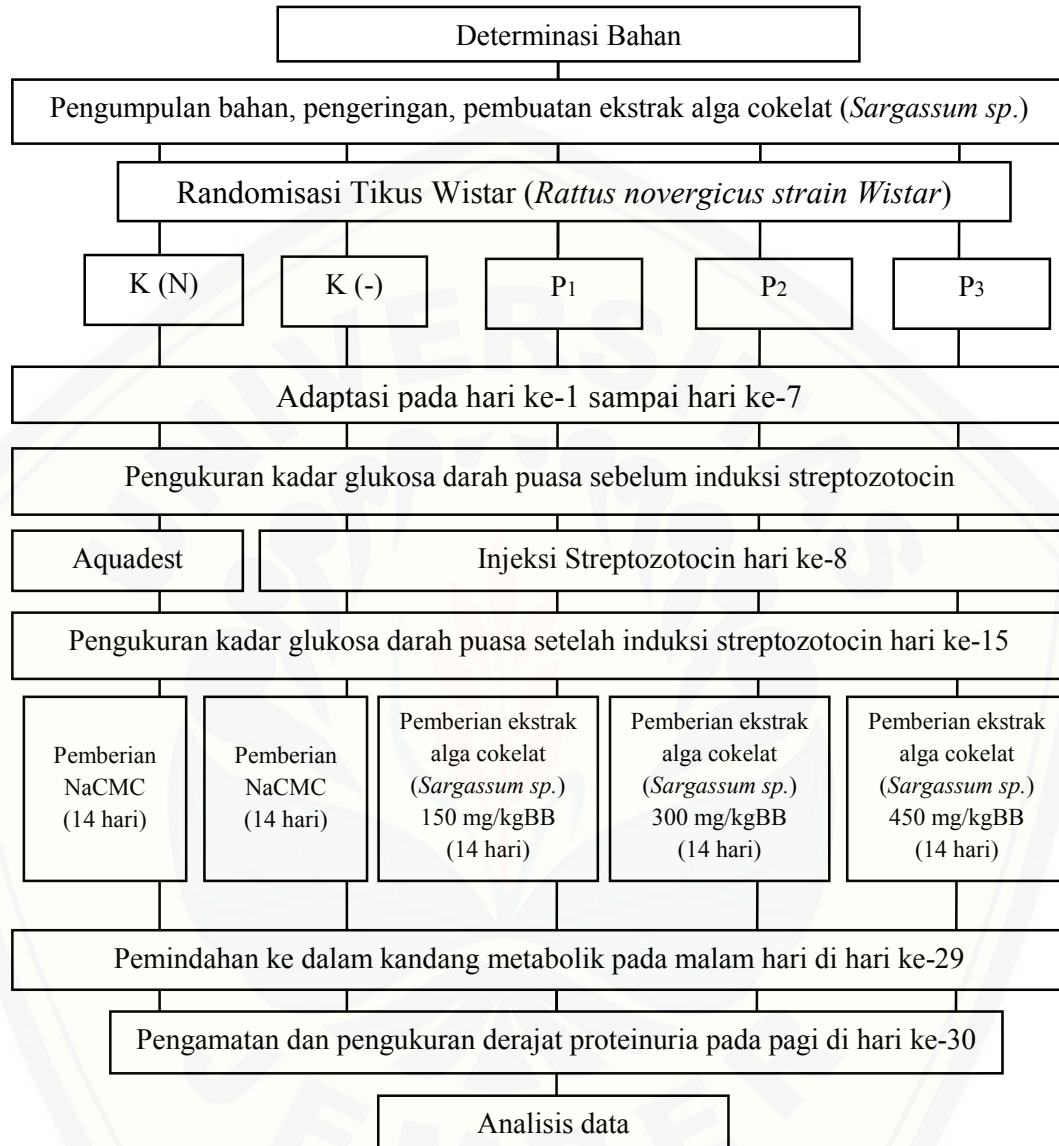
3.10 Uji Kelayakan Etik

Penelitian ini telah mendapat persetujuan dari Komisi Etik Fakultas Kedokteran Universitas Jember pada tanggal 17 Oktober 2016 (Lampiran 3.3).



3.11 Alur Penelitian

Alur penelitian dijelaskan pada Gambar 3.2 berikut.



Gambar 3.2 Skema alur penelitian

BAB. 5 KESIMPULAN DAN SARAN

5.1 Kesimpulan

Dari hasil penelitian yang telah dilakukan dapat disimpulkan bahwa terdapat pengaruh pemberian ekstrak alga cokelat (*Sargassum sp.*) terhadap derajat proteinuria tikus wistar yang diinduksi streptozotocin sebagai prevensi nefropati diabetik.

5.2 Saran

Saran yang dapat diberikan oleh peneliti dari penelitian ini adalah sebagai berikut.

1. Penelitian lebih lanjut dengan menggunakan senyawa *sargachromenol* atau *phlorotannin* dari ekstrak alga cokelat (*Sargassum sp.*) sebagai prevensi maupun terapi nefropati diabetik.
2. Penelitian lebih lanjut menggunakan parameter oksidan AGEs untuk memastikan peran antioksidan dalam nefropati diabetik.

DAFTAR PUSTAKA

- Ahmed, N. 2005. Advanced glycation end products: role in pathology of diabetic complications. *Journal Diabetes Res Clin Pract.* Vol. 67: 3-21.
- Andresdottir, Jensen, Carstensen, Parving, Hovind, Hansen dan Rossing. 2015. Improved prognosis of diabetic nephropathy in type 1 diabetes. *Journal Kidney International.* Vol. 87: 417–426.
- Anggraini, Asih. 2013. Pengaruh Pemberian Ekstrak Kulit Manggis (*Garcinia mangostana* L.) dalam Mencegah Peningkatan Kadar Proteinuria Tikus Putih (*Rattus novergicus*) yang Diinduksi Gentamisin. *Skripsi.* Surakarta: Fakultas Kedokteran Universitas Sebelas Maret.
- Balboa, Fabrega, Moure, dan Dominguez. 2016. Study of the seasonal variation on proximate composition of oven-dried *Sargassum muticum* biomass collected in Vigo Ria, Spain. *Journal of Applied Phycology.* Vol (28.3):19-43.
- Barbosa, M., P. Valentao, dan P.B. Andrade. 2014. Bioactive compounds from macroalgae in the new millennium: implications for neurodegenerative diseases. *Mar Drugs Journal.* Vol. 25 (9): 4934-4972.
- Basmal, J., B.S. Utomo, Tazwir, Murdinah, T. Wikanta, E. Marraskuranto, dan R. Kusumawati. 2013. *Alginat dari Rumput Laut Sargassum.* Jakarta: Penebar Swadaya.
- Bhattacharjee, Barma, Konwar, Dewanjee, dan Manna. 2016. Mechanistic insight of diabetic nephropathy and its pharmacotherapeutic targets: an update. *European Journal of Pharmacology.* Vol. 791: 8-24.
- Blokhina, O., E. Virolainen, dan K. Fagerstedt. 2003. Antioxidants, oxidative damage and oxygen deprivation stress: a review. *Journal Annals of Botani.* Vol. 91: 179-194.
- Burtis, C.A. dan E.R. Ashwood. 1994. *Tietz Textbook of Clinical Chemistry.* 2nd ed. Philadelphia: Tietz.
- Butt, G., E. Hussain. dan A. Rehman. 2013. Comparative analysis of antioxidant potential of *Sargassum sp.* and *Lyngaria sp.* *Pakistan Journal of Medical and Health Science.* Vol. 7(4): 1128-1129.
- Chevallier, Andrew.1996. *Encyclopedia of Medicinal Plants.* London: Dorling Kindersley.

- Chotayaporn, T., N. Kasitanon, S. Waraporn, L. Worawit. 2011. Comparison of proteinuria determination by urine dipstick, spot urine protein creatinine index, and urine protein 24 hours in lupus patients. *J Clin Rheumatol*. Vol. 17(3):124–133.
- Depkes RI. 2011. *Pedoman Interpretasi Data Klinik*. Jakarta: Depkes.
- Depkes RI. 2014. *Infodatin-diabetes: Waspada Diabetes Eat Well Live Well*. Jakarta: Depkes.
- Dhasa, S., G. Kumar, K. Velu, dan K. Govindaraju. 2016. Effect of biosynthesized gold nanoparticles by *Sargassum swartzii* in alloxan induced diabetic rats. *Journal of EMT Elsevier: Enzyme Microb Technol*. Vol. 95:100-106.
- Dorland, W.A.N. Kamus Saku Kedokteran Dorland. Alih bahasa oleh Albertus Agung Mahode *et al*. 2011. Jakarta: EGC Press.
- Edeas, M., D. Attaf, A.S. Mailfert, M. Nasu, dan R. Joubet. 2010. Maillard reaction, mitochondria and oxidative stress: potential role of antioxidants. *Journal Pathologie Biologie*. Vol. 58:220–225.
- Eleazu, C.O., K.C. Eleazu, S. Chukwuma, dan U.N. Essien. 2013. Review of the mechanism of cell death resulting from streptozotocin challenge in experimental animals, its practical use and potential risk to humans. *Journal of Diabetes & Metabolic Disorders*. Vol. 12:60-67.
- Eroschenko, Victor. 2013. *DiFiore's Atlas of Histology with Functional Correlations*. 12th ed. China: Lippincott Williams & Wilkins.
- FDA. 2008. *Guidance for Industry: Food Labeling*. Rockville: U.S. Department of Health and Human Services.
- Fensholt, D.E. 1955. An emendation of the genus *Cystophyllum* (Fucales). *American Journal of Botany*. Vol. 42: 305-322.
- Firdaus, M., M. Astawan, D. Muchtadi, T. Wresdiyati, S. Waspadji, dan S.S. Karyono. 2010. Prevention of endothelial dysfunction in streptozotocin-induced diabetic rats by *Sargassum echinocarpum* extract. *Med J Indones*. Vol. 19:32-35.
- Germain, M., M.G. Pezzolesi, N. Sandholm, A.J. McKnight, K. Susztak, M. Lajer, dan C. Forsblom. 2015. SORBS1 gene, a new candidate for diabetic

nephropathy: results from a multi-stage genome-wide association study in patients with type 1 diabetes. *Journal Diabetologia*. Vol. 58: 543–548.

Goldin, A., J.A. Beckman, A.M. Schmidt, M.A. Creager. 2006. Advanced glycation end products: sparking the development of diabetic vascular injury. *Journal of Circulation*. Vol. 114:597-605.

Guiry, M.D. dan Guiry, G.M. 2016. *Algae Base*. World-wide electronic publication, National University of Ireland, Galway. http://www.algaebase.org/search/species/detail/?species_id=cb3da8056d7c2bfa [Diakses pada 29 Mei 2016].

Gunawardena, Gamini. 2015. *The Elements of Organic Chemistry: A Compendium of Terminology, Definitions, and Concepts for the Beginner*. New York: Linus Publications Inc.

Guyton dan Hall. 2008. *Textbook of Medical Physiology*. 11th ed. Singapore: Elsevier Inc.

Henry, J.B., J.C. Todd, D.A. Nelson, R.H. Tomar, dan J.A. Washington. 2001. *Clinical Diagnosis and Management by Laboratory Methods*. 20th ed. Philadelphia: Saunders.

Heo, S.J., J. Jang, B.R. Ye, M.S. Kim, W.J. Yoon, C. Oh, D.H. Kang, J.H. Lee, M.C. Kang, Y.J. Jeon, S.M. Kang, D. Kim, dan K.N. Kim. 2014. Chromene suppresses the activation of inflammatory mediators in lipopolysaccharide-stimulated raw 264.7 cells. *Food And Chemical Toxicology*. Vol.67:169-175.

IDF. 2015. *Diabetes Atlas 7th Edition*. Brussels: International Diabetes Federation.

Ishii, F., H. Honda, F. Konno, T. Okada, T. Kaihoh, Y. Nagao, S. Sato, dan H. Matsuda. 2000. The pharmacologic effect of chromene and there of salt. *Patent Abstract of Japan*. Vol. 97(6):19-26.

Iwashima, M., J. Mori, X. Ting, T. Matsunaga, K. Hayashi, D. Shinoda, H. Saito, U. Sankawa, dan T. Hayashi. 2005. Antioxidant and antiviral activities of plastoquinones from the brown alga *Sargassum micracanthum*, and a new chromene derivative converted from the plastoquinones. *Journal of Biol Pharm Bull*. Vol. 28(2):374-381.

Kaur, M., S. Sachdeva, O. Bedi, T. Kaur, dan P. Kumar. 2015. Combined effect of hydrogen sulphide donor and losartan in experimental diabetic nephropathy in rats. *Journal Diabetes Metab Disord*. Vol. 14:63-70.

- Kidney Dialysis Foundation. 2010. *Proteinuria*. Singapore: KDF.
- Kennedy, J.K., dan D.W. Zochodne. 2000. The regenerative deficit of peripheral nerves in experimental diabetes: its extent, timing and possible mechanism. *Journal Brain*. Vol. 123(10):2118-2122.
- Koivikko, Riitta. 2008. *Brown Algal Phlorotannins: Improving and Applying Chemical Methods*.Turku: Painosalama Oy.
- Krasnova, L. dan C.H. Wong. 2016. Exploring human glycosylation for better therapies. *Journal Molecular Aspects of Medicine Elsevier*. Vol. 51:125–143.
- Kumar, P.A., G.I. Welsh, G. Raghu, R.K. Menon, M.A. Saleem, dan G.B. Reddy. 2016. Carboxymethyl lysine induces EMT in podocytes through transcription factor ZEB2: implications for podocyte depletion and proteinuria in diabetes mellitus. *Archives of Biochemistry and Biophysics Journal*. Vol. 590: 10-15.
- Luo, P., H. Peng, C. Li, Z. Ye, H. Tang, Y. Tang, C. Chen, dan T. Lou. 2015. Advanced glycation end products induce glomerular endothelial cell hypermeability by upregulating matrix metallo-proteinase activity. *Journal Molecular Medicine Reports*. Vol. 11: 4447-4453.
- Mandal, Yadav, dan Nema. 2009. Antioxidants: a review. *Journal of Chemical and Pharmaceutical Research*. Vol. 1:102-104.
- Mohamed, R., P. Ranganathan, C. Jayakumar, F.L. Nauta, R.T. Gansevoort, N.L. Weintraub, M. Brands, dan G. Ramesh. 2014. Urinary semaphorin 3a correlates with diabetic proteinuria and mediates diabetic nephropathy and associated inflammation in mice. *J Mol Med*. Vol. 92:1245–1256.
- Montero, L., A.P. Sanchez, V.G. Canas, A. Tanniou, V.S. Pouvreau, M. Russo, L. Rastrelli, A. Cifuentes, M. Herrero, dan E. Ibanez. 2016. Anti-proliferative activity and chemical characterization by comprehensive two-dimensional liquid chromatography coupled to mass spectrometry of phlorotannins from the brown macroalga *Sargassum Muticum* collected on North-Atlantic coasts. *Journal of Chromatography Netherlands: Elsevier*. Vol. 1428: 115-125.
- Motshakeri, Ebrahimi, Goh, Othman, Bejo, dan Mohamed. 2014. Effects of brown seaweed (*Sargassum polycystum*) extracts on kidney, liver, and pancreas of type 2 diabetic rat model. *Journal Hindawi Publishing Corporation Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine*. Vol. 2014:11-15.

- Murray, R., D. Granner, dan V. Rodwell. 2006. *Harper's Illustrated Biochemistry*. 27th ed. Toronto: McGraw-Hill Companies Inc.
- Nair, A.B., dan S. Jacob. 2016. A simple practice guide for dose conversion between animals and human. *Journal Basic Clin Pharma*. Vol.7:27-31.
- Namvar, F., R. Mohamad, J. Baharara, S. Zafar-Balanejad, F. Fargahi, dan H.S. Rahman. 2013. Antioxidant, antiproliferative, and antiangiogenesis effects of polyphenol-rich seaweed (*Sargassum muticum*). *Journal Biomed Research International*. Vol. 60: 47-87.
- Nimse, S.B., dan D. Pal. 2015. Free radicals, natural antioxidants, and their reaction mechanisms. *Journal Royal Society of Chemistry*. Vol. 5:27986-28006.
- Okada, T., T. Nagao, H. Matsumoto, Y. Nagaoka, T. Wada, dan T. Nakao. 2013. Clinical significance of microscopic haematuria in diabetic nephropathy in type 2 diabetes patients with overt proteinuria. *Journal Asian Pacific Society of Nephrology*. Vol. 18: 563–568.
- Patra, Rath, Jena, Rathod dan Thatoi. 2008. Evaluation of antioxidant and antimicrobial activity of seaweed (*Sargassum sp.*) extract: a study on inhibition of glutathione-s-transferase activity. *Journal of Turk J Biol*. Vol. 32:119-125.
- Purnomo, Basuki B. 2012. *Dasar Dasar Urologi*. Malang: Sagung Seto.
- Rosenfeld, Louis. 1999. *Four Centuries of Clinical Chemistry*. New York: Routledge.
- Ross, Michael H. 2011. *Histology: A Text And Atlas With Correlated Cell And Molecular Biology*. 6th ed. China: Lippicott Williams & Wilkins.
- Schollum, John dan Taylor, Susan. 2013. Interpreting urine dipstick test in adults: a reference guide for primary care. *Journal Best Tests*. Vol. 20: 13-20.
- Seo, Y., K.E. Park, dan T.J. Nam. 2007. Isolation of a new chromene from the brown alga *Sargassum thunbergii*. *Journal Bull Korean Chem Soc*. Vol. 28 (10): 18-31.
- Sherwood, Lauralee. 2010. *Human Physiology: From Cells to Systems*. 7th ed. Canada: Yolanda Cossio.
- Siampa, J.P., L. Rahman, dan M.A. Manggau. 2016. Formulasi krim antioksidan dari ekstrak rumput laut (*Sargassum sp.*) dan ekstrak kulit manggis

- (*Garcinia mangostana*). *Jurnal Fakultas Farmasi UNHAS*. Vol. Oktober 2016.
- Sima, Anders. 2005. *Chronic Complications in Diabetes: Animal Models and Chronic Complications*. Amsterdam: Taylor & Francis.
- Singh, A.P., R.K. Goel, dan T. Kaur. 2011. Mechanisms pertaining to arsenic toxicity. *Journal Toxicol Int*. Vol. 18(2): 87–93.
- Singh, V.P., A. Bali, N. Singh, dan A.S. Jaggi. 2014. Advanced glycation end products and diabetic complications. *Korean Journal Physiol Pharmacol*. Vol. 18:1-14.
- Sithole, H.L. 2009. A review of the use of streptozotocin (STZ) in the induction of diabetes in rats and subsequent ocular tissue changes. *South African Optometrist Journal*. Vol.68(2):82-88.
- Sudoyo, Setiyohadi, Alwi, Marcellus, dan Setiati. 2009. *Buku Ajar Ilmu Penyakit Dalam*. Jakarta: Interna Publishing.
- Tesch, G.H. dan T.J. Allen. 2007. Methods in renal research: rodent models of streptozotocin-induced diabetic nephropathy. *Journal Asian Pacific Society of Nephrology*. Vol. 12: 261-266.
- Thomas, D.N. 2002. *Seaweeds*. London: Natural History Museum.
- Wang, S., Y. Li, J. Zhao, J. Zhang, dan Y. Huang. 2013. Mesenchymal stem cells ameliorate podocyte injury and proteinuria in a type 1 diabetic nephropathy rat model. *Journal Biol Blood Marrow Transplant*. Vol. 19: 538-546.
- Wang, T., R. Jonsdottir, H. Liu, L. Gu, H.G. Kristinsson, S. Raghavan, dan G. Olafsdottir. 2012. Antioxidant capacities of *phlorotannins* extracted from the brown algae *Fucus vesiculosus*. *Journal Agric Food Chem*. Vol. 60(23):5874-5883.
- Wang, Z., Y. Yang, X. Xiang, Y. Zhu, J. Men, M. He. 2010. Estimation of the normal range of blood glucose in rats. *Wei Sheng Yan Jiu*. 2010 Mar;39(2):133-7, 142.
- WHO. 2016. *Global Reports on Diabetes*. Geneva: WHO Press.
- Wibowo, R., Zulfikar, H. Paramu, D. Rato, H.S. Addy, E. Sulistyaningsih, S. Bukhori, A. Tallapessy, N.D. Gianawati, Siswoyo, A. Rijadi, dan Nawiyanto. 2016. *Pedoman Penulisan Karya Ilmiah*. Jember: UPT Penerbitan Universitas Jember.

- Winarsi, Hery. 2007. *Antioksidan Alami dan Radikal Bebas*. Yogyakarta: Kanisius.
- Yang, EJ, Y.M. Ham, W.J. Lee, N.H. Lee, dan C.G. Hyun. 2013. Anti-inflammatory effects of apo-9 α -fucoxanthinone from the brown alga, *Sargassum muticum*. *Journal DARU*. Vol. 21: 62-68.
- Yende, S., U. Harle, and B. Chaugule. 2014. Therapeutic potential and health benefits of sargassum species. *Gale Health and Medical Collection Journal Pharmacognosy Reviews*. Vol. 8 (15): 1.
- Yokoi, K., dan A. Konomi. 2012. Toxicity of so-called edible hijiki seaweed (*Sargassum fusiforme*) containing inorganic arsenic. *Regul Toxicol Pharmacol*. Vol. 63(2):291-297.
- Yoon, W.J., S.J. Heo, S.C. Han, H.J Lee, G.J. Kang, H.K. Kang, J.W. Hyun, Y.S Koh, dan E.S Yoo. 2012. Anti-inflammatory effect of sargachromanol G isolated from *Sargassum siliquastrum* in RAW 264.7 cells. *Journal Arch Pharm Res*. Vol. 35(8):1421-1430.
- Zulkarnain. 2013. Perubahan kadar glukosa darah puasa pada tikus Sprague Dawley yang diinduksi streptozotocin dosis rendah. *Jurnal Kedokteran Syiah Kuala*. Vol. 2: 71-76.

LAMPIRAN

Lampiran 3.1 Perhitungan dan Pemberian Dosis Streptozotocin (STZ)

1. Dosis Streptozotocin pada tikus Wistar 55 mg/kgBB
2. Kebutuhan Streptozotocin untuk 1 Ekor Tikus BB 180 gram
$$= \frac{(180 \text{ gr} \times 55 \text{ mg/kgBB})}{1000 \text{ gr/kgBB}} = 9,9 \text{ mg}$$
Kebutuhan streptozotocin untuk 20 ekor = 20 x 9,9 mg = 198 mg
3. Konsentrasi Streptozotocin dalam Buffer Sitrat 22 mg/ml
$$\frac{9,9 \text{ mg}}{22,5 \text{ mg}} \times 1 \text{ ml buffer} = 0,44 \text{ ml/ekor}$$
Volume buffer sitrat untuk 20 ekor = 20 x 0,44 ml = 8,8 ml
4. Pembuatan Buffer Sitrat 0,1 M pH 4,5 sebagai pelarut STZ
Larutan Asam Sitrat (A) = 21,01 gr As. Sitrat dalam 1 L Aquades
Larutan Natrium Sitrat (B) = 29,41 gr Na. Sitrat dalam 1 L Aquades
Buffer Sitrat = 28 ml Lar. A + 22 ml Lar. B + Aquades hingga volume 100 ml menghasilkan pH 4,5.

Lampiran 3.2 Perhitungan Dosis Ekstrak Alga Cokelat (*Sargassum Sp.*)

1. Dosis ekstrak alga cokelat (*Sargassum sp.*) 150 mg/kgBB

$$= \frac{150 \frac{mg}{kgBB} \times 180 gr}{1000 gr/kg} \times 1 ekor \times 1 hari = 27 mg$$

Dosis ekstrak dilarutkan dalam 1 ml NaCMC 0,5% pada setiap ekor

Dosis 5 ekor tikus:

$$= \sum \text{tikus} \times \text{dosis ekstrak} \times \text{banyaknya pemberian}$$

$$= 5 \times 27 mg \times 1$$

$$= 135 mg \text{ yang dilarutkan dalam } 5 \text{ ml NaCMC } 0,5\%$$

Jadi 1 ekor tikus dosis peroral yang diberikan 27 mg dalam 1 ml NaCMC 0,5%

2. Dosis ekstrak alga cokelat (*Sargassum sp.*) 300 mg/kgBB

$$= \frac{300 \frac{mg}{kgBB} \times 180 gr}{1000 gr/kg} \times 1 ekor \times 1 hari = 54 mg$$

Dosis ekstrak dilarutkan dalam 1 ml NaCMC 0,5% pada setiap ekor

Dosis 5 ekor tikus:

$$= \sum \text{tikus} \times \text{dosis ekstrak} \times \text{banyaknya pemberian}$$

$$= 5 \times 54 mg \times 1$$

$$= 270 mg \text{ yang dilarutkan dalam } 5 \text{ ml NaCMC } 0,5\%$$

Jadi 1 ekor tikus dosis peroral yang diberikan 54 mg dalam 1 ml NaCMC 0,5%

3. Dosis ekstrak 450 mg/kgBB

$$= \frac{450 \frac{mg}{kgBB} \times 180 gr}{1000 gr/kg} \times 1 ekor \times 1 hari = 81 mg$$

Dosis 5 ekor tikus

$$= \sum \text{tikus} \times \text{dosis ekstrak} \times \text{banyaknya pemberian}$$

$$= 5 \times 81 mg \times 1$$

$$= 405 mg \text{ yang dilarutkan dalam } 5 \text{ ml NaCMC } 0,5\%$$

Jadi 1 ekor tikus dosis peroral yang diberikan 81 mg dalam 1 ml NaCMC 0,5%

4. Tabel Konversi Dosis Hewan Coba (mg/kgBB) ke Manusia (mg/kgBB)

Spesies	Berat Badan (kg)	Koefisien perkalian untuk dosis Manusia (60kg)
Mencit	0,02	0,081
Hamster	0,08	0,135
Tikus	0,15	0,162
Musang	0,30	0,189
Babi	0,40	0,216
Kelinci	1,8	0,324
Anjing	10	0,541
Kera	3	0,324

Sumber: (Nair dan Jacob, 2016)

- a. Konversi dosis tikus (BB 150 g) 150 mg/kgBB
 Dosis manusia = $150 \times 0,162 = 24,3$ mg/kgBB
 BB manusia 60 kg = $60 \times 24,3 = 1.458$ mg = 1,5 gr ekstrak alga coklat
- b. Konversi dosis tikus (BB 150 g) 300 mg/kgBB
 Dosis manusia = $300 \times 0,162 = 48,6$ mg/kgBB
 BB manusia 60 kg = $60 \times 48,6 = 2.916$ mg = 2,9 gr ekstrak alga coklat
- c. Konversi dosis tikus (BB 150 g) 450 mg/kgBB
 Dosis manusia = $450 \times 0,162 = 72,9$ mg/kgBB
 BB manusia 60 kg = $60 \times 72,9 = 4.374$ mg = 4,4 gr ekstrak alga coklat

Lampiran 3.3 Lembar Persetujuan Etik

 KEMENTERIAN RISET, TEKNOLOGI DAN PENDIDIKAN TINGGI
UNIVERSITAS JEMBER
KOMISI ETIK PENELITIAN
Jl. Kalimantan 37 Kampus Bumi Tegal Boto Telp/Fax (0331) 337877 Jember 68121 – Email :
fk_unej@telkom.net

KETERANGAN PERSETUJUAN ETIK
ETHICAL APPROVA
Nomor : 999 /H25.1.11/KE/2016

Komisi Etik, Fakultas Kedokteran Universitas Jember dalam upaya melindungi hak asasi dan kesejahteraan subyek penelitian kedokteran, telah mengkaji dengan teliti protokol berjudul :

The Ethics Committee of the Faculty of Medicine, Jember University, With regards of the protection of human rights and welfare in medical research, has carefully reviewed the proposal entitled :

PENGARUH EKSTRAK ALGA COKELAT (*Sargassum sp.*) TERHADAP DERAJAT PROTEINURIA TIKUS WISTAR YANG DIINDUKSI STREPTOZOTOCIN SEBAGAI PREVENSI NEFROPATI DIABETIK

Nama Peneliti Utama : Putri Maura Widyaratri (NIM. 132010101022)
Name of the principal investigator

Nama Institusi : Fakultas Kedokteran Universitas Jember
Name of institution

Dan telah menyetujui protokol tersebut diatas.
And approved the above mentioned proposal.

Jember, 12 Oktober 2016

dr. Rini Riyanti, Sp.PK


Tanggapan Anggota Komisi Etik

Diisi oleh Anggota Komisi Etik, berisi tanggapan sesuai dengan butir-butir isian diatas dan telaah terhadap Protokol maupun dokumen kelengkapan lain.

Saran Komisi Etik :

- Pemilihan, perawatan, perlakuan, pengorbanan dan pemusnahan hewan coba mengacu pada Pedoman Etik Penelitian Kesehatan.
- Mohon diperhatikan kontrol kualitas pembuatan ekstrak alga cokelat agar didapatkan kadar yang sesuai.
- Mohon diperhatikan kalibrasi alat dan kontrol kualitas reagen untuk pemeriksaan glukosa darah
- Perlakuan penyodean dan injeksi intraperitoneal dilakukan oleh orang yang terampil (dilakukan secara cepat dan tepat agar tidak melukai hewan coba)
- Mohon diperhatikan kalibrasi alat dan kontrol kualitas reagen untuk pemeriksaan proteinuria
- Mohon diperhatikan pembuangan limbah medis dan limbah B3 agar tidak mencemari lingkungan.
- **Mohon diperjelas di proposal penelitian, tentang prosedur pengumpulan sampel urine pada hewan coba**

Jember, 13 Oktober 2016



Dr. Rini Riyanti, Sp.PK)

Lampiran 4.1 Hasil Kadar Gula Darah Puasa Sebelum Dan Setelah Induksi Streptozotocin

Kelompok Perlakuan	Kadar Glukosa Darah sebelum Induksi STZ (mg/dl)	Rata-rata (mg/dl)	Kadar Glukosa Darah setelah Induksi STZ (mg/dl)	Rata-rata (mg/dl)
Kontrol Normal	96	68,6	75	69,4
	59		67	
	83		64	
	52		82	
	53		59	
Kontrol Negatif	56	64,8	140	254
	89		310	
	49		316	
	82		324	
	48		181	
Dosis 150 mg/kgBB (P1)	89	66,8	488	336,2
	81		463	
	53		311	
	45		257	
	66		162	
Dosis 300 mg/kgBB (P2)	81	66,2	140	250
	81		361	
	75		297	
	45		145	
	49		312	
Dosis 450 mg/kgBB (P3)	53	77,6	330	272
	75		140	
	94		310	
	81		324	
	85		257	

Lampiran 4.2 Hasil Pengukuran Derajat Proteinuria

Kelompok Perlakuan	Skor	Derajat Proteinuria	Rentang Kadar	Skor Terbanyak	Rentang Kadar Terbanyak
Kontrol Normal (K N)	1	Negatif	< 15 mg/dl	1	< 15 mg/dl
	1	Negatif	< 15 mg/dl		
	1	Negatif	< 15 mg/dl		
	1	Negatif	< 15 mg/dl		
	1	Negatif	< 15 mg/dl		
Kontrol Negatif (K -)	2	+1	15-30 mg/dl	3	30-100 mg/dl
	3	+2	30-100 mg/dl		
	3	+2	30-100 mg/dl		
	3	+2	30-100 mg/dl		
	2	+1	15-30 mg/dl		
Dosis 150 mg/kgBB (P 1)	1	Negatif	< 15 mg/dl	1	< 15 mg/dl
	1	Negatif	< 15 mg/dl		
	1	Negatif	< 15 mg/dl		
	2	+1	15-30 mg/dl		
	1	Negatif	< 15 mg/dl		
Dosis 300 mg/kgBB (P 2)	1	Negatif	< 15 mg/dl	1	< 15 mg/dl
	1	Negatif	< 15 mg/dl		
	1	Negatif	< 15 mg/dl		
	2	+1	15-30 mg/dl		
	2	+1	15-30 mg/dl		
Dosis 450 mg/kgBB (K 5)	2	+1	15-30 mg/dl	2	15-30 mg/dl
	1	Negatif	< 15 mg/dl		
	2	+1	15-30 mg/dl		
	1	Negatif	< 15 mg/dl		
	2	+1	15-30 mg/dl		

Lampiran 4.3 Analisis Data

1. Kruskal-Wallis Test

Ranks			
	Kelompok	N	Mean Rank
Derajat_Proteinuria	K1	5	7,50
	K2	5	21,80
	K3	5	9,70
	K4	5	11,90
	K5	5	14,10
	Total	25	

Test Statistics ^{a,b}	
	Derajat Proteinuria
Chi-Square	14,118
df	4
Asymp. Sig.	,007

a. Kruskal Wallis Test

b. Grouping Variable: Kelompok

2. Post Hoc Mann-Whitney Test K1 dan K2

Ranks				
	Kelompok	N	Mean Rank	Sum of Ranks
Derajat_Proteinuria	Kelompok K1	5	3,00	15,00
	Kelompok K2	5	8,00	40,00
	Total	10		

Test Statistics ^a	
	Derajat Proteinuria
Mann-Whitney U	,000
Wilcoxon W	15,000
Z	-2,835
Asymp. Sig. (2-tailed)	,005
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	,008 ^b

a. Grouping Variable: Kelompok

b. Not corrected for ties.

3. Post Hoc Mann-Whitney Test K1 dan K3

Ranks				
	Kelompok	N	Mean Rank	Sum of Ranks
Derajat_Proteinuria	Kelompok K1	5	5,00	25,00
	Kelompok K3	5	6,00	30,00
	Total	10		

Test Statistics ^a	
	Derajat Proteinuria
Mann-Whitney U	10,000
Wilcoxon W	25,000
Z	-1,000
Asymp. Sig. (2-tailed)	,317
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	,690 ^b

a. Grouping Variable: Kelompok

b. Not corrected for ties.

4. Post Hoc Mann-Whitney Test K1 dan K4

Ranks				
	Kelompok	N	Mean Rank	Sum of Ranks
Derajat_Proteinuria	Kelompok K1	5	4,50	22,50
	Kelompok K4	5	6,50	32,50
	Total	10		

Test Statistics ^a	
	Derajat Proteinuria
Mann-Whitney U	7,500
Wilcoxon W	22,500
Z	-1,500
Asymp. Sig. (2-tailed)	,134
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	,310 ^b

a. Grouping Variable: Kelompok

b. Not corrected for ties.

5. Post Hoc Mann-Whitney Test K1 dan K5

Ranks				
	Kelompok	N	Mean Rank	Sum of Ranks
Derajat_Proteinuria	Kelompok K1	5	4,00	20,00
	Kelompok K5	5	7,00	35,00
	Total	10		

Test Statistics ^a	
	Derajat Proteinuria
Mann-Whitney U	5,000
Wilcoxon W	20,000
Z	-1,964
Asymp. Sig. (2-tailed)	,050
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	,151 ^b

a. Grouping Variable: Kelompok

b. Not corrected for ties.

6. Post Hoc Mann-Whitney Test K2 dan K3

Ranks				
	Kelompok	N	Mean Rank	Sum of Ranks
Derajat_Proteinuria	Kelompok K2	5	7,80	39,00
	Kelompok K3	5	3,20	16,00
	Total	10		

Test Statistics ^a	
	Derajat Proteinuria
Mann-Whitney U	1,000
Wilcoxon W	16,000
Z	-2,545
Asymp. Sig. (2-tailed)	,011
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	,016 ^b

a. Grouping Variable: Kelompok

b. Not corrected for ties.

7. Post Hoc Mann-Whitney Test K2 dan K4

Ranks				
	Kelompok	N	Mean Rank	Sum of Ranks
Derajat_Proteinuria	Kelompok K2	5	7,60	38,00
	Kelompok K4	5	3,40	17,00
	Total	10		

Test Statistics ^a	
	Derajat_Proteinuria
Mann-Whitney U	2,000
Wilcoxon W	17,000
Z	-2,324
Asymp. Sig. (2-tailed)	,020
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	,032 ^b

a. Grouping Variable: Kelompok

b. Not corrected for ties.

8. Post Hoc Mann-Whitney Test K2 dan K5

Ranks				
	Kelompok	N	Mean Rank	Sum of Ranks
Derajat_Proteinuria	Kelompok K2	5	7,40	37,00
	Kelompok K5	5	3,60	18,00
	Total	10		

Test Statistics ^a	
	Derajat_Proteinuria
Mann-Whitney U	3,000
Wilcoxon W	18,000
Z	-2,154
Asymp. Sig. (2-tailed)	,031
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	,056 ^b

a. Grouping Variable: Kelompok

b. Not corrected for ties.

9. Post Hoc Mann-Whitney Test K3 dan K4

Ranks				
	Kelompok	N	Mean Rank	Sum of Ranks
Derajat_Proteinuria	Kelompok K3	5	5,00	25,00
	Kelompok K4	5	6,00	30,00
	Total	10		

Test Statistics ^a	
	Derajat Proteinuria
Mann-Whitney U	10,000
Wilcoxon W	25,000
Z	-,655
Asymp. Sig. (2-tailed)	,513
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	,690 ^b

a. Grouping Variable: Kelompok

b. Not corrected for ties.

10. Post Hoc Mann-Whitney Test K3 dan K5

Ranks				
	Kelompok	N	Mean Rank	Sum of Ranks
Derajat_Proteinuria	Kelompok K3	5	4,50	22,50
	Kelompok K5	5	6,50	32,50
	Total	10		

Test Statistics ^a	
	Derajat Proteinuria
Mann-Whitney U	7,500
Wilcoxon W	22,500
Z	-1,225
Asymp. Sig. (2-tailed)	,221
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	,310 ^b

a. Grouping Variable: Kelompok

b. Not corrected for ties.

11. Post Hoc Mann-Whitney Test K4 dan K5

Ranks				
	Kelompok	N	Mean Rank	Sum of Ranks
Derajat_Proteinuria	Kelompok K4	5	5,00	25,00
	Kelompok K5	5	6,00	30,00
	Total	10		

Test Statistics ^a	
	Derajat Proteinuria
Mann-Whitney U	10,000
Wilcoxon W	25,000
Z	-,600
Asymp. Sig. (2-tailed)	,549
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	,690 ^b

a. Grouping Variable: Kelompok

b. Not corrected for ties.

Lampiran 4.4 Dokumentasi Penelitian**1. Pembuatan Ekstrak Alga Cokelat (*Sargassum sp.*)**

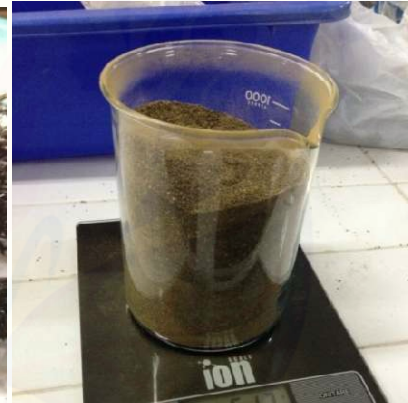
Alga cokelat segar dari Pantai



Alga digantung dan diangin anginkan



Alga cokelat yang telah kering



Serbuk alga kering setelah dihaluskan



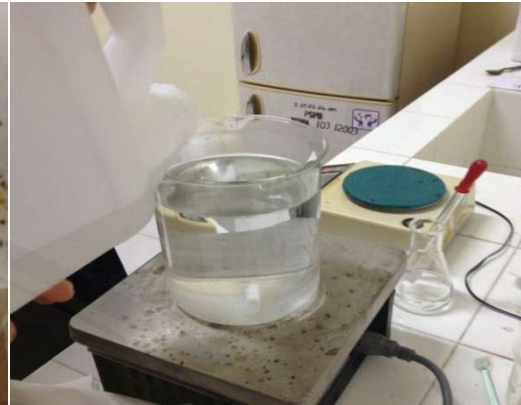
Alga dimaserasi dan disaring



Penguapan dengan Rotary Evaporator



Hasil ekstrak metanol alga coklat



Pembuatan pelarut NaCMC 0,5%

2. Perlakuan Terhadap Hewan Coba



Adaptasi hewan coba



Pemberian makan minum serta penggantian sekam



Injeksi intraperitoneal streptozotocin



Pemberian D5% setelah injeksi STZ



Pengukuran gula darah puasa setelah injeksi STZ



Penyondean ekstrak Alga coklat



Pengumpulan sampel urin pada kandang metabolik



Wadah tampung urin pada kandang metabolik



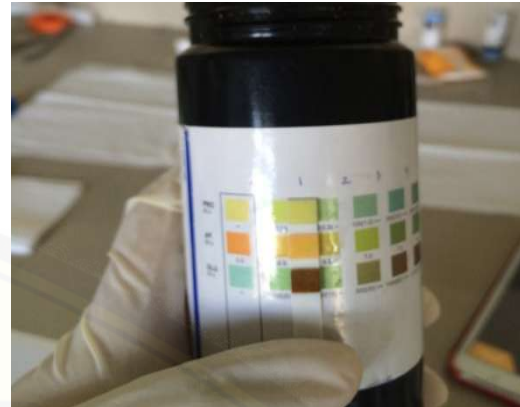
Tempat minum diatas wadah pakan untuk meminimalisir kontaminasi



Dipstik merk Verify digunakan dengan stopwatch



Sampel urin sewaktu dikumpulkan pada pagi hari



Pengukuran derajat proteinuria menggunakan dipstick



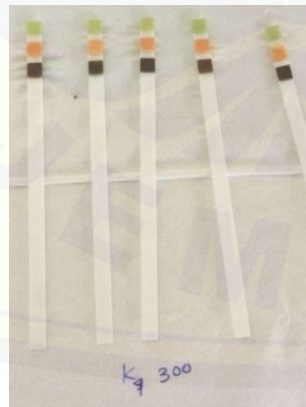
Kelompok Normal (K1)



Kontrol Negatif (K2)



Kelompok dosis 150 (K3)



Kelompok dosis 300 (K4)



Kelompok dosis 450 (K5)