



**PENGARUH EKSTRAK DAUN KELOR (*Moringa oleifera Lamk*) TERHADAP KERUSAKAN HISTOPATOLOGI GLOMERULUS TIKUS WISTAR JANTAN (*Rattus norvegicus*) MODEL DIABETES**

**SKRIPSI**

oleh

**Giovani Gianosa  
NIM 162010101059**

**FAKULTAS KEDOKTERAN  
UNIVERSITAS JEMBER  
2020**



**PENGARUH EKSTRAK DAUN KELOR (*Moringa oleifera Lamk*) TERHADAP KERUSAKAN HISTOPATOLOGI GLOMERULUS TIKUS WISTAR JANTAN (*Rattus norvegicus*) MODEL DIABETES**

**SKRIPSI**

diajukan guna melengkapi tugas akhir dan memenuhi salah satu syarat untuk menyelesaikan pendidikan di Fakultas Kedokteran (S1) dan mencapai gelar sarjana kedokteran

oleh

**Giovani Gianosa  
NIM 162010101059**

**FAKULTAS KEDOKTERAN  
UNIVERSITAS JEMBER  
2020**

## PERSEMBAHAN

Skripsi ini saya persembahkan untuk :

1. Allah SWT yang telah memberikan seluruh rahmat dan hidayah-Nya serta Nabi Muhammad SAW yang menjadi contoh dan panutan dalam kehidupan;
2. Kedua orang tua saya, Erwin Sudarmin dan Ninik Kholilah yang selalu memberikan bimbingan, nasehat, doa, kasih sayang, motivasi, sumber dana serta seluruh pengorbanan yang diberikan sampai saat ini hingga saya bisa mencapai pada tahap ini dan selanjutnya nanti;
3. Para guru saya sedari taman kanak-kanak hingga di perguruan tinggi ini yang memberikan ilmu dan mendidik saya;
4. Almamater Fakultas Kedokteran Universitas Jember

**MOTTO**

“ Kita hanya akan dapat kesempatan 1kali, jika kita tidak memanfaatkan kesempatan tersebut secara maksimal maka merugikan kita”



**PERNYATAAN**

Saya yang bertanda tangan di bawah ini,

nama : Giovani Gianosa

NIM : 162010101059

menyatakan dengan sesungguhnya bahwa skripsi yang berjudul “Pengaruh Ekstrak Daun Kelor (*Moringa oleifera Lamk*) Terhadap Kerusakan Histopatologi Glomerulus Tikus Wistar Jantan (*Rattus norvegicus*) Model Diabetes” adalah benar hasil karya sendiri, kecuali kutipan yang sudah saya sebutkan sumbernya, belum pernah diajukan di institusi mana pun, dan 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 ada tekanan dan paksaan dari pihak manapun serta bersedia mendapat sanksi akademik jika ternyata di kemudian hari pernyataan ini tidak benar.

Jember, 25 Februari 2020

Yang menyatakan,

(Giovani Gianosa)

NIM 162010101059

**SKRIPSI**

**PENGARUH EKSTRAK DAUN KELOR (*Moringa oleifera Lamk*) TERHADAP KERUSAKAN HISTOPATOLOGI GLOMERULUS TIKUS WISTAR JANTAN (*Rattus norvegicus*) MODEL DIABETES**

Oleh

**Giovani Gianosa**

**NIM 162010101059**

Pembimbing

Dosen Pembimbing Utama (DPU) : dr. Ali Santosa, Sp.PD

Dosen Pembimbing Anggota (DPA) : dr. Suryono, Sp.JP-FIHA

**PENGESAHAN**

Skripsi berjudul “Pengaruh Ekstrak Daun Kelor (*Moringa oleifera*) Terhadap Kerusakan Histopatologi Glomerulus Tikus Wistar Jantan (*Rattus novergicus*) Model Diabetes” karya Giovani Gianosa telah diuji dan disahkan pada:

hari, tanggal : Selasa, 25 Februari 2020

tempat : Fakultas Kedokteran Universitas Jember

**Tim Penguji:**

Ketua

Anggota I,

dr. Heni Fatmawati, M. Kes., Sp.Rad

dr. Ayu Munawaroh A., M.Biomed

NIP. 197602122005012001

NIP. 198903132014042002

Anggota II,

Anggota III,

dr. Ali Santosa, Sp.PD

dr. Suryono, SP.JP-FIHA

NIP. 196910112000031001

NIP. 19820720 2008012013

Mengesahkan,

Dekan Fakultas Kedokteran Universitas Jember

dr. Supangat, M.Kes., Ph.D., Sp. BA

NIP. 19730424 1999031002

## RINGKASAN

**Pengaruh Ekstrak Daun Kelor (*Moringa oleifera Lamk*) Terhadap Kerusakan Histopatologi Glomerulus Tikus Wistar Jantan (*Rattus novergicus*) Model Diabetes;** Giovani Gianosa; 162010101059; 2020; 57 Halaman; Fakultas Kedokteran Universitas Jember.

Diabetes mellitus (DM) adalah kelompok penyakit metabolik dengan karakteristik hiperglikemi yang terjadi karena adanya kelainan sekresi insulin. Hiperglikemi kronis pada diabetes menyebabkan disfungsi dan kegagalan dari berbagai organ tubuh seperti ginjal, mata, saraf, jantung, dan pembuluh darah. Prevalensi global diabetes pada orang dewasa diatas 18 tahun telah meningkat dari 4,7% pada 1980 menjadi 8,5% pada 2014. Penduduk Indonesia banyak mengenal macam-macam obat herbal, dan masyarakat Indonesia juga sering mengkonsumsi obat herbal seperti daun kelor, yang namanya sudah tak asing didengar oleh masyarakat Indonesia dan sudah sering digunakan sebagai obat tradisional sehingga peneliti tertarik untuk meneliti bagaimana efek yang diberikan daun kelor terhadap pengobatan diabetes. Tujuan pada penelitian ini adalah untuk menganalisa bagaimana efek pengobatan yang diberikan daun kelor terhadap kondisi diabetes mellitus khususnya pada gambaran kerusakan histopatologi glomerulus.

Pada penelitian ini untuk membuat tikus model diabetes menggunakan induksi dari streptozotocin setelah itu diberikan daun kelor sebagai bentuk pengobatannya. Pemberian dosis ekstrak daun kelor ini dibagi menjadi 5 kelompok yaitu dengan dosis 62,5mg/kgbb, 125mg/kgbb, 250mg/kgbb, 500mg/kgbb, dan 1000mg/kgbb. Gambaran histopatologi yang didapat akan dinilai menggunakan skoring, dan untuk analisis datanya menggunakan uji *Kruskal-Wallis* serta dilanjut dengan uji *post hoc* menggunakan uji *Mann-Whitney*.

Hasil penelitian ini menunjukkan terdapat pengaruh pemberian ekstrak daun kelor terhadap kerusakan histopatologi glomerulus. Hasil uji analisis data *Kruskal-Wallis* didapatkan hasil yang signifikan yaitu  $p= 0,001$ , setelah data yang didapat merupakan data signifikan maka dilanjut dengan uji *post hoc* menggunakan uji *Mann-Whitney* dengan hasil signifikan jika dibandingkan dengan kontrol negatif mulai dari kelompok dosis 125mg/kgbb hingga 1000mg/kgbb, namun pada dosis 62,5mg/kgbb tidak menunjukkan signifikansi.

Hasil penelitian ini menunjukkan bahwa senyawa antioksidan yaitu flavonoid, tannin, saponin, dan quercetin yang terkandung didalam daun kelor mampu memperbaiki kerusakan glomerulus tikus wistar jantan dimana senyawa antioksidan tersebut bekerja saat tikus wistar jantan dalam keadaan hiperglikemi yang menyebabkan kondisi stress oksidatif. Kondisi stress oksidatif tersebut yang akan memicu peningkatan *nitric oxide* didalam tubuh tikus sehingga jumlah *endothelial nitric oxide synthase* (eNOS) mengalami penurunan atau defisiensi sehingga ketika eNOS mengalami defisiensi akan menyebabkan keadaan seperti penurunan tekanan darah hingga kerusakan ginjal, pada keadaan diabetes mellitus tikus akan terus mengalami hiperglikemi sehingga akan timbul reaksi stress

oksidatif terus menerus yang akan menyebabkan defisiensi eNOS yang terus menerus sehingga tingkat kerusakan ginjal yang dialami tikus akan terus meningkat (Palygin *et al.*,2017).



## PRAKATA

Puji syukur ke hadirat Tuhan Yang Maha Esa karena atas rahmat dan karunia-Nya, penulis dapat menyelesaikan proposal penelitian yang berjudul “Pengaruh Ekstrak Daun Kelor (*Moringa oleifera*) terhadap Kerusakan Histopatologi Glomerulus Tikus Wistar Jantan (*Rattus norvegicus*) Model Diabetes” ini dengan baik. Penelitian ini diajukan guna penelitian rutin.

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

1. dr. Supangat, M.Kes., Ph.D., Sp. BA selaku Dekan Fakultas Kedokteran Universitas Jember
2. dr. Ali Santoso, Sp. PD selaku Dosen Pembimbing Utama yang telah meluangkan waktu, pikiran, tenaga, dan perhatian dalam penulisan penelitian ini;
3. dr. Suryono, Sp.JP-FIHA selaku Dosen Pembimbing Anggota dan Ketua Penelitian ini yang telah meluangkan waktu, pikiran, tenaga, dan perhatian dalam penulisan skripsi ini;
4. dr. Heni Fatmawati, M.Kes.,Sp. Rad selaku Dosen Penguji Utama yang telah meluangkan waktu, pikiran, tenaga dan perhatian dalam penulisan penelitian ini;
5. dr. Ayu Munawaroh Aziz, M.Biomed selaku Dosen Penguji Anggota yang telah meluangkan waktu, pikiran, tenaga dan perhatian dalam penulisan penelitian ini;
6. Pranata Laboratorium Pendidikan lab farmakologi FK Unej, Lilik Maslian, A.md dan lab biokimia FK Unej, Nurul Istinaroh, A.md yang telah memberikan izin dan bantuan selama penelitian;
7. Para staf dan civitas akademika di Fakultas Kedokteran Universitas Jember yang telah memberikan banyak bantuan selama pendidikan;
8. Ayahanda Erwin Sudarmin dan Ibunda Ninik Kholilah atas dukungan moral, materi, doa, dan semua curahan kasih sayang yang tak pernah putus;

9. Saudaraku Tito Krisna Gianosa, dan Maxy Milano Gianosa yang telah memberi motivasi untuk menyelesaikan tugas akhir ini;
10. Teman teman saya Wira, Fahmi, atas kebersamaan dan dukungan selama mengerjakan skripsi untuk pendidikan di Univesitas Jember;
11. Sahabat perkopian yaitu Alif, Fachrizal, Gede, Ganes, Fikri, Elvin, Jona, Duki, dan Dika atas motivasi dan ide bagus selama menempuh pendidikan di Fakultas Kedokteran Univesitas Jember;
12. Teman penelitianku, Dini Cynthia Dewi Tanuwijaya, Giovani Gianosa, Miranda Dewi, Athiyah Fi Ramadhani, dan Ni Luh Putu Dinda Rahayu Dermans yang telah memberikan semangat dan motivasi selama penelitian;
13. Teman tarkamku, Asagiri, Bagas, Dika, Fahri, Alfian, Mushab, Iik, Fachrizal, Alif, Alifkuf, Wira, Fahmi, Fikri, Adiz, Dhiemas, Jona, Elvin, Ganes, Gede, Eyin, Ihdhar, Sidha, Iqbal, Yuda, dan Rafi.
14. Teman-teman angkatan FK UNEJ 2016 (LIGAMEN) yang sedang bersama-sama berjuang untuk mendapatkan gelar sarjana kedokteran;
15. Semua pihak yang telah membantu dalam menyelesaikan proposal ini yang tidak dapat disebutkan satu persatu.

Penulis menyadari bahwa skripsi ini jauh dari sempurna dan menerima segala kritik dan saran dari semua pihak demi kesempurnaan skripsi ini. Akhir kata, penulis berharap semoga skripsi ini dapat memberikan manfaat bagi pembaca dan khususnya untuk perkembangan Fakultas Kedokteran Universitas Jember.

Jember, 25 Februari 2020

Penulis

**DAFTAR ISI**

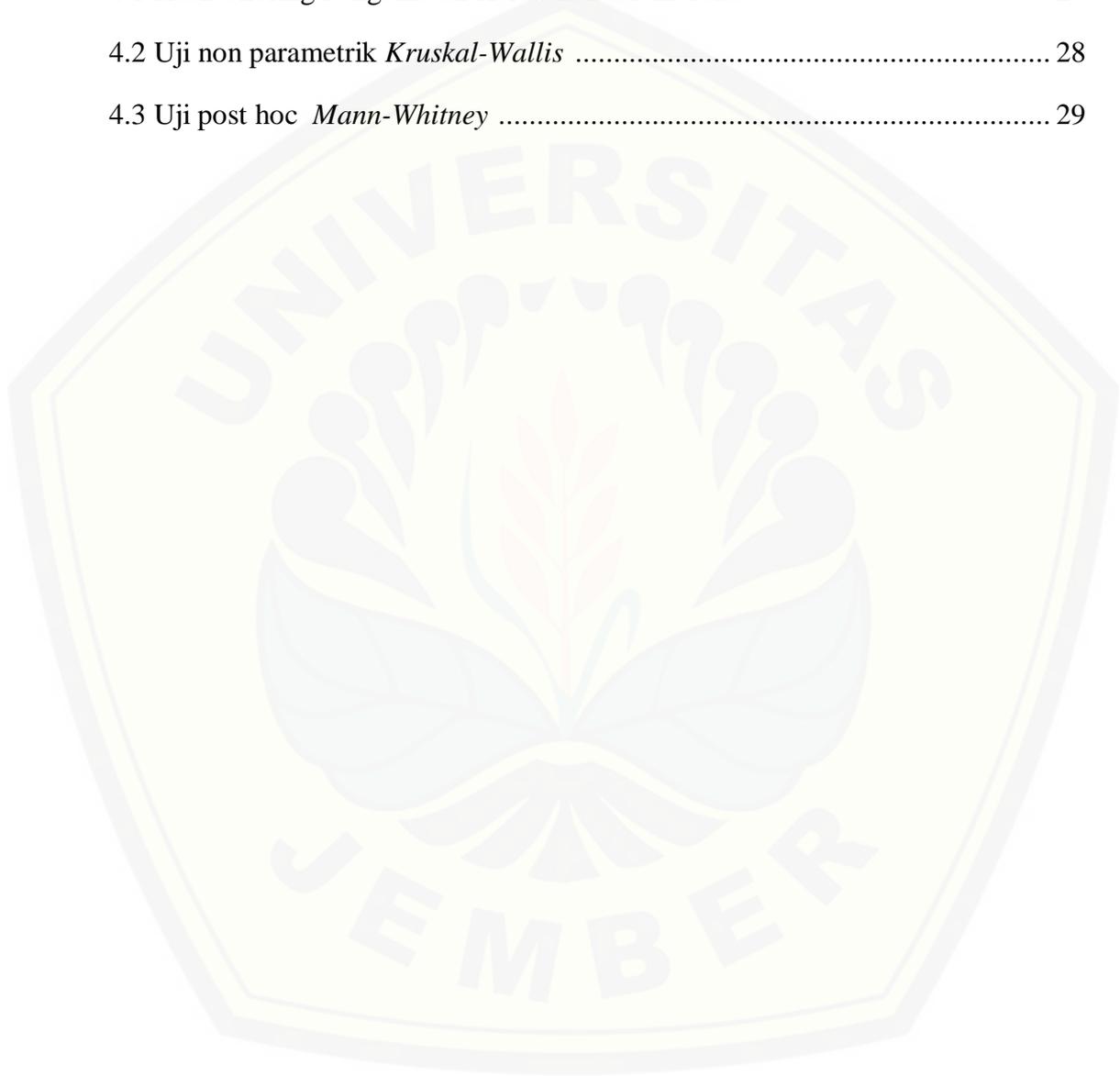
<b>HALAMAN SAMPUL</b> .....	<b>i</b>
<b>HALAMAN JUDUL</b> .....	<b>ii</b>
<b>HALAMAN PERSEMBAHAN</b> .....	<b>iii</b>
<b>HALAMAN MOTTO</b> .....	<b>iv</b>
<b>HALAMAN PERNYATAAN</b> .....	<b>v</b>
<b>HALAMAN PEMBIMBING</b> .....	<b>vi</b>
<b>HALAMAN PENGESAHAN</b> .....	<b>vii</b>
<b>HALAMAN RINGKASAN</b> .....	<b>viii</b>
<b>HALAMAN PRAKATA</b> .....	<b>x</b>
<b>DAFTAR ISI</b> .....	<b>xii</b>
<b>DAFTAR GAMBAR</b> .....	<b>xvi</b>
<b>DAFTAR LAMPIRAN</b> .....	<b>xvii</b>
<b>BAB 1. PENDAHULUAN</b> .....	<b>1</b>
<b>1.1 Latar Belakang</b> .....	<b>1</b>
<b>1.2 Rumusan Masalah</b> .....	<b>2</b>
<b>1.3 Tujuan Penelitian</b> .....	<b>2</b>
<b>1.4 Manfaat Penelitian</b> .....	<b>2</b>
<b>BAB. 2 TINJAUAN PUSTAKA</b> .....	<b>3</b>
<b>2.1 Anatomi Ginjal</b> .....	<b>3</b>
<b>2.2 Histologi Ginjal</b> .....	<b>4</b>
<b>2.3 Diabetes Melitus</b> .....	<b>5</b>
2.3.1 Definisi Diabetes Melitus .....	<b>5</b>
2.3.2 Klasifikasi Diabetes Melitus.....	<b>6</b>

2.3.3	Diagnosis .....	7
2.3.4	Komplikasi .....	7
2.3.5	Hubungan Diabetes Dengan Kerusakan Glomerulus.....	7
<b>2.4</b>	<b>Streptozotocin .....</b>	<b>8</b>
<b>2.5</b>	<b>Daun Kelor.....</b>	<b>9</b>
<b>2.6</b>	<b>Kerangka Konseptual.....</b>	<b>12</b>
<b>2.7</b>	<b>Hipotesis.....</b>	<b>13</b>
<b>BAB 3.</b>	<b>METODE PENELITIAN.....</b>	<b>14</b>
<b>3.1</b>	<b>Jenis Penelitian .....</b>	<b>14</b>
<b>3.2</b>	<b>Rancangan Penelitian .....</b>	<b>14</b>
<b>3.3</b>	<b>Tempat dan Waktu Penelitian .....</b>	<b>15</b>
<b>3.4</b>	<b>Populasi dan Sampel Penelitian .....</b>	<b>15</b>
3.4.1	Populasi .....	15
3.4.2	Sampel Penelitian.....	15
3.4.3	Jumlah Sampel.....	15
3.4.4	Kriteria Inklusi dan Eksklusi .....	16
<b>3.5</b>	<b>Variabel Penelitian .....</b>	<b>17</b>
3.5.1	Variabel Bebas.....	17
3.5.2	Variabel Terikat .....	17
<b>3.7</b>	<b>Alat dan Bahan Penelitan.....</b>	<b>17</b>
3.7.1	Alat Penelitian .....	17
3.7.2	Bahan Penelitian .....	18
<b>3.8</b>	<b>Prosedur Penelitian.....</b>	<b>18</b>
3.8.1	Pembuatan Ekstrak Daun <i>Moringa Oleifera Lamk</i> .....	18
3.8.2	Pengenceran Ekstrak Etanol Daun <i>Moringa Oleifera Lamk</i> .....	19

3.8.3 Penentuan Dosis.....	19
3.8.4 Pembagian Kelompok dan Pemeliharaan Hewan Coba.....	20
3.8.5 Perlakuan pada Hewan Coba Selama Penelitian .....	20
3.8.6 Terminasi dan Pengambilan Ginjal Tikus .....	20
3.8.7 Pembuatan Preparat Histopatologi.....	21
3.8.9 Pengamatan Preparat Histopatologi .....	21
<b>3.9 Alur Penelitian .....</b>	<b>23</b>
<b>3.10 Analisis Data .....</b>	<b>24</b>
<b>BAB 4. HASIL DAN PEMBAHASAN.....</b>	<b>25</b>
<b>4.1 Hasil Pengamatan .....</b>	<b>25</b>
<b>4.2 Analisis Statistik .....</b>	<b>277</b>
<b>4.3 Pembahasan .....</b>	<b>2929</b>
<b>BAB 5. KESIMPULAN DAN SARAN.....</b>	<b>32</b>
<b>5.1 Kesimpulan .....</b>	<b>32</b>
<b>5.2 Saran .....</b>	<b>322</b>
<b>DAFTAR PUSTAKA.....</b>	<b>333</b>

**DAFTAR TABEL**

3.1 Definisi Operasional.....	17
3.2 Scoring Histopatologi.....	22
4.1 Hasil Skoring Pengamatan Kerusakan Glomerulus.....	28
4.2 Uji non parametrik <i>Kruskal-Wallis</i> .....	28
4.3 Uji post hoc <i>Mann-Whitney</i> .....	29

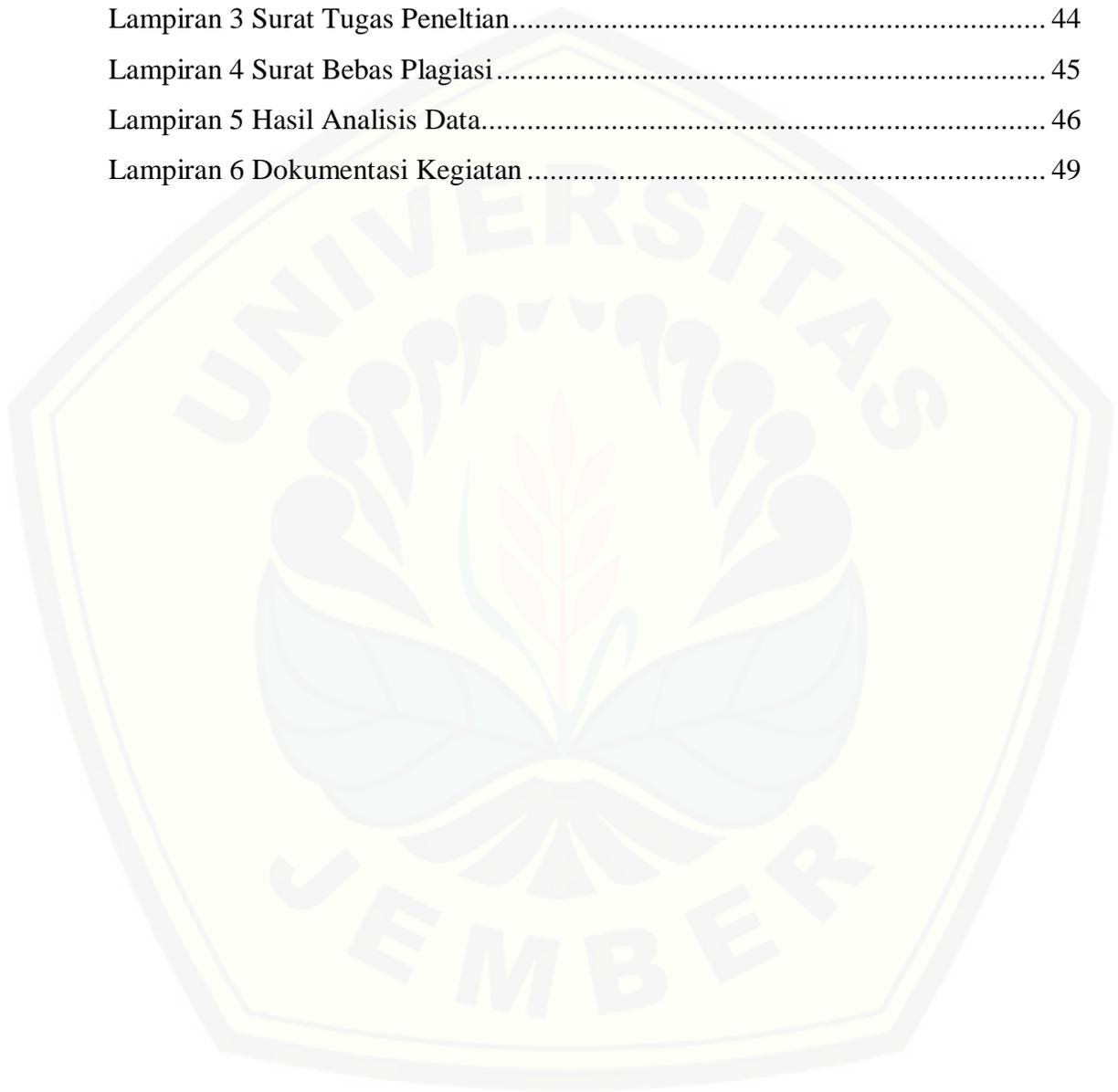


**DAFTAR GAMBAR**

2.1 Gambar Anatomi Ginjal .....	3
2.2 Gambar Histologi Ginjal .....	4
2.3 Gambar Histologi Ginjal .....	5
2.4 Gambar Daun Kelor .....	10
2.5 Kerangka Konseptual .....	12
3.1 Skema Rancangan Penelitian.....	14
3.2 Alur Penelitian .....	23
4.1 Gambar Glomerulus K-, dan K+.....	26
4.2 Gambar Glomerulus P1, dan P2 .....	26
4.3 Gambar Glomerulus P3, P4, dan P5 .....	27

**DAFTAR LAMPIRAN**

Lampiran 1 Perhitungan Dosis untuk Setiap Tikus .....	37
Lampiran 2 Lembar Persetujuan Etik FK UNEJ .....	42
Lampiran 3 Surat Tugas Penelitian.....	44
Lampiran 4 Surat Bebas Plagiasi.....	45
Lampiran 5 Hasil Analisis Data.....	46
Lampiran 6 Dokumentasi Kegiatan .....	49



## BAB 1. PENDAHULUAN

### 1.1 Latar Belakang

Diabetes melitus (DM) adalah kumpulan penyakit metabolik dengan kondisi hiperglikemia yang terjadi karena adanya kelainan dari sekresi insulin, kerja insulin atau keduanya. Hiperglikemia kronik yang terdapat pada diabetes berhubungan dengan kerusakan jangka panjang, disfungsi atau kegagalan beberapa organ tubuh, terutama mata, ginjal, saraf, jantung dan pembuluh darah. Hipertensi yang disebabkan karena kondisi stress oksidatif akibat kondisi diabetes yang berkepanjangan akan menyebabkan gangguan perfusi terutama pada bagian ginjal yaitu glomerulus serta gangguan filtrasi glomerulus yang menyebabkan kerusakan dari glomerulus (Palygin *et al.*, 2017). Prevalensi global diabetes di antara orang dewasa yang di atas 18 tahun telah meningkat dari 4,7% pada 1980 menjadi 8,5% pada 2014 (WHO, 2018). International Diabetes Federation (IDF) Atlas tahun 2017 melaporkan bahwa epidemiologi diabetes di Indonesia masih menunjukkan kecenderungan untuk meningkat. Indonesia sendiri merupakan negara peringkat keenam di dunia setelah Tiongkok, India, Amerika Serikat, Brazil, dan Meksiko dengan jumlah penyandang diabetes usia 20-79 tahun sekitar 10,3 juta orang. Penyandang diabetes di Indonesia pada tahun 2015 menempati peringkat ke tujuh di dunia dengan estimasi penderita diabetes sebesar 10 juta (IDF Atlas, 2015). Menurut Riset Kesehatan Dasar (Riskesdas) memperlihatkan peningkatan pada angka prevalensi diabetes yang cukup signifikan, yaitu dari 6,9% di tahun 2013 menjadi 8,5% di tahun 2018. Sehingga kemungkinan 16 juta orang yang ada di Indonesia beresiko terkena penyakit lain seperti gagal ginjal (KEMKES, 2018).

Seiring berkembangnya ilmu pengetahuan maka perlu adanya inovasi dari pengobatan diabetes yaitu dengan menggunakan obat dengan bahan alami salah satunya adalah dari tanaman kelor. Di Indonesia tanaman kelor sudah banyak dikenal karena banyak masyarakat percaya tanaman ini mampu menjadi alternatif untuk pengobatan penyakit dan kemudahan untuk mendapat tanaman tersebut disekeliling tempat tinggal. Banyak penelitian telah dilakukan pada produk herbal

yang efisien dan aman untuk mengatasi diabetes melitus, contohnya adalah *Moringa oleifera Lamk* yang dikenal sebagai daun kelor yang biasa digunakan masyarakat sebagai bahan obat alami. *Moringa oleifera Lamk* memiliki kandungan antioksidan antara lain yaitu fenol, alkaloid, terpenoid, saponin, dan tanin. Fenol sendiri memiliki berbagai turunan senyawa kimia, salah satunya adalah flavonoid. Flavonoid sendiri telah terbukti khasiatnya secara klinis sebagai kardioprotektif, antioksidan, dan antiinflamasi (Redha, 2013).

Adanya senyawa flavonoid pada buah, bunga, batang dan daun, dimana salah satu khasiat dari senyawa flavonoid ini adalah antioksidan. Penelitian menyebutkan efek *Moringa oleifera* pada tikus jantan diabetes mampu menurunkan gula darah dan mengurangi radikal bebas (Sithole *et al.*, 2009). Oleh karena itu peneliti ingin mengetahui efek daun kelor atau *Moringa oleifera Lamk* terhadap gangguan struktur histopatologi dari glomerulus ginjal tikus yang diinduksi dengan streptozotocin.

## **1.2 Rumusan Masalah**

Rumusan masalah pada penelitian ini yaitu mengetahui apakah terdapat pengaruh dari pemberian ekstrak daun kelor (*Moringa oleifera Lamk*) terhadap kerusakan histopatologi glomerulus tikus wistar jantan model diabetes?

## **1.3 Tujuan Penelitian**

- Tujuan umum pada penelitian ini yaitu menganalisa adanya perbedaan gambaran histopatologi glomerulus ginjal tikus wistar jantan (*Rattus norvegicus*) yang diberi ekstrak daun kelor (*Moringa oleifera Lamk*) dalam berbagai dosis.
- Tujuan khusus dari penelitian ini adalah untuk mengetahui tingkat perbaikan dari pemberian dosis bertingkat ekstrak daun kelor yang diberikan.

## **1.4 Manfaat Penelitian**

Manfaat pada penelitian ini yaitu bisa mengobati diabetes melitus dengan pemberian ekstrak daun kelor (*Moringa oleifera Lamk*) terhadap kerusakan

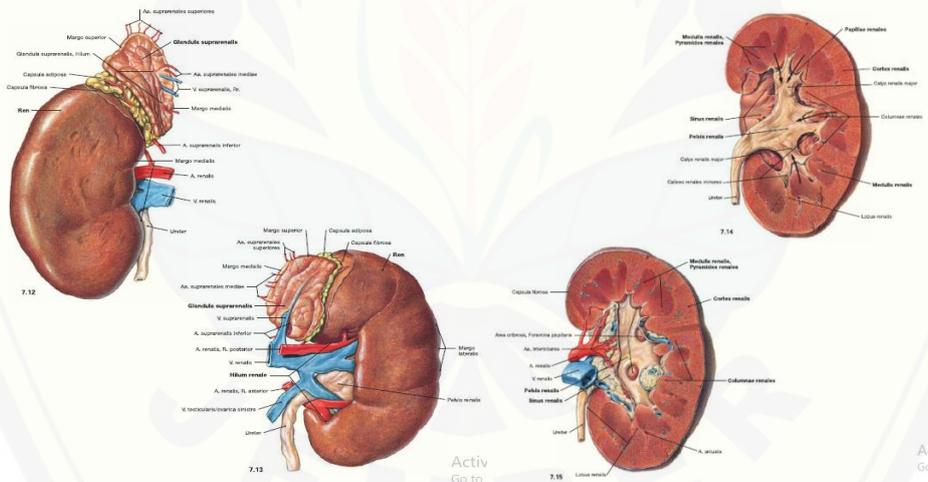
histopatologi dari glomerulus ginjal tikus wistar jantan (*Rattus norvegicus*) model diabetes.



## BAB. 2 TINJAUAN PUSTAKA

### 2.1 Anatomi Ginjal

Ginjal pada keadaan segar berwarna coklat kemerahan. Letak ginjal adalah di bagian posterior peritoneum di setiap sisi columna vertebralis dan dikelilingi jaringan adiposa. Bagian superior ginjal terletak sejajar dengan batas atas vertebra thorakal 12, dan bagian inferiornya sejajar dengan vertebra lumbal 3. Ukuran ginjal pada umumnya berukuran 11 cm, lebar 6 cm, dan dimensi anteriposterior 3 cm dengan berat rata-rata adalah 150gram pada pria dan 135 gram pada wanita. Pada bagian atas ginjal terdapat kelenjar adrenal yang menempel dalam lemak dan jaringan ikat ginjal. Batas medial dari ginjal yang cekung disebut hilum, yang terdiri dari *arteri renalis*, *vena renalis* dan *pelvis renalis*. Struktur tersebut dikelilingi oleh jaringan ikat longgar dan rongga berisi lemak yang disebut sinus renalis (Gray's Anatomy., 2015).



Gambar 2.1 Gambar anatomi ginjal (Sumber: Sobotta 23th edition, 2012)

Pada struktur luar ginjal didapati *capsula fibrosa* yang keras dan berfungsi untuk melindungi struktur bagian dalam yang rapuh (Guyton & Hall., 2008). Pada tepi medial ginjal yang cekung terdapat celah vertikal yang dikenal sebagai *hilum renale* yaitu tempat dari arteri renalis masuk dan vena renalis serta pelvis renalis keluar (Moore & Anne., 2012).

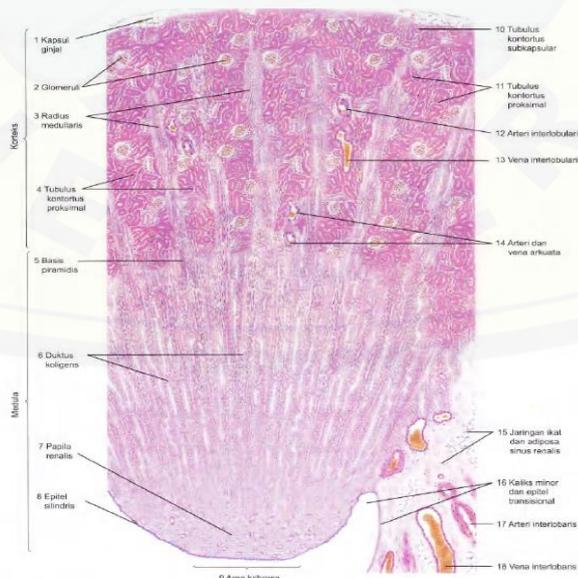
Ginjal dibagi dua dari atas ke bawah, dua daerah utama yang dapat digambarkan yaitu korteks pada bagian luar dan medulla dibagian dalam (Guyton & Hall, 2008). Pada ginjal terdapat 1-4 juta nefron pada masing- masing ginjal, nefron terdiri atas korpuskulum renalis, tubulus kontortus proksimal, ansa henle dan tubulus kontortus distal (Junqueira & Carneriro, 2007).

Ginjal diperdarahi oleh arteri renalis yang terletak setinggi diskus intervertebralis vertebra lumbal satu dan vertebra lumbal dua (Moore & Anne, 2012). Persarafan pada ginjal berasal dari pleksus renalis dari serabut simpatis dan parasimpatis (Moore & Anne, 2012).

## 2.2 Histologi Ginjal

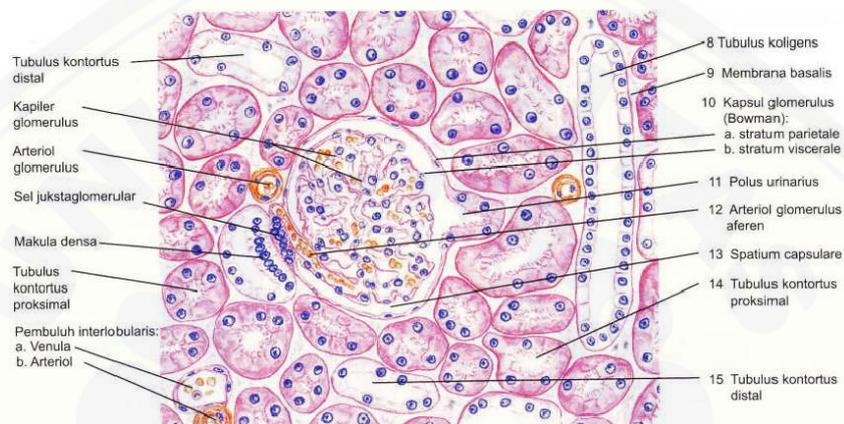
Ginjal dilapisi oleh kapsul jaringan ikat padat tidak teratur. Pada irisan sagital ginjal menunjukkan korteks yang lebih gelap di bagian luarnya, dan medula yang lebih terang di bagian dalam yang terdiri atas banyak piramida renalis. Apex dari setiap piramid meluas ke arah pelvis renalis membentuk papila renalis (Eroschenko, 2015).

Setiap papila renalis dikelilingi oleh *calyx minor*, yang fungsinya mengumpulkan urin dari papila. *Calyx minor* bergabung di sinus renalis membentuk *calyx mayor* (Eroschenko, 2015).



Gambar 2.2 Histologi Ginjal (Sumber: Atlas Histologi diFiore, 2015)

Korpuskulum ginjal terdiri dari kumpulan kapiler yang disebut glomerulus, yang dilapisi dua lapis epitel yaitu kapsul glomerulus (*capsula glomerularis & capsula bowman*). Korpuskulum ginjal adalah segmen awal dari nefron, darah disaring di korpuskulum ginjal melalui kapiler glomerulus. Filtrasi darah di korpuskulum ginjal difasilitasi oleh endotel dari glomerulus. Endotel di kapiler glomerulus berpori dan sangat permeabel terhadap banyak substansi di dalam darah (diFiore, 2015).



Gambar 2.3 Histologi Glomerulus (Sumber: Atlas Histologi diFiore, 2015)

Setiap korpuskulum renalis terdiri atas seberkas kapiler berupa glomerulus yang dikelilingi oleh *capsula bowman*. Lamina visceralis ini meliputi glomerulus, sedangkan lapisan luar yang membentuk batas korpuskulum renal disebut lamina parietal. Diantara dua lapisan *capsula bowman* terdapat ruang urinarius yang menampung cairan yang disaring melalui dinding kapiler dan lapisan visceral (Junqueira & Carneiro, 2007).

## 2.3 Diabetes Melitus

### 2.3.1 Definisi Diabetes Melitus

Diabetes adalah penyakit kronis yang terjadi ketika pankreas tidak mampu memproduksi cukup insulin atau ketika tubuh tidak dapat secara efektif menggunakan insulin yang dihasilkannya. Insulin sendiri adalah hormon yang

mengatur gula darah. Hiperglikemia, atau peningkatan gula darah, merupakan efek umum dari diabetes yang tidak terkontrol dan dari waktu ke waktu menyebabkan kerusakan serius pada banyak sistem tubuh, terutama saraf, dan pembuluh. Diabetes merupakan penyebab utama kebutaan, gagal ginjal, serangan jantung, stroke, dan amputasi tungkai bawah (Purnamasari, 2014).

### **2.3.2 Klasifikasi Diabetes Melitus**

#### **a. Diabetes Melitus Tipe 1**

Diabetes tipe 1 ditandai dengan adanya kekurangan produksi insulin dan memerlukan pemberian insulin setiap hari. Penyebab diabetes tipe 1 tidak diketahui dan tidak dapat dicegah dengan pengetahuan saat ini. Gejalanya dapat terjadi secara tiba-tiba meliputi ekskresi urin yang berlebihan (poliuria), haus (polidipsia), rasa lapar terus-menerus, penurunan berat badan, perubahan penglihatan, dan kelelahan (WHO, 2018).

#### **b. Diabetes Melitus Tipe 2**

Diabetes tipe 2 (sebelumnya disebut non-insulin-dependent) dihasilkan dari penggunaan insulin yang tidak efektif oleh tubuh. Diabetes tipe 2 merupakan sebagian besar penderita diabetes di seluruh dunia, dan sebagian besarnya merupakan hasil dari kelebihan berat badan dan kurangnya aktivitas fisik. Gejala bisa mirip dengan diabetes tipe 1, tetapi jarang diperhatikan. Akibatnya, penyakit ini dapat didiagnosis beberapa tahun setelah onset, setelah komplikasi telah muncul. Sampai saat ini, diabetes tipe ini hanya terlihat pada orang dewasa tetapi sekarang juga semakin sering terjadi pada anak-anak (WHO, 2018).

#### **c. Diabetes Gestational**

Diabetes gestasional merupakan keadaan hiperglikemia dengan nilai glukosa darah di atas normal tetapi di bawah kadar gula darah yang terdiagnosis diabetes, yang bisa terjadi selama kehamilan. Wanita dengan diabetes gestasional berisiko lebih tinggi mengalami komplikasi selama kehamilan dan saat melahirkan. Mereka dan anak-anak mereka juga menghadapi peningkatan risiko diabetes tipe 2 di masa depan. Diabetes gestasional bisa didiagnosis melalui skrining prenatal (WHO, 2018).

### 2.3.3 Diagnosis

Diagnosis DM harus berdasarkan hasil pemeriksaan kadar gula darah. PERKENI (Perkumpulan Endrokinologi Indonesia) membagi alur diagnosis menjadi dua, berdasarkan ada tidaknya gejala khas DM. Gejala khas DM terdiri dari polidipsia, poliuria, polifagia, dan berat badan menurun tanpa penyebab yang jelas.

Kriteria diagnosis DM:

- a. Gejala khas DM + glukosa plasma sewaktu  $>200\text{mg/dl}$
- b. Atau, Gejala khas DM + glukosa plasma puasa  $>126\text{ mg/dl}$

### 2.3.4 Komplikasi

Diabetes melitus jika tidak dikelola dengan baik akan menyebabkan berbagai komplikasi kronik, baik mikroangiopati atau makroangiopati. Pertumbuhan sel dan kematian sel yang tidak normal menyebabkan terjadinya komplikasi kronik DM. Kelainan tersebut telah terbukti terjadi pada penderita DM maupun pada berbagai binatang percobaan. Perubahan tersebut terjadi pada endotel pembuluh darah, sel otot polos pembuluh darah, dan pada sel mesangial ginjal. Dari hal tersebut menyebabkan perubahan pada pertumbuhan sel, dan akan menyebabkan komplikasi vaskular diabetes (Purnamasari, 2014). Pada nefropati diabetik, terjadi peningkatan tekanan glomerular, juga disertai penebalan membran basal, ekspansi mesangial dan hipertrofi glomerular. Dari semua hal tersebut akan menyebabkan berkurangnya area filtrasi dan menyebabkan perubahan yang mengarah ke terjadinya kerusakan pada struktur glomerulus.

### 2.3.5 Hubungan Diabetes Dengan Kerusakan Glomerulus

Diabetes melitus (DM) adalah suatu kumpulan penyakit metabolik dengan karakteristik keadaan hiperglikemi yang terjadi karena kelainan sekresi insulin, atau insulin yang bisa menyebabkan komplikasi kronik pada ginjal. Stress oksidatif yang ada menyebabkan peningkatan ROS dan NO yang memicu DNA fragmentation dan kerusakan oksidatif. Formasi superoxide anion yang terbentuk

di mitokondria yang disebabkan oleh ROS dan terjadi peningkatan xanthine oksidase yang menghambat siklus krebs dan menurunkan konsumsi oksigen di mitokondria. Karena peningkatan stress oksidatif menyebabkan penurunan dari *superoxide dismutase* (SOD) yang merupakan pelindung ginjal dari stress oksidatif, kelainan yang disebabkan oleh penurunan SOD yaitu penebalan membran basal glomerulus dan GFR yang berlanjut dengan terjadinya apoptosis sel podosit dan *glomerulosclerosis* (Ratliff *et al.*, 2016).

#### 2.4 Streptozotocin

Streptozotocin adalah obat pemicu diabetes yang bersifat permanen. Obat ini disintesis dari strain mikroba tanah *Streptomyces achromogenes* (bakteri gram positif) dengan spektrum luas yang bersifat antibakterial. Streptozotocin adalah aminoglikosida yang tidak biasa yang mengandung kelompok nitrosoamino yang ditemukan pada tahun 1959 sebagai antibiotik, yang sekarang dipasarkan sebagai obat generik. Kelompok nitrosoamino memungkinkan metabolit untuk bertindak sebagai donor Nitrat Oksida (NO). NO adalah molekul penting yang terlibat dalam banyak proses fisiologis dan patologis dalam tubuh. Streptozotocin banyak digunakan untuk menginduksi diabetes pada model tikus dengan menghambat  $\beta$ -cell O-GlcNAcase (Goud *et al.*, 2015).

Streptozozin adalah obat yang memiliki waktu paruh yang cukup lama dan tidak mudah teroksidasi. Streptozotocin sendiri bekerja dengan cara membentuk radikal bebas sangat reaktif yang mampu memicu kerusakan pada membran sel, protein, dan *deoxyribonucleic acid* (DNA), sehingga menyebabkan gangguan produksi insulin oleh sel beta langerhans pankreas. Streptozotocin sendiri bekerja dengan memasuki sel beta langerhans pankreas melalui glucose transporter 2 (GLUT 2) dan menyebabkan alkilasi. Hal ini sebelumnya didahului oleh pembatasan pembentukan adenosin trifosfat pada mitokondria akibat pembentukan radikal bebas, peningkatan enzim *xanthine oxidase* dan penghambatan siklus Krebs. Terdapat dua tipe diabetes mellitus akibat induksi streptozotocin (STZ), yaitu diabetes mellitus tipe 1 dan diabetes mellitus tipe 2 (Yaturu, 2011).

## 2.5 Daun Kelor

Tumbuhan Kelor (*Moringa oleifera Lamk*) merupakan salah satu jenis tanaman tropis yang tumbuh di daerah tropis seperti di negara Indonesia. Kelor sendiri merupakan tanaman perdu dengan tinggi 7-11 meter dan tumbuh subur mulai dari dataran rendah hingga ketinggian 700 meter diatas permukaan laut. Kelor bisa tumbuh pada daerah tropis dan subtropis pada semua jenis tanah dan tahan terhadap musim kering dengan toleransi terhadap kekeringan sampai 6 bulan (Mendieta-Araica *et al.*, 2013).

Tanaman kelor (*Moringa oleifera Lamk*) mampu bertahan pada musim kering yang lama dan mampu tumbuh dengan baik di daerah dengan curah hujan per tahunnya sekitar 250-1500 mm. Secara umum, parameter lingkungan untuk tanaman kelor agar tumbuh dengan baik adalah dengan iklim tropis atau subtropis, dengan ketinggian 0-2000 mdpl, suhu 25-35°C, dengan pH tanah 5-9 (Widowati, 2014).

Daun kelor (*Moringa oleifera Lamk.*) memiliki 8-10 pasang anak daun. Daun kelor berwarna hijau dan memiliki bentuk elips (tumpul pada ujungnya dan runcing pada pangkalnya) (Rahman, 2015).



Gambar 2.4 Daun Kelor (Sumber: Asikin, 2019)

Klasifikasi tanaman kelor (*Moringa oleifera* Lamk) adalah sebagai berikut :

*Kingdom* : Plantae

*Divisi* : Spermatophyta

*Subdivisi* : Angeospermae

*Class* : Dicotyledoneae

*Ordo* : Brassicales

*Familia* : Moringaceae

*Genus* : Moringa

*Spesies* : Moringa oleifera Lamk

(*Integrated Taxonomic Information System*, 2013)

Tanaman kelor (*Moringa oleifera* Lamk) memiliki banyak sekali kandungan didalamnya salah satunya yaitu senyawa flavonoid yang bersifat sebagai antioksidan. Senyawa antioksidan merupakan senyawa yang mampu menghambat radikal bebas. Makanan yang mengandung senyawa antioksidan mampu mencegah reaksi oksidasi yang berguna untuk menghambat radikal bebas yang menyebabkan rusaknya sel-sel di dalam tubuh (Rohyani *et al.*, 2015).

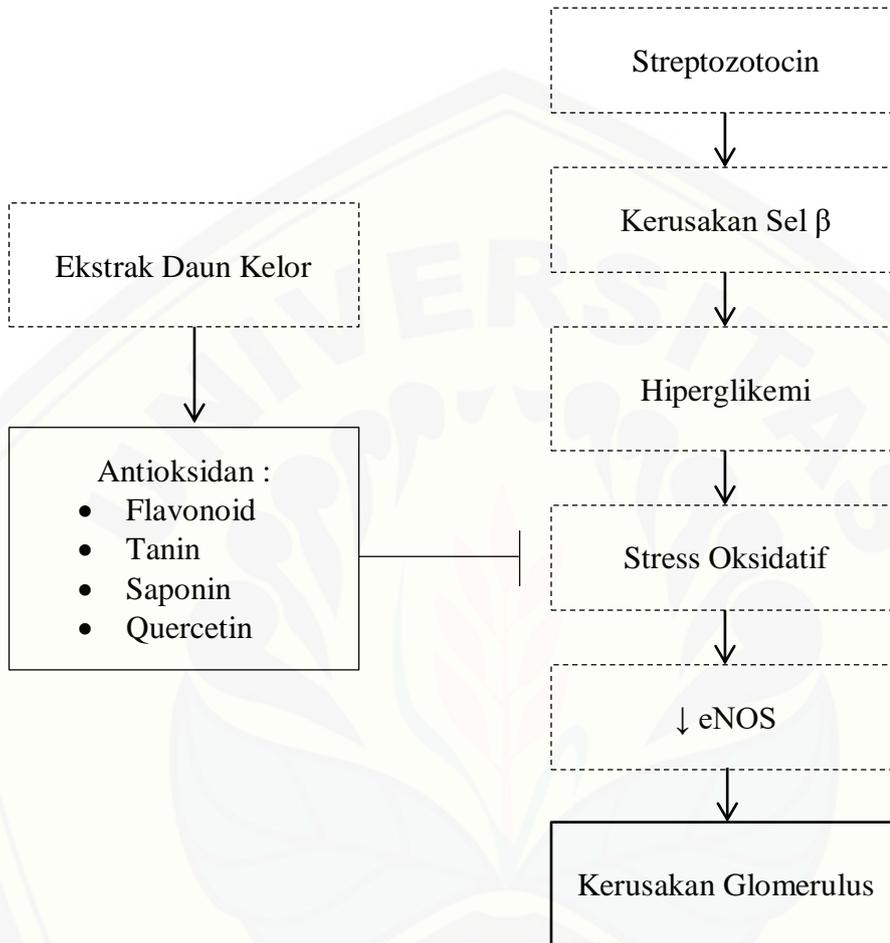
Antioksidan dibedakan menjadi dua berdasarkan sumbernya, yaitu antioksidan endogen dan antioksidan eksogen. Antioksidan endogen sendiri berasal dari dalam tubuh yang terdiri dari *Super Oxide Dismutase* (SOD), *glutation peroksidase* dan *katalase*, sedangkan antioksidan eksogen dapat diperoleh dari luar melalui makanan yang kita makan untuk membantu tubuh menangkal radikal bebas yang berlebihan di dalam tubuh. Antioksidan alami banyak terdapat pada seluruh bagian tanaman seperti batang, akar, bunga, dan daun. Senyawa yang terkandung didalamnya yaitu fenol, polifenol, dan flavonoi yang mampu berperan sebagai antitumor, antimikroba, antiparasit, dan antivirus serta merupakan senyawa antioksidan yang dapat menangkal radikal bebas dalam tubuh (Kusuma, 2015).

Antioksidan merupakan senyawa yang melindungi sel dari radikal bebas, seperti oksigen singlet, superoksida, radikal peroksil, radikal hidroksil dan *peroxynitrite*. Antioksidan akan menstabilkan radikal bebas dengan melengkapi

kekurangan electron dan menghambat terjadinya reaksi pembentukan radikal bebas yang menyebabkan kerusakan pada sel. Flavonoid merupakan antioksidan eksogen yang telah dibuktikan bermanfaat untuk mencegah terjadinya kerusakan sel akibat stress oksidatif. Mekanisme kerja dari flavonoid sebagai antioksidan bisa secara langsung dan tidak langsung. Cara kerja flavonoid sebagai antioksidan langsung adalah dengan mendonorkan ion hydrogen sehingga mampu menetralsir efek toksik dari radikal bebas. Flavonoid sebagai antioksidan tidak langsung adalah dengan meningkatkan ekspresi gen antioksidan dengan cara melalui aktivasi dari *nuclear factor erithroid 2 relates factor 2* (Nrf2) yang menyebabkan terjadinya peningkatan gen yang berperan pada sintesis enzim antioksidan endogen seperti gen SOD (*superoxide dismutase*) (Kusuma, 2015).

Tanaman kelor (*Moringa oleifera Lamk*), terutama daunnya mengandung antioksidan yang tinggi. Antioksidan dalam daun kelor memiliki aktivitas menetralkan radikal bebas dan mampu mencegah kerusakan oksidatif pada sebagian biomolekul dan menghasilkan proteksi pada kerusakan oksidatif dengan cara mencegah pertambahan jumlah dari *Nitric Oxide* sehingga tidak menyebabkan keadaan stress oksidatif yang menyebabkan terjadinya penurunan dari eNOS ( *Endothelial Nitric Oxide Synthase*) yang menyebabkan kelainan glomerulus secara signifikan (Sreelatha dan Padma, 2012).

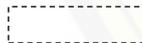
2.6 Kerangka Konseptual



Keterangan :



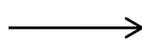
: Diteliti



: Tidak Diteliti



: Menghambat



: Menyebabkan

Sterptozotocin yang diinduksi pada tikus dapat membentuk radikal bebas reaktif yang dapat menimbulkan kerusakan pada membran sel, protein, dan DNA sehingga dapat menyebabkan kerusakan atau gangguan dari karakteristik glukosa dan pada produksi insulin yang dihasilkan oleh sel  $\beta$  Langerhans. Setelah dilakukan injeksi pada tikus wistar, 2 jam kemudian terjadi hiperglikemi yang bersamaan dengan penurunan insulin darah, 6 jam kemudian terjadi hipoglikemia dengan kadar insulin darah yang tinggi. Akhirnya hiperglikemia terjadi dan insulin darah menurun, dengan terjadinya perubahan pada glukosa darah dan konsentrasi pada insulin mencerminkan abnormalitas pada fungsi sel  $\beta$ . Kondisi hiperglikemi yang terjadi menyebabkan produksi radikal bebas pada tubuh meningkat yang menyebabkan terjadinya stress oksidatif. Pada keadaan stress oksidatif jumlah *nitric oxide* didalam tubuh meningkat sehingga pada keadaan ini menyebabkan tubuh tidak mensintesis *nitric oxide*. Keadaan ini menyebabkan penurunan dari eNOS ( *Endothelial Nitric Oxide Synthase* ) yang menyebabkan penurunan tekanan darah, kerusakan ginjal, mempercepat produksi proteinuria dan glomerulosclerosis (Palygin *et al.*, 2017).

Tanaman kelor mengandung senyawa antioksidan seperti flavonoid, tannin, saponin, dan quercetin. Senyawa antioksidan ini mencegah produksi dari stress oksidatif yang berlebihan dengan cara menetralkan radikal bebas yaitu dengan menahan dari pertambahan jumlah *Nitric oxide* sehingga tidak menyebabkan penurunan dari eNOS ( *Endothelial Nitric Oxide Synthase* ) sehingga tidak menyebabkan keadaan yang memicu kerusakan dari glomerulus (Palygin *et al.*, 2017).

## 2.7 Hipotesis

Hipotesis dari penelitian ini yaitu terdapat pengaruh dari pemberian ekstrak daun kelor (*Moringa oleifera Lamk*) terhadap gambaran histopatologi glomerulus ginjal tikus wistar jantan model diabetes.

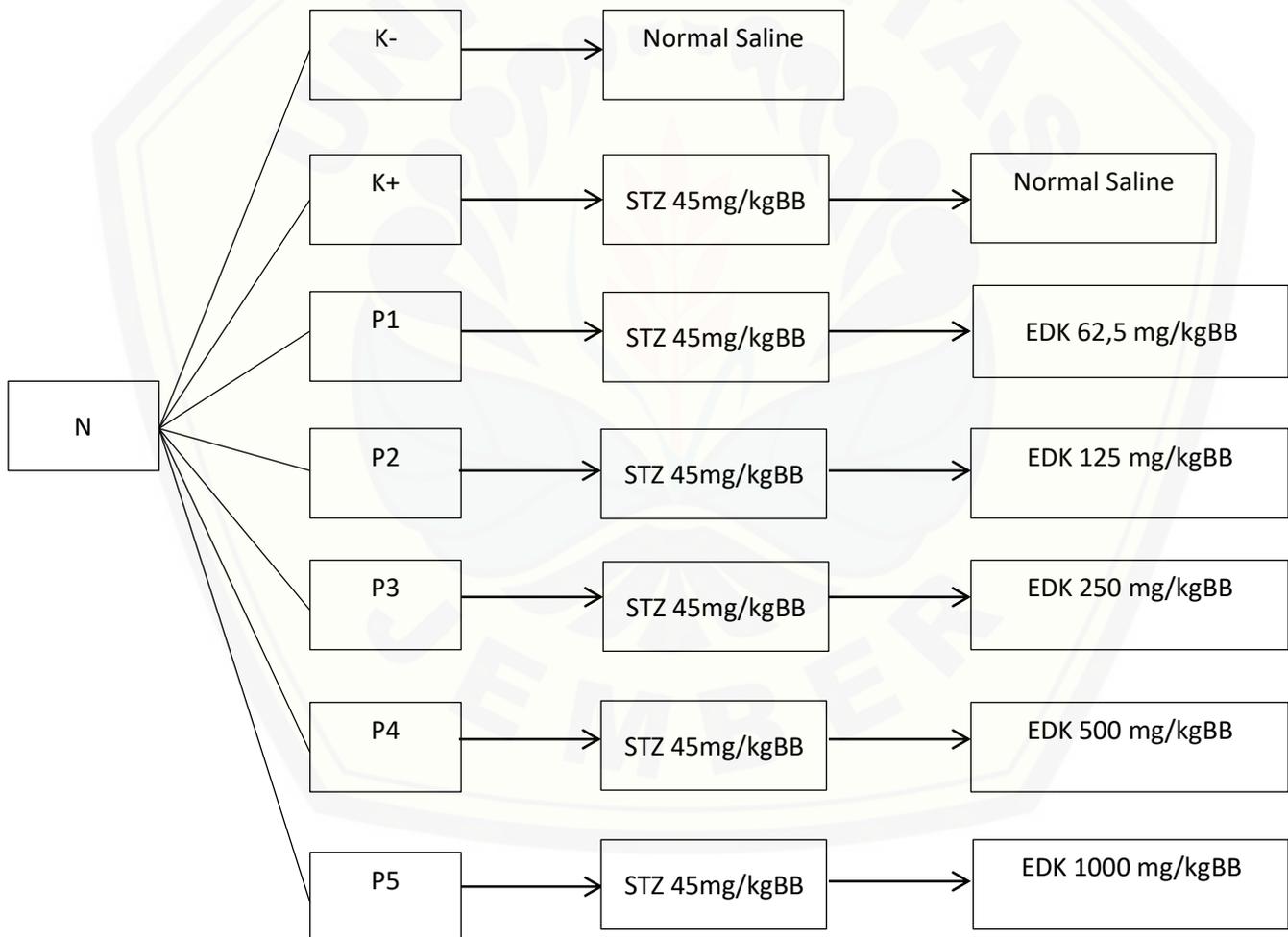
### BAB 3. METODE PENELITIAN

#### 3.1 Jenis Penelitian

Penelitian yang dilakukan termasuk kedalam jenis penelitian eksperimental yaitu *true experimental design*.

#### 3.2 Rancangan Penelitian

Jenis rancangan penelitian yang digunakan dalam penelitian ini adalah *post test only control group design*. Rancangan skematis dari penelitian adalah sebagai berikut.



Gambar 3.1 Skema rancangan penelitian

**Keterangan :**

N : Sampel

K- : Kelompok Kontrol Normal

K+ : Kelompok Kontrol Negatif

P1 : Kelompok Perlakuan 1

P2 : Kelompok Perlakuan 2

P3 : Kelompok Perlakuan 3

P4 : Kelompok Perlakuan 4

P5 : Kelompok Perlakuan 5

EDK : Ekstrak Daun Kelor

**3.3 Tempat dan Waktu Penelitian**

Penelitian ini dilakukan di Laboratorium Farmakologi Fakultas Kedokteran Universitas Jember. Penelitian ini juga menggunakan beberapa tempat seperti untuk pemeliharaan tikus putih di Kandang Laboratorium Farmakologi Fakultas Kedokteran Universitas Jember. Pembuatan larutan ekstrak daun *Moringa Oleifera Lamk.* Yang dilaksanakan di Laboratorium Farmakologi. Pembuatan sediaan histopatologi yang dilaksanakan di Laboratorium Biomedik Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Jember. Waktu penelitian ini dimulai pada bulan November 2019 sampai dengan bulan Januari 2019.

**3.4 Populasi dan Sampel Penelitian****3.4.1 Populasi**

Populasi pada penelitian ini adalah tikus putih (*Rattus norvegicus*).

**3.4.2 Sampel Penelitian**

Sampel penelitian yang digunakan dalam penelitian ini adalah tikus putih (*Rattus norvegicus*) dengan usia 3-4 bulan dengan berat badan 200-300 gram. Pengelompokan sampel dilakukan dengan metode *simple random sampling*.

**3.4.3 Jumlah Sampel**

Jumlah sampel yang digunakan pada penelitian ini yang terdapat 7 kelompok perlakuan. Menurut rumus *Federer* yang digunakan menjadi acuan penelitian ini adalah:

$$\begin{array}{rcl} (t-1) & (n-1) & \geq 15 \\ (7-1) & (n-1) & \geq 15 \\ 6 & (n-1) & \geq 15 \\ & n-1 & \geq 3 \\ & N & \geq 4 \end{array}$$

Keterangan :

t : Jumlah Kelompok

n : Jumlah Sampel

Berdasarkan dari hasil perhitungan diatas yang menggunakan rumus *Federer*, jumlah sampel yang digunakan minimal setiap kelompoknya adalah 4 dan untuk total sampel yang digunakan yaitu sebanyak 28 ekor tikus yang akan dibagi menjadi 7 kelompok. Untuk menghindari hilangnya sampel dikarenakan kriteria eksklusi, maka dilakukan koreksi dengan  $1/(1-f)$  dimana f adalah proporsi untuk unit eksperimen yang hilang 10%, maka dari itu dibutuhkan lagi 1 ekor tikus untuk tambahan tiap kelompoknya. Sehingga keseluruhan jumlah tikus yang digunakan pada penelitian ini berjumlah 35 ekor tikus.

#### 3.4.4 Kriteria Inklusi dan Eksklusi

##### a. Kriteria Inklusi

1. Tikus putih (*Rattus norvegicus*) dengan usia 3-4 bulan
2. Tikus putih (*Rattus norvegicus*) dengan berat 200–300 gram
3. Tikus putih (*Rattus norvegicus*) dalam keadaan sehat dan tidak cacat selama aklimatisasi
4. Tikus putih (*Rattus norvegicus*) dengan kelamin jantan

##### b. Kriteria Eksklusi

1. Tikus yang mati selama penelitian

### 3.5 Variabel Penelitian

#### 3.5.1 Variabel Bebas

Variabel bebas dalam penelitian ini yaitu larutan ekstrak *Moringa Oleifera Lamk.* yang diberikan dalam berbagai dosis secara intraperitoneal.

#### 3.5.2 Variabel Terikat

Variabel terikat dalam penelitian ini berupa gambaran histopatologi glomerulus ginjal tikus yang diamati secara mikroskopik. Kerusakan yang timbul pada gambaran histopatologi akan dilakukan proses *scoring* dan akan dibandingkan skor antar kelompoknya.

### 3.6 Definisi Operasional

Tabel 3.1 Definisi operasional

Variabel	Definisi Operasional	Nilai	Skala
Ekstrak Daun Kelor	Ekstrak daun kelor yang digunakan adalah hasil ekstraksi dengan metode maserasi menggunakan pelarut etanol 96%.	K+ = 0 mg/kgBB K- = 0 mg/kgBB P1 = 62,5 mg/kgBB P2 = 125 mg/kgBB P3 = 250 mg/kgBB P4 = 500 mg/kgBB P5 = 1000 mg/kgBB	Rasio
Kerusakan histopatologi Glomerulus tikus	Preparat glomerulus tikus wistar dinilai setelah dilakukan pengecatan Hematoksin Eosin (HE), dilakukan pengamatan terhadap perubahan dari struktur glomerulus dengan mikroskop cahaya dengan pembesaran 400x dan diamati dengan 3 lapang pandang yaitu sepertiga bagian atas, sepertiga bagian bawah, dan sepertiga bagian bawah lalu dibandingkan antar kelompoknya.	0 = Glomerulus Normal 1 = Penebalan <i>Glomerular Basement Membrane</i> (GBM) dan Ekspansi Mesangial 2 = <i>Sclerosis Nodular</i> (Kimmelstiel-Wilson Lesion) 3 = Dilatasi Kapiler ( <i>Microaneurysms</i> ) dengan hyaline subintima 4 = <i>Advance Diabetic Glomerulosclerosis</i> atau <i>Obsolescent Glomerulus</i>	Ordinal

### 3.7 Alat dan Bahan Penelitian

#### 3.7.1 Alat Penelitian

Alat yang digunakan pada penelitian ini berupa:

- Lemari pendingin untuk menyimpan ekstrak daun *Moringa Oleifera Lamk.* dan reagen.

- b. Sduit untuk injeksi perlakuan
- c. Sonde lambung untuk pemberian ekstrak daun *Moringa Oleifera Lamk.*
- d. Waterbath untuk menguapkan pelarut pada pembuatan ekstrak daun *Moringa Oleifera Lamk.*
- e. Pemeliharaan sampel : kandang, tempat makan dan minum
- f. Pembuatan larutan ekstrak daun *Moringa Oleifera Lamk.* : Timbangan, gelas ukur, mikropipet, mikrotip, tabung reaksi, kertas saring, vortex, magnetic stirer.
- g. Terminasi dan pengambilan ginjal : Handscoon, Minor set, Sungkup kain, Masker, dan tabung
- h. Pemeriksaan Histopatologi : Mikroskop

### 3.7.2 Bahan Penelitian

Bahan yang digunakan dalam penelitian ini berupa:

- a. Pemeliharaan sampel: Pakan tikus, air minum, dextrose 10%
- b. Pembuatan larutan ekstrak daun *Moringa Oleifera Lamk*: aquadest steril, etanol 96%, normal saline (NaCl) dan ekstrak daun *Moringa Oleifera Lamk.*
- c. Terminasi dan pengambilan sediaan ginjal: eter, buffer formalin 10%
- d. Pembuatan preparat histologi: formalin, larutan alkohol toluen, parafin, acid alkohol, larutan eosin, dan larutan hematoksilin.

## 3.8 Prosedur Penelitian

### 3.8.1 Pembuatan Ekstrak Daun *Moringa Oleifera Lamk*

Pembuatan ekstrak daun *Moringa Oleifera lamk* dilakukan dengan menggunakan teknik maserasi dengan pelarut etanol 96%. Daun *Moringa Oleifera Lamk* seberat 5,25kg dicuci bersih kemudian dikeringkan tanpa terkena sinar matahari langsung. Daun *Moringa Oleifera lamk* yang kering kemudian diblender dan bubuknya diayak untuk memisahkan yang masih kasar. Bubuk halusnya kemudian dimaserasi dengan perbandingan 1 kilogram bubuk daun *Moringa Oleifera lamk* dalam etanol 96% sebanyak 4 liter dan kemudian didiamkan selama 48jam. Hasil maserasinya disaring menggunakan kertas

penyaring kemudian dievaporasi menggunakan waterbath pada suhu 60°C hingga sediaan menjadi kental (Wardani *et al.*, 2017).

### 3.8.2 Pengenceran Ekstrak Etanol Daun *Moringa Oleifera Lamk*

Prosedur untuk perendaman serbuk menggunakan etanol sampai dengan prosedur disaring dilakukan 3 kali. Hasil filtrat yang sudah disaring diuapkan dengan *vacuum rotary 43 evaporator*, pemanasan *waterbath* dengan suhu 70°C sehingga terbentuk ekstrak yang agak kental. Setelah proses tersebut, kandungan etanol yang berada di dalam ekstrak menjadi berkurang hingga kurang dari 1% sehingga tidak dapat merusak jantung (Dwi Ayu Romadhoni, 2010).

Dosis ekstrak daun *Moringa Oleifera lamk* yang digunakan dalam penelitian ini mengacu pada penelitian Muzumbukilwa (2019) yang dimodifikasi. Untuk membuat dosis 62,5mg/kgBB (larutan A), 125mg/kgBB (larutan B), 250mg/kgBB (larutan C), 500mg/kgBB (larutan D), dan 1000mg/kgBB (larutan E) perlu menentukan konsentrasi sediaan, dosis ekstrak, volume ekstrak, dan volume sediaan yang perlu diberikan kepada setiap hewan coba. Persen volume pemberian bisa dipengaruhi nilainya oleh rute pemberiannya, dimana pemberian melalui oral biasa diberikan 1%.

### 3.8.3 Penentuan Dosis

#### a. Dosis Streptozotocin

Perhitungan dosis Streptozotocin untuk setiap 200gram tikus dengan dosis sebesar 45mg/kgBB secara intraperitoneal.

$$\begin{aligned}\text{Dosis Streptozotocin} &= 200 \text{ g} / 1000\text{g} \times 45 \text{ mg} \\ &= 9 \text{ mg}\end{aligned}$$

*Streptozotocin* tidak dapat larut dalam air sehingga *streptozotocin* diinjeksikan dalam bentuk suspensi pada hewan coba dengan menggunakan buffer sitrat 0,1 M dengan pH 4,5. Buffer sitrat terbuat dari campuran asam sitrat dan natrium sitrat, lalu ditambahkan aquades. Campuran tersebut dihomogenkan selama 5 menit. Setelah homogen, campuran tersebut ditambahkan *Streptozotocin*

dan dihomogenkan kembali, lalu diberikan injeksi secara intraperitoneal ke tikus dalam kurun waktu 5 menit.

$$\begin{aligned}\text{Volume buffer sitrat} &= 9 \text{ mg STZ} / 22,5 \text{ mg/ml} \\ &= 0,4 \text{ ml}\end{aligned}$$

b. Dosis Daun *Moringa Oleifera Lamk*

Dosis ekstrak daun *Moringa Oleifera Lamk* yang akan diberikan pada tikus selama 4 minggu yaitu 62,5mg, 125mg, 250mg, 500mg, dan 1000mg.

### 3.8.4 Pembagian Kelompok dan Pemeliharaan Hewan Coba

Hewan coba dibagi menjadi 7 kelompok yang terdiri atas 5 perlakuan, jumlah tikus pada masing- masing kelompok adalah 4 ekor.

### 3.8.5 Perlakuan pada Hewan Coba Selama Penelitian

Tikus diadaptasikan terlebih dahulu selama satu minggu dengan pemberian pakan dan minum secara *ad libitum*. Kemudian, tikus yang sesuai dengan kriteria inklusi akan dirandomisasi dan dibagi ke dalam 5 kelompok, yaitu; kelompok K-, K+, P1, P2, P3, P4, dan P5. Kemudian, tikus kelompok K- diinjeksikan normal saline, sementara tikus kelompok K+, P1, P2, P3, P4, dan P5 diinjeksikan *Streptozotocin* dengan dosis 9mg secara intraperitoneal. 3 hari setelah diinjeksikan *Streptozotocin*, darah tikus diambil. Setelah tikus dalam kondisi hiperglikemi selanjutnya, setiap tikus diberikan perlakuan yang sama sesuai kelompoknya melalui sonde lambung; normal saline untuk K-, ekstrak daun kelor 62,5 mg untuk kelompok P1, ekstrak daun kelor 125 mg untuk kelompok P2, ekstrak daun kelor 250 mg untuk kelompok P3, ekstrak daun kelor 500 mg untuk kelompok P4, dan ekstrak daun kelor 1000 mg untuk kelompok P5. Perlakuan ini dilakukan selama 4 minggu.

### 3.8.6 Terminasi dan Pengambilan Ginjal Tikus

Tikus diterminasi dengan cara inhalasi eter lalu dilakukan *cervical dislocation* (dislokasi leher) dengan cara menekan regio colli antara posterior

cranium dan vertebrae kemudian menarik secara cepat dan mendadak pada ekor tikus .

Persiapkan wadah berisi larutan buffer formalin 10%. Sebelum dimasukkan ke dalam wadah, cuci ginjal dengan menggunakan NaCl 0,9%. Masukkan ginjal yang sudah diambil ke dalam wadah yang sudah dipersiapkan, dan labeli setiap wadah sesuai dengan kelompok perlakuan dan dibiarkan selama 24 jam.

### 3.8.7 Pembuatan Preparat Histopatologi

Organ ginjal yang berada dalam wadah formalin selama 24 jam dilakukan *trimming* berukuran 1×1 cm. Lakukan dehidrasi dengan merendam organ yang telah dipotong ke dalam air selama 15 menit. Angkat organ, kemudian rendam pada alkohol konsentrasi rendah ke tinggi yaitu 70%, 80%, 90%, 95%, dan 100 %. Tiap konsentrasi dilakukan 3 kali pencelupan selama 10 menit. Setelah itu lakukan *clearing* dengan dicelupkan dalam larutan alkohol toluen. Angkat dan lakukan *embedding* dengan cara dipindahkan ke parafin cair. Blok preparat yang sudah padat dilakukan *sectioning* dengan mikrotom geser untuk dijadikan preparat *slide*. Setelah itu ditambahkan gelatin dan diletakkan di *waterbath* yang berisi air hangat dengan suhu 37°C. Preparat yang telah siap dilakukan deparafinasi yaitu dengan pencelupan pada xilol. Setelah itu dilakukan proses rehidrasi dengan pencelupan ke dalam alkohol absolut. Lakukan *staining*, celupkan slide pada larutan hematoksilin dan eosin. Lakukan dehidrasi kembali dengan alkohol absolut dan *clearing* menggunakan xilol. *Slide* preparat diangkat dan dilakukan *mounting* dengan ditetesi *entelan DPX*.

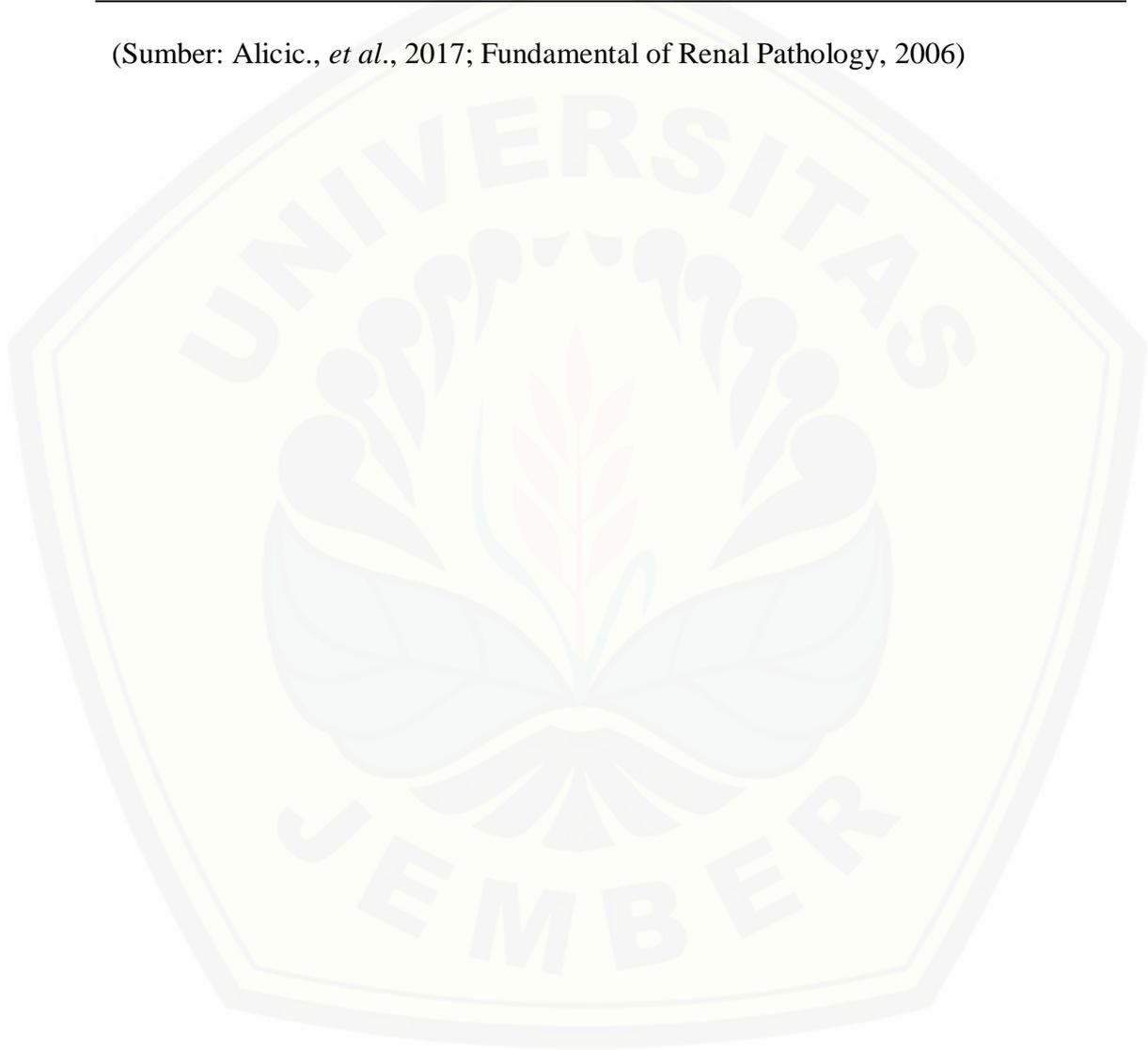
### 3.8.9 Pengamatan Preparat Histopatologi

Preparat histopatologi dibaca dalam perbesaran 400x dengan metode *blinding* yang dibaca oleh 1 orang pengamat ahli dan 2 orang pengamat lainnya untuk mengurangi bias. *Scoring* terhadap tingkat kerusakan struktur glomerulus dapat dilihat dalam tabel 3.2.

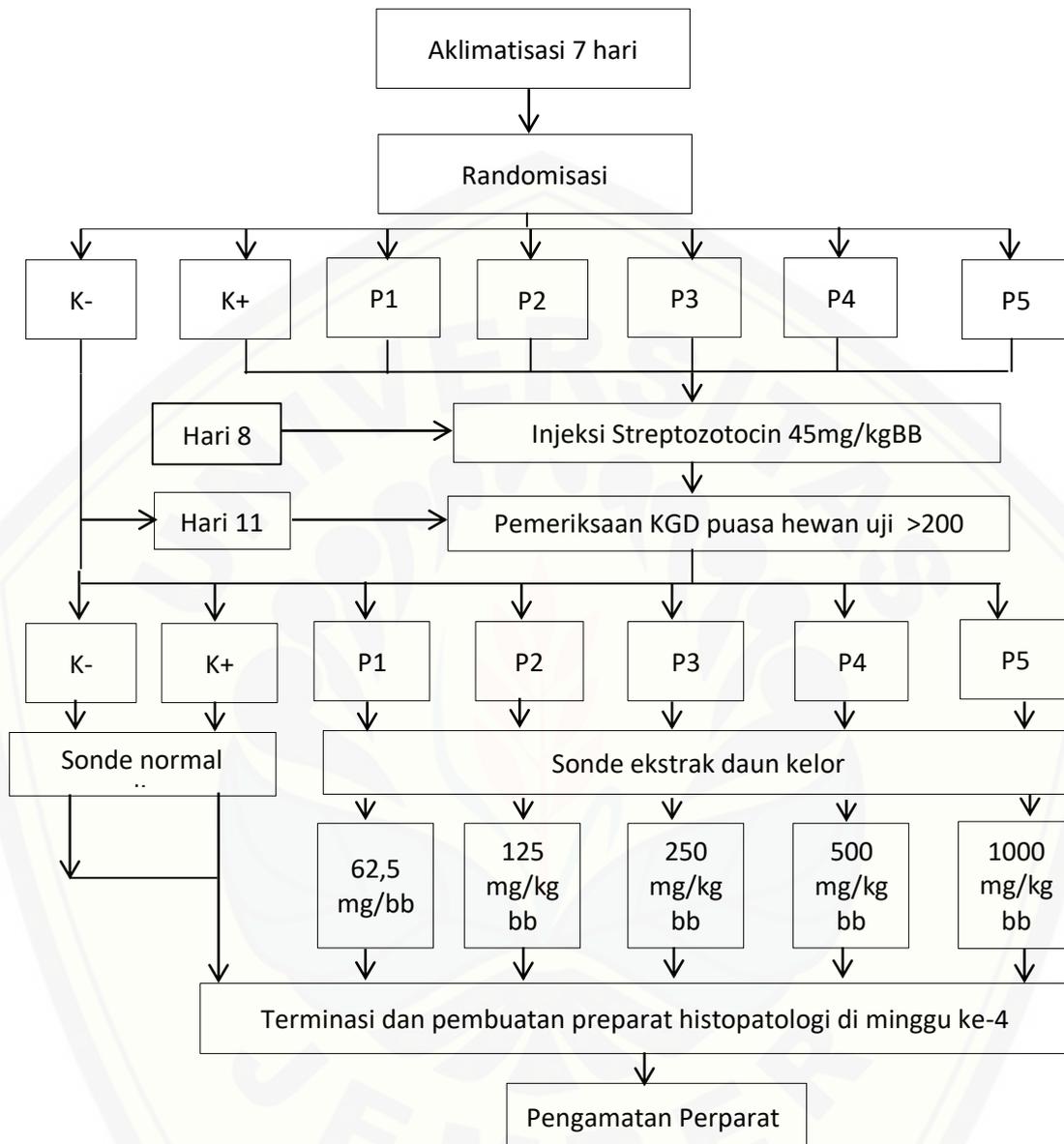
Tabel 3.2 *Scoring* histopatologi

Skor	Keterangan
0	Glomerulus Normal
1	Penebalan Glomerular Basement Membrane (GBM) dan Ekspansi Mesangial
2	Sclerosis Nodular (Kimmelstiel-Wilson Lesion)
3	<i>Dilatasi Kapiler (Microaneurysms)</i> dengan <i>hyaline</i> subintima
4	<i>Advance Diabetic Glomerulosclerosis</i> atau <i>Obsolescent Glomerulus</i>

(Sumber: Alicic., *et al.*, 2017; Fundamental of Renal Pathology, 2006)



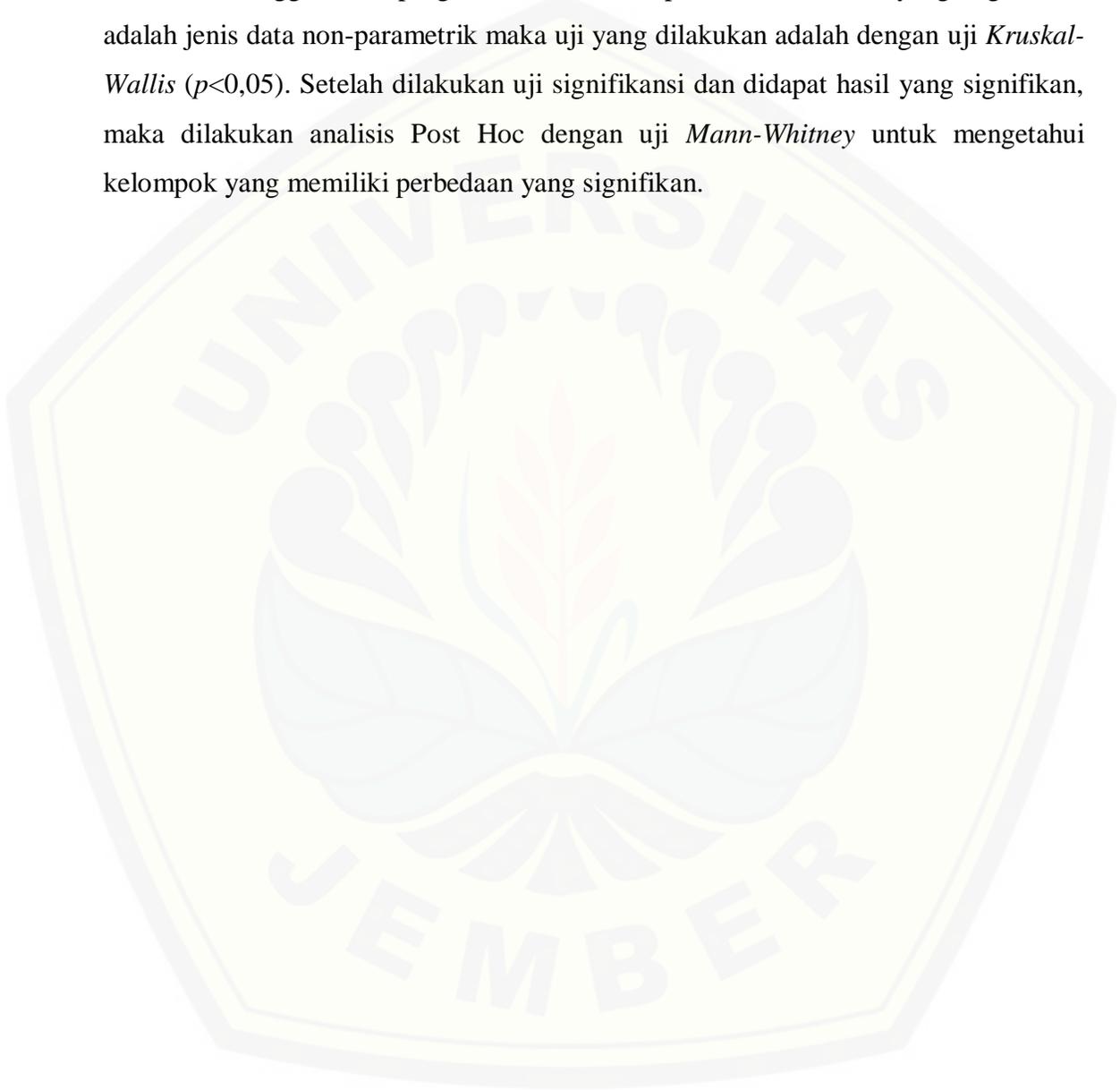
**3.9 Alur Penelitian**



Gambar 3.2 Alur penelitian

### 3.10 Analisis Data

Data yang diperoleh dari hasil *scoring* merupakan data semi kuantitatif yang dianalisis menggunakan program SPSS. Pada penelitian ini data yang digunakan adalah jenis data non-parametrik maka uji yang dilakukan adalah dengan uji *Kruskal-Wallis* ( $p < 0,05$ ). Setelah dilakukan uji signifikansi dan didapat hasil yang signifikan, maka dilakukan analisis Post Hoc dengan uji *Mann-Whitney* untuk mengetahui kelompok yang memiliki perbedaan yang signifikan.



## BAB 5. KESIMPULAN DAN SARAN

### 5.1 Kesimpulan

Kesimpulan yang dapat diambil berdasarkan dari hasil penelitian yang dilakukan dapat disimpulkan bahwa terdapat pengaruh dari pemberian ekstrak daun kelor dan dapat memberikan perbaikan dari kerusakan glomerulus tikus wistar jantan model diabetes mellitus yang diinduksi *streptozotocin* 45 mg/kgbb. Dosis optimal yang didapatkan pada penelitian ini dengan pemberian dosis ekstrak daun kelor selama 4 minggu adalah pada dosis 1000 mg/kgbb.

### 5.2 Saran

Dari hasil penelitian ini, masih perlu dilakukan pengkajian serta pengembangan lebih lanjut mengenai:

- a. Pada penelitian selanjutnya diharapkan menggunakan waktu penelitian yang lebih lama agar bisa mengetahui efek dosis pada dosis yang lebih rendah;
- b. Melihat perubahan yang terjadi pada parameter lainnya seperti darah atau organ lainnya apakah mengalami perbaikan atau justru meningkatkan tingkat kerusakannya.

## DAFTAR PUSTAKA

- Ambarwati, A., Sarjadi, S., Johan, A., Djamiatun, K. 2014. Efek Moringa oleifera terhadap Gula Darah dan Kolagen Matrik Ekstraseluler Sel  $\beta$  Pankreas Diabetes Eksperimental. *Jurnal Kedokteran Brawijaya*. 28(2): 74–78.
- Anas, Y., Imron, A., Ningtyas, S. I. 2015. Ekstrak Daun Kelor (*Moringa oleifera* Lam.) Sebagai Peluruh Kalsium Batu Ginjal Secara In Vitro. *Skripsi*. Semarang: Universitas Wahid Hasyim.
- Arsad, S.S., 2014. Histopathologic Changes in Liver and Kidney Tissues from Male Sprague Dawley Rats Treated with Rhabdiphora Decursiva (Roxb.) Schott Extract. *Journal of Cytol Histol*. s4(01).
- Artika, Fais Dina. 2019. Pengaruh Pemberian Ekstrak Daun Kelor (*Moringa oleifera* lamk) terhadap kadar AST dan ALT Pada Embrio Ayam yang Diinduksi Alkohol. *Skripsi*. Jember: Universitas Jember.
- Aisyah, S., Balqis, U. 2014. Histopatologi Jantung Tikus Putih (*Rattus norvegicus*) Akibat Pemberian Minyak Jelantah. *Jurnal Medika Veterinaria* .8(1): 4.
- Alicic, Z. Radica., Michele, T. Rooney., Katherine, R. Tuttle. 2017. Diabetic Kidney Disease: Challenges, Progress, and Possibilities. *University of Washington School of Medicine*. 12: 2032-2045.
- Badriyah, B., Achmadi, J., Nuswantara, L.K. 2017. Kelarutan Senyawa Fenolik dan Aktivitas Antioksidan Daun Kelor (*Moringa oleifera*) di Dalam Rumen Secara In Vitro. *Jurnal Peternakan Indonesia*. 19(3): 116.
- Basundoro, P.A., Adhipireno, P. 2017. Hubungan Kadar Glukosa Darah Terhadap Estimasi Laju Filtrasi Glomerulus Pada Pasien Diabetes Melitus. *Skripsi*. Semarang: Universitas Diponegoro.
- Es, H.S., Decroli, E., Afriwardi, A. 2018. Faktor Risiko Pasien Nefropati Diabetik Yang Dirawat di Bagian Penyakit Dalam RSUP dr. M. Djamil Padang. *Jurnal Kesehatan Andalas*. 7(2): 149.
- Fahrimal, Y. 2016. Gambaran Histopatologis Ginjal Tikus Putih (*Rattus novergicus*) Jantan yang Diinfeksi Trypanosoma evansi dan Diberi Ekstrak Daun Sernai (*Wedelia biflora*). *Jurnal Medika Veterinaria*. 10: 5.
- Farid, O., Hebi, M., Ajebli, M., Hidani, A.E., Eddouks, M. 2017. Antidiabetic effect of *Ruta montana* L. in streptozotocin-induced diabetic rats. *Journal of Basic and Clinical Physiology and Pharmacology*. 28.

- Fakultas Kedokteran Gigi, Universitas Muhammadiyah Semarang, Sulistyorini, R., Sarjadi, Johan, A., Djamiatun, K., Bagian Patologi Anatomi Fakultas Kedokteran Universitas Diponegoro. 2015. Pengaruh Ekstrak Etanol Daun Kelor (*Moringa oleifera*) pada Ekspresi Insulin dan Insulitis Tikus Diabetes Melitus. *Majalah Kedokteran Bandung*. 47(2).
- Fidianingsih, Ika. 2011. The Effects of Yellow Soybean Powder Suspended on Histological Structure of The Kidney in Streptozotocin-Induced Diabetic Rats. *Mutiara Medika*. 11(2): 79-87.
- Furman, B.L. 2015. Streptozotocin-Induced Diabetic Models in Mice and Rats. *Current Protocols in Pharmacology*. 70(1).
- Gibson-Corley, K.N., Olivier, A.K., Meyerholz, D.K. 2013. Principles for Valid Histopathologic Scoring in Research. *Veterinary Pathology*. 50(6): 1007–1015.
- Gray, H. and Carter, H. 2016. *Gray's Anatomy*. 41st ed. Philadelphia: Elsevier.
- Guo, X., Wang, Y., Wang, K., Ji, B., Zhou, F. 2018. Stability of a type 2 diabetes rat model induced by high-fat diet feeding with low-dose streptozotocin injection. *Journal of Zhejiang University-Science*. 19(7): 559–569.
- Katsuda, Y., Ohta, T., Miyajima, K., Kemmochi, Y., Sasase, T., Tong, B., Shinohara, M., Yamada, T. 2014. Diabetic Complications in Obese Type 2 Diabetic Rat Models. *Experimental Animal*. 63(2): 121–132.
- Lee, H.S., Lee, M.S., Lee, S.M., Lee, S.Y., Lee, E.S., Lee, E.Y., Park, S.Y., Han, J.S., Kim, S., Lee, J.S. 2005. Histological grading of IgA nephropathy predicting renal outcome: revisiting H. S. Lee's glomerular grading system. *Nephrology Dialysis Transplantation*. 20(2): 342–348.
- Luangpiom, A., Kourjampa, W., Junaimaung, T. 2013. Anti-hyperglycemic Properties of *Moringa oleifera* Lam. Aqueous Leaf Extract in Normal and Mildly Diabetic Mice. *British Journal of Pharmacology and Toxicology*. 4(3): 106-109.
- Mangindaan, P.Y., Berata, I.K., Setiasih, N.L.E. 2014. Pemberian Ekstrak Kulit Batang Kelor Terhadap Gambaran Mikroskopis Ginjal Tikus yang diinduksi Aloksan. *Indonesia Medicus Veterinus*. 3(2): 142-146.
- Morsy, M.A., Heeba, G.H., Mahmoud, M.E. 2015. Ameliorative effect of eprosartan on high-fat diet/streptozotocin-induced early diabetic nephropathy in rats. *European Journal of Pharmacology*. 750: 90–97.

- Omodanisi, E.I., Aboua, Y.G., Oguntibeju, O.O. 2017. Assessment of the Anti-Hyperglycaemic, Anti-inflammatory and Antioxidant Activities of the Methanol Extract of *Moringa oleifera* in Diabetes-Induced Nephrotoxic Male Wistar Rats. *Pharmacognosy Research*. 9 (12): 183-187.
- Palygin, O., Ilatovskaya, D.V., Levchenko, V., Endres, B.T., Geurts, A.M., Staruschenko, A. 2018. Nitric oxide production by glomerular podocytes. *Department of Physiology Medical College of Winconsin*. 72: 24–31.
- Redha, Abdi. 2013. Flavonoid: Struktur, Sifat Antioksidatif Dan Peranannya Dalam Sistem Biologis. *Politeknik Negeri Pontianak*.
- Rudijanto, A., Yuwono, A., Shahab, A. and Manaf, A. 2019. Konsensus Pengelolaan dan Pencegahan Diabetes Melitus Tipe 2 di Indonesia 2015. <https://pbperkeni.or.id/wp-content/uploads/2019/01/4.-Konsensus-Pengelolaan-dan-Pencegahan-Diabetes-melitus-tipe-2-di-Indonesia-PERKENI-2015.pdf> [Diakses pada 18 Desember 2019].
- Ratliff, B.B., Abdulmahdi, W., Pawar, R., Wolin, M.S. 2016. Oxidant Mechanisms in Renal Injury and Disease. *New York Medical College Department of Physiology*. 25(3): 119–146.
- Sibiya, N., Ngubane, P., Mabandla, M. 2017. The Ameliorative Effect of Pectin-Insulin Patch On Renal Injury in Streptozotocin-Induced Diabetic Rats. *Kidney Blood Press Research*. 42(3): 530–540.
- Sithole, H. 2009. A review of the use of Streptozotocin (STZ) in the induction of diabetes in rats and subsequent ocular tissue changes. *University of South Africa*. 68(2): 82-88.
- Saputra, N. T., Suartha, I. N., & Dharmayudha, A. A. G. O. 2018. *Diabetogenik Agent Streptozotocin to Make White Rats Male Diabetes Mellitus*. *Buletin Veteriner Udayana*. 10(2): 116-121.
- Sasmita, F.W., Susetyarini, E., Husamah, H., Pantiwati, Y. 2017. Efek Ekstrak Daun Kembang Bulan (*Tithonia diversifolia*) terhadap Kadar Glukosa Darah Tikus Wistar (*Rattus norvegicus*) yang Diinduksi Alloxan. *Biosfera*. 34(1): 22.
- Sobotta, J., Paulsen, F. and Waschke, J. 2012. *Sobotta Atlas of human anatomy*. 23rd ed. München: EGC.
- Szkudelski, T. 2001. The Mechanism of alloxan and streptozotocin action in B cells of threat pancreas. *Physiological Research*. (50): 537-546.

- Wang, T., Miao, M., Bai, M., Li, Y., Li, M., Li, C., Xu, Y. 2017. Effect of sophora japonica total flavonoids on pancreas, kidney tissue morphology of streptozotocin-induced diabetic mice model. *Saudi Journal of Biological Sciences*. 24: 741–747.
- Walean, M., Rumondor, R., Maliangkay, H. P., & Melpin, R. 2018. Pengaruh Pemberian Ekstrak Etanol Kulit Batang Pakoba (*Syzygium sp.*) Terhadap Gambaran Histopatologi Ginjal Tikus Putih Yang Diinduksi Etilen Glikol. *Chemistry Progress*. 11(1).
- Wardani, D. N. K., Hendarto, H., & Widjiati. 2017. Pengaruh Ekstrak Etanol Daun Kelor (*Moringa oleifera* Lam.) Terhadap Jumlah Sel Mast Pada Mencit (*Mus musculus*) Model Endometriosis. *Jurnal Biosains Pascasarjana*. 19.
- Widowati, I., Efiyati, S. 2014. Uji Aktivitas Antibakteri Ekstrak Daun Kelor (MORINGA OLEIFERA) Terhadap Bakteri Pembusuk Ikan Segar (PSEUDOONAS AERUGINOSA). *Universitas Negeri Yogyakarta*.
- World Health Organisation. 2003. *Deffinition, Diagnosis and Classification of Diabetes Mellitus and its Complication of Diabetes Mellitus and its Complications*, Geneva, Switzerland: WHO.
- Yaturu, S. 2011. Obesity and type 2 diabetes. *Diabetes Mellitu*. 1(4): 10-6.
- Yuliantika, N., Gelgel, K. & Kardena, I. 2013. Efek Toksisitas Ekstrak Daun Sirih Merah Terhadap Gambaran Mikroskopis Ginjal Tikus Putih Diabetik Yang Diinduksi Aloksan. *Bul. Vet. Udayana*, 5(2): 114-121.
- Zhai, T., Wang, J., Sun, L., Chen, Y. 2015. The Effect of Streptozotocin and Alloxan on the mRNA Expression of Rat Hepatic Transporters In Vivo. *AAPS PharmSciTech*. 16: 767–770.

## LAMPIRAN

## Lampiran 1 Perhitungan Dosis untuk Setiap Tikus

- Perhitungan untuk larutan A

$$\begin{aligned}
 \text{Konsentrasi} &= \frac{\text{dosis}}{\% \text{ pemberian}} \\
 &= \frac{62,5 \text{ mg/kgBB}}{1 \text{ ml}/100 \text{ gBB}} \\
 &= \frac{62,5 \text{ mg}}{1000 \text{ g}} \times \frac{100 \text{ g}}{1 \text{ ml}} \\
 &= 6,25 \text{ mg/ml} \\
 &= (0,00625 \text{ g/ml}) \times 100 \\
 &= 0,625 \text{ g}/100 \text{ ml}
 \end{aligned}$$

Berat ekstrak = dosis x total BB

$$\begin{aligned}
 &= 6,25 \text{ mg/kgBB} \times 1000 \text{ gBB} \\
 &= 6,25 \text{ mg/kgBB} \times 1 \text{ kgBB} \\
 &= 6,25 \text{ mg}
 \end{aligned}$$

$$\begin{aligned}
 \text{Vol. ekstrak} &= \frac{\text{berat ekstrak}}{\text{konsentrasi}} \\
 &= \frac{62,5 \text{ mg}}{6,25 \text{ mg/ml}} \\
 &= 10 \text{ ml}
 \end{aligned}$$

Vol. per hewan = BB x % pemberian

$$\begin{aligned}
 &= 200 \text{ g} \times \frac{1 \text{ ml}}{100 \text{ g}} \\
 &= 2 \text{ ml}
 \end{aligned}$$

- Perhitungan untuk larutan B

$$\text{Konsentrasi} = \frac{\text{dosis}}{\% \text{ pemberian}}$$

$$\begin{aligned}
 &= \frac{125 \text{ mg/kgBB}}{1 \text{ ml}/100 \text{ gBB}} \\
 &= \frac{125 \text{ mg}}{1000 \text{ g}} \times \frac{100 \text{ g}}{1 \text{ ml}} \\
 &= 12,5 \text{ mg/ml} \\
 &= (0,0125 \text{ g/ml}) \times 100 \\
 &= 1,25 \text{ g}/100 \text{ ml}
 \end{aligned}$$

Berat ekstrak = dosis x total BB

$$\begin{aligned}
 &= 125 \text{ mg/kgBB} \times 1000 \text{ gBB} \\
 &= 125 \text{ mg/kgBB} \times 1 \text{ kgBB} \\
 &= 125 \text{ mg}
 \end{aligned}$$

$$\begin{aligned}
 \text{Vol. ekstrak} &= \frac{\text{berat ekstrak}}{\text{konsentrasi}} \\
 &= \frac{125 \text{ mg}}{12,5 \text{ mg/ml}} \\
 &= 10 \text{ ml}
 \end{aligned}$$

Vol. per hewan = BB x % pemberian

$$\begin{aligned}
 &= 200 \text{ g} \times \frac{1 \text{ ml}}{100 \text{ g}} \\
 &= 2 \text{ ml}
 \end{aligned}$$

•

Perhitungan untuk larutan C

$$\begin{aligned}
 \text{Konsentrasi} &= \frac{\text{dosis}}{\% \text{ pemberian}} \\
 &= \frac{250 \text{ mg/kgBB}}{1 \text{ ml}/100 \text{ gBB}} \\
 &= \frac{250 \text{ mg}}{1000 \text{ g}} \times \frac{100 \text{ g}}{1 \text{ ml}} \\
 &= 25 \text{ mg/ml} \\
 &= (0,025 \text{ g/ml}) \times 100
 \end{aligned}$$

$$= 2,5 \text{ g}/100 \text{ ml}$$

Berat ekstrak = dosis x total BB

$$= 250 \text{ mg}/\text{kgBB} \times 1000 \text{ gBB}$$

$$= 250 \text{ mg}/\text{kgBB} \times 1 \text{ kgBB}$$

$$= 250 \text{ mg}$$

$$\text{Vol. ekstrak} = \frac{\text{berat ekstrak}}{\text{konsentrasi}}$$

$$= \frac{250 \text{ mg}}{25 \text{ mg}/\text{ml}}$$

$$= 10 \text{ ml}$$

Vol. per hewan = BB x % pemberian

$$= 200 \text{ g} \times \frac{1 \text{ ml}}{100 \text{ g}}$$

$$= 2 \text{ ml}$$

Perhitungan untuk larutan D

$$\text{Konsentrasi} = \frac{\text{dosis}}{\% \text{ pemberian}}$$

$$= \frac{500 \text{ mg}/\text{kgBB}}{1 \text{ ml}/100 \text{ gBB}}$$

$$= \frac{500 \text{ mg}}{1000 \text{ g}} \times \frac{100 \text{ g}}{1 \text{ ml}}$$

$$= 5 \text{ mg}/\text{ml}$$

$$= (0,05 \text{ g}/\text{ml}) \times 100$$

$$= 5 \text{ g}/100 \text{ ml}$$

Berat ekstrak = dosis x total BB

$$= 500 \text{ mg}/\text{kgBB} \times 1000 \text{ gBB}$$

$$= 500 \text{ mg/kgBB} \times 1 \text{ kgBB}$$

$$= 500 \text{ mg}$$

$$\text{Vol. ekstrak} = \frac{\text{berat ekstrak}}{\text{konsentrasi}}$$

$$= \frac{500 \text{ mg}}{50 \text{ mg/ml}}$$

$$= 10 \text{ ml}$$

$$\text{Vol. per hewan} = \text{BB} \times \% \text{ pemberian}$$

$$= 200 \text{ g} \times \frac{1 \text{ ml}}{100 \text{ g}}$$

$$= 2 \text{ ml}$$

• Perhitungan untuk larutan E

$$\text{Konsentrasi} = \frac{\text{dosis}}{\% \text{ pemberian}}$$

$$= \frac{1000 \text{ mg/kgBB}}{1 \text{ ml}/100 \text{ gBB}}$$

$$= \frac{1000 \text{ mg}}{1000 \text{ g}} \times \frac{100 \text{ g}}{1 \text{ ml}}$$

$$= 10 \text{ mg/ml}$$

$$= (0,1 \text{ g/ml}) \times 100$$

$$= 10 \text{ g}/100 \text{ ml}$$

$$\text{Berat ekstrak} = \text{dosis} \times \text{total BB}$$

$$= 1000 \text{ mg/kgBB} \times 1000 \text{ gBB}$$

$$= 1000 \text{ mg/kgBB} \times 1 \text{ kgBB}$$

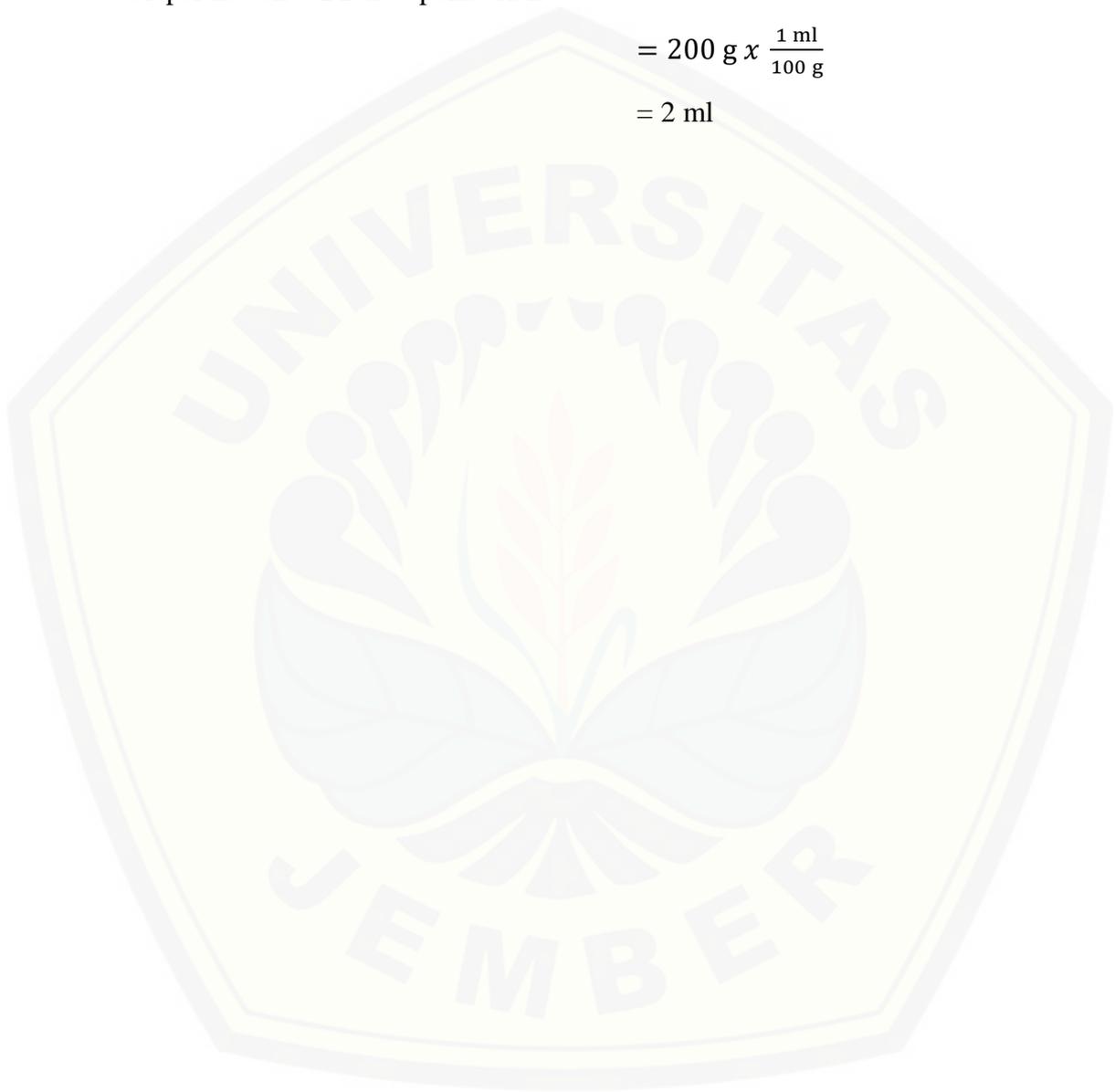
$$= 1000 \text{ mg}$$

$$\text{Vol. ekstrak} = \frac{\text{berat ekstrak}}{\text{konsentrasi}}$$

$$\begin{aligned} &= \frac{1000 \text{ mg}}{100 \text{ mg/ml}} \\ &= 10 \text{ ml} \end{aligned}$$

Vol. per hewan = BB x % pemberian

$$\begin{aligned} &= 200 \text{ g} \times \frac{1 \text{ ml}}{100 \text{ g}} \\ &= 2 \text{ ml} \end{aligned}$$



Lampiran 2 Lembar Persetujuan Etik FK UNEJ



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 : U. 914 /H25.1.11/KE/2019

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 DAUN KELOR (*Moringa oleifera*) TERHADAP PATENSI PEMBULUH DARAH KORONER TIKUS WISTAR JANTAN (*Rattus norvegicus*) YANG DIINDUKSI STREPTOZOTOCIN**

Nama Peneliti Utama : dr. Suryono, Sp.JP. FIHA  
*Name of the principal investigator*

NIP : 196910112000031001

Nama Institusi : Fakultas Kedokteran Universitas Jember  
*Name of institution*

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

Jember, 18 October 2019  
Ketua Komisi Etik Penelitian  
  
dr. Rini Riyanti, Sp.PK



KEMENTERIAN PENDIDIKAN DAN KEBUDAYAAN  
UNIVERSITAS JEMBER  
KOMITE 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 : 1.390 /H25.1.11/KE/2020

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 DAUN KELOR (*Moringa oleifera Lamk*) TERHADAP GAMBARAN HISTOPATOLOGI GLOMERULUS TIKUS WISTAR JANTAN (*Rattus norvegicus*) MODEL DIABETES**

Nama Peneliti Utama : Giovanni Gianosa.  
*Name of the principal investigator*

NIM : 162010101059

Nama Institusi : Fakultas Kedokteran Universitas Jember  
*Name of institution*

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

Jember, 27-2-2020  
Ketua Komisi Etik Penelitian  
  
dr. Rini Riyanti, Sp.PK

## Lampiran 3 Surat Tugas Penelitian



KEMENTERIAN RISET, TEKNOLOGI, DAN PENDIDIKAN TINGGI  
UNIVERSITAS JEMBER  
FAKULTAS KEDOKTERAN

Jl Kalimantan 37 Kampus Bumi Tegal Boto Telp/Fax (0331) 337877 Jember 68121  
Email : fk@unej.ac.id Website : http://www.fk.unej.ac.id

**SURAT TUGAS**

Nomor : **975** / UN25.1.11/PT/2019

Dalam rangka pelaksanaan penelitian oleh Dosen dan mahasiswa Fakultas Kedokteran Universitas Jember, sebagaimana tersebut di bawah ini:

No.	N a m a	NIP / NIM
1.	dr. Suryono, Sp.JP (K). FIHA, FasCC.	196910112000031001
2.	Dini Cynthia Dewi	162010101002
3.	Miranda Dewi	162010101083
4.	Ni Luh Patu Dinda Rahayu Dermana	162010101131
5.	Athiyah Fi Ramadani	162010101092
6.	Giovani Gianosa	162010101059
7.	Rizky Trisepta Multazam	162010101108

Judul Penelitian : **Pengaruh Moringa Oleifera terhadap Patensi Pembuluh Darah Koroner pada Tikus Putih yang Diinduksi dengan Streptozotocin**

Dengan ini menugaskan kepada dosen dan mahasiswa yang tercantum diatas untuk melaksanakan tugas penelitian tersebut secara penuh tanggung jawab.

Jember, 01 APR 2019



dr. Supangat, M.Kes. Ph.D., Sp.BA

NIP. 19730424 199903 1 002

Lampiran 4 Surat Bebas Plagiasi



KEMENTERIAN PENDIDIKAN DAN KEBUDAYAAN  
UNIVERSITAS JEMBER  
FAKULTAS KEDOKTERAN

Alamat : Jalan Kalimantan 37 Kampus Bumi Tegal Bolo, Kotak Pos Jember 68121  
Telp/Fax. (0331) 337877, 324446, \*Faksimili (0331) 337877  
E mail : f@unoj.ac.id/nman//www.fk.unoj.ac.id

SURAT REKOMENDASI BEBAS PLAGIASI

Nomor : 619 /UN25.1.11/PT/2020

Komisi Bimbingan KTI dan Publikasi, Fakultas Kedokteran Universitas Jember dalam upaya peningkatan kualitas dan originalitas karya tulis ilmiah mahasiswa berupa skripsi, telah melakukan pemeriksaan plagiasi atas skripsi mahasiswa Fakultas Kedokteran Universitas Jember di bawah ini:

Nama : Giovanni Gianosa  
NIM. : 162010101059  
Angkatan : 2016

Judul Skripsi : Pengaruh Ekstrak Daun Kelor (*Moringa Oleifera Lamk*) Terhadap Gambaran Histopatologi Glomerulus Tikus Wistar Jantan (*Rattus Norvegicus*) Model Diabetes

Bersama ini kami merekomendasikan dan menyatakan “ Bebas Plagiasi “

Demikian surat rekomendasi ini, atas perhatian saudara kami mengucapkan terima kasih.



Dr. Ancah Caesarina Novi M. Ph.D  
NIP. 19820309 200812 2 002

18 FEB 2020

Komisi Bimbingan KTI & Publikasi  
Ketua,

Dr. dr. Yunita Armiyanti, M.Kes  
NIP. 19740604 200112 2 002

**Lampiran 5 Hasil Analisis Data**

*Uji Kruskal-Wallis*

**Ranks**

	Kelompok	N	Mean Rank
Skoring	Negatif	4	3.00
	Positif	4	25.00
	P1	4	20.38
	P2	4	20.13
	P3	4	14.38
	P4	4	11.88
	P5	4	6.75
	Total	28	

**Test Statistics<sup>a,b</sup>**

Skoring	
Kruskal-Wallis H	23.162
Df	6
Asymp. Sig.	.001

a. Kruskal Wallis Test

b. Grouping Variable: Kelompok

*Uji post hoc Mann-Whitney*

Kelompok P1 (62,5mg/kgbb)

**Ranks**

	Kelompok	N	Mean Rank	Sum of Ranks
Skoring	Positif	4	5.50	22.00
	P1	4	3.50	14.00
	Total	8		

**Test Statistics<sup>a</sup>**

Skoring	
Mann-Whitney U	4.000
Wilcoxon W	14.000

Z	-1.512
Asymp. Sig. (2-tailed)	.131
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	.343 <sup>b</sup>

a. Grouping Variable: Kelompok

b. Not corrected for ties.

Kelompok P2 (125mg/kgbb)

		Ranks		
	Kelompok	N	Mean Rank	Sum of Ranks
Skoring	Positif	4	6.00	24.00
	P2	4	3.00	12.00
	Total	8		

#### Test Statistics<sup>a</sup>

		Skoring
Mann-Whitney U		2.000
Wilcoxon W		12.000
Z		-2.049
Asymp. Sig. (2-tailed)		.040
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]		.114 <sup>b</sup>

a. Grouping Variable: Kelompok

b. Not corrected for ties.

Kelompok K3 (250mg/kgbb)

		Ranks		
	Kelompok	N	Mean Rank	Sum of Ranks
Skoring	Positif	4	6.50	26.00
	P3	4	2.50	10.00
	Total	8		

#### Test Statistics<sup>a</sup>

		Skoring
Mann-Whitney U		.000
Wilcoxon W		10.000
Z		-2.530
Asymp. Sig. (2-tailed)		.011

Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	.029 <sup>b</sup>
--------------------------------	-------------------

- a. Grouping Variable: Kelompok  
b. Not corrected for ties.

## Kelompok K4 (500mg/kgbb)

		Ranks		
	Kelompok	N	Mean Rank	Sum of Ranks
Skoring	Positif	4	6.50	26.00
	P4	4	2.50	10.00
	Total	8		

Test Statistics<sup>a</sup>

		Skoring
Mann-Whitney U		.000
Wilcoxon W		10.000
Z		-2.477
Asymp. Sig. (2-tailed)		.013
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]		.029 <sup>b</sup>

- a. Grouping Variable: Kelompok  
b. Not corrected for ties.

## Kelompok K5 (1000mg/kgbb)

		Ranks		
	Kelompok	N	Mean Rank	Sum of Ranks
Skoring	Positif	4	6.50	26.00
	P5	4	2.50	10.00
	Total	8		

Test Statistics<sup>a</sup>

		Skoring
Mann-Whitney U		.000
Wilcoxon W		10.000
Z		-2.530
Asymp. Sig. (2-tailed)		.011
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]		.029 <sup>b</sup>

- a. Grouping Variable: Kelompok  
b. Not corrected for ties.

Lampiran 5 Dokumentasi Kegiatan



