

BAB V

HASIL PENELITIAN

5.1. Pelaksanaan Penelitian

Penelitian ini telah dilaksanakan di Laboratorium Penelitian dan Pengembangan Terpadu Unit IV Universitas Gadjah Mada Jogjakarta untuk pemeliharaan dan perlakuan hewan coba, untuk pembuatan preparat imunohistokimia di Laboratorium Patologi Anatomi RS dr. Sardjito Jogjakarta, di Laboratorium Patologi Anatomi Fakultas Kedokteran UGM dan Laboratorium Patologi Anatomi Fakultas Kedokteran UNDIP untuk pembacaan preparat. Sampel penelitian adalah tikus *Sprague-Dawley* jantan berusia 8 – 12 minggu, dengan berat badan 150-250 gram. Sampel yang digunakan adalah 30 ekor tikus jantan *Sprague – Dawley* yang terbagi menjadi 5 kelompok, yaitu \Kontrol (+), kelompok tikus dengan pemberian MC sebanyak 10 % (X1), 20 % (X2), 40% (X3) dan 80% (X4).

5.2. Pemberian ekstrak *Morinda citrifolia L.*

Pembuatan ekstrak MC dilakukan dengan cara mengekstrak buah mengkudu dengan larutan etanol 70 %. Ekstraksi dilakukan di Laboratorium Farmakologi UGM Jogjakarta. Hasil ekstraksi berupa supernatant bioaktif mengkudu.

Tabel 5.2.1. Hasil analisis ekstrak buah mengkudu

Jenis uji	Hasil	Satuan	Metode
Total fenolat	18,5	Mg asam galat/gr ekstrak	Spektroskopi
Kadar flavonoid	18,3	Mg quecertin /gr ekstrak	Spektroskopi
Antioksidan	EC ₅₀ 104,25	-	DPPH

Ekstrak MC yang diberikan berupa cairan yang dibuat dari ekstrak MC menurut kebutuhan. Ekstrak dilarutkan dengan aquadest, dan pengadukan dibantu dengan *vortex* untuk mempermudah homogenisasinya. Larutan ini dianggap sebagai larutan stok, dan diberikan pada masing-masing kelompok tikus satu hari sekali sebanyak 2 ml. Pemberian dilakukan per oral dengan sonde selama 2 minggu.

Pemberian ekstrak *Morinda citrifolia L* dilakukan setelah induksi dengan STZ selama 8 minggu, dan telah terbukti terjadi DN yang dibuktikan dengan kadar gula darah > 300 mg/dl, gula urin > 500 mg/dl, kadar albumin dalam urin > 30 mg/dl dan < 300 mg/dl.

5.3. Karakteristik berat badan, gula darah, volume urine pada hewan coba sebelum induksi STZ, setelah induksi STZ dan setelah pemberian MC

Karakteristik berat badan, gula darah, volume urine pada hewan coba sebelum induksi STZ ditampilkan pada tabel 5.3.1

Tabel 5.3.1 Karakteristik hewan coba sebelum induksi STZ

Karakteristik	K (+) n=6	X1 n=6	X2 n=6	X3 n=6	X4 n=6	P
Berat badan (g)	193,4 ± 5,90	245,7 ± 3,85	232,4 ± 1,55	213,2 ± 10,11	217,3 ± 5,31	<0,001*
Glukosa darah (mg/dL)	85,2 ± 3,92	92,3 ± 10,46	84,0 ± 5,62	83,8 ± 5,15	86,2 ± 7,62	0,4 [‡]
Volume urin (ml/hr)	19,6 ± 6,06	22,4 ± 4,12	22,3 ± 5,85	17,8 ± 3,23	20,6 ± 3,10	0,4*

*Uji One Way ANOVA

‡Uji Kruskall-Wallis

tabel 5.3.1 menunjukkan berat badan hewan coba sebelum induksi STZ yang paling ringan adalah pada kelompok K (+), berikutnya adalah kelompok X3, X4 dan X2 dan paling berat adalah pada kelompok X1. Hasil uji statistik menunjukkan ada perbedaan yang bermakna pada berat badan sebelum induksi SRZ antara kelompok penelitian ($p < 0,001$). Gula darah hewan coba sebelum induksi yang paling rendah adalah pada kelompok X3, berikutnya adalah kelompok X2, K(+), X4 dan paling tinggi adalah kelompok X1, namun hasil uji statistik menunjukkan perbedaan tersebut adalah tidak bermakna ($p = 0,4$). Volume urin sebelum induksi STZ paling sedikit adalah pada kelompok X3, selanjutnya adalah K(+), X4, X2 dan terbanyak adalah pada kelompok X1, namun hasil uji statistik menunjukkan perbedaan tersebut adalah tidak bermakna ($p = 0,4$).

Efek metabolik STZ induksi diabetes pada berat badan, kadar glukosa darah, volume urin dan kadar albumin dalam urin ditampilkan pada tabel 5.3.2

Tabel 5.3.2 Berat badan, kadar glukosa darah, dan volume urin hewan coba setelah induksi STZ

Variabel	K (+) n=6	X1 n=6	X2 n=6	X3 n=6	X4 n=6	P
Berat badan (g)	182,1 ± 23,73	219,4 ± 38,23	213,0 ± 23,50	221,2 ± 47,89	206,2 ± 53,86	0,7 [¥]
Glukosa darah (mg/dL)	498,0 ± 60,51	497,8 ± 193,33	561,3 ± 39,84	484,8 ± 193,44	500,2 ± 194,12	0,9 [¥]
Volume urin (ml/hr)	19,57 ± 6,06	22,4 ± 4,13	22,3 ± 5,85	17,83 ± 3,32	20,62 ± 3,12	0,4*

*Uji One Way ANOVA

[¥]Uji Kruskal-Wallis

Tabel 5.3.2 menunjukkan berat pada hewan coba setelah induksi STZ paling ringan adalah pada kelompok K(+), selanjutnya adalah kelompok X4, X2, X1 dan terberat adalah kelompok X3, namun hasil uji statistik perbedaan tersebut adalah tidak bermakna ($p=0,7$). Kadar glukosa darah pasca induksi STZ pada semua kelompok adalah > 300 mg/dL. Kadar glukosa darah terendah adalah pada kelompok X3, selanjutnya adalah kelompok X1, K(+), X4 dan tertinggi adalah X2, namun hasil uji statistik perbedaan tersebut adalah tidak bermakna ($p=0,9$). Volume urin setelah induksi STZ paling kecil adalah pada kelompok X3, selanjutnya adalah pada kelompok K(+), X4, X2 dan terbanyak adalah kelompok X1, namun hasil uji statistik perbedaan tersebut adalah tidak bermakna ($p=0,4$).

Berat badan, berat ginjal, kadar glukosa darah, volume urin, kadar al bumin dalam urin dan skor eksresi VEGF jaringan ginjal hewan coba setelah pemberian ekstrak MC ditampilkan pada tabel 5. 3.3

Tabel 5.3.3 Pengaruh pemberian ekstrak MC terhadap hewan coba

Variabel	K (+) n=6	X1 n=6	X2 n=6	X3 n=6	X4 n=6	p
Berat badan (g)	191,7 ± 26,74	208,1± 43,93	198,4 ± 20,86	197,3 ± 18,07	186,7± 20,31	0,7*
Berat ginjal (g)	2,07 ± 0,19	2,55 ± 0,51	2,22 ± 0,09	2,07 ± 0,21	2,27 ± 0,15	0,2 [‡]
Glukosa darah (mg/dL)	327,3 ± 104,05	417,3 ± 79,95	427,7 ± 93,64	462,8 ± 48,99	389,8± 56,11	0,07*
Volume urin(ml/hr)	62,5 ± 30,12	92,3 ± 6,65	73,8 ± 17,83	62,2 ± 30,18	52,8 ± 32,25	0,1*

* Uji One way ANOVA

[‡] Uji Kruskall Wallis

Tabel 5.3.3 menunjukkan berat bandan hewan coba setelah induksi STZ dan mendapat MC yang teringan adalah pada kelompok X4, selanjutnya adalah pada kelompok K9+), X3, X2 dan paling berat adalah pada kelompok X1, namun hasil uji statistik menunjukkan perbedaan tersebut adalah tidak bermakna (p=0,7). Berat ginjal teringan dijumpai pada kelompok (K+) dan X3, selanjutnya adalah kelompok X2, X4 dan terberat adalah pada kelompok X1, namun hasil uji statistik menunjukkan perbedaan tersebut juga tidak bermakna (p=0,2). Gula darah seluruh kelompok penelitian baik kelompok K(+) maupun yang mendapat MC berbagai dosis masih > 300 mg./dL. Kadar gula darah yang terendah adalah pada kelompok

(+), selanjutnya adalah kelompok X4, X2 dan tertinggi adalah pada kelompok X3, namun hasil uji statistik menunjukkan perbedaan tersebut adalah tidak bermakna ($p=0,07$). Volume urin hewan coba tersedikit adalah pada kelompok X4, selanjutnya adalah volume urin kelompok X3, K(+), X2 dan terbanyak pada kelompok X1, namun hasil uji statistik menunjukkan perbedaan tersebut adalah tidak bermakna ($p=0,1$).

5.4. Kadar albumin dalam urin hewan coba dengan STZ induksi diabetes setelah pemberian MC berbagai dosis

Kadar albumin dalam urin hewan coba yang STZ-induksi diabetes yang mendapat MC berbagai dosis ditampilkan pada tabel 5.4.1

Tabel 5.4.1 Kadar albumin dalam urin hewan coba yang STZ-induksi diabetes yang mendapat MC berbagai dosis. Jumlah hewan coba masing-masing kelompok $n=6$.

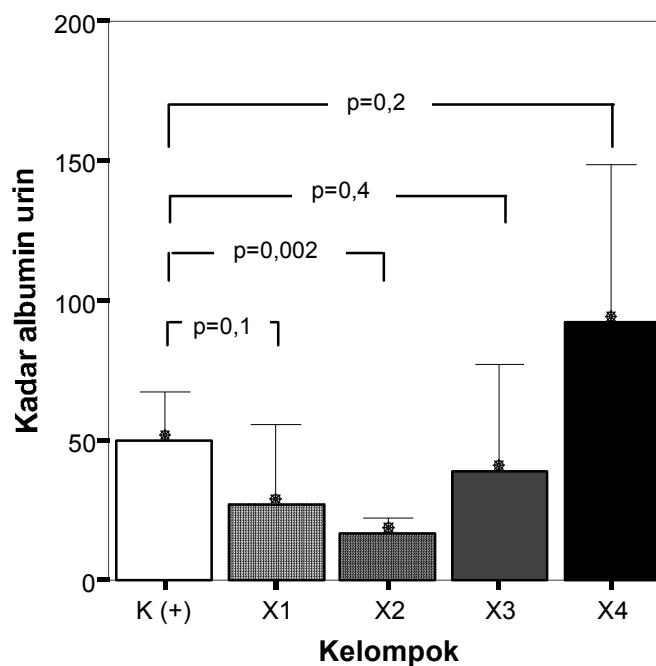
Kelompok	Rerata \pm SB	Median	Minimum	Maximum
K (+)	49,91 \pm 17,044	52,91	30,07	67,3
X1	26,97 \pm 28,299	14,65	5,5	80,6
X2	16,31 \pm 5,606	14,275	10,6	25,61
X3	38,92 \pm 37,616	15,96	12,6	88,6
X4	92,22 \pm 56,084	96,85	13,21	158,09

Uji Kruskal Wallis $p=0,03$.

Uji Mann-Whitney:

- X1 vs K(+) $p=0,1$
- X2 vs K(+) $p=0,002$
- X3 vs K(+) $p=0,4$
- X4 vs K(+) $p=0,2$
- X1 vs X2 $p=0,9$
- X1 vs X3 $p=0,4$
- X1 vs X4 $p=0,03$
- X2 vs X3 $p=0,4$
- X2 vs X4 $p=0,03$
- X3 vs X4 $p=0,2$

Tabel 5.4.1 tampak kadar albumin urin pada kelompok X1 dan X2 adalah < 30 mg/dL sedangkan kelompok K(+), X3, X4 dan X5 masih > 30 mg/dL. Kadar albumin urin yang paling rendah adalah pada kelompok X2 dan berikutnya adalah pada kelompok X1, X3, K(+) dan tertinggi adalah pada kelompok X4. Hasil uji statistik menunjukkan adanya perbedaan yang bermakna pada kadar albumin dalam urin antara kelompok penelitian ($p=0,03$). Perbandingan kadar albumin dalam urin hewan pada kelompok penelitian juga ditampilkan pada gambar 11.



Gambar 8. Perbandingan kadar albumin dalam urin hewan coba pada kelompok penelitian (n masing-masing kelompok = 5). Diagram batang menunjukkan rerata dengan *error bar* 1 SD.

Hasil uji statistik antar kelompok penelitian menunjukkan rerata kadar albumin dalam urin kelompok X1 adalah lebih rendah dibanding kelompok K(+), namun perbedaan tersebut tidak bermakna ($p=0,1$). Selanjutnya pada gambar 11 juga tampak rerata kadar albumin urin kelompok X2 adalah lebih rendah secara bermakna dibanding kelompok K(+) dengan $p=0,002$. Rerata kadar albumin dalam urin kelompok X3 adalah lebih rendah dibanding kelompok K(+) namun perbedaan tersebut adalah tidak bermakna ($p=0,4$). Rerata kadar albumin dalam urin kelompok X4 adalah lebih tinggi dibanding kelompok K(+) namun perbedaan tersebut adalah tidak bermakna ($p=0,2$).

Hasil analisis antar kelompok penelitian juga menunjukkan kadar albumin dalam urin kelompok X1 adalah lebih tinggi dibanding kelompok X2, namun perbedaan tersebut adalah tidak bermakna ($p=0,9$). Rerata kadar albumin dalam urin kelompok X1 adalah lebih rendah dibanding kelompok X3 namun perbedaan tersebut adalah tidak bermakna ($p=0,4$). Rerata kadar albumin dalam urin kelompok X1 adalah lebih rendah secara bermakna dibanding kelompok X4 ($p=0,03$). Rerata kadar albumin urin kelompok X2 adalah lebih rendah dibanding kelompok X, namun perbedaan tersebut adalah tidak bermakna ($p=0,4$). Rerata kadar albumin urin kelompok X2 lebih rendah secara bermakna dibanding kelompok X4 ($p=0,03$). Rerata kadar albumin urin kelompok X3 adalah lebih rendah dibanding X4 namun perbedaan tersebut adalah tidak bermakna ($p=0,2$).

5.5. Skor ekspresi VEGF jaringan ginjal hewan coba dengan STZ induksi diabetes setelah pemberian MC berbagai dosis

Skor ekspresi VEGF jaringan ginjal hewan coba dengan STZ induksi diabetes setelah pemberian MC berbagai dosis ditampilkan pada tabel 5.5.1..

Tabel 5.5.1 Skor ekspresi VEGF jaringan ginjal hewan coba yang STZ-induksi diabetes yang mendapat MC berbagai dosis. Jumlah hewan coba masing-masing kelompok n=6.

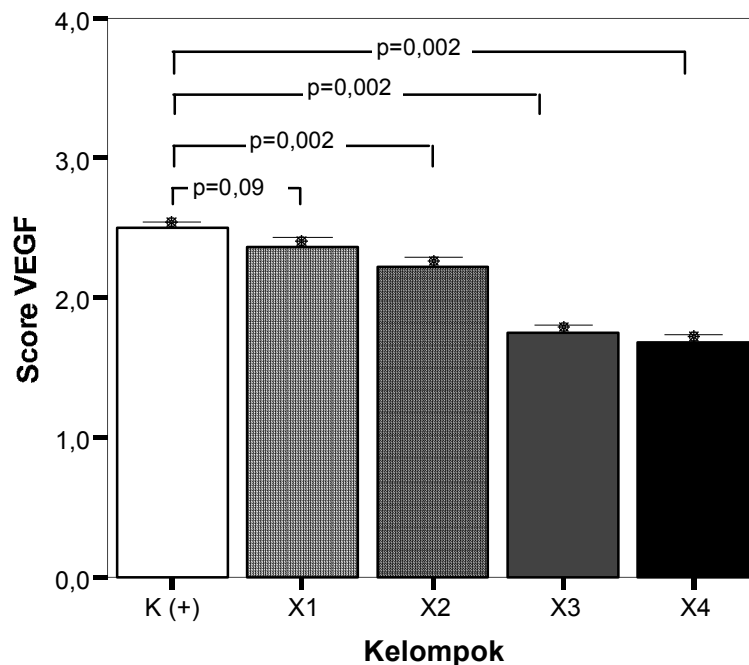
Kelompok	Rerata ± SB	Median	Minimum	Maximum
K (+)	2,50 ± 0,047	2,52	2,43	2,55
X1	2,37 ± 0,070	2,36	2,30	2,46
X2	2,22 ± 0,069	2,22	2,13	2,33
X3	1,76 ± 0,054	1,77	1,67	1,82
X4	1,68 ± 0,062	1,68	1,60	1,75

Uji Kruskal Wallis p<0,001

Uji Mann-Whitney:

- X1 vs K(+) p=0,009 - X1 vs X2 p=0,01 - X2 vs X3 p=0,002 - X3 vs X4 p=0,07
- X2 vs K(+) p=0,002 - X1 vs X3 p=0,002 - X2 vs X4 p=0,002
- X3 vs K(+) p=0,002 - X1 vs X4 p=0,002
- X4 vs K(+) p=0,002

Tabel 5.5.1 menunjukkan rerata skor ekspresi VEGF jaringan ginjal hewan coba yang paling tinggi adalah kelompok K(+), selanjutnya adalah kelompok X1, X2, X3 dan yang paling rendah adalah kelompok X4. Hasil uji statistik menunjukkan adanya perbedaan yang bermakna pada skor ekspresi VEGF antara kelompok penelitian (p<0,001). Perbandingan skor ekspresi VEGF pada kelompok penelitian juga ditampilkan pada gambar 9.

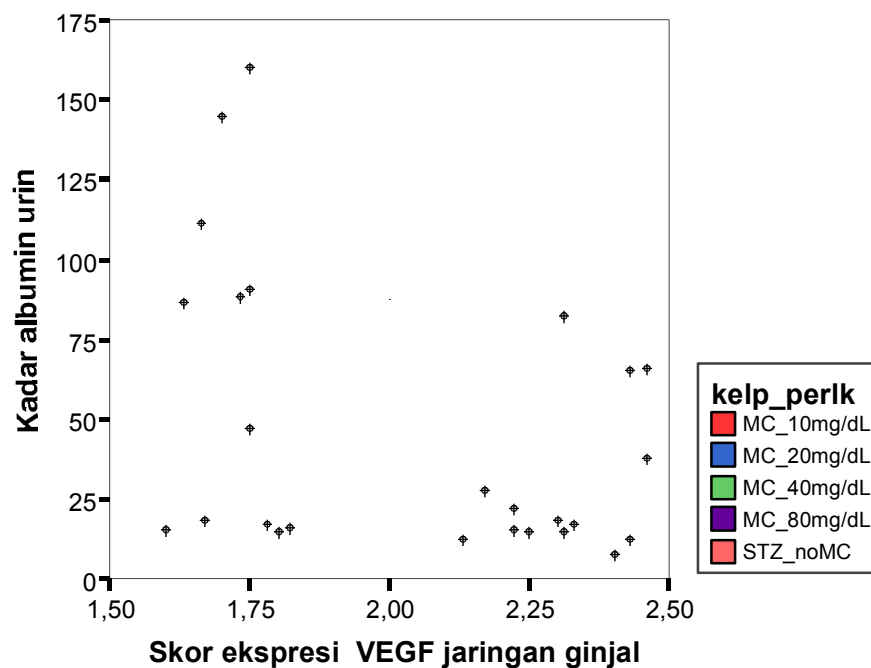


Gambar 9. Perbandingan skor ekspresi VEGF jaringan ginjal hewan coba pada kelompok penelitian (n masing-masing kelompok = 5). Diagram batang menunjukkan rerata dengan *error bar* 1 SD.

Hasil analisis perbandingan skor ekspresi VEGF antar kelompok menunjukkan skor ekspresi VEGF jaringan ginjal hewan coba kelompok X1 adalah lebih tinggi secara bermakna dibanding kelompok X2 ($p=0,01$), X3 ($p=0,002$) dan kelompok X4 ($p=0,002$). Skor ekspresi VEGF jaringan ginjal hewan coba kelompok X2 adalah lebih tinggi dibanding kelompok X3 ($p=0,002$) dan X4 ($p=0,002$). Skor ekspresi VEGF jaringan ginjal hewan coba kelompok X3 adalah lebih tinggi dibanding kelompok X4 namun perbedaan tersebut tidak bermakna ($p=0,07$).

5.5. Hubungan antara kadar albumin dalam urin dengan skor ekspresi VEGF

Hubungan antara kadar albumin dalam urin dengan skor ekspresi VEGF jaringan ginjal hewan coba ditampilkan pada gambar 13.



Gambar 10. Hubungan antara ekspresi skor VEGF dengan kadar albumin dalam urin pada hewan coba STZ induksi diabetes yang mendapat MC berbagai dosis

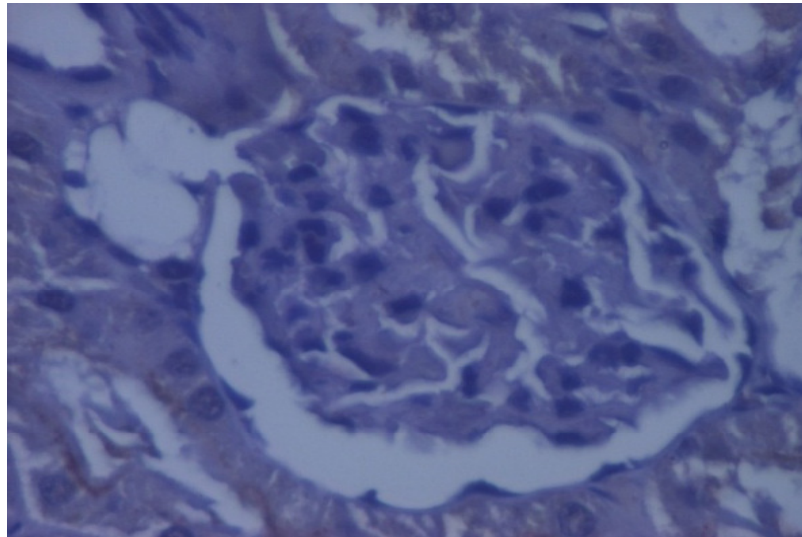
Hasil uji korelasi Spearman menunjukkan koefisien korelasi antara skor ekspresi VEGF jaringan ginjal dengan kadar albumin dalam urin adalah $-0,19$ menunjukkan bahwa arah korelasi positif dengan kekuatan korelasi tidak bermakna, ($p=0,3$),

menunjukkan bahwa korelasi antara kadar albumin urin dengan score VEGF adalah tidak bermakna.

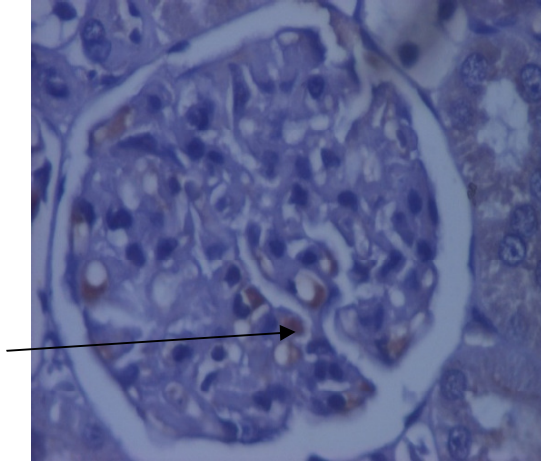
Hasil uji korelasi Spearman pada kelompok K(+), X1 dan X2 menunjukkan koefisien korelasi antara skor ekspresi VEGF jaringan ginjal dengan albumin dalam urin adalah 0,51 , ($p=0,03$) menunjukkan bahwa korelasi antara kadar albumin dalam urin dengan ekspresi VEGF jaringan ginjal adalah bermakna.

5.6. Gambaran histologi jaringan ginjal

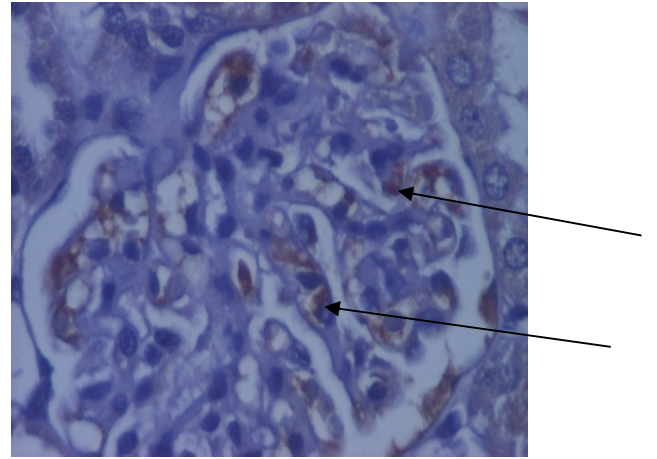
Berdasarkan hasil pengamatan histologi jaringan pada ginjal hewan coba perlakuan diperoleh gambaran ekspresi VEGF-IHC menunjukkan perubahan pada matriks mesangial hewan coba yang diberikan ekstrak mengkudu.



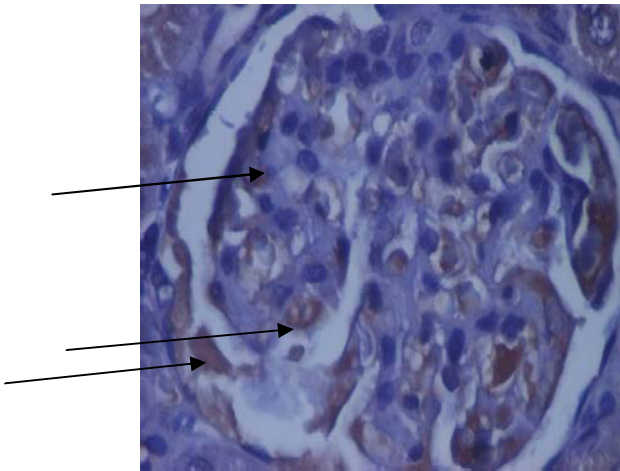
Gambar 11. Ekspresi VEGF dengan skor 0 dengan pembesaran 400 X.



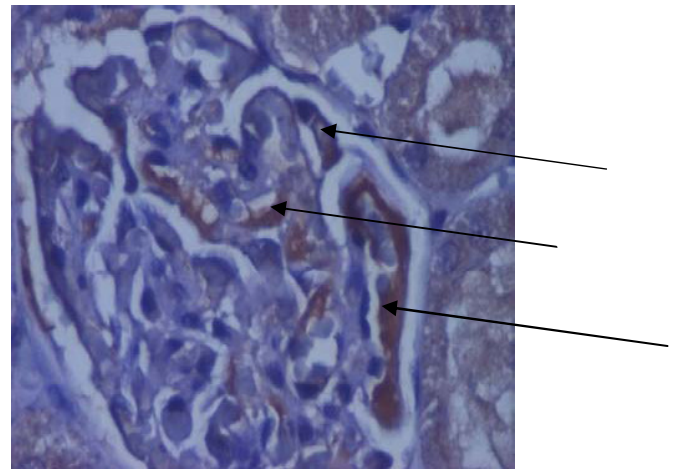
Gambar 12. Ekspresi VEGF dengan skor 1.



Gambar 13. Ekspresi VEGF dengan skor 2.



Gambar 14. Ekspresi VEGF dengan skor 3.



Gambar 15. Ekspresi VEGF dengan skor 4.

(Semua gambar dengan pembesaran 400 X)