

BAB V

HASIL PENELITIAN

5.1. Hasil Uji Pendahuluan

5.1.1 Penentuan DM setelah Induksi *Streptozotosin*

Study preliminary dalam penelitian ini telah dilakukan di Laboratorium Penelitian dan Pengujian Terpadu Universitas Gadjah Mada (LPPT-UGM) unit 4. Proses yang dilakukan meliputi pemeliharaan dan perlakuan hewan coba. Rata-rata hasil pemeriksaan GDS untuk menentukan kestabilan DM pada hewan coba pada hari ke-2, ke-4 dan ke-6 dapat dilihat pada Tabel 5.1.

Tabel 5.1. Karakteristik berat badan, rata-rata gula darah sewaktu uji pendahuluan setelah induksi *streptozotosin*.

Sampel	BB (gr)	GDS Hari-2 (mg/dl)	GDS Hari-4 (mg/dl)	GDS hari-6 (mg/dl)	Rata-rata GDS (mg/dl)
Puasa 1	161,3	258	494	359	370,33
Puasa 2	175,2	422	355	520	432,33
Non Puasa 1	173,6	445	349	405	399,67
Non Puasa 2	187,7	378	575	409	454

Tabel 5.1 menunjukkan rata-rata GDS pada sampel puasa 1 = 370,33 mg/dl, sampel puasa 2 = 432,33, sampel non puasa 1 = 399,67 dan sampel non puasa 2 = 454, berdasarkan hal tersebut diketahui rata-rata GDS pada uji pendahuluan

hewan coba masih dalam kondisi DM. Peneliti mengambil keputusan untuk penelitian ini hewan coba sudah mengalami DM dan stabil pada hari keempat dan dipuaskan terlebih dahulu 12 jam sebelum induksi STZ.

5.1.2 Pemberian Ekstrak Etanol Daun Salam (EEDS)

Identifikasi atau determinasi sampel *Syzygium polyanthum* dilakukan di Bagian Biologi Farmasi UGM. Pembuatan ekstrak daun salam dilarutkan menggunakan etanol 70% dengan berat serbuk daun salam 455,10 gr dan berat ekstrak daun salam 79,38 gr. Ekstraksi maserasi dilakukan di LPPT Unit 3 UGM dengan hasil ekstraksi berupa supernatan bioaktif daun salam. Uji Fitokimia EEDS dilakukan di Laboratorium kimia organik jurusan kimia fakultas sains dan matematika Universitas Diponegoro. Hasil uji fitokimia EEDS dapat dilihat pada tabel 5.2.

Tabel 5.2. Hasil Uji Fitokimia Ekstrak Etanol Daun Salam

Parameter	Ekstrak
Alkaloid	Positif
Saponin	Positif
Quinon	Positif
Fenolik	Positif
Triterpenoid	Positif
Steroid	Positif
Flavonoid	Positif

Tabel 5.2 menunjukkan zat yang terkandung dalam daun salam berupa alkaloid, saponin, fenolik, triterpenoid, steroid dan flavonoid yang dapat dijadikan sebagai zat anti oksidatif, yang dapat berfungsi menurunkan gula darah. Hasil uji antioksidan dengan metode difenilpikril hidrasil (DPPH) pada EEDS yaitu $IC_{50} = 89.627$, konsentrasi senyawa antioksidan yang terkandung dalam daun salam menyebabkan lebih dari 50% DPPH mengalami penurunan karakter radikal bebas lebih besar dari vitamin C yaitu $IC_{50} = 7.587$. Ekstrak daun salam dilarutkan dalam larutan *Carboxy Methyl Cellulose Natrium* (CMC Na) 0,5% untuk mempermudah homogenisasi. Pemberian ekstrak daun salam dilakukan peroral dengan disonde selama 15 hari. Pemberian ekstrak ini dimulai pada hari keempat post induksi STZ.

5.1.3. Karakteristik Gula Darah Sewaktu, Pre EEDS dan Post EEDS Penelitian Awal

Sampel hewan coba pada penelitian awal sebanyak 20 ekor yang terbagi menjadi 4 kelompok tetapi terdapat 1 hewan coba yang mati sehingga masuk pada kategori *drop out*. Hewan coba yang mati terdapat pada kelompok perlakuan tiga, sehingga jumlah hewan coba hanya 19 ekor.

Dosis pada penelitian awal adalah perlakuan 1 dengan dosis EEDS 18,1 mg/ 200 grBB, Perlakuan 2 dosis 36,2 mg/ 200 grBB dan Perlakuan 3 dosis 72,4 mg/ 200 grBB. Hasil penelitian menggunakan dosis awal ditunjukkan pada tabel 5.3.

Tabel 5.3. Karakteristik Gula Darah Sewaktu Mean, Median, Standart deviasi dan Nilai minimal – maksimal Pre EEDS dan Post EEDS Penelitian Awal

Karakteristik	Kelompok	Mean \pm SD	Median	Minimal-Maximal
GDS Pre EEDS	Kontrol	493 \pm 116,2	469	373 – 659
	Dosis 1	481,8 \pm 77,2	491	352 – 552
	Dosis 2	518,2 \pm 58,3	543	419 – 565
	Dosis 3	540,7 \pm 44,2	530	500 – 603
GDS Post EEDS	Kontrol	508 \pm 117,76	490	381 – 686
	Dosis 1	540,4 \pm 149,6	511	328 – 720
	Dosis 2	524,4 \pm 105,04	579	397 – 621
	Dosis 3	553,2 \pm 105,9	549	428 – 687

Tabel 5.3 menunjukkan rata-rata gula darah sewaktu Post EEDS pada kelompok perlakuan dosis 1 adalah 540,4 mg/dl, pada dosis 2 adalah 524,4 mg/dl, dan perlakuan dosis 3 adalah 553,2 mg/dl.

Tabel 5.4 Perbandingan Karakteristik Gula Darah Sewaktu Mean, dan Standart deviasi Pre EEDS dan Post EEDS Penelitian Awal

GDS	Mean \pm SD	p value	Jumlah
Pre EEDS	506,74 \pm 76,98	0,39	19
Post EEDS	530,37 \pm 112,53		

Hasil analisis statistik menunjukkan bahwa rata-rata GDS Pre EEDS adalah 506,74 mg/dl dengan standard deviasi 76,98 mg/dl. Setelah pemberian EEDS rata-rata GDS adalah 530,37 mg/dl dengan standard deviasi 112,53 mg/dl. Hasil

analisis menggunakan uji *t dependent* terhadap perbedaan rata-rata GDS Pre EEDS dengan GDS Post EEDS menunjukkan bahwa tidak ada perbedaan yang signifikan antara GDS Pre EEDS dengan GDS Post EEDS (*p value* : 0,39). Hal tersebut menunjukkan bahwa pemberian ekstrak daun salam pada awal penelitian tidak dapat meregulasi gula darah, dengan demikian dilakukan ekstraksi maserasi ulang daun salam dengan berat serbuk 700gr, dengan berat ekstrak daun salam 45,12 gr yang dilarutkan dalam etanol 70%. Dosis EEDS ditingkatkan pada perlakuan 1 sebesar 150 mg/ 200 grBB, perlakuan 2 sebesar 300 mg/ 200 grBB dan dosis perlakuan 3 sebesar 450 mg/ 200 grBB.

5.2. Hasil Penelitian

Sampel hewan coba pada penelitian sebanyak 20 ekor, terbagi menjadi 4 kelompok tetapi terdapat 4 hewan coba yang mati (2 ekor pada kelompok perlakuan 1, 1 ekor pada kelompok perlakuan 2 dan 1 ekor pada kelompok perlakuan 3) sehingga masuk pada kategori *drop out* sehingga jumlah hewan coba hanya 16 ekor.

Karakteristik berat badan, gula darah sewaktu pre dan post EEDS pada penelitian dengan dosis yang telah ditingkatkan dapat dilihat pada tabel 5.5.

Tabel 5.5. Karakteristik Berat Badan, Gula Darah Sewaktu, Pre EEDS

Karakteristik	Kelompok	Mean \pm SD	Median	Minimal-Maximal
Berat badan	Kontrol	119,76 \pm 40,29	147,1	66,5 - 150,8
	Dosis 1	98,7 \pm 39,99	87,5	65,5 - 143,1
	Dosis 2	95,65 \pm 45,84	84,4	56,4 - 157,4
	Dosis 3	98,47 \pm 49,83	77,9	65,4 - 172,7
GDS	Kontrol	344,4 \pm 112	393	209 - 469
	Dosis 1	360 \pm 171,02	304	224 - 552
	Dosis 2	356,5 \pm 155,97	354,5	202 - 515
	Dosis 3	369 \pm 112,9	347	259 - 523

Tabel 5.5 menunjukkan rata-rata gula darah sewaktu Pre EEDS pada kelompok kontrol adalah 344 mg/dl, pada perlakuan dosis 1 adalah 360 mg/dl, pada dosis 2 adalah 356,5 mg/dl, dan perlakuan dosis 3 adalah 369 mg/dl.

5.2.1. Karakteristik Berat Badan, Gula Darah Sewaktu, dan HbA1c Post EEDS

Karakteristik berat badan, gula darah sewaktu dan HbA1c *post* EEDS pada penelitian dengan dosis yang telah ditingkatkan dapat dilihat pada tabel 5.6

**Tabel 5.6. Karakteristik Berat Badan, Gula Darah Sewaktu, dan HbA1c
Post EEDS**

Karakteristik	Kelompok	Mean ± SD	Median	Minimal-Maximal
Berat Badan	Kontrol	132,96 ± 29,71	144,9	96,4 - 165,6
	Dosis 1	125,26 ± 14,34	124	111,6 - 140,2
	Dosis 2	119,62 ± 26,31	120,4	90,5 - 147,2
	Dosis 3	129,62 ± 32,11	118,5	104,7 - 176,8
GDS	Kontrol	411 ± 195,9	434	217 - 686
	Dosis 1	344,33 ± 75,83	328	278 - 427
	Dosis 2	271,75 ± 141,94	275	140 - 397
	Dosis 3	286,25 ± 133,75	291	135 - 428
HbA1c	Kontrol	17,12 ± 25,69	6,9	4 - 63
	Dosis 1	5,7 ± 1,5	5,7	4,2 - 7,2
	Dosis 2	5,85 ± 2,49	5,15	3,9 - 9,2
	Dosis 3	4,85 ± 2,49	4,5	4 - 6,4

Tabel 5.6 menunjukkan bahwa rata-rata gula darah sewaktu post EEDS pada kelompok perlakuan 1 adalah 344,33 mg/dl dengan rata-rata HbA1c 5,7%, pada dosis 2 adalah 271,75 mg/dl dengan rata-rata HbA1c 5,85% dan perlakuan dosis 3 adalah 286,5 mg/dl dengan rata-rata HbA1c 4,85%.

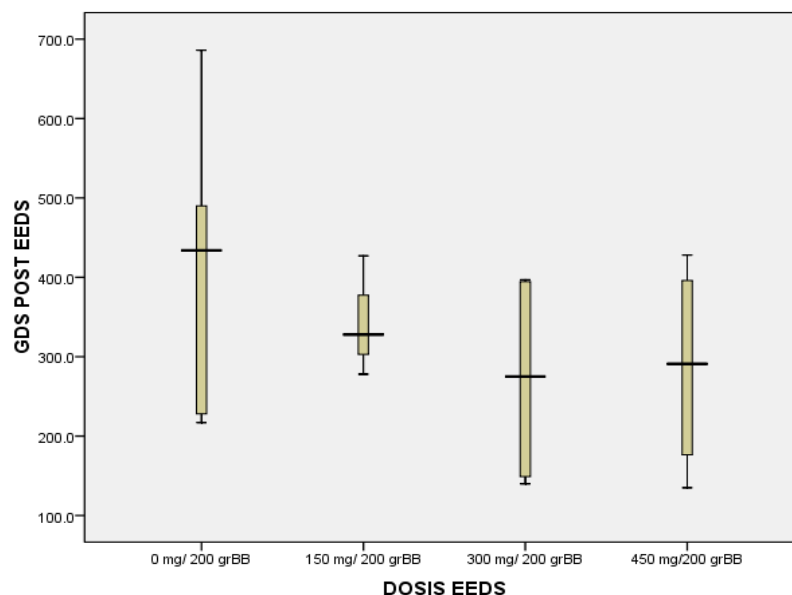
5.2.2. Perbandingan GDS Pre EEDS dan Post EEDS Pada Penelitian Akhir

Hasil perbandingan gula darah sewaktu pre dan post EEDS dapat dilihat pada tabel 5.7.

Tabel 5.7 Gula Darah Sewaktu Pre EEDS dan Post EEDS Pada Penelitian Akhir

GDS	Mean \pm SD	p value	Jumlah
Pre EEDS	356,5 \pm 121,47	0,006	16
Post EEDS	332,5 \pm 149,15		

Hasil analisis menunjukkan rata-rata GDS Pre EEDS adalah 356,5 mg/dl dengan standard deviasi 121,47 mg/dl. Rata-rata GDS post EEDS adalah 332,5 mg/dl dengan standard deviasi 149,15 mg/dl. Hasil analisis menggunakan uji *t dependent* terhadap perbedaan rata-rata GDS Pre dan post EEDS menunjukkan bahwa ada perbedaan yang signifikan antara GDS Pre EEDS dengan GDS Post EEDS (*p value* : 0,006). Hasil GDS pre dan post EEDS dapat dilihat pada Hal ini dapat dilihat dari nilai median GDS yang tampak pada grafik *boxplot* pada gambar 9 .



5.2.3. Uji Statistik Reliabilitas Terhadap Allred Score laminin mesangial glomerulus Pembaca 1 dan Pembaca 2

Allred score laminin mesangial glomerulus pada penelitian ini ditentukan berdasarkan Allred Score yang dilakukan oleh 2 orang pembaca. Pembaca 1 adalah dr. Dididk Setiyanto dan pembaca 2 adalah dr. Nur hidayah. Kesamaan dalam membaca allred score antara Pembaca 1 dan Pembaca 2 dilakukan dengan uji statistik reliabilitas. terhadap hasil pembacaan allred score dengan hasil $p=0,84$, berdasarkan uji statistik reliabilitas tersebut menunjukkan bahwa tidak ada perbedaan hasil pembacaan allred score diantara Pembaca 1 dan pembaca 2 (p value $> 0,6$).

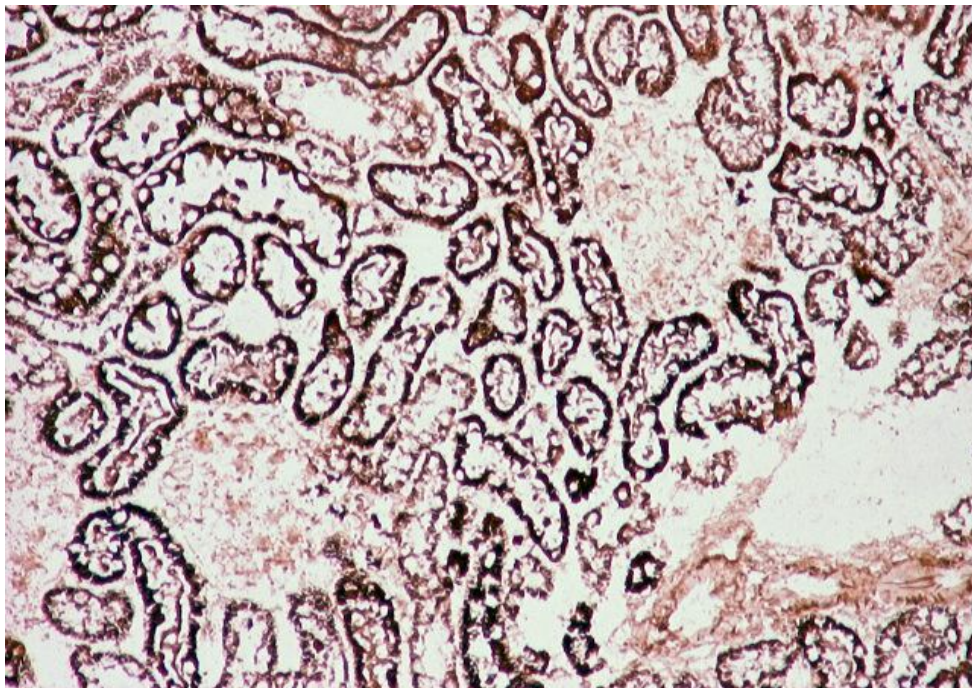
5.2.4. Uji Statistik Kappa Terhadap Score Laminin Pembaca 1 dan Pembaca 2

Kesamaan pembacaan allred score dilakukan dengan uji statistik kappa. Skor ekspresi laminin mesangial dalam penelitian ini ditentukan berdasarkan

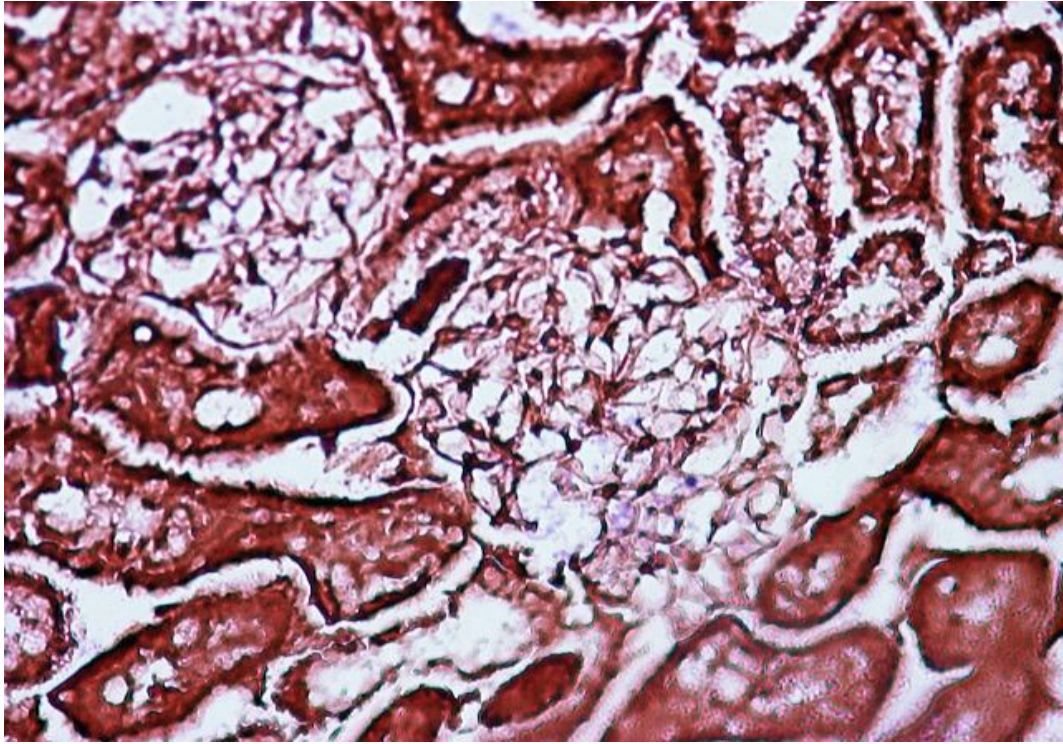
Allred Score yang dilakukan oleh 2 orang pembaca. Pembaca 1 dr. Didik Setiyanto dan pembaca 2 dr Nur hidayah. Berdasarkan uji statistik kappa menunjukkan bahwa tidak ada perbedaan hasil pembacaan allred score diantara Pembaca 1 dan pembaca 2 (p value = 0,05).

5.2.5. Distribusi Ekpresi laminin mesangial Hewan Uji Berdasarkan Dosis Pemberian EEDS

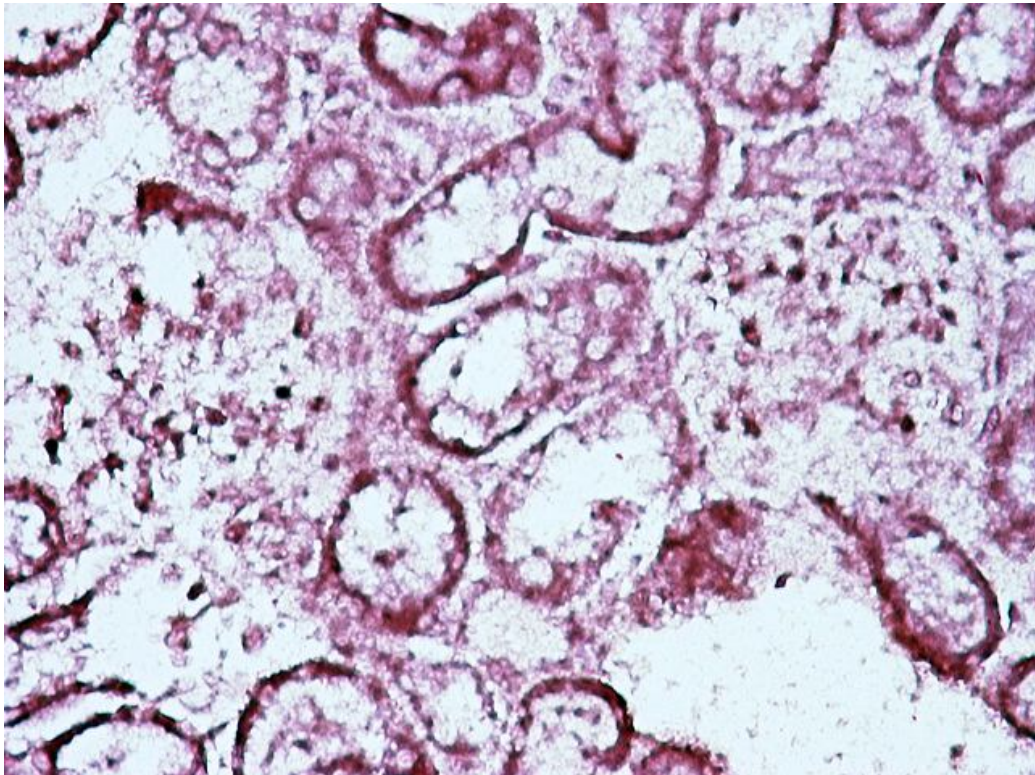
Distribusi ekspresi laminin pada kelompok kontrol dan kelompok perlakuan dosis 1, dosis 2 dan dosis 3 post EEDS selama 15 hari ditunjukkan pada gambar 10, 11 dan 12.



Gambar 10 : Ekspresi laminin mesangial glomerulus ginjal tikus SD (P3-3) dengan proporsi score (PS) : 1 dan intensitas score (IS) : 1



Gambar 11 : Ekspresi laminin mesangial glomerulus ginjal tikus SD (P2-2) dengan proporsi score (PS) : 5 dan intensitas score (IS) : 2



Gambar 12 : Ekspresi laminin mesangial glomerulus ginjal tikus SD (P2-4) dengan proporsi score (PS) : 4 dan intensitas score (IS) : 2

Score ekspresi laminin pada kelompok kontrol dan kelompok perlakuan dosis 1, dosis 2 dan dosis 3 post EEDS selama 15 hari ditunjukkan pada tabel 5.8.

Tabel 5.8 Skor Laminin Hewan Uji Berdasarkan Dosis Pemberian EEDS

Karakteristik	Kelompok	Mean \pm SD	Median	<i>P value</i>
Laminin	Kontrol	4,0 \pm 1,0	4	0,02
	Dosis 1	4,0 \pm 1,0	4	
	Dosis 2	4,0	4	
	Dosis 3	3,5 \pm 0,5	3,5	

Berdasarkan tabel 5.8. diatas diketahui bahwa rata-rata skor laminin kelompok kontrol adalah $4,0 \pm 1,0$, kelompok dosis 1 adalah $4,0 \pm 1,0$ dan kelompok dosis 2 adalah 4 sedangkan rata-rata skor laminin kelompok dosis 3 adalah $3,5 \pm 0,5$. Hasil uji statistik *Kruskall-Wallis* menunjukkan $p=0,02$ ($p<0,05$), hal ini menunjukkan bahwa ada perbedaan secara signifikan skor laminin diantara masing-masing kelompok penelitian, selanjutnya dilakukan uji *Mann-Whitney* untuk mengetahui perbedaan rerata pada masing-masing kelompok sampel. Hasil uji *Mann-Whitney* dapat dilihat pada tabel 5.9.

Tabel 5.9 Skor Laminin Hewan Uji Berdasarkan Dosis Pemberian EEDS

		Pvalue			
	K	P1	P2	P3	
K	-	0,1	0,01*	0,43	

Tabel 5.9 menunjukkan hasil uji signifikan ekspresi laminin mesangial kelompok kontrol dan perlakuan 2 menunjukkan nilai $p=0,01$ ($p<0,05$), hal ini menunjukkan adanya perbedaan rerata pada kelompok kontrol dan perlakuan 2.