

**UJI AKTIVITAS ANTIDIABETES DAN GAMBARAN  
HISTOPATOLOGI GINJAL PEMBERIAN EKSTRAK ETANOL  
DAUN JAMBU BIJI (*Psidium guajava* L.) DAN DAUN SIRIH  
HIJAU (*Piper betle* L.) PADA TIKUS GALUR WISTAR YANG  
DIINDUKSI ALOKSAN**

(Skripsi)

Oleh

**ASYFA NADYA DARAZAT  
2018031013**



**FAKULTAS KEDOKTERAN  
UNIVERSITAS LAMPUNG  
BANDAR LAMPUNG  
2024**

**UJI AKTIVITAS ANTIDIABETES DAN GAMBARAN  
HISTOPATOLOGI GINJAL PEMBERIAN EKSTRAK ETANOL  
DAUN JAMBU BIJI (*Psidium guajava* L.) DAN DAUN SIRIH  
HIJAU (*Piper betle* L.) PADA TIKUS GALUR WISTAR YANG  
DIINDUKSI ALOKSAN**

Oleh :

Asyfa Nadya Darazat

Skripsi

Sebagai Salah Satu Syarat Untuk Memperoleh Gelar  
SARJANA FARMASI

Pada

Program Studi Farmasi  
Fakultas Kedokteran Universitas Lampung



**PROGRAM STUDI FARMASI  
FAKULTAS KEDOKTERAN  
UNIVERSITAS LAMPUNG  
BANDAR LAMPUNG  
2024**

Judul Skripsi

: **UJI AKTIVITAS ANTIDIABETES DAN GAMBARAN HISTOPATOLOGI GINJAL PEMBERIAN EKSTRAK ETANOL DAUN JAMBU BIJI (*Psidium guajava* L.) DAN DAUN SIRIH HIJAU (*Piper betle* L.) PADA TIKUS GALUR WISTAR YANG DIINDUKSI ALOKSAN**

Nama Mahasiswa

: *Asyfa Nadya Darazat*

No. Pokok Mahasiswa

: 2018031013

Program Studi

: Farmasi

Fakultas

: Kedokteran



1. Komisi Pembimbing

**apt. Ihsanti Dwi Rahayu, M.S. Farm**  
NIP. 199405182022032019

**apt. Dwi Aulia Ramdini, M. Farm**  
NIP. 199203272022032013

2. Dekan Fakultas Kedokteran



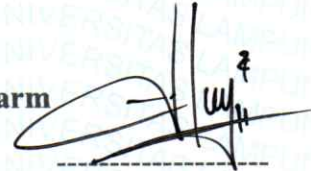
**Dr. dr. Evi Kurniawaty, S.Ked., M.Sc.**

NIP. 197601202003122001

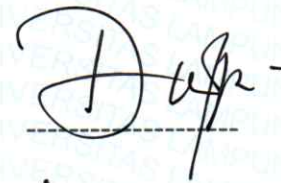
**MENGESAHKAN**

1. Tim Penguji

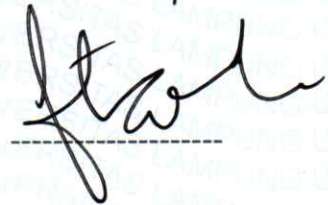
Ketua : **apt. Ihsanti Dwi Rahayu, M.S. Farm**



Sekretaris : **apt. Dwi Aulia Ramdini, M. Farm**



Penguji  
Bukan Pembimbing : **apt. M. Fitra Wardhana S, M. Farm**



2. Dekan Fakultas Kedokteran



**Dr. dr. Evi Kurniawaty, S.Ked., M.Sc.**

NIP. 197601202003122001

Tanggal Lulus Ujian Skripsi : **19 Juli 2024**



## LEMBAR PERNYATAAN

Dengan ini saya menyatakan dengan sebenar-benarnya, bahwa:

Skripsi dengan judul **“UJI AKTIVITAS ANTIDIABETES DAN GAMBARAN HISTOPATOLOGI GINJAL PEMBERIAN EKSTRAK ETANOL DAUN JAMBU BIJI (*Psidium guajava* L.) DAN DAUN SIRIH HIJAU (*Piper betle* L.) PADA TIKUS GALUR WISTAR YANG DIINDUKSI ALOKSAN”** adalah hasil karya sendiri dan tidak melakukan penjiplakan atau pengutipan atas karya penulis lain dengan cara tidak sesuai tata etika ilmiah yang berlaku dalam masyarakat akademik atau disebut plagiarisme. Hak intelektual atas karya ilmiah ini diserahkan sepenuhnya kepada Universitas Lampung.

Atas pernyataan ini, apabila di kemudian hari ternyata ditemukan adanya ketidakbenaran, saya bersedia menanggung akibat dan sanksi yang diberikan kepada saya.

Bandar Lampung, 23 Juli 2024

Pembuat Pernyataan



Asyfa Nadya Darazat

NPM. 2018031013

## **RIWAYAT HIDUP**

Asyfa Nadya Darazat, atau yang akrab dipanggil syfa lahir di Adirejo 24 April 2002 sebagai anak pertama dari dua bersaudara dari pasangan Bapak Yulianto dan Ibu Hamidah Rengga Hadi. Penulis menempuh pendidikan formal pertama kali di Taman Kanak-Kanak di TK Raudhatul Athfal, kemudian melanjutkan ke jenjang pendidikan di Sekolah Dasar Negeri 1 Way Jepara Lampung Timur dan menyelesaikannya pada tahun 2014, setelah itu melanjutkan ke jenjang lanjutan tingkat pertama di SMP Negeri 01 Way Jepara yang diselesaikan pada tahun 2017, dan menyelesaikan Sekolah Menengah Atas di SMA Negeri 01 Way Jepara pada tahun 2020.

Pada tahun 2020, penulis terdaftar sebagai mahasiswi Farmasi Fakultas Kedokteran Universitas Lampung melalui jalur Seleksi Bersama Masuk Perguruan Tinggi Negeri (SBMPTN). Selama menjadi mahasiswa, penulis juga aktif di berbagai kegiatan dan organisasi kemahasiswaan yang ada di Fakultas dan Jurusan, diantaranya adalah menjadi anggota Forum Studi Islam (FSI) Ibnu Sina (2021-2023) FK Unila. Selain itu, penulis juga aktif pada organisasi Himpunan Mahasiswa Farmasi FK Unila sebagai anggota (2021-2023) dan menjadi ketua divisi Pendidikan dan Latihan pada tahun 2021-2022. Penulis juga pernah menjadi Asisten praktikum Kimia Organik pada tahun 2023 dan Asisten Praktikum Farmasetika Dasar pada tahun 2024.

*Tugas akhir ini penulis persembahkan untuk kedua orang tua  
tercinta (Ibu dan Bapak) dan untuk semua orang yang saya  
sayangi*

*Kalian semua adalah alasan penulis untuk menyelesaikan tugas akhir ini*

Banyak waktu sudah kujalani dengan takdir yang sudah ditetapkan. Banyak yang sudah direncanakan tapi Allah yang menentukan. Bertemu dengan kalian orang-orang yang memberiku sejuta pengalaman dan warna-warni kehidupan menjadi hal yang sangat menyenangkan. Terimakasih Ya Allah Engkau telah memberi aku kesempatan untuk bisa sampai dipenghujung awal perjuanganku.

## SANWACANA

Puji Syukur penulis panjatkan kepada Allah SWT yang telah melimpahkan segala Rahmat dan karunian-Nya sehingga skripsi ini dapat diselesaikan.

Skripsi dengan judul “*Uji Aktivitas Antidiabetes Dan Gambaran Histopatologi Ginjal Pemberian Ekstrak Etanol Daun Jambu Biji (Psidium guajava L.) Dan Daun Sirih Hijau (Piper betle L.) Pada Tikus Galur Wistar Yang Diinduksi Aloksan*”

Dalam menyelesaikan skripsi ini, penulis banyak mendapat masukan, bantuan, dorongan, saran, bimbingan, dan kritik dari berbagai pihak. Maka pada kesempatan ini dengan segala kerendahan hati penulis ingin menyampaikan rasa terimakasih yang sebesar-besarnya kepada:

1. Prof. Dr. Ir. Lusmeilia Afriani, D.E.A., I.P.M., selaku Rektor universitas Lampung
2. Dr. dr. Evi Kurniawaty, S.Ked., M.Sc. selaku Dekan Fakultas Kedokteran Universitas Lampung.
3. apt. Ihsanti Dwi Rahayu, M.S. Farm selaku Pembimbing I yang telah meluangkan waktu untuk membantu, memberi kritik, saran, dan membimbing dalam penyelesaian skripsi ini,
4. apt. Dwi Aulia Ramdini, M. Farm selaku Pembimbing II yang telah meluangkan waktu untuk membantu, memberi kritik, saran, dan membimbing dalam penyelesaian skripsi ini,



5. apt. M. Fitra Wardhana S.,M. Farm selaku Pembahas yang telah meluangkan waktu untuk memberi kritik dan saran dalam penyelesaian skripsi ini.
6. Seluruh dosen, staf, dan karyawan Fakultas Kedokteran Universitas Lampung atas ilmu yang bermanfaat serta waktu, tenaga, dan bantuan yang diberikan selama proses pendidikan di Fakultas Kedokteran Universitas Lampung.
7. Kedua orang tua tercinta bapak (Yulianto) dan ibu (Hamidah Rengga Hadi) yang telah menjadi orang tua yang luar biasa, selalu memberikan semangat dan mendoakan yang terbaik, melimpahkan cinta dan kasih sayang serta dukungan materi demi kelancara penulis dalam menyelesaikan perkuliahan ini.
8. Adekku satu-satunya Fitri Nanda Shafira yang telah memberikan semangat dan doanya.
9. Sahabat "*The Moon*" Fariha Ais Aliya, Jazaul Fariha Al-Hanif, Elisabeth Elva Monika, Fadya Amanda, Sekar Rahmasari R.C, Jessica Natanael yang menjadi salah satu support system dan selalu membantu selama proses pengerjaan skripsi.
10. Teman seperbimbingan skripsi Ais dan Ika terimakasih atas bantuannya selama penelitian mengurus tikus-tikus nakal.
11. Teman tercinta semasa SMA hingga perkuliahan Umi, Lina, Rahmah makasih masih selalu support sampai sekarang.
12. Teman KKN tercinta Salma dan Putri makasih banyak aku senang bisa kenal kalian.
13. Kepada seluruh member Red Velvet terimakasih karena lagu-lagu kalian menjadi penyemangat dan selalu menemani saat begadang selama mengerjakan skripsi.
14. Seluruh teman-teman Angkatan 2020 terimakasih atas dukungan dan empat tahunnya selama perkuliahan, sehingga menjadi berkesan.
15. Serta semua pihak yang tidak dapat penulis sebutkan satu-persatu.

Penulis menyadari bahwa skripsi ini masih jauh dari kesempurnaan. Oleh karena itu, penulis menerima segala bentuk kritik dan saran yang membangun dari berbagai pihak. Semoga karya sederhana ini dapat berguna dan bermanfaat bagi kita semua.

Bandar Lampung, 23 Juli 2024

Penulis

Asyfa Nadya Darazat

## ABSTRACT

### ANTIDIABETES ACTIVITY TEST AND KIDNEY HISTOPATHOLOGICAL FEATURES ADMINISTRATION OF GUAVA LEAF ETHANOL EXTRACT (*Psidium guajava* L.) AND GREEN BETEL LEAVES (*Piper betle* L.) IN ALLOXAN-INDUCED WISTAR STRAIN RATS

By

Asyfa Nadya Darazat

**Background:** Diabetes mellitus is a metabolic disease characterized by abnormalities in insulin secretion and insulin action. Green betel leaves (*Piper betle* L.) and guava leaves (*Psidium guajava* L.) is one of the herbal plants that is believed to be able to reduce blood sugar levels and repair kidney damage because it contains secondary metabolite compounds.

**Method:** This type of research is experimental with a design in the form of *post test control group design*. The samples used were male Wistar rats which were divided into 6 groups, namely healthy, positive control, negative control, combined extract doses of 200 mg/kgBW, 400 mg/kgBW, and 600 mg/kgBW. The decrease in blood sugar levels can be seen from the difference in decrease on day 1 to day 14, while the histopathological picture of the kidneys is tested using an analysis test. *Kruskal Wallis* followed by testing *Mann-Whitney*.

**Results:** There was a decrease in blood sugar levels after administering a combination of ethanol extract of green betel leaves and guava leaves at doses of 200 mg/kg BW and 600 mg/kg BW with respective decreases of 319.7 mg/dL and 39.4 mg/dL. The results of the histopathological test showed that there was an effect of giving a combination of extracts on the histopathological picture of the kidneys of Wistar rats induced by alloxan with *p-value* <0,05.

**Conclusion:** This research proves that there is an effect of giving a combination of ethanol extract of green betel leaves and guava leaves on reducing blood sugar levels and the histopathological picture of the kidneys of Wistar rats induced by alloxan.

**Key words:** Alloxan, Kidney, Diabetes, *Piper betle* L., *Psidium guajava* L.

## ABSTRAK

### UJI AKTIVITAS ANTIDIABETES DAN GAMBARAN HISTOPATOLOGI GINJAL PEMBERIAN EKSTRAK ETANOL DAUN JAMBU BIJI (*Psidium guajava* L.) DAN DAUN SIRIH HIJAU (*Piper betle* L.) PADA TIKUS GALUR WISTAR YANG DIINDUKSI ALOKSAN

Oleh

Asyfa Nadya Darazat

**Latar Belakang:** Diabetes melitus merupakan penyakit metabolik yang ditandai dengan kelainan pada sekresi insulin, kerja insulin. Daun sirih hijau (*Piper betle* L.) dan daun jambu biji (*Psidium guajava* L.) menjadi salah satu tanaman herbal yang dipercaya mampu menurunkan kadar gula darah dan memperbaiki kerusakan ginjal karena mengandung senyawa metabolit sekunder.

**Metode:** Jenis penelitian ini adalah eksperimental dengan rancangan berupa *post test control group design*. Sampel yang digunakan adalah tikus jantan galur wistar yang dibagi kedalam 6 kelompok yaitu sehat, kontrol positif, kontrol negatif, kombinasi ekstrak dosis 200 mg/kgBB, 400 mg/kgBB, dan 600 mg/kgBB. Penurunan kadar gula darah dilihat dari selisih penurunan pada hari ke-1 hingga hari ke-14, sedangkan gambaran histopatologi ginjal diuji menggunakan uji analisis *Kruskal Wallis* yang dilanjutkan dengan uji *Mann-Whitney*.

**Hasil:** Terdapat penurunan kadar gula darah setelah pemberian kombinasi ekstrak etanol daun sirih hijau dan daun jambu biji pada dosis 200 mg/kgBB dan 600 mg/kgBB dengan masing-masing penurunan sebesar 319,7 mg/dL dan 39,4 mg/dL. Hasil uji gambaran histopatologi menunjukkan bahwa ada pengaruh pemberian kombinasi ekstrak terhadap gambaran histopatologi ginjal tikus galur wistar yang diinduksi aloksan dengan *p-value* <0,05.

**Kesimpulan:** Penelitian ini membuktikan bahwa adanya pengaruh pemberian kombinasi ekstrak etanol daun sirih hijau dan daun jambu biji terhadap penurunan kadar gula darah dan gambaran histopatologi ginjal tikus galur wistar yang diinduksi aloksan.

**Kata kunci:** Aloksan, Diabetes, Ginjal, *Piper betle* L., *Psidium guajava* L.

## DAFTAR ISI

	<b>Halaman</b>
<b>DAFTAR ISI</b> .....	<b>i</b>
<b>DAFTAR TABEL</b> .....	<b>v</b>
<b>DAFTAR GAMBAR</b> .....	<b>vi</b>
<b>DAFTAR LAMPIRAN</b> .....	<b>vii</b>
<b>BAB I PENDAHULUAN</b> .....	<b>1</b>
1.1 Latar Belakang .....	1
1.2 Rumusan Masalah .....	4
1.3 Tujuan Penelitian .....	5
1.3.1 Tujuan Umum .....	5
1.3.2 Tujuan Khusus .....	5
1.4 Manfaat Penelitian .....	5
1.4.1 Manfaat bagi Peneliti .....	5
1.4.2 Manfaat Bagi Masyarakat .....	6
1.4.3 Manfaat bagi Ilmu Pengetahuan .....	6
1.5 Batasan Masalah .....	6
<b>BAB II TINJAUAN PUSTAKA</b> .....	<b>7</b>
2.1 Daun Sirih Hijau ( <i>Piper betle</i> L.) .....	7
2.1.1 Klasifikasi .....	7
2.1.2 Morfologi .....	8
2.1.3 Kandungan dan Manfaat Daun Sirih Hijau .....	8
2.1.4 Uji Toksisitas .....	9
2.2 Daun Jambu Biji Putih ( <i>Psidium guajava</i> L.) .....	10
2.2.1 Klasifikasi .....	10
2.2.2 Morfologi .....	10
2.2.3 Kandungan dan Manfaat Daun Jambu Biji Putih .....	11

2.2.4 Uji Toksisitas.....	12
2.3 Ekstraksi Maserasi .....	12
2.4 Ginjal .....	13
2.4.1 Anatomi Ginjal.....	13
2.4.2 Fisiologi Ginjal .....	14
2.4.3 Histologi Ginjal.....	15
2.4.4 Histopatologi Ginjal.....	17
2.5 Diabetes Melitus .....	18
2.6 Aloksan .....	20
2.7 Tinjauan Tentang Tikus.....	21
2.7.1 Klasifikasi Tikus .....	21
2.7.2 Keuntungan Tikus Sebagai Hewan Uji .....	21
2.8 Skoring Kerusakan Organ Ginjal.....	22
2.9 Kerangka Teori.....	23
2.10 Kerangka Konsep.....	23
2.11 Hipotesis .....	24
<b>BAB III METODE PENELITIAN .....</b>	<b>25</b>
3.1 Desain Penelitian .....	25
3.2 Tempat dan Waktu .....	25
3.3 Alat dan Bahan.....	25
3.3.1 Alat.....	25
3.3.2 Bahan.....	26
3.4 Populasi dan Sampel.....	26
3.4.1 Kriteria Eksklusi dan Inklusi.....	27
3.5 Prosedur Penelitian .....	27
3.5.1 Determinasi .....	27
3.5.2 Pembuatan Simplisia.....	28
3.5.3 Prosedur Ekstraksi.....	28
3.5.4 Evaporasi.....	28
3.5.5 Skrining Fitokimia .....	29
3.5.6 Penetapan Dosis .....	30
3.5.7 Pemilihan Hewan Uji .....	31
3.5.8 Aklimatisasi Hewan .....	32



3.5.9	Induksi Aloksan.....	32
3.5.10	Prosedur Pemberian Intervensi.....	33
3.5.11	Pengukuran Kadar Gula Darah.....	34
3.5.12	Prosedur Terminasi Hewan Coba.....	34
3.5.13	Prosedur Pengambilan Ginjal.....	34
3.5.14	Prosedur Pembuatan Preparat.....	35
3.6	Alur Penelitian.....	37
3.7	Identifikasi Variabel dan Definisi Operasional Variabel.....	38
3.7.1	Identifikasi Variabel.....	38
3.7.2	Definisi Operasional Variabel.....	38
3.8	Analisis Data.....	40
3.9	<i>Ethical Clearance</i> .....	40
<b>BAB IV HASIL DAN PEMBAHASAN.....</b>		<b>41</b>
4.1	Hasil.....	41
4.1.1	Hasil Determinasi Tanaman Sirih Hijau ( <i>Piper betle</i> L.) dan Daun Jambu Biji Putih ( <i>Psidium guajava</i> L.).....	41
4.1.2	Hasil Ekstraksi Daun Sirih Hijau ( <i>Piper betle</i> L.) dan Daun Jambu Biji Putih ( <i>Psidium guajava</i> L.).....	41
4.1.3	Hasil Identifikasi Senyawa Daun Sirih Hijau ( <i>Piper betle</i> L.) dan Daun Jambu Biji Putih ( <i>Psidium guajava</i> L.).....	42
4.1.4	Kadar Gula Darah Puasa Tikus Galur Wistar Setelah Pemberian Aloksan.....	43
4.1.5	Hasil Uji Penurunan Kadar Gula Darah Puasa Tikus Galur Wistar Terhadap Pemberian Ekstrak Etanol Daun Sirih Hijau ( <i>Piper betle</i> L.) dan Daun Jambu Biji Putih ( <i>Psidium guajava</i> L.).....	45
4.1.6	Perbedaan Penurunan Kadar Gula Darah Antara Kelompok Pemberian Kombinasi Ekstrak Terhadap Kelompok Kontrol.....	46
4.1.7	Pengamatan Histopatologi dan Tubulus Proksimal.....	47
4.1.7.1	Deskripsi Gambaran Histopatologi Ginjal Tikus Normal.....	47
4.1.7.2	Deskripsi Gambaran Histopatologi Ginjal Tikus Diabetes....	48
4.1.8	Skoring Kerusakan Akut Pada Ginjal.....	51
4.1.9	Analisis Kerusakan Akut Glomerulus dan Tubulus Proksimal...	54
4.2	Pembahasan.....	57
4.2.1	Kadar Gula Darah Tikus Setelah Induksi Aloksan.....	57
4.2.2	Kadar Gula Darah Hewan Uji Setelah Pemberian Kombinasi Ekstrak Etanol Daun Sirih Hijau dan Daun Jambu Biji Putih....	57

4.2.3 Histopatologi Pada Glomerulus dan Tubulus Proksimal Akibat Induksi Aloksan.....	59
4.2.4 Analisis Kerusakan Akut Pada Glomerulus dan Tubulus Proksimal Akibat Pemberian Kombinasi Ekstrak.....	61
<b>BAB V SIMPULAN DAN SARAN.....</b>	<b>64</b>
5.1 Simpulan.....	64
5.2 Saran.....	64
<b>DAFTAR PUSTAKA.....</b>	<b>65</b>
<b>LAMPIRAN.....</b>	<b>72</b>

## DAFTAR TABEL

<b>Tabel</b>	<b>Halaman</b>
Tabel 1. Kriteria Diagnosis Diabetes Melitus .....	19
Tabel 2. Persentase Tingkat Keparahan Tubulus Proksimal .....	22
Tabel 3. Persentase Tingkat Keparahan Glomerulus.....	22
Tabel 4. Tabel Semi Qualitative Scores .....	22
Tabel 5. Prosedur Pemberian Intervensi.....	33
Tabel 6. Definisi Operasional Variabel .....	38
Tabel 7. Hasil Ekstrak Kental Daun Sirih Hijau dan Daun Jambu Biji Putih.....	41
Tabel 8. Hasil Uji Skrining Fitokimia Ekstrak Etanol Daun Sirih Hijau.....	42
Tabel 9. Hasil Skrining Fitokimia Ekstrak Etanol Daun Jambu Biji Putih.....	43
Tabel 10. Hasil Pengukuran Gula Darah Puasa (GDP) pada Hewan Uji setelah Induksi Aloksan .....	44
Tabel 11. Data Kuantitatif Hasil Pengukuran Kadar Gula Darah pada 6 Kelompok Hewan Uji.....	45
Tabel 12. Data Hasil Analisis Kadar Gula Darah Antar Kelompok dengan Mann- Whitney .....	46
Tabel 13. Data Hasil Skoring Kerusakan Akut Glomerulus .....	51
Tabel 14. Data Hasil Skoring Kerusakan Akut Pelebaran Ruang Bowman.....	52
Tabel 15. Data Hasil Skoring Kerusakan Akut Tubulus Proksimal .....	53
Tabel 16. Nilai Rata-rata $\pm$ SD Diameter Glomerulus .....	54
Tabel 17. Nilai Rata-rata $\pm$ SD Pelebaran Ruang Bowman .....	54
Tabel 18. Nilai Rata-rata $\pm$ SD Kerusakan Akut Hilangnya Brush border .....	55
Tabel 19. Nilai Rata-rata $\pm$ SD Kerusakan Akut Munculnya Vakuola.....	56
Tabel 20. Nilai Rata-rata $\pm$ SD Kerusakan Akut Piknosis .....	56

## DAFTAR GAMBAR

<b>Gambar</b>	<b>Halaman</b>
Gambar 1. <i>Piper betle</i> L. ....	7
Gambar 2. Struktur Eugenol .....	9
Gambar 3. <i>Psidium guajava</i> L. ....	10
Gambar 4. Struktur <i>quercetin</i> .....	12
Gambar 5. Anatomi Ginjal .....	14
Gambar 6. Histologi Ginjal Sehat .....	16
Gambar 7. Histopatologi Ginjal Diabetes .....	18
Gambar 8. Struktur Aloksan.....	20
Gambar 9. Kerangka Teori.....	23
Gambar 10. Kerangka konsep.....	24
Gambar 11. Alur Penelitian.....	37
Gambar 12. Histopatologi Ginjal Sehat .....	47
Gambar 13. Histopatologi Glomerulus Berupa Hipertrofi Glomerulus.....	48
Gambar 14. Histopatologi Glomerulus Berupa Pelebaran Ruang Bowman.....	49
Gambar 15. Histopatologi Tubulus Proksimal Berupa Hilangnya <i>Brush border</i> .	50
Gambar 16. Histopatologi Tubulus Proksimal Berupa Munculnya Vakuola .....	50
Gambar 17. Histopatologi Tubulus Proksimal Berupa Piknosis.....	51

**DAFTAR LAMPIRAN**

<b>Lampiran</b>	<b>Halaman</b>
Lampiran 1 Surat Keterangan Determinasi .....	73
Lampiran 2 Surat Keterangan Fitokimia .....	77
Lampiran 3 <i>Ethical Clearance</i> .....	79
Lampiran 4 Data Hasil Pengamatan Histopatologi .....	80
Lampiran 5 Data Hasil Skoring Histopatologi Tubulus Proksimal.....	84
Lampiran 6 Data Perhitungan Rata-rata $\pm$ SD.....	85
Lampiran 7 Hasil Analisis Data Penelitian .....	86
Lampiran 8 Dokumentasi Penelitian.....	94

# **BAB I**

## **PENDAHULUAN**

### **1.1 Latar Belakang**

Diabetes melitus (DM) merupakan penyakit metabolik primer yang ditandai dengan peningkatan kadar glukosa darah (hiperglikemia) akibat adanya kelainan pada sekresi insulin, kerja insulin, atau keduanya (Lartey *et al.*, 2021). Berdasarkan penyebabnya, penyakit ini dikelompokkan menjadi DM tipe 1, DM tipe 2, dan DM gestasional. Diabetes melitus tipe 1 dapat diakibatkan oleh adanya kerusakan sel pankreas yang menyebabkan defisiensi insulin absolut, sedangkan diabetes tipe 2 dapat diakibatkan karena berkurangnya produksi insulin oleh tubuh, resistensi insulin, dan obesitas (Ansari *et al.*, 2022). Diabetes gestasional pada umumnya dialami wanita hamil pada trimester kedua atau trimester ketiga akibat adanya resistensi insulin dan kerusakan sel  $\beta$  pankreas selama proses kehamilan (Alejandro *et al.*, 2020).

Diabetes melitus saat ini telah banyak berdampak pada kesehatan, kualitas hidup, dan harapan hidup pasien. *International Diabetes Federation* (IDF) melaporkan bahwa pada tahun 2021, diperkirakan jumlah kasus diabetes mencapai 537 juta orang dan jumlah ini diprediksi akan terus meningkat menjadi 643 juta orang pada tahun 2030 dan 783 juta orang pada tahun 2045. Selain itu, jumlah kematian pada orang dewasa akibat diabetes pada tahun 2021 mencapai 6,7 juta jiwa (Kim *et al.*, 2022). Berdasarkan data yang diperoleh, prevalensi diabetes tertinggi dialami oleh negara dengan pendapatan tinggi sekitar 10,4%, negara berpendapatan sedang sekitar 9,5% dan negara berpendapatan rendah 4,0% (Saeedi *et al.*, 2019). Sehubungan dengan data tersebut, *International Diabetes Federation* (IDF) juga melaporkan bahwa



Indonesia pada tahun 2021 telah menempati negara dengan prevalensi penderita diabetes dewasa (20-79 tahun) tertinggi kelima di dunia setelah Cina, India, Pakistan dan Amerika Serikat dengan jumlah penderita di Indonesia mencapai 19,5 juta orang.

Angka kejadian diabetes yang dilaporkan oleh Kementerian Kesehatan Republik Indonesia dari hasil Riset Kesehatan Dasar (Riskesdas) tahun 2013 menyebutkan bahwa prevalensi penderita diabetes melitus usia diatas 15 tahun tercatat sebesar 6,5 % dan meningkat sebesar 8,5% pada tahun 2018. Angka tersebut juga mencatat jumlah kasus diabetes tertinggi berada di Provinsi DKI Jakarta dengan kasus sebesar 3,4% dan terendah di Provinsi Nusa Tenggara Timur sebesar 0,9% (Astutisari *et al.*, 2022). Banyaknya kasus diabetes yang terjadi saat ini mendorong munculnya berbagai pengobatan baik farmakologis maupun non-farmakologis. Pengobatan farmakologis umumnya menggunakan terapi insulin atau obat hipoglikemik oral (Zeng *et al.*, 2020). Pengobatan non farmakologis dilakukan sebagai bentuk pencegahan dengan melakukan aktivitas fisik seperti aerobik, berenang, yoga, dan gerakan yang dilakukan terus menerus serta menjaga pola hidup sehat. Aktivitas fisik yang dilakukan ini dapat mengurangi prevalensi diabetes melitus tipe 2 dan tipe 1 masing-masing sebesar 39 -70 % dan 50 % (Alfaifi, 2023).

Pengobatan farmakologis dengan obat hipoglikemik oral di era modern ini secara umum dipilih sebagai pengobatan diabetes melitus tipe 2 (Sefah *et al.*, 2020). Golongan obat konvensional utama untuk pengobatan hiperglikemia meliputi sulfonilurea, biguanida, dan Inhibitor  $\alpha$ -glukosidase (Phadi *et al.*, 2020). Terlepas dari efisiensinya, obat konvensional dinilai memiliki beberapa kelemahan seperti menimbulkan respon terapeutik yang merugikan, harga yang mahal, dan sulit diakses bagi orang awam (Padhi *et al.*, 2020; Zeng *et al.*, 2020). Sehubungan dengan hal di atas, obat herbal menjadi salah satu alternatif pilihan pengobatan diabetes yang kini telah menjadi tren. Pengobatan tradisional ini menawarkan beberapa keunggulan diantaranya harga yang

terjangkau serta memiliki efek samping yang lebih sedikit atau bahkan tanpa efek samping (Tafesse *et al.*, 2017).

Tren pengobatan dengan herbal terus meningkat dalam beberapa tahun terakhir, dimana terdapat sekitar 75% penduduk di dunia menggunakan obat herbal sebagai alternatif pengobatan (Ansari *et al.*, 2022). Daun sirih merupakan salah satu tanaman herbal yang banyak digunakan dalam pengobatan tradisional. Daun ini mengandung senyawa aktif seperti alkaloid, flavonoid, steroid, saponin, tanin, minyak esensial dan eugenol yang memiliki berbagai manfaat (Aara *et al.*, 2020). Senyawa eugenol yang terkandung di dalam daun sirih dipercaya memiliki aktivitas antidiabetes dengan mempengaruhi aktivitas enzim metabolisme karbohidrat seperti alfa-amilase dan alfa-glukosidase (Carvalho *et al.*, 2021). Aktivitas antidiabetes dalam daun sirih sudah dibuktikan oleh penelitian yang dilakukan Santhakumari *et al.*, (2006) menunjukkan bahwa terjadi penurunan glukosa darah yang signifikan masing-masing sebesar  $205,00 \pm 10,80$  mg/dL menjadi  $151,30 \pm 6,53$  mg/dL dan  $204,0 \pm 20,7$  mg/dL menjadi  $174,6 \pm 10,6$  mg/dL pada tikus yang diinduksi *streptozotocin* selama 30 hari secara oral pada dosis 75 mg/kgBB dan 150 mg/kgBB.

Sejalan dengan penggunaan daun sirih hijau dalam pengobatan tradisional suatu penyakit, daun jambu biji (*Psidium guajava* L.) juga menjadi tanaman yang digunakan untuk pengobatan tradisional. Kandungan senyawa aktif *quercetin* dalam daun jambu dinilai menjadi senyawa yang berperan sebagai antihiperlipidemik terhadap diabetes melitus tipe 2 (Dhanya, 2022). Pernyataan daun jambu yang dinilai memiliki aktivitas antidiabetes juga didukung oleh penelitian Tandi *et al.*, 2021 yang menyebutkan bahwa pemberian ekstrak etanol daun jambu biji pada hewan uji tikus yang diinduksi *streptozotocin* dengan dosis 250 mg/kgBB secara efektif berpengaruh terhadap penurunan kadar glukosa darah dengan rata-rata penurunan sebesar 119 mg/dL. Potensi aktivitas antidiabetes daun jambu ini juga sesuai dengan penelitian yang dilakukan Sofyanita *et al.*, (2023) yang menyatakan bahwa pemberian ekstrak

etanol daun jambu biji pada mencit yang diinduksi aloksan hasilnya menunjukkan rata-rata ukuran tubulus proksimal pada kelompok intervensi (PI) yaitu  $16.2 \pm 4 \mu\text{m}$ , P2  $16.53 \mu\text{m}$  lebih kecil dibandingkan ukuran tubulus proksimal pada kelompok K- yaitu  $16,85 \mu\text{m}$ . Sedangkan ukuran glomerulus juga mengalami penyusutan pada kelompok P1 sebesar  $53,53 \mu\text{m}$ , P2  $53,28 \mu\text{m}$ , dan P3  $2,20 \mu\text{m}$  dibandingkan ukuran glomerulus kelompok K- sebesar  $55,03 \mu\text{m}$  meskipun penurunan ini tidak terlalu signifikan.

Berdasarkan informasi yang telah disebutkan diatas, tanaman daun sirih hijau dan daun jambu biji berpotensi menjadi alternatif pengobatan diabetes. Namun, hingga saat ini penelitian yang membahas mengenai pengaruh kombinasi dari kedua ekstrak tanaman tersebut masih sangat terbatas. Oleh karena itu, penelitian ini akan membahas lebih lanjut bagaimana pengaruh pemberian kombinasi ekstrak etanol daun sirih hijau dan daun jambu biji terhadap aktivitas antidiabetes dan gambaran histopatologi glomerulus dan tubulus proksimal ginjal tikus wistar.

## 1.2 Rumusan Masalah

Rumusan masalah dalam penelitian ini adalah sebagai berikut:

1. Apakah terdapat pengaruh pemberian kombinasi ekstrak etanol daun sirih hijau (*Piper betle* L.) dan daun jambu biji putih (*Psidium guajava* L.) terhadap penurunan kadar gula darah tikus galur wistar yang diinduksi aloksan?
2. Apakah terdapat pengaruh pemberian kombinasi ekstrak etanol daun sirih (*Piper betle* L.) dan daun jambu biji putih (*Psidium guajava* L.) terhadap gambaran histopatologi organ ginjal tikus galur wistar yang diinduksi aloksan?

### **1.3 Tujuan Penelitian**

Berikut merupakan tujuan umum dan tujuan khusus dalam penelitian ini:

#### **1.3.1 Tujuan Umum**

1. Mengetahui pengaruh pemberian kombinasi ekstrak etanol daun sirih hijau (*Piper betle* L.) dan daun jambu biji putih (*Psidium guajava* L.) terhadap penurunan kadar gula darah tikus galur wistar yang diinduksi aloksan.
2. Mengetahui pengaruh pemberian kombinasi ekstrak etanol daun sirih (*Piper betle* L.) dan daun jambu biji putih (*Psidium guajava* L.) terhadap gambaran histopatologi organ ginjal tikus galur wistar yang diinduksi aloksan.

#### **1.3.2 Tujuan Khusus**

1. Mengetahui pengaruh pemberian kombinasi ekstrak etanol daun sirih hijau (*Piper betle* L.) dan daun jambu biji putih (*Psidium guajava* L.) terhadap penurunan kadar gula darah tikus galur wistar pada dosis 200 mg/kgBB, 400 mg/kgBB, dan 600 mg/kgBB.
2. Mengetahui pengaruh pemberian kombinasi ekstrak etanol daun sirih hijau (*Piper betle* L.) dan daun jambu biji putih (*Psidium guajava* L.) terhadap histopatologi glomerulus dan tubulus proksimal ginjal tikus galur wistar yang diinduksi aloksan.

### **1.4 Manfaat Penelitian**

Berikut merupakan manfaat penelitian yang ingin dicapai:

#### **1.4.1 Manfaat bagi Peneliti**

1. Mampu menambah pengetahuan peneliti mengenai pengaruh kombinasi ekstrak daun sirih hijau (*Piper betle* L.) dan daun jambu biji putih (*Psidium guajava* L.) terhadap aktivitas antidiabetes pada tikus galur wistar yang diinduksi aloksan.

2. Memberikan informasi dan pengetahuan terkait pengaruh kombinasi ekstrak daun sirih hijau dan daun jambu biji putih terhadap histopatologi glomerulus dan tubulus proksimal ginjal tikus galur wistar yang diinduksi aloksan.

#### **1.4.2 Manfaat Bagi Masyarakat**

Hasil penelitian ini diharapkan mampu menambah wawasan masyarakat mengenai manfaat daun sirih hijau dan daun jambu biji putih sebagai antidiabetes.

#### **1.4.3 Manfaat bagi Ilmu Pengetahuan**

Hasil Penelitian dapat memberikan informasi ilmiah terkait manfaat daun sirih hijau dan daun jambu biji putih sebagai antidiabetes serta gambaran histopatologi glomerulus dan tubulus proksimal ginjal tikus galur wistar yang diinduksi aloksan.

### **1.5 Batasan Masalah**

Dalam penelitian ini, penulis memberikan batasan masalah dengan memfokuskan kepada:

1. Penelitian ini menggunakan kombinasi ekstrak etanol daun sirih hijau dan daun jambu biji putih dengan dosis 200 mg/kgBB, 400 mg/ kgBB, 600 mg/ kgBB yang diberikan secara oral dengan sonde selama 14 hari.
2. Variabel yang diamati dalam penelitian ini berupa aktivitas antidiabetes yang ditandai dengan penurunan kadar gula darah dan gambaran histopatologi glomerulus dan tubulus proksimal ginjal tikus galur wistar dengan pewarnaan *Hematoxylin Eosin* (HE).

## BAB II

### TINJAUAN PUSTAKA

#### 2.1 Daun Sirih Hijau (*Piper betle* L.)

##### 2.1.1 Klasifikasi



**Gambar 1.** *Piper betle* L. (Madhumita *et al.*, 2020)

Berikut adalah klasifikasi tanaman daun sirih hijau (*Piper betle* L.) berdasarkan taksonominya menurut (Biswas *et al.*, 2022)

Kingdom : Plantae  
Divisi : Magnoliophyta  
Kelas : Magnoliopsida  
Ordo : Piperales  
Family : *Piperaceae*  
Genus : *Piper*  
Spesies : *Piper betle* L.



### 2.1.2 Morfologi

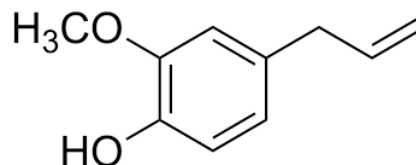
Tanaman daun sirih dapat mencapai ketinggian 3 hingga 10 m sesuai dengan tempat menjalar yang tersedia. Batang daun sirih saat muda berwarna hijau muda dan terdapat ruas yang umumnya memiliki panjang 12 cm dan diameter 1,2 cm. Daun sirih dicirikan berbentuk hati, berujung runcing, bertangkai dengan panjang 2-5 mm, permukaan daun mengkilap, berwarna hijau hingga kekuningan, lebar 7–8,5 cm, panjang 9–11 cm. Bunga daun sirih berkelamin tunggal yang terdiri dari sepasang benang sari dan putik. Bunga jantan berbentuk silinder menjuntai dengan panjang 10 cm dan diameter 2 cm. Bunga betina juga berbentuk silinder dengan panjang 2,5 sampai 4 cm dan diameter 0,5 cm (Biswas *et al.*, 2022)

### 2.1.3 Kandungan dan Manfaat Daun Sirih Hijau

Sirih hijau (*Piper betle* L.) merupakan tanaman obat dari keluarga *piperaceae*. Daun tanaman ini sudah sejak lama digunakan oleh masyarakat seperti sebagai penyegar mulut setelah makan, memperlancar pencernaan dan mengobati disentri. Ekstrak daun sirih sendiri memiliki aktivitas anti mikroba, anti oksidan dan sitotoksik, antidiabetes, agregasi antiplatelet, kardiotonik, antikanker, antimutagenik, antiulser, depresan pernapasan, dan sifat anthelmintik (Yogeswari *et al.*, 2020). Analisis fitokimia *Piper betle* L. menunjukkan bahwa ekstrak daun sirih mengandung senyawa alkaloid, tanin, glikosida, gula pereduksi, saponin, fenolik, flavonoid, asam amino, steroid. Salah satu senyawa aktif dalam daun sirih hijau yaitu fenolik seperti eugenol diduga berperan penting sebagai antidiabetes, antitumor, dan antioksidan (Nayaka *et al.*, 2021). Senyawa eugenol dapat memperbaiki kadar gula darah, profil lipid, berat badan, dan menurunkan kerusakan ginjal. Eugenol secara signifikan meningkatkan translokasi GLUT4 (*Glucose Transporter 4*) fosforilasi adenosin monofosfat kinase

(AMPK) pada otot rangka, sehingga pengambilan glukosa meningkat (Carvalho *et al.*, 2021).

Adapun menurut penelitian aktivitas antidiabetes *Piper betle* L. oleh Santhakumari *et al.*, (2006) menunjukkan bahwa terjadi penurunan glukosa darah yang signifikan masing-masing sebesar  $205,00 \pm 10,80$  mg/dL menjadi  $151,30 \pm 6,53$  mg/dL dan  $204,0 \pm 20,7$  mg/dL menjadi  $174,6 \pm 10,6$  mg/dL pada tikus yang diinduksi *streptozotocin* selama 30 hari secara oral pada dosis 75 mg/kgBB dan 150 mg/kgBB.



**Gambar 2.** Struktur Eugenol (Nisar *et al.*, 2021)

#### 2.1.4 Uji Toksisitas

Toksisitas akut merupakan efek yang tidak diinginkan dan terjadi segera setelah pemberian berulang suatu zat selama 24 jam (Chinedu *et al.*, 2013). Penelitian uji toksisitas akut yang dilakukan selama 14 hari pada ekstrak etanol daun sirih hijau (*Piper betle* L.) didapat informasi bahwa dosis tunggal 2000 mg/kgBB yang diberikan secara oral pada lima tikus albino tidak menimbulkan adanya kematian dan perubahan perilaku, hal ini menandakan LD<sub>50</sub> lebih dari 2000 mg/kgBB (Nayak *et al.*, 2021).

## 2.2 Daun Jambu Biji Putih (*Psidium guajava* L.)

### 2.2.1 Klasifikasi



**Gambar 3.** *Psidium guajava* L. (Kumar *et al.*, 2021)

Berikut merupakan klasifikasi tanaman daun jambu biji putih berdasarkan taksonominya menurut (Angulo-López *et al.*, 2021):

Kingdom : Plantae  
Divisi : Tracheofita  
Kelas : Magnoliopsida  
Ordo : Myrtales  
Family : *Myrtaceae*  
Genus : *Psidium*  
Spesies : *P. guajava* L.

### 2.2.2 Morfologi

Jambu biji merupakan tanaman famili *Myrtaceae* memiliki sekitar 150 spesies. Pohon jambu biji dapat tumbuh hingga 10 m tergantung kondisi iklim dan varietasnya. Tanaman ini memiliki batang pendek, bengkok, dan kulit kayu seperti sisik berwarna coklat. Pohon jambu dapat berbunga dan berbuah sepanjang tahun terutama pada wilayah yang beriklim sedang dan tropis. Bunga jambu adalah jenis hemafrodit dengan panjang 1,5 hingga 2 cm dan lebar 3 cm. Buah jambu berwarna putih, kuning hingga orange dengan daging buah yang padat dan memiliki biji

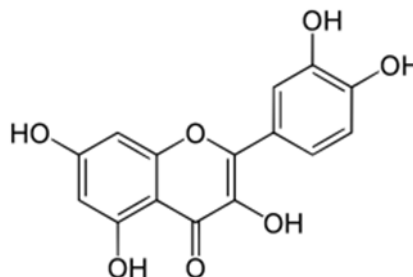
yang banyak pada bagian tengah. Buah jambu berbentuk bulat dan memiliki berat 25 hingga 500 gram. Daun jambu biji berbentuk lonjong dan elips, tangkai daun berwarna hijau muda hingga hijau tua dengan Panjang 3 – 16 cm (Angulo-López *et al.*, 2021).

### 2.2.3 Kandungan dan Manfaat Daun Jambu Biji Putih

Jambu biji putih (*Psidium guajava* L.) secara tradisional banyak digunakan sebagai obat herbal untuk mengobati penyakit. Ekstrak daun jambu biji putih mengandung senyawa metabolit sekunder seperti flavonoid, terpenoid, karotenoid dan fenolik (Chu *et al.*, 2022). Jambu biji putih memiliki khasiat sebagai anti diabetes karena membantu meningkatkan metabolisme glukosa dan sensitivitas insulin melalui modulasi pensinyalan insulin di otot atau modulasi enzim metabolisme karbohidrat di hati. Selain itu, manfaat lain jambu biji putih yaitu sebagai antioksidan, hepatoprotektif, anti-alergi, antimikroba, antigenotoksik dan anti-kanker (Tella *et al.*, 2022). Zat aktif yang berperan sebagai antidiabetes yaitu *quercetin* yang merupakan golongan flavonoid. *Quercetin* bekerja dengan mengaktifkan adenosin monofosfat kinase (AMPK) pada otot rangka yang akhirnya merangsang reseptor Akt dan *Glucose Transporter 4* (GLUT4) di membran sel. Glukosa akan masuk ke dalam sel dengan difusi melalui *Glucose Transporter 4* (GLUT4) dan dimetabolisme sehingga kadar glukosa dapat diatur (Dhanya, 2022). Senyawa *quercetin* telah terbukti menurunkan kadar glukosa darah, kadar glukosa hati, kadar enzim, menurunkan kadar kolestrol, serta mencegah kerusakan oksidatif dan sel  $\beta$  pankreas (Ansari *et al.*, 2022).

Penelitian yang dilakukan terkait pemanfaatan daun jambu (*Psidium guajava* L.) menginformasikan bahwa pemberian ekstrak etanol daun jambu biji dengan dosis 250 mg/kgBB secara efektif berpengaruh terhadap penurunan kadar glukosa darah dengan penurunan rata – rata 119 mg/dL pada hewan uji tikus yang diinduksi *streptozotocin* (Tandi *et al.*, 2021). Penelitian lain menyebutkan bahwa rata-rata ukuran

glomerulus pada kelompok P1, P2, dan P3 (53,53  $\mu\text{m}$ , 53,28  $\mu\text{m}$ , 2,20  $\mu\text{m}$ ) dan tubulus proksimal pada kelompok P1, P2, dan P3 (16,2  $\pm$  4  $\mu\text{m}$ , 16,53  $\mu\text{m}$ , P3 16,89  $\mu\text{m}$  lebih kecil dari kelompok (K-) masing-masing 16,85  $\mu\text{m}$  dan 55,03  $\mu\text{m}$  pada mencit yang diinduksi aloksan. Namun, pengaruh yang diberikan tidak terlalu signifikan (Sofyanita *et al.*, 2023).



**Gambar 4.** Struktur *Quercetin* (Cheng *et al.*, 2009)

#### 2.2.4 Uji Toksisitas

Toksisitas akut merupakan efek yang tidak diinginkan dan terjadi segera setelah pemberian berulang suatu zat selama 24 jam (Chinedu *et al.*, 2013). Uji toksisitas akut ekstrak daun *Psidium guajava* L. selama 14 hari pada dua fase pemberian dosis menginformasikan bahwa dosis fase I yaitu 10 mg, 100 mg, dan 1000 mg tidak menimbulkan kematian. Dosis pada fase II yaitu 2000 mg, 2750 mg, 3750 mg, dan 5000 mg relatif aman dan tidak menunjukkan kematian. Nilai LD50 yang didapat dari pengujian tersebut > 5000 mg/kgBB (Ocheje *et al.*, 2019).

#### 2.3 Ekstraksi Maserasi

Ekstraksi merupakan proses awal untuk memisahkan antara bahan alami yang diinginkan menggunakan pelarut yang sesuai (Zhang *et al.*, 2018). Metode ekstraksi umumnya dibagi menjadi dua yaitu metode konvensional dan *modern*. Metode konvensional terdiri atas maserasi, perkolasi, sokhletasi, dan digesti. Ekstraksi modern sendiri meliputi *ultrasound-assisted extraction*, *microwave-assisted extraction*, dan *sub- and supercritical fluid extraction*

(Bitwell *et al.*, 2023). Efisiensi ekstraksi dipengaruhi oleh beberapa faktor seperti sifat pelarut, ukuran partikel bahan yang diekstraksi, waktu, suhu, dan pH. Pemilihan pelarut untuk proses ekstraksi sangat penting. Berdasarkan hukum *like dissolve like* pelarut dengan nilai polaritas yang mendekati polaritas zat terlarut cenderung akan bekerja lebih baik begitu pula sebaliknya (Hidayat *et al.*, 2021)

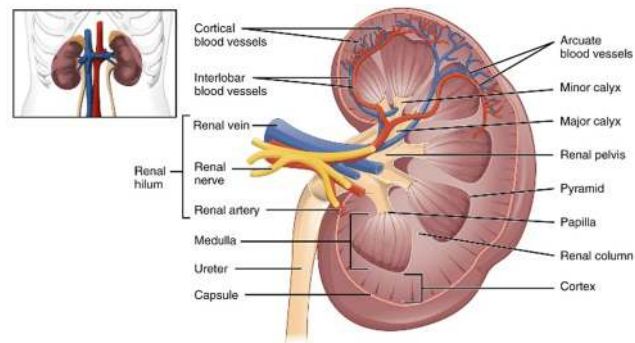
Maserasi merupakan metode ekstraksi konvensional yang dilakukan dengan merendam sampel yang telah dihaluskan menggunakan pelarut yang sesuai ke dalam wadah tertutup. Selama proses maserasi berlangsung dilakukan pengadukan yang konstan pada suhu kamar (Alara *et al.*, 2021). Proses pemisahan antara sampel dengan pelarut pada metode maserasi dapat menggunakan penyaringan dan dekantasi. Metode maserasi dapat digunakan untuk ekstraksi pada bahan yang bersifat termolabil. Berdasarkan penelitian yang dilakukan oleh Čujić *et al.*, (2016) metode maserasi efektif untuk menarik senyawa fenolik pada tanaman chokeberry (*Aronia melanocarpa*). Metode maserasi sendiri memiliki kekurangan yaitu memakan waktu yang lama dan membutuh pelarut yang cukup banyak (Cacique *et al.*, 2020).

## 2.4 Ginjal

### 2.4.1 Anatomi Ginjal

Ginjal merupakan organ vital yang berfungsi untuk filtrasi, reabsorpsi, ekskresi sisa metabolisme tubuh, mengatur elektrolit, dan mengatur tekanan darah (Maurya *et al.*, 2018). Organ ginjal terletak di dinding posterior abdomen dengan ginjal bagian kanan terletak lebih rendah dibandingkan ginjal bagian kiri. Perbedaan tersebut dikarenakan posisi organ hati di atasnya. Pada orang dewasa ginjal memiliki panjang 12 cm dan lebar 6 cm (Mahadevan, 2019). Berat ginjal pada pria dewasa yaitu 125 g hingga 170 g sedangkan pada wanita dewasa berkisar 115 g hingga 155 g (Pallabi, 2018). Ginjal berwarna coklat kemerahan dan terbungkus dalam kapsul berserat halus. Pada bagian luar kapsul ginjal terdapat

lapisan lemak yang mengelilingi seluruh bagian ginjal. Lapisan lemak ini disebut lemak perinefrik. Arteri ginjal pada merupakan cabang yang berasal dari aorta abdominalis dibawah arteri mesenterika superior (Boron & Boulpaep, 2005; Morya *et al.*, 2018).



**Gambar 5.** Anatomi Ginjal (Waugh *et al.*, 2018)

#### 2.4.2 Fisiologi Ginjal

Berikut merupakan fisiologi ginjal menurut Waugh *et al.*, 2018:

1. Membantu pembentukan urin, mempertahankan air, serta menjaga elektrolit dan keseimbangan asam basa
2. Mengekskresikan produk sisa metabolisme
3. Produksi dan ekskresi eritropoietin yaitu hormon yang merangsang pembentukan sel darah merah
4. Produksi dan sekresi renin, suatu enzim yang penting dalam mengendalikan tekanan darah.

Pembentukan urin melalui ginjal terdapat tiga proses yaitu, filtrasi, reabsorpsi, dan sekresi (Morya *et al.*, 2018).

##### 1. Filtrasi

Proses filtrasi terjadi melalui dinding semipermeabel glomerulus dan kapsula glomerulus. Cairan yang disaring yaitu aliran darah yang masuk kedalam kapsul glomerulus dan kemudian disebut dengan filtrat. Filtrasi terjadi karena adanya perbedaan tekanan darah di

glomerulus dan tekanan filtrasi di kapsula glomerulus. Volume filtrasi yang terbentuk dari kedua ginjal disebut dengan laju filtrasi glomerulus (GFR), dimana GFR pada orang dewasa 125 ml/min. Filtrat yang dihasilkan dari kedua ginjal yaitu 180 liter dan sekitar 1-1,5 liter dikeluarkan sebagai urin.

## 2. Reabsorpsi

Sebagian besar reabsorpsi filtrat terjadi di tubulus proksimal. Zat yang diserap kembali dalam proses ini yaitu air, elektrolit, dan nutrisi organik seperti glukosa dan asam amino. Kemudian, hanya sekitar 15% hingga 20 % saja filtrat yang mencapai tubulus distal yang kemudian masuk ke dalam saluran pengumpul. Fungsi utama saluran pengumpul adalah untuk menyerap kembali air sebanyak yang dibutuhkan tubuh.

## 3. Sekresi

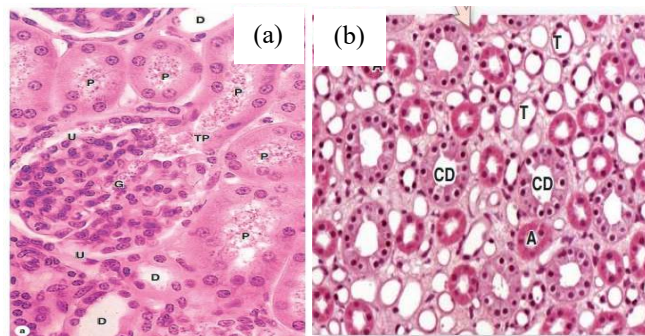
Sekresi merupakan proses dikeluarkannya beberapa zat seperti ion hidrogen, kreatinin, dan obat – obatan dari darah melalui jaringan kapiler peritubular ke dalam saluran pengumpul. Produk akhir dari proses ini adalah urin.

### 2.4.3 Histologi Ginjal

Nefron merupakan unit fungsional terkecil ginjal, dimana setiap ginjal mengandung 1,2 juta nefron (Theodorou *et al.*, 2021). Nefron terdiri dari sel ginjal yaitu kapsula bowman dan glomerulus, sedangkan pada tubulus ginjal terdiri dari tubulus kontortus proksimal, lengkung henle, tubulus kontortus distal, dan tubulus pengumpul. Sel tubulus kontortus proksimal memiliki inti, sitoplasma asidofilik, dan mitokondria. Sel puncak TKP memiliki mikrovili yang panjang membentuk *brush border* yang menonjol di lumen untuk membantu proses reabsorpsi (Mescher *et al.*, 2021).



Tubulus kontortus proksimal yang memanjang membentuk tubulus yang lebih pendek yaitu lengkung henle. Lengkung henle memiliki struktur berbentuk “U” dengan bagian menurun yang tipis dan bagian *descending* dan *ascending* yang tipis. Lengkung henle hanya terdiri dari skuamosa dengan sedikit organel. Selanjutnya, bagian *ascending* nefron yang masuk ke dalam korteks membentuk makula densa dan berliku menjadi tubulus kontortus distal. Proses reabsorpsi pada tubulus kontortus distal lebih sedikit dibandingkan pada tubulus kontortus proksimal. Tubulus kontortus distal juga mempunyai mitokondria yang sedikit dan sel kuboid yang lebih kecil serta tidak memiliki *brush border*. Bagian terakhir nefron yaitu, tubulus pengumpul yang membawa filtrat ke dalam sistem pengumpul dimana dilakukan reabsorpsi kembali air sebanyak yang dibutuhkan tubuh. Tubulus kolektivus memanjang dari nefron dan bergabung di *cortical medullary rays* membentuk saluran pengumpul dengan diameter 40  $\mu\text{m}$ . Sebagian besar tubulus pengumpul berwarna pucat dengan sedikit organel, sedikit mikrovili, dan batas sel yang berbeda (Mescher *et al.*, 2021).



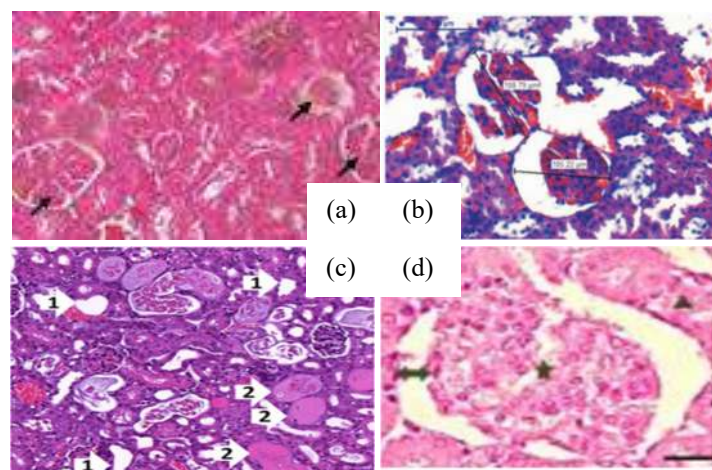
**Gambar 6.** Histologi ginjal sehat. Gambar (a) menunjukkan tubulus kontortus proksimal (P), ruang kemih (U), glomerulus (G), tubulus kontruktus distal (D). Gambar (b) menunjukkan renal korpuskula (RC), lengkung henle (T), *thick ascending limbs* (A), tubulus pengumpul (CD) (Mescher., 2021)

#### 2.4.4 Histopatologi Ginjal

Nefropati diabetik merupakan kerusakan pada ginjal yang diakibatkan oleh diabetes melitus. Nefropati ini menyebabkan perubahan pada struktur dan fungsi ginjal yang ditandai dengan glomerulosklerosis nodular, tubulointerstitial, albuminuria, degenerasi hidropik, dan gagal ginjal akut (Alipin *et al.*, 2017; Avinda., 2018).

Hipertrofi glomerulus merupakan awal perkembangan kerusakan sel glomerulus yang ditandai dengan peningkatan rata-rata ukuran sel glomerulus akibat pelebaran matriks mesangial dan penebalan membran glomerulus. Hipertrofi glomerulus juga dikaitkan dengan peningkatan aliran plasma dan tekanan hidrostatik kapiler glomerulus karena peningkatan GFR (*Glomerulo Filtration Rate*) (Nindia Carabelly *et al.*, 2021). Selain hipertrofi glomerulus, Pelebaran ruang bowman juga menjadi indikator kerusakan pada ginjal tikus diabetes. Pelebaran ruang bowman disebabkan oleh perluasan kapsul bowman saat glukosa masuk kedalam ginjal (Alipin *et al.*, 2017). Pernyataan ini sesuai dengan penelitian Kotyk *et al* (2015) yang melaporkan bahwa terdapat perluasan ruang bowman pada tikus dengan pemberian fruktosa.

Sehubungan dengan hal diatas kerusakan kerusakan akut lainnya terjadi pada tubulus proksimal ginjal. Kerusakan di tubulus proksimal umumnya ditunjukkan dengan perubahan sel epitel tubulus proksimal (tertutupnya lumen karena pembengkakan sitoplasma), kriolosis (kromatin terlarut dalam sel nukleus), dan piknosis (penyusutan sel nukleus) (Alipin *et al.*, 2017).



**Gambar 7.** Histopatologi Ginjal Diabetes (a) Ginjal tikus normal (b) hipertrofi glomerulus; (c) Tubulus rusak dan melebar (panah 1), degenerasi dan nekrosis sel epitel tubulus (panah 2); (d) Pelebaran ruang bowman (Annis *et al.*, 2021; Azad *et al.*, 2018; Susilorini, 2013)

## 2.5 Diabetes Melitus

Diabetes melitus (DM) merupakan penyakit tidak menular yang disebabkan karena adanya peningkatan kadar glukosa darah (hiperglikemia) (Jayachandran *et al.*, 2018). Hiperglikemia kronis akibat diabetes dapat menyebabkan kerusakan jangka panjang, disfungsi, dan kegagalan organ terutama mata, ginjal, saraf, jantung, dan pembuluh darah (Indrahadi *et al.*, 2021). Gejala diabetes yang umumnya terlihat yaitu poliuria, rasa haus, gangguan penglihatan, dan penurunan berat badan (mobasseri *et al.*, 2020).

Berdasarkan penyebabnya *American Diabetes Association* mengklasifikasikan diabetes menjadi tiga macam yaitu, diabetes melitus tipe 1, diabetes tipe 2, dan diabetes gestasional. Diabetes tipe 1 merupakan penyakit yang ditandai dengan rusaknya sel  $\beta$  pankreas yang dimediasi oleh sel T sehingga menyebabkan defisiensi sintesis dan sekresi insulin (Akil *et al.*, 2021). Penderita diabetes melitus tipe 1 membutuhkan suntikan insulin setiap harinya untuk menjaga kadar glukosa darah tetap berada dalam rentang yang sesuai dan umumnya tipe ini terjadi pada anak-anak dan remaja dengan persentase sekitar 80-90 % (Ansari., *et al* 2022).

Diabetes melitus tipe 2 merupakan jenis diabetes yang paling umum terjadi dengan faktor penyebab utama yaitu gangguan sekresi insulin oleh sel  $\beta$  pankreas dan ketidakmampuan jaringan yang sensitif terhadap insulin untuk merespon insulin (Galicia-garcia *et al.*, 2020). Mayoritas penderita DM tipe 2 adalah orang dewasa dengan persentase lebih dari 90% dan dipengaruhi oleh faktor seperti usia diatas 40 tahun, obesitas dan riwayat penyakit keluarga merupakan faktor resiko tertinggi penyebab DM tipe 2 (Ansari., *et al* 2022).

Diabetes Melitus Gestasional (GDM) merupakan kelainan yang menyebabkan peningkatan kadar gula darah pada trimester kedua dan ketiga kehamilan (Indriani *et al.*, 2022). Kejadian GDM terjadi karena beberapa faktor, salah satunya adalah faktor genetik, pola makan berlebihan, peningkatan berat badan selama kehamilan, usia lebih dari 25 tahun, dan ras dapat menyebabkan tingginya kadar gula darah (Choudhury & Rajeswary., 2021). *International Federation Diabetes* (IDF) melaporkan bahwa 21,1 juta (16,7%) Wanita mengalami hiperglikemia saat kehamilan dimana dari jumlah tersebut, 80,3 % diabetes melitus gestasional.

Menurut *American Diabetes Association* (ADA) kriteria diabetes melitus sebagai berikut:

**Tabel 1.** Kriteria Diagnosis Diabetes Melitus

---

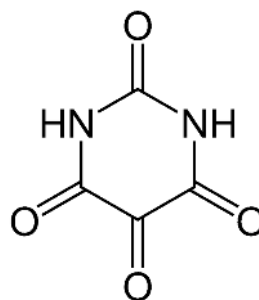
$A1C \geq 6,5\%$ pengujian dilakukan di laboratorium dengan menggunakan metode NGSP dan standarisasi dengan uji DCCT atau $FPG \geq 126 \text{ mg/dL}$ (7.0 mmol/l). Puasa merupakan kondisi tidak ada asupan kalori minimal selama 8 jam. atau Pemeriksaan glukosa plasma 2- jam $\geq 200 \text{ mg/dL}$ (11.1 mmol/l) setelah tes OGTT menggunakan beban glukosa setara 75 glukosa anhidrat yang dilarutkan dalam air. atau Glukosa plasma sewaktu $\geq 200 \text{ mg/dL}$ (11.1 mmol/l) dengan gejala diabetes klasik seperti. peningkatan buang air kecil, peningkatan rasa haus, dan penurunan berat badan tanpa sebab yang jelas
--

---

Sumber: *American Diabetes Association* (ADA), 2021

## 2.6 Aloksan

Aloksan adalah suatu senyawa diabetogenik yang bersifat toksik terutama pada sel  $\beta$  pankreas sehingga dapat menyebabkan diabetes apabila diberikan pada hewan uji tikus (Prameswari *et al.*, 2014). Aloksan dapat diberikan dengan dosis tunggal maupun ganda melalui rute yang berbeda (intraperitoneal, intravena, subkutan) dimana pemberian secara intraperitoneal merupakan cara yang paling banyak digunakan. Dosis aloksan yang dapat diberikan mulai dari 90 mg/kgBB, 200 mg/kgBB, dan 150 mg/kgBB yang mana merupakan dosis yang paling umum digunakan (Ighodaro *et al.*, 2018). Sebuah studi melaporkan bahwa kadar glukosa darah pada tikus yang diinduksi aloksan dapat kembali normal dalam waktu seminggu dengan dosis dibawah 140 mg/kg dan menyebabkan efek kematian pada dosis 180 mg/kg (Fajarwati *et al.*, 2023).



**Gambar 8.** Struktur Aloksan (Ighodaro *et al.*, 2018)

Aloksan adalah senyawa yang tidak stabil dan mampu menyebabkan diabetes dengan melibatkan degradasi parsial sel  $\beta$  pankreas sehingga induksi mengakibatkan berkurangnya kualitas dan kuantitas produksi insulin serta meningkatkan produksi *reactive oxygen species* (ROS) (Ighodaro., *et al* 2018). Menurut penelitian yang dilakukan oleh Azzahra *et al*, (2024) menyatakan bahwa aloksan yang diberikan dengan dosis 150 mg/kgBB secara intraperitoneal dan dilakukan pengukuran kadar gula darah puasa setelah tiga hari induksi didapati tikus mengalami diabetes melitus.

## 2.7 Tinjauan Tentang Tikus

### 2.7.1 Klasifikasi Tikus

Klasifikasi tikus putih jantan galur wistar menurut Kartika *et al.*, 2013 sebagai berikut:

Kingdom : Animal  
Filum : Chordata  
Kelas : Mamalia  
Ordo : Rodentia  
Family : *Muridae*  
Genus : *Rattus*  
Spesies : *Rattus norvegicus*

### 2.7.2 Keuntungan Tikus Sebagai Hewan Uji

Tikus merupakan hewan pengerat yang ideal digunakan dalam penelitian ilmu kedokteran karena memiliki persamaan dengan manusia yang ditinjau dari anatomi dan fisiologinya. Penggunaan tikus untuk tujuan penelitian memiliki kelebihan dari segi ekonomi yaitu, membutuhkan sedikit ruang dan pakan dalam pemeliharannya karena ukurannya yang kecil, memiliki masa kehamilan yang singkat namun, jumlahnya relatif banyak (Bryda *et al.*, 2013).

Tikus putih galur wistar telah lama digunakan sebagai hewan uji karena mudah ditangani, mudah didapatkan dalam jumlah yang banyak, dan memiliki kemampuan metabolisme yang cepat. Tikus putih jantan sebagai hewan penelitian dipilih karena hasil penelitian yang diperoleh lebih stabil karena tidak dipengaruhi oleh hormon estrogen dan kehamilan (Angela Tionando *et al.*, 2021; Arifani *et al.*, 2019).

## 2.8 Skoring Kerusakan Organ Ginjal

Skoring persentase tingkat kerusakan akut tubulus proksimal dan glomerulus sebagai berikut:

**Tabel 2.** Persentase Tingkat Keparahan Tubulus Proksimal

Skor	Persentase Kerusakan
0	Normal
1	< 10% kerusakan pada tubulus
2	10-25% kerusakan pada tubulus
3	25-50% kerusakan pada tubulus
4	50-75% kerusakan pada tubulus
5	>75% kerusakan pada tubulus

Sumber: Dong *et al.*, 2019

**Tabel 3.** Persentase Tingkat Keparahan Glomerulus

Skor	Persentase Kerusakan
0	Normal
1	< 1% kerusakan pada glomerulus
2	1-25% kerusakan pada glomerulus
3	26-50% kerusakan pada glomerulus
4	51-75% kerusakan pada glomerulus
5	76-100% kerusakan pada glomerulus

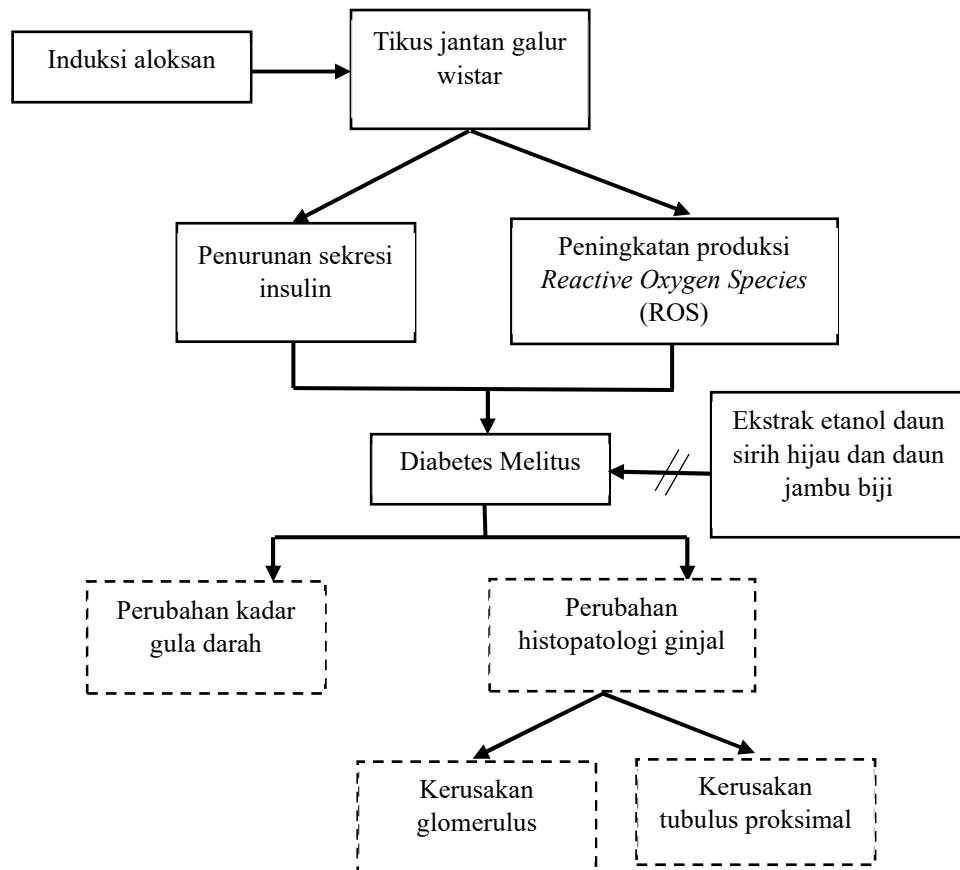
Sumber: Zhang *et al.*, 2014

**Tabel 4.** Tabel Semi Qualitative Scores

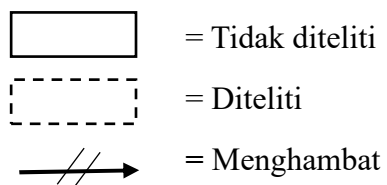
Skor	Persentase Kerusakan
0	Normal
1	Ringan
2	Ringan – Sedang
3	Sedang
4	Sedang – Berat
5	Berat

Sumber: Azad *et al.*, 2018

## 2.9 Kerangka Teori



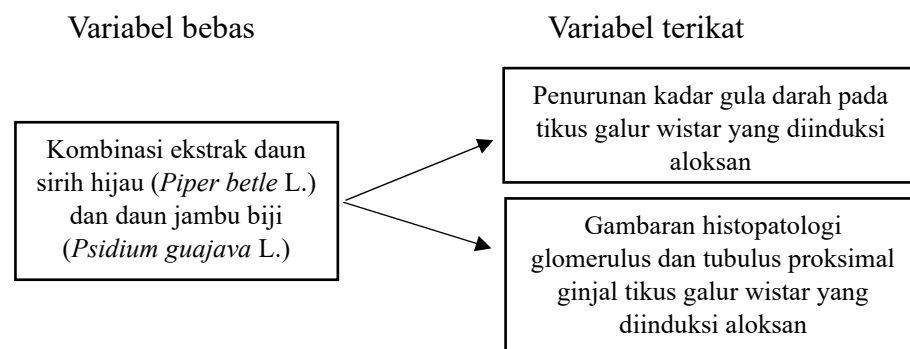
**Gambar 9.** Kerangka Teori



## 2.10 Kerangka Konsep



Kerangka konsep dalam penelitian ini adalah sebagai berikut:



**Gambar 10.** Kerangka konsep

### 2.11 Hipotesis

1. H<sub>0</sub> = Tidak terdapat pengaruh pemberian kombinasi ekstrak etanol daun sirih hijau (*Piper betle* L.) dan daun jambu biji putih (*Psidium guajava* L.) terhadap penurunan kadar gula darah tikus galur wistar yang diinduksi aloksan.

H<sub>1</sub> = Terdapat pengaruh pemberian kombinasi ekstrak etanol daun sirih hijau (*Piper betle* L.) dan daun jambu biji putih (*Psidium guajava* L.) terhadap penurunan kadar gula darah tikus galur wistar yang diinduksi aloksan.

2. H<sub>0</sub> = Tidak terdapat pengaruh pemberian kombinasi ekstrak etanol daun sirih hijau (*Piper betle* L.) dan daun jambu biji putih (*Psidium guajava* L.) terhadap gambaran histopatologi organ ginjal tikus galur wistar yang diinduksi aloksan.

H<sub>1</sub> = Terdapat pengaruh pemberian kombinasi ekstrak etanol daun sirih hijau (*Piper betle* L.) dan daun jambu biji putih (*Psidium guajava* L.) terhadap gambaran histopatologi organ ginjal tikus galur wistar yang diinduksi aloksan.

## **BAB III**

### **METODE PENELITIAN**

#### **3.1 Desain Penelitian**

Penelitian ini adalah penelitian eksperimental dengan rancangan berupa *post test control group design*, dimana kelompok tidak dipilih secara acak (*random sampling*). Kelompok eksperimen yang diberi intervensi berupa kombinasi ekstrak etanol daun sirih hijau dan daun jambu biji kemudian dibandingkan dengan kelompok kontrol (Zuraida *et al*, 2014).

#### **3.2 Tempat dan Waktu**

Penelitian akan dilakukan di Fakultas Kedokteran Universitas Lampung. Pemeliharaan tikus dan pemberian intervensi dilakukan di *Animal House* Laboratorium Farmakologi Fakultas Kedokteran Universitas Lampung. Pengamatan preparat histopatologi serta pengamatan dilakukan di laboratorium Histopatologi Fakultas Kedokteran Universitas Lampung. Penelitian ini dilakukan dari bulan Agustus sampai Desember 2023.

#### **3.3 Alat dan Bahan**

##### **3.3.1 Alat**

Alat yang akan digunakan dalam penelitian ini yaitu alat pemeliharaan tikus (kandang tikus, tempat makan hewan, botol minum hewan), toples maserasi, corong, batang pengaduk, oven, *rotary evaporator*, *water bath*, spuit, sonde, satu set alat bedah minor, sarung tangan, masker, blender, timbangan digital, alat ukur glukosa darah (glukometer, stik glukosa),

jarum pentul, talenan, pot urin, kertas saring, mikrotom untuk pembuatan preparat histologi, objek glass, cover glass, mikroskop.

### 3.3.2 Bahan

Bahan yang akan digunakan dalam penelitian ini yaitu tikus putih jantan galur wistar, ekstrak daun sirih hijau, ekstrak daun jambu biji putih, etanol 70 %, aloksan, formalin, Natrium klorida (NaCl 0,9%), Carboxymethyl cellulose sodium (Na CMC 0,5%), alkohol *swab*, aquadest, *hematoxylin*, *eosin*, pakan tikus, sekam tikus.

### 3.4 Populasi dan Sampel

Populasi penelitian ini adalah tikus jantan galur wistar sehat dengan usia 2- 3 minggu. Sampel yang digunakan dalam penelitian ini adalah 30 ekor tikus jantan galur wistar yang dipilih secara acak (*random sampling*) dengan kisaran berat badan 150 – 250 g. Jumlah sampel kemudian dibagi ke dalam 6 kelompok perlakuan. Pembagian jumlah tikus dalam masing-masing kelompok mengacu pada perhitungan rumus federer sebagai berikut:

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

Keterangan:

n = Jumlah sampel tiap kelompok

t = Jumlah kelompok percobaan

(Ilyas *et al.*, 2019)

Pada penelitian ini menggunakan 6 kelompok perlakuan sehingga sehingga perhitungan sampel yang didapatkan sebagai berikut:

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

$$(n - 1) (6 - 1) \geq 15$$

$$5n - 1 \geq 15$$

$$5n - 5 \geq 15$$

$$5n \geq 20$$

$$n \geq 4$$

Hasil perhitungan menunjukkan jumlah ekor tikus untuk setiap kelompok perlakuan yaitu lebih dari atau sama dengan 4 ekor tikus jantan. Jumlah kelompok yang digunakan pada penelitian ini sebanyak 6 kelompok dengan jumlah sampel setiap kelompok sebanyak 4 ekor tikus jantan sehingga penelitian ini menggunakan 24 ekor tikus jantan dari populasi yang ada.

### **3.4.1 Kriteria Eksklusi dan Inklusi**

#### **Kriteria Inklusi**

Kriteria inklusi dalam penelitian ini adalah sebagai berikut:

1. Tikus jantan galur wistar
2. Berumur 2-3 bulan
3. Memiliki berat badan 150 – 250 gram
4. Sehat dengan tidak adanya kelainan anatomi

#### **Kriteria Eksklusi**

Kriteria eksklusi dalam penelitian ini yaitu tikus yang mengalami sakit atau kematian selama proses penelitian.

## **3.5 Prosedur Penelitian**

### **3.5.1 Determinasi**

Determinasi akan dilakukan di Laboratorium Botani Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam (FMIPA) Universitas Lampung. Tahapan determinasi tumbuhan dilakukan untuk mengetahui kebenaran sampel tanaman yang digunakan untuk proses penelitian (Syamsul *et al.*, 2020).

### 3.5.2 Pembuatan Simplisia

Tumbuhan daun sirih hijau dan jambu biji putih diperoleh dari Kecamatan Way Jepara, Kabupaten Lampung Timur dalam keadaan segar. Daun sirih hijau dan daun jambu biji putih segar kemudian dikumpulkan dan dilakukan sortasi basah untuk menghilangkan kotoran dan benda asing yang menempel. Daun sirih hijau dan daun jambu biji putih hasil sortasi basah dicuci dengan menggunakan air bersih dan dikeringkan dengan metode pengeringan kombinasi, dimana daun tanaman ditutup dengan kain hitam kemudian dijemur dibawah sinar matahari selama 3 hari dan dilanjutkan pengeringan dengan menggunakan oven pada suhu 50°C selama 4 jam. Daun sirih hijau dan daun jambu biji putih yang dihasilkan kemudian dihaluskan dengan menggunakan blender.

### 3.5.3 Prosedur Ekstraksi

Tahapan ekstraksi dilakukan dengan menggunakan metode maserasi untuk menarik metabolit sekunder yang terkandung dalam simplisia. Proses maserasi dilakukan selama 3 hari penuh dengan perbandingan 1:5 dan sesekali dilakukan pengadukan. Proses ini diawali dengan serbuk simplisia daun sirih hijau dan daun jambu biji putih masing-masing ditimbang sebanyak 500 g dan direndam dengan 2.500 ml pelarut etanol 70% pada hari pertama. Remaserasi dilakukan sebanyak 2 kali pada hari kedua dan ketiga dengan pelarut etanol 70% sebanyak 1.250 ml. Filtrat yang didapat kemudian disaring dan dikentalkan menggunakan *rotary evaporator*.

### 3.5.4 Evaporasi

Evaporasi dilakukan di Laboratorium Kimia Organik Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam (FMIPA) Universitas Lampung. Tahapan evaporasi dilakukan menggunakan *rotary evaporator* pada suhu 40 °C selama 6 jam.

### 3.5.5 Skrining Fitokimia

Skrining fitokimia adalah salah satu metode identifikasi senyawa bioaktif yang belum diketahui pada ekstrak tanaman melalui analisis kualitatif. Skrining fitokimia merupakan tahap awal yang bertujuan untuk memberikan gambaran mengenai golongan senyawa yang terkandung dalam tumbuhan (Fardiyah *et al.*, 2020). Metode skrining fitokimia dilakukan dengan melihat reaksi pengujian warna menggunakan pereaksi warna (Novitasari *et al.*, 2023). Pada penelitian ini pemeriksaan skrining fitokimia dilakukan untuk mengetahui keberadaan senyawa metabolit sekunder seperti alkaloid, flavonoid, fenolik, saponin, tannin, steroid, dan triterpenoid dalam masing-masing ekstrak tanaman daun sirih hijau dan daun jambu.

Berikut merupakan uji skrining fitokimia menggunakan pereaksi warna menurut Fardiyah *et al.*, (2020):

#### 1. Alkaloid

Sebanyak 2 mL ekstrak tumbuhan dilarutkan dalam 8 mL air dan dimasukkan kedalam tabung reaksi. Tambahkan kloroform dan pereaksi mayer. Ekstrak tanaman mengandung alkaloid jika terdapat endapan putih atau kekuningan.

#### 2. Flavonoid

Sebanyak 2 ml ekstrak tumbuhan dilarutkan dalam 8 ml air suling dan dimasukkan kedalam tabung reaksi. Tambahkan serbuk Mg dan 4-5 tetes HCl pekat ke dalam tabung reaksi. Ekstrak tumbuhan mengandung senyawa flavonoid jika hasil pengujiannya menghasilkan bekas luka berwarna merah muda.

#### 3. Fenolik

Sebanyak 2 mL ekstrak tumbuhan dilarutkan dalam 8 mL air dan dimasukkan kedalam tabung raksi. Tambah 2-3 tetes  $\text{FeCl}_3$  2%. Ekstrak tanaman positif mengandung fenolik jika hasil pengujian

menghasilkan warna biru atau biru tua kehijauan (Ma'ruf *et al.*, 2023).

#### 4. Saponin

Sebanyak 3 ml ekstrak ditambahkan 3 ml air dikocok kuat-kuat dalam tabung reaksi. Ekstrak tumbuhan mengandung senyawa saponin jika hasil pengujian menghasilkan busa yang stabil.

#### 5. Tanin

Sebanyak 2 mL ekstrak tumbuhan dilarutkan dalam 8 mL air dan dimasukkan kedalam tabung reaksi. Tambah 2-3 tetes  $\text{FeCl}_3$  1%. Ekstrak tumbuhan mengandung senyawa tanin jika hasil pengujian menghasilkan warna biru atau hijau kehitaman.

#### 6. Steroid dan Triterpenoid

Sebanyak 3 mL dilarutkan dalam 8 ml air dan dimasukkan dalam tabung reaksi. Tambahkan satu tetes  $\text{H}_2\text{SO}_4$  pekat dan dua tetes asam asetat anhidrat. Ekstrak tanaman positif mengandung steroid jika terjadi pembentukan warna hijau dan positif mengandung triterpenoid jika terjadi pembentukan warna coklat.

### 3.5.6 Penetapan Dosis

#### Dosis Pemberian Ekstrak

Dosis dalam penelitian ini menggunakan kombinasi ekstrak daun sirih hijau dan daun jambu biji putih dengan perbandingan 1:1, dimana kombinasi diberikan dengan dosis yang berbeda yaitu, dosis rendah (200 mg/kgBB), dosis sedang (400 mg/kgBB), dan dosis tinggi (600 mg/kgBB).

Berikut merupakan perhitungan konversi dosis pada hewan uji:

### 1. Dosis Rendah

$$\begin{aligned} \text{Dosis} &= 200 \text{ mg/ kgBB} \\ \text{Konversi} &= 150 \text{ g tikus} \\ &= \frac{200 \text{ mg}}{\text{kg}} \times 0,15 \text{ kg} \\ &= 30 \text{ mg} \end{aligned}$$

### 2. Dosis Sedang

$$\begin{aligned} \text{Dosis} &= 400 \text{ mg/ kgBB} \\ \text{Konversi} &= 150 \text{ g tikus} \\ &= \frac{400 \text{ mg}}{\text{kg}} \times 0,15 \text{ kg} \\ &= 60 \text{ mg} \end{aligned}$$

### 3. Dosis Tinggi

$$\begin{aligned} \text{Dosis} &= 600 \text{ mg/ kgBB} \\ \text{Konversi} &= 150 \text{ g tikus} \\ &= \frac{600 \text{ mg}}{\text{kg}} \times 0,15 \text{ kg} \\ &= 90 \text{ mg} \end{aligned}$$

(Ghasani, 2016)

### Dosis Pemberian Glibenklamid

Glibenklamid diberikan sebagai kontrol positif pada tikus uji. Dosis glibenklamid yang digunakan sebesar 0,9 mg/kgBB perhari (Pandarekandy *et al.*, 2017).

#### 3.5.7 Pemilihan Hewan Uji

Penelitian ini menggunakan tikus putih Jantan galur wistar sebagai hewan uji karena memiliki beberapa keunggulan diantaranya mudah dalam penanganannya dan dapat diperoleh dalam jumlah yang banyak (Lahamendu *et al.*, 2019). Pemilihan tikus berkelamin jantan mengacu



pada pertimbangan bahwa tikus dengan kelamin jantan hormon yang dimiliki akan lebih stabil karena tidak dipengaruhi oleh siklus menstruasi dan kehamilan (Arifani *et al.*, 2019). Selain itu, jenis galur wistar digunakan karena memiliki kemampuan metabolisme yang cepat sehingga lebih sensitif ketika dipakai dalam penelitian yang berhubungan metabolisme tubuh manusia (Lahamendu *et al.*, 2019).

### 3.5.8 Aklimatisasi Hewan

Hewan uji diaklimatisasi selama 14 hari untuk menyesuaikan dengan lingkungan barunya. Selama proses aklimatisasi tikus diberi makanan dan minuman *ad libitum* (Saraswati *et al.*, 2022). Tikus yang digunakan sebanyak 24 ekor dibagi kedalam 6 kelompok dan diletakkan dalam kandang plastik yang diberi penutup dari kawat secara terpisah dengan masing-masing kelompok berjumlah 4 ekor. Kandang tikus dijaga kebersihannya dan dilakukan penggantian sekam 3 hari sekali serta dilakukan pemantauan terhadap suhu dan pencahayaannya.

### 3.5.9 Induksi Aloksan

Aloksan adalah senyawa organik, turunan urea analog glukosa karsinogen dan sitotoksik (Fajarwati *et al.*, 2023). Aloksan merupakan salah satu obat diabetogenik yang umum digunakan untuk menilai potensi antidiabetik (Ighodaro., *et al* 2018). Aloksan akan diinduksi dengan dosis 150 mg/kgBB secara intraperitoneal. Setelah tiga hari tikus dilakukan penimbangan berat badan dan pengukuran kadar gula darah puasa untuk memastikan tikus mengalami diabetes melitus. Jika tikus belum mengalami diabetes penyuntikan aloksan kedua diberikan dengan dosis 150 mg/kgBB setelah tiga hari dosis pertama. Tikus yang telah memenuhi kriteria siap diberikan ekstrak etanol daun sirih dan daun jambu secara peroral.

Diketahui: dosis aloksan pada manusia dewasa 150 mg/kgBB

$$\begin{aligned}
 1. \text{ Berat } 150 \text{ g} &= 0,15 \text{ kg/BB} \\
 &= \frac{150 \text{ mg}}{\text{kg BB}} \times 0,15 \\
 &= 22,5 \text{ mg}
 \end{aligned}$$

$$\begin{aligned}
 2. \text{ Berat } 200 \text{ g} &= 0,2 \text{ kg/BB} \\
 &= \frac{150 \text{ mg}}{\text{kg BB}} \times 0,2 \\
 &= 30 \text{ mg}
 \end{aligned}$$

(Mahdi *et al.*, 2022)

### 3.5.10 Prosedur Pemberian Intervensi

Intervensi yang diberikan dalam penelitian ini dibagi kedalam 6 kelompok perlakuan hewan uji.

**Tabel 5.** Prosedur Pemberian Intervensi

Kelompok Hewan uji		Perlakuan
<b>Kelompok sehat (Kn)</b>		Kelompok tikus yang hanya diberikan makan dan minum tanpa pemberian aloksan dan kombinasi ekstrak daun sirih hijau dan daun jambu biji hijau.
<b>Kelompok positif (K+)</b>	<b>Kontrol</b>	Kelompok tikus yang diberikan aloksan dengan dosis 150 mg/kgBB + glibenklamid.
<b>Kelompok P1</b>		Kelompok tikus yang diberikan aloksan 150 mg/kgBB + kombinasi ekstrak daun sirih hijau dan daun jambu biji hijau dengan dosis 200 mg/kgBB.
<b>Kelompok P2</b>		Kelompok tikus yang diberikan aloksan 150 mg/kgBB + kombinasi ekstrak daun sirih hijau dan daun jambu biji hijau dengan dosis 400 mg/kgBB.
<b>Kelompok P3</b>		Kelompok tikus yang diberikan aloksan 150 mg/kgBB + kombinasi ekstrak daun sirih hijau dan daun jambu biji hijau dengan dosis 600 mg/kgBB.
<b>Kelompok negatif (K-)</b>	<b>Kontrol</b>	Kelompok tikus yang diberikan aloksan dengan dosis 150 mg/kgBB.

### 3.5.11 Pengukuran Kadar Gula Darah

Pengukuran kadar gula darah puasa tikus dilakukan dengan menyayat ekor tikus hingga darah terkumpul. Proses ini dilakukan pada hari ke-1, 3, 5, 7, 9, 11, 13, dan 14 menggunakan *glucometer*. Tikus akan dipuasakan terlebih dahulu selama 8-12 jam sebelum pengukuran gula darah. Tikus dikatakan diabetes apabila kadar glukosa darah puasa mencapai  $\geq 150$  mg/dL (Harahap *et al.*, 2015).

### 3.5.12 Prosedur Terminasi Hewan Coba

Terminasi hewan coba diawali dengan *euthanasia* pada tikus menggunakan teknik anestesi overdosis kloroform (Mutiarahmi *et al.*, 2021). Proses kemudian dilanjutkan dengan menggunakan metode dislokasi servikal, yaitu dengan meletakkan ibu jari dan jari telunjuk di bawah leher dan jari lainnya pada pangkal ekor kemudian tarik dengan cepat sehingga menyebabkan terpisahnya vertebra serviks dari tengkorak hewan coba (AVMA., 2013)

### 3.5.13 Prosedur Pengambilan Ginjal

Pengambilan organ ginjal tikus dilakukan pada hari ke 15 setelah proses pemberian intervensi. Proses pengambilan ginjal dilakukan dengan menggunakan metode pembedahan, yaitu dengan meletakkan tikus pada posisi terlentang di atas sterofoam kemudian organ ginjal diambil. Organ ginjal kemudian dipotong serta dibilas dengan natrium klorida (NaCl 0,9%). Organ kemudian dimasukkan kedalam larutan formalin 10% (Wati *et al.*, 2013).

### 3.5.14 Prosedur Pembuatan Preparat

Pembuatan *preparate slide* histologi dilakukan menggunakan metode parafin dengan pewarnaan *hematoxylin* dan *eosin* (HE). Berikut merupakan tahapan pembuatan *preparate slide* histologi menurut (Isaac *et al.*, 2023):

#### 1. *Fixation*

Proses fixation dilakukan dengan menggunakan BNF (*Buffer Neutral Formalin*) 10 % selama 24 jam.

#### 2. *Dehydration*

Proses dehidrasi dilakukan dengan merendam pada larutan alkohol dengan konsentrasi yang meningkat secara bertahap dan dalam waktu yang singkat. Konsentrasi yang digunakan yaitu 70%, 80%,90%, dan 100%. Proses ini dilakukan untuk menghilangkan air secara bertahap dari jaringan.

#### 3. *Cleaning*

*Cleaning* merupakan tahapan yang dilakukan untuk menghilangkan sisa alkohol dari organ. Proses ini dilakukan dengan merendam organ dalam *xylene*.

#### 4. *Impregnation*

*Impregnation* merupakan proses yang dilakukan dengan menyisipkan parafin kedalam jaringan. Parafin dilelehkan menggunakan oven pada suhu 50-60°C.

#### 5. *Embedding*

*Emmbeding* adalah proses mencetak sampel dengan menambahkan parafin cair kedalam cetakan kemudian biarkan hingga mengeras. Proses ini dilakukan untuk memudahkan sampel dalam proses pemotongan.

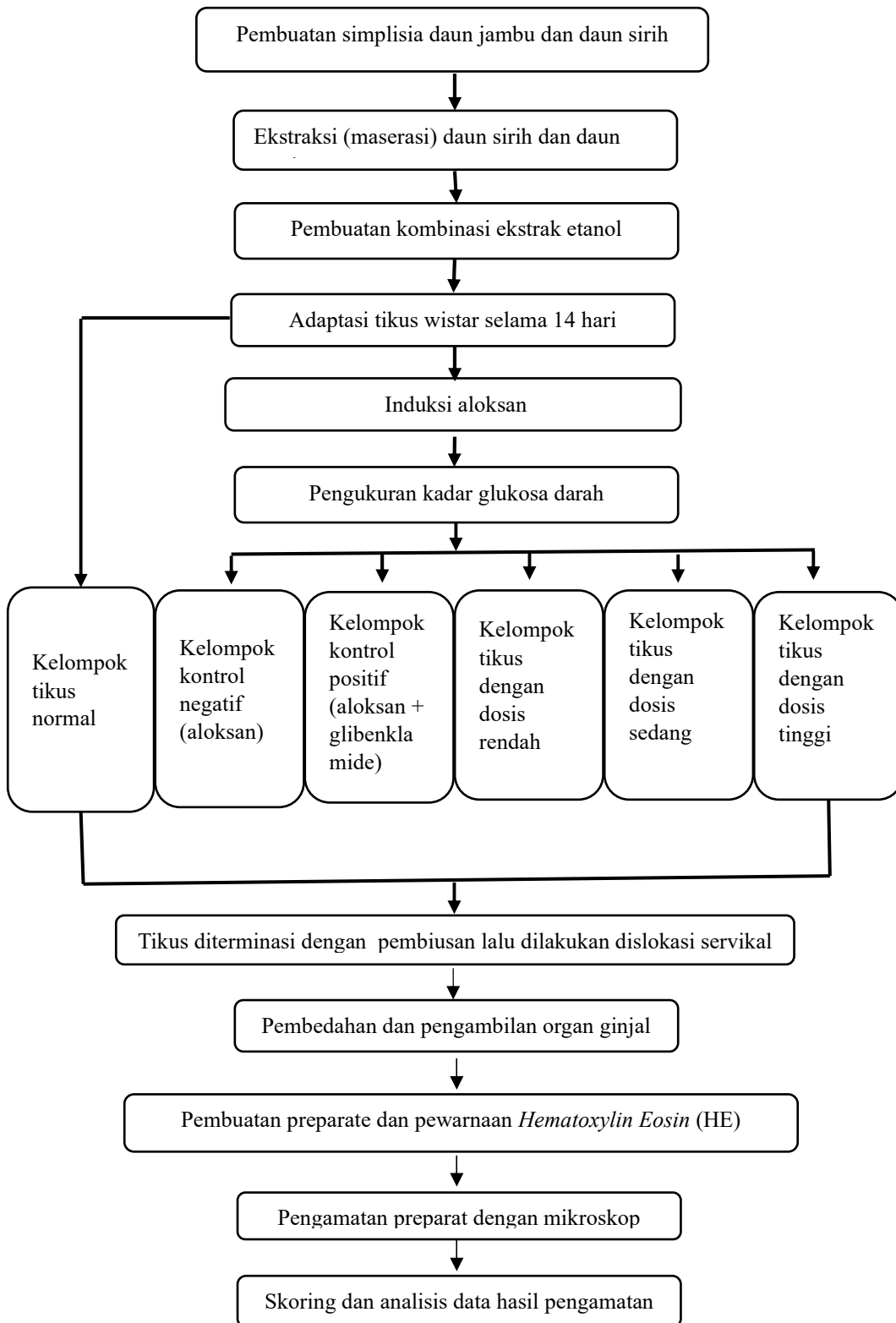
#### 6. *Sectioning* (Pemotongan)

*Sectioning* adalah proses pemotongan yang dilakukan dengan menggunakan mikrotom. Dalam penelitian ini sampel dipotong dengan ketebalan 6 $\mu$ m.

#### 7. *Staining* (Pewarnaan)

Pewarnaan (*staining*) dilakukan untuk memudahkan proses pengamatan sampel di bawah mikroskop. Pewarnaan ini menggunakan *hematoxylin* dan *eosin* (Rahmawanti, A. *et al.*, 2021). Proses pewarnaan diawali dengan menghilangkan parafin dari irisan sampel dengan merendamnya dalam *xylol* kemudian celupkan pada alkohol dengan konsentrasi yang meningkat 100%, 90%, 80%, dan 70% dan bilas dengan air suling. Rendam sampel dalam *hematoxylin* selama 15 menit lalu dibilas kembali dengan air suling dan celupkan dalam alkohol bertingkat. Kemudian lanjutkan dengan pewarnaan *eosin* selama 5 menit. Rendam pada alkohol dengan konsentrasi yang meningkat. Tahap terakhir tutup dengan kaca penutup dan simpan dalam beberapa menit sampai perekat mengering (Saraswati *et al.*, 2022).

### 3.6 Alur Penelitian



**Gambar 11.** Alur Penelitian

### 3.7 Identifikasi Variabel dan Definisi Operasional Variabel

#### 3.7.1 Identifikasi Variabel

Berikut merupakan variabel bebas dan terikat dalam penelitian ini:

##### 1. Variabel bebas

Variabel bebas adalah pemberian kombinasi ekstrak etanol daun sirih hijau (*Piper betle* L.) dan daun jambu biji putih (*Psidium guajava* L.) dengan perbandingan 1:1 secara oral selama 14 hari pada tikus jantan galur wistar.

##### 2. Variabel terikat.

Variabel terikat adalah penurunan kadar gula darah dan perubahan gambaran histologi glomerulus dan tubulus proksimal organ ginjal pada tikus jantan galur wistar diabetes.

#### 3.7.2 Definisi Operasional Variabel

Tabel 6. Definisi Operasional Variabel

Jenis Variabel	Nama Variabel	Definisi	Hasil ukur	Skala ukur
<b>Bebas</b>	Pemberian kombinasi ekstrak daun sirih hijau dan daun jambu biji putih	Kombinasi ekstrak daun sirih dan daun jambu biji putih diberikan dengan dosis yang disesuaikan berdasarkan kelompok yang sudah ditetapkan: (1) Kelompok kontrol normal. (2) Kelompok kontrol negatif. (3) Kelompok dengan dosis rendah. (4) Kelompok dengan dosis sedang. (5) Kelompok dengan dosis tinggi. (6) Kelompok kontrol positif.	Berbagai perlakuan setiap kelompok 1. Pemberian 0 mg 2. 150 mg/kgBB aloksan. 3. 200 mg/kgBB kombinasi ekstrak. 4. 400 mg/kgBB kombinasi ekstrak. 5. 600 mg/kgBB kombinasi ekstrak. 6. Glibenklamid 0,9 mg/kgBB per hari.	Nominal
<b>Terikat</b>	Aktivitas antidiabetes	Aktivitas antidiabetes kombinasi ekstrak daun sirih hijau ( <i>Piper betle</i> L.) dan daun jambu biji	Kriteria tikus diabetes menurut (Yuliani <i>et al.</i> , 2016) dengan	Rasio

	putih ( <i>Psidium guajava</i> L)	Gula Darah Puasa $\geq 150$ mg/dL	
Gambaran kerusakan histopatologi ginjal	Gambaran histopatologi terhadap kerusakan glomerulus dan tubulus proksimal organ ginjal tikus menggunakan mikroskop cahaya dengan perbesaran 400 x. Kerusakan tubulus proksimal meliputi: 1. Hilangnya <i>brush border</i> . 2. Munculnya vakuola. 3. Piknosis (penyusutan sel nukleus)	Persentase kerusakan tubulus proksimal ginjal (Dong <i>et al</i> , 2019) 0 = Normal 1 = < 10% kerusakan tubulus 2 = 10-25% kerusakan tubulus 3 = 25-50% kerusakan tubulus 4 = 50-75% kerusakan tubulus 5 = > 75% kerusakan tubulus	Ordinal
	Kerusakan glomerulus meliputi: 1. Hipertrofi glomerulus (pembesaran diameter glomerulus) 2. Pelebaran ruang bowman	Persentase kerusakan pada glomerulus (Zhang <i>et al</i> ., 2014) 0 = Normal 1 = < 1% kerusakan glomerulus 2 = 1-25% kerusakan glomerulus 3 = 26-50% kerusakan glomerulus 4 = 51-75% kerusakan glomerulus 5 = 76-100% kerusakan glomerulus	
		Penilaian skor semi - kuantitatif untuk hasil histologi ginjal (Azad <i>et al</i> , 2018) 0 = Normal 1 = Ringan 2 = Ringan hingga sedang 3 = Sedang 4 = Sedang hingga berat 5 = Berat	



### **3.8 Analisis Data**

Data penelitian akan dilakukan analisis statistik dengan menggunakan aplikasi *Statistical Package for the Social Sciences (SPSS)* versi 22. Data penurunan kadar gula darah dan histopatologi organ ginjal akan dilakukan uji normalitas dengan menggunakan uji *Shapiro-Wilk* untuk melihat apakah data terdistribusi normal atau tidak. Analisis data selanjutnya dilakukan untuk melihat ada tidaknya perbedaan penurunan kadar gula darah dan histopatologi organ ginjal dengan menggunakan metode *analysis of variance (ANOVA)* jika data terdistribusi normal, atau dengan menggunakan uji *Kruskal-Wallis* jika data tidak terdistribusi normal. Analisis deskriptif dilakukan untuk menjelaskan dan menggambarkan ada atau tidaknya kerusakan histopatologi glomerulus dan tubulus proksimal organ ginjal akibat pemberian kombinasi ekstrak etanol daun sirih hijau dan daun jambu biji. Analisis data statistik dalam penelitian ini dilakukan dengan taraf kepercayaan 95%.

### **3.9 Ethical Clearance**

Izin etik penelitian ini akan diajukan melalui Komite Etik Penelitian Kesehatan, Fakultas Kedokteran Universitas Lampung.

## **BAB 5**

### **SIMPULAN DAN SARAN**

#### **5.1 Simpulan**

Berdasarkan hasil penelitian diperoleh kesimpulan bahwa:

1. Ada pengaruh pemberian kombinasi ekstrak etanol daun sirih hijau (*Piper betle* L.) dan daun jambu biji putih putih (*Psidium guajava* L.) terhadap penurunan kadar gula darah tikus galur wistar yang diinduksi aloksan yang dibuktikan dengan *p-value* <0,05. Penurunan kadar gula darah tersebut terjadi pada dosis 200 mg/kgBB dan 600 mg/kgBB dengan penurunan hingga 319,7 mg/dL dan 39,4 mg/dL.
2. Pemberian kombinasi ekstrak etanol daun sirih hijau (*Piper betle* L.) dan daun jambu biji putih (*Psidium guajava* L.) memiliki pengaruh terhadap gambaran histopatologi ginjal tikus galur wistar yang diinduksi aloksan. Hasil ini dibuktikan dengan *p-value* < 0,05.

#### **5.2 Saran**

Penulis menyarankan agar memperoleh hasil penelitian yang baik maka perlu dilakukan penelitian lebih lanjut untuk mengetahui penurunan kadar gula darah dan perubahan histopatologi ginjal tikus galur wistar yang diinduksi aloksan menggunakan kelompok tikus dengan jumlah yang sesuai perhitungan dan kebutuhan.

## DAFTAR PUSTAKA

- Alara, O. R., Abdurahman, N. H., & Ukaegbu, C. I. (2021). Extraction of phenolic compounds: A review. In *Current Research in Food Science 4*, 200–214.
- Alipin, K., Sari, E. P., Madihah, M., Setiawati, T., Ratningsih, N., & Malini, D. M. (2017). Kidney histology in streptozotocin-induced diabetic male Wistar rats treated with combined extract of temulawak rhizome and belimbing wuluh fruit. *Nusantara Bioscience*, 9(3), 312–317.
- Angela Tionando, W., Wulandari, S., Elsi Doloksaribu, G., & Yulizal, O. (2021). Pengaruh Ekstrak Daun Salam Terhadap Gambaran Histopatologi Pankreas Tikus Wistar Model Diabetes Melitus. *Majalah Kedokteran Andalas*, 44(6), 402–410.
- Angulo-López, J. E., Flores-Gallegos, A. C., Torres-León, C., Ramírez-Guzmán, K. N., Martínez, G. A., & Aguilar, C. N. (2021). Guava (*Psidium guajava* L.) fruit and valorization of industrialization by-products. In *Processes*, 9(6).
- Ansari, P., Choudhury, S. T., Seidel, V., Rahman, A. Bin, Aziz, M. A., Richi, A. E., Rahman, A., Jafrin, U. H., Hannan, J. M. A., & Abdel-Wahab, Y. H. A. (2022). Therapeutic Potential of Quercetin in the Management of Type-2 Diabetes Mellitus. In *Life*, 12(8).
- Arambewela, L. S. R., Arawwawala, L. D. A. M., & Ratnasooriya, W. D. (2005). Antidiabetic activities of aqueous and ethanolic extracts of Piper betle leaves in rats. *Journal of Ethnopharmacology*, 102(2), 239–245.
- Arifani, R. S., Widyastuti, N., & Nissa, C. (2019). Pengaruh Pemberian Tepung Sorgum (*Sorghum Bicolor L. Moench*) Terhadap Tekanan Darah Sistolik Tikus Wistar (*Rattus norvegicus*) Diabetes. *Journal of Nutrition College*, 8(4), 238.
- Avinda Deviana. (2018). Pengaruh Pemberian Ekstrak Biji Petai (*Parkia speciosa*) Terhadap Gambaran Histopatologi Ginjal Bagian Tubulus Proksimal Pada

Tikus Putih (*Rattus norvegicus*) Jantan Galur Wistar yang diinduksi Paracetamol Avinda Deviana. *Hang Tuah Medical Journal*, 15(2).

Azad, M. A. K., Sivanesan, S., Wang, J., Chen, K., Nation, R. L., Thompson, P. E., Roberts, K. D., Velkov, T., & Li, J. (2018). Methionine ameliorates polymyxin-induced nephrotoxicity by attenuating cellular oxidative stress. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*, 62(1).

Azzahra, A, A & Sujono, T, A. (2024). Testantidiabetic activity of a combination of 70% ethanol extract of meniran leaves (*Phyllanthus Niruri* L.) and glibenclamide in male white Wistar rats induced by alloxan. *Science Midwifery*, 12(1)

Biswas, P., Anand, U., Saha, S. C., Kant, N., Mishra, T., Masih, H., Bar, A., Pandey, D. K., Jha, N. K., Majumder, M., Das, N., Gadekar, V. S., Shekhawat, M. S., Kumar, M., Radha, Proćków, J., Lastra, J. M. P. de la, & Dey, A. (2022). Betelvine (*Piper betle* L.): A comprehensive insight into its ethnopharmacology, phytochemistry, and pharmacological, biomedical and therapeutic attributes. In *Journal of Cellular and Molecular Medicine*, 26(11), 3083–3119.

Boron, W. F., & Boulpaep, E. L. (2005). *Medical physiology: a cellular and molecular approach*. Elsevier Saunders.

Cacique, A. P., Barbosa, É. S., de Pinho, G. P., & Silvério, F. O. (2020). Maceration extraction conditions for determining the phenolic compounds and the antioxidant activity of *catharanthus roseus* (L.) g. don. *Ciencia e Agrotecnologia*, 44, 1–12.

Carvalho, R. P. R., Lima, G. D. de A., & Machado-Neves, M. (2021). Effect of eugenol treatment in hyperglycemic murine models: A meta-analysis. In *Pharmacological Research* (Vol. 165).

Carvalho, R. P. R., Lima, G. D. de A., & Machado-Neves, M. (2021). Effect of eugenol treatment in hyperglycemic murine models: A meta-analysis. In *Pharmacological Research*, 165.

Cheng, F. C., Shen, S. C., & Wu, J. S. B. (2009). Effect of guava (*Psidium guajava* L.) leaf extract on glucose uptake in rat hepatocytes. *Journal of Food Science*, 74(5).

- Chien, S., Wang, J., Wan, R., Mo, Y., Zhang, Q., & Sherwood, L. C. (2010). Creating a Long-Term Diabetic Rabbit Model. *Experimental Diabetes Research*.
- Chinedu, E., Arome, D., & Ameh, F. S. (2013). A new method for determining acute toxicity in animal models. *Toxicology International*, 20(3), 224–226.
- Chu, S., Zhang, F., Wang, H., Xie, L., Chen, Z., Zeng, W., Zhou, Z., & Hu, F. (2022). Aqueous Extract of Guava (*Psidium guajava* L.) Leaf Ameliorates Hyperglycemia by Promoting Hepatic Glycogen Synthesis and Modulating Gut Microbiota. *Frontiers in Pharmacology*, 13.
- Delfita, R., Dahelmi, D., Tjong, D., & Suhatri, S. (2021). Effect of enhydra fluctuans on kidney function in alloxan-induced diabetic rats. *Open Access Macedonian Journal of Medical Sciences*, 9, 1187–1194.
- Dhanya, R. (2022). Quercetin for managing type 2 diabetes and its complications, an insight into multitarget therapy. In *Biomedicine and Pharmacotherapy*, 146.
- Ebaid, H., Bashandy, S. A. E., Abdel-Mageed, A. M., Al-Tamimi, J., Hassan, I., & Alhazza, I. M. (2020). Folic acid and melatonin mitigate diabetic nephropathy in rats via inhibition of oxidative stress. *Nutrition and Metabolism*, 17(1).
- Effendi Sembiring, M., Napiah Nasution, A., & Chiuman, L. (2023). Effectiveness Test of Ethanol Extract of Red Betel Leaves (*Piper Crocatum Ruiz & Pav*) Against Histopathological Features of The Pancreas and Blood Sugar Levels of Alloxan-Induced Male Mice (*Mus Musculus L*) under a Creative Commons Attribution-Non Commercial 4.0 International License (CC BY-NC 4.0). *Jurnal Eduhealt*, 14(04).
- Fahriyansyah, F., Mardiaty, M., & Sitaswi, A. J. (2021). Gambaran Histologi Ren Tikus Putih (*Rattus norvegicus L.*) Hiperglikemia Setelah Pemberian Ekstrak Etanol Daun Mimba (*Azadirachta Indica A. Juss*). *Buletin Anatomi dan Fisiologi*, 6 (2).
- Golovinskaia, O., & Wang, C. K. (2023). The hypoglycemic potential of phenolics from functional foods and their mechanisms. In *Food Science and Human Wellness*, 12 (4), 986–1007.
- Hou, L., Liu, K., Li, Y., Ma, S., Ji, X., & Liu, L. (2016). Necrotic pyknosis is a morphologically and biochemically distinct event from apoptotic pyknosis. *Journal of Cell Science*, 129(16), 3084–3090.

- Kartika, A. A., Siregar, H. C. H., & Fuah1, A. M. (2013). Strategi Pengembangan Usaha Ternak Tikus (*Rattus norvegicus*) Dan Mencit (*Mus Musculus*) Di Fakultas Peternakan IPB.
- Kiss, N., & Hamar, P. (2016). Histopathological Evaluation of Contrast-Induced Acute Kidney Injury Rodent Models. *BioMed Research International*.
- Kotyik, T., Dey, N., Ashour, A. S., Balas-Timar, D., Chakraborty, S., Ashour, A. S., & Tavares, J. M. R. S. (2016). Measurement of glomerulus diameter and Bowman's space width of renal albino rats. *Computer Methods and Programs in Biomedicine*, 126, 143–153.
- Kumar, M., Dev, S., Khalid, M. U., Siddenth, S. M., Noman, M., John, C., Akubuiro, C., Haider, A., Rani, R., Kashif, M., Varrassi, G., Khatri, M., Kumar, S., & Mohamad, T. (2023). The Bidirectional Link Between Diabetes and Kidney Disease: Mechanisms and Management. *Cureus*.
- Kumar, M., Tomar, M., Amarowicz, R., Saurabh, V., Sneha Nair, M., Maheshwari, C., Sasi, M., Prajapati, U., Hasan, M., Singh, S., Changan, S., Prajapat, R. K., Berwal, M. K., & Satankar, V. (2021). Guava (*Psidium guajava* L.) leaves: Nutritional composition, phytochemical profile, and health-promoting bioactivities. In *Foods*, 10 (4).
- Lahamendu B, B. W. S. J. P. (2019). Uji Efek Analgetik Ekstrak Etanol Rimpang Jahe Putih (*Zingiber officinale* Rosc.Var. Amarum) Pada Tikus Putih Jantan Galur Wistar (*Rattus norvegicus*). *Pharmacon*, 8(2).
- Lin, C. F., Kuo, Y. T., Chen, T. Y., & Chien, C. T. (2016). Quercetin-rich guava (*Psidium guajava*) juice in combination with trehalose reduces autophagy, apoptosis and pyroptosis formation in the kidney and pancreas of type II diabetic rats. *Molecules*, 21(3).
- Madhumita, M., Guha, P., & Nag, A. (2020). Bio-actives of betel leaf (*Piper betle* L.): A comprehensive review on extraction, isolation, characterization, and biological activity. In *Phytotherapy Research*, 34 (10), 2609–2627.
- Mahadevan, V. (2019). *Anatomy of the kidney and ureter*.
- Medicine, M., & Bryda, E. C. (2013). *The Mighty Mouse: The Impact of Rodents on Advances in Biomedical Research*.

- Merz, K. E., & Thurmond, D. C. (2020). Role of skeletal muscle in insulin resistance and glucose uptake. *Comprehensive Physiology*, 10(3), 785–809.
- Morya, R., Kumar, K., & Kumar, P. (2018). Anatomical and Physiological Similarities of Kidney in Different Experimental Animals Used for Basic Studies. *Journal of Clinical & Experimental Nephrology*, 03(02).
- Mutiarahmi, C. N., Hartady, T., & Lesmana, R. (2021). Use Of Mice as Experimental Animals In Laboratories That Refer To The Principles Of Animal Welfare: A Literature Review. *Indonesia Medicus Veterinus*, 10(1).
- Nayak, R. P., Krishna, U., & S R, C. (2021). Evaluation of antianxiety properties of Piper betle L. leaf extracts on swiss albino mice. *Indian Journal of Pharmacy and Pharmacology*, 7(4), 256–261.
- Nayaka, N. M. D. M. W., Sasadara, M. M. V., Sanjaya, D. A., Yuda, P. E. S. K., Dewi, N. L. K. A. A., Cahyaningsih, E., & Hartati, R. (2021). Piper betle (L): Recent review of antibacterial and antifungal properties, safety profiles, and commercial applications. In *Molecules*, 26 (8).
- Nindia Carabelly, A., Sinaga, U., & Dewi, N. (2021a). Overview Of Glomerular Hypertrophy and Hydropic Degeneration of Diabetic Rat Kidney Models In Giving Toman Fish. *E-Prodenta Journal of Dentistry*, 5(1), 360–368.
- Nisar, M. F., Khadim, M., Rafiq, M., Chen, J., Yang, Y., & Wan, C. C. (2021). Pharmacological Properties and Health Benefits of Eugenol: A Comprehensive Review. In *Oxidative Medicine and Cellular Longevity*.
- Ocheje, J. O. (n.d.). Toxicological Studies on The Aqueous Leaf Extract of Psidium Guajava in Albino Rats.
- Rahman, M. H., Asrafuzzaman, M., Tusher, M. M. H., Mosihuzzaman, M., Khan, M. S. H., Shoeb, M., & Rokeya, B. (2023). Elucidation of anti-hyperglycemic activity of Psidium guajava L. leaves extract on streptozotocin induced neonatal diabetic Long-Evans rats. *Journal of Ayurveda and Integrative Medicine*, 14(5).
- Rajput, R., & Kumar, K. (2021). Protective effect of ethanolic extract of guava leaves (Psidium guajava L.) in alloxan-induced diabetic mice. *Materials Today: Proceedings*, 47, 437–439.

- Reyhanditya, D., Hikmawati, V, F., Kurnianingsih, N., Fatchiyah. (2022). Restraint Stress Impacts on Behavioral Changes and Adrenal and Kidney Tissue Histopathology of Adult Mice. *Jurnal Kedokteran Brawijaya*, 32(1)
- Situmorang, P. C., & Ilyas, S. (2019). Description of Kidney Histology of *Mus musculus* After Giving Nano Hebal *Rhodomirtus tomentosa* (Haramounting). *International Journal of Ecophysiology*, 01(01), 26–33.
- Soepraptini, J., R. S. F., K. S. (2012). Gambaran Histopatologi Ginjal Tikus Putih Jantan pada Kasus Patah Tulang Femur dengan Terapi Ekstrak Tanaman *Cissus quadrangularis* dan Kalsium Karbonat. *VetMedika J Klin Vet*, 1(1).
- Susilorini, U. D. I., M. S. (2013). Pengaruh bawang putih terhadap Ginjal the Effect of *Alium Satium* Extract on the Glomerular Diameter of STZ-induced Sprague dawley Rats. In *Sains Medika*, 5(1).
- Tandi, J., Diana Pratiwi, F., & Puspita Dewi, N. (2021). The Effect of Ethanol Extract of Guava (*Psidium guajava* L) Leaf on Hypercholesterolemia-Diabetic Male White Rats Induced by High Fat Feed and Streptozotocin. *Jurnal Farmasi Galenika :Galenika Journal of Pharmacy (e-Journal)*, 7(2), 201–212.
- Tella, T., Masola, B., & Mukaratirwa, S. (2022). Anti-diabetic potential of *Psidium guajava* leaf in streptozotocin induced diabetic rats. *Phytomedicine Plus*, 2(2).
- Theodorou, C., Leatherby, R., & Dhanda, R. (2021). Function of the nephron and the formation of urine. In *Anaesthesia and Intensive Care Medicine*, 22(7), 434–438.
- Wijaya Sunggono, B., Kusharyanti, I., & Nani Nurbaeti, S. (n.d.). Acute Toxicity Evaluation of *Impatiens balsamina* Linn. Stem And Leaf N-Hexane Fraction Using *Oecd 425*. *Traditional Medicine Journal*, 19(3), 2014.
- Zafar, M., Naeem-ul-Hassan Naqvi, S., Ahmed, M., & Ali Kaimkhani, Z. (2009). Altered Kidney Morphology and Enzymes in Streptozotocin Induced Diabetic Rats Morfología y Enzimas Renales Alteradas en Ratas con Diabetes Inducida por Estreptozotocin. In *Int. J. Morphol*, 27(3).



- Zhang, L., Wang, X., Chang, L., Ren, Y., Sui, M., Fu, Y., Zhang, L., & Hao, L. (2024). Quercetin improves diabetic kidney disease by inhibiting ferroptosis and regulating the Nrf2 in streptozotocin-induced diabetic rats. *Renal Failure*, 46(1).
- Zhang, S., Xu, H., Yu, X., Wang, Y., Sun, F., & Sui, D. (2015). Simvastatin ameliorates low-dose streptozotocin-induced type 2 diabetic nephropathy in an experimental rat model. In *Int J Clin Exp Med*, 8(4).
- Zhou, M., Konigsberg, W. H., Hao, C., Pan, Y., Sun, J., & Wang, X. (2023). Bioactivity and mechanisms of flavonoids in decreasing insulin resistance. In *Journal of Enzyme Inhibition and Medicinal Chemistry*, 38(1)