

# PENGARUH KOMBINASI GLIBENKLAMID DAN MINYAK BUAH MERAH (*Pandanus conoideus* Lam) TERHADAP TINGKAT KERUSAKAN TUBULUS RENALIS PADA TIKUS JANTAN GALUR WISTAR DIABETES

Elsi Rahmadhani Hardi<sup>1</sup>, Winarto<sup>2</sup>, Dina Fauzia<sup>3</sup>

## ABSTRACT

*Diabetes mellitus refers to metabolic group disease which is characterized by chronic hyperglycemia resulting from impaired insulin secretion, insulin action or both. Diabetes mellitus complications affect many organs like kidney. Kidney abnormalities are due to hyperglycemia period and oxidative stress. Pandanus conoideus Lam oil contains  $\beta$ -carotene and  $\alpha$ -tocopherol that can reduce oxidative stress. The aim of this study is to observe the effect of glibenclamide and Pandanus conoideus Lam oil combination on rat's renal tubule. Diabetes was induced by streptozotocin (60 mg/kg; intraperitoneal). Rats were randomly divided into normal group, diabetic group, diabetic group administered glibenclamide and diabetic group administered combination of glibenclamide and Pandanus conoideus Lam oil. The animals were treated with glibenclamide and Pandanus conoideus Lam oil once daily for 14 days. The diabetic group showed hypertrophy of proximal cells tubule, Ebstein Armanni lesion and proximal tubular dilatation. These features were reduced on diabetic group administered combination of glibenclamide and Pandanus conoideus Lam oil. This study concludes that combination of glibenclamide and Pandanus conoideus Lam oil administration can prevent the progression of renal tubular injury on diabetic rats.*

**Keywords:** *Diabetes mellitus, Pandanus conoideus Lam oil, hyperglycemia, antioxidant, proximal tubules.*

## PENDAHULUAN

Diabetes melitus (DM) merupakan suatu kelompok penyakit metabolik dengan karakteristik hiperglikemia kronik yang terjadi karena defek sekresi insulin, kerja insulin atau kedua-duanya.<sup>1,2</sup> Rendahnya kontrol kadar glukosa darah pasien DM menyebabkan terjadinya komplikasi pada berbagai organ seperti ginjal.<sup>1</sup> Abnormalitas parenkim ginjal terjadi akibat stres oksidatif yang diinduksi oleh hiperglikemia.<sup>3,4</sup> Hiperglikemia menginduksi peningkatan produksi *reactive oxygen species* (ROS) seperti superoksida ( $O_2^-$ ), hidrogen peroksida ( $H_2O_2$ ), nitrit oksida (NO) dan penurunan kadar antioksidan endogen.<sup>3,5</sup> Ketidakseimbangan jumlah radikal bebas dan antioksidan menimbulkan stres oksidatif yang menyebabkan lesi pada glomerulus dan tubulus renalis.<sup>6</sup>

Penelitian Singh dan Farrington menunjukkan bahwa perubahan struktur histologi dan fungsi tubulus terjadi terlebih dahulu sebelum terjadi perubahan pada glomerulus.<sup>7</sup> Perubahan struktur histologis tubulus terjadi secara bertahap. Pada tahap awal terjadi hipertrofi sel tubulus, akumulasi glikogen intraseluler, penebalan membran basal tubulus dan dilatasi tubulus. Pada tahap lanjut terjadi atrofi tubulus dan fibrosis peritubuler.<sup>7,8</sup>

Upaya pencegahan komplikasi DM dilakukan dengan cara menurunkan kadar glukosa darah dan asupan antioksidan eksogen untuk menurunkan stres oksidatif yang terjadi. Glibenklamid adalah obat hipoglikemik oral yang sering digunakan untuk menurunkan kadar glukosa darah pasien DM.<sup>9</sup> Antioksidan eksogen dapat diperoleh dengan mengonsumsi makanan yang mengandung  $\beta$ -karoten,  $\alpha$ -tokoferol dan vitamin C.<sup>3,10</sup>

<sup>1</sup>Penulis untuk korespondensi: Fakultas Kedokteran Universitas Riau, Alamat: Jl. Diponegoro No. 1, Pekanbaru, E-mail: [elsirahmadhanihardi@gmail.com](mailto:elsirahmadhanihardi@gmail.com)

<sup>2</sup>Bagian Histologi Fakultas Kedokteran Universitas Riau

<sup>3</sup>Bagian Farmakologi Fakultas Kedokteran Universitas Riau

Minyak buah merah (*P. conoideus Lam*) merupakan salah satu bahan makanan yang diketahui mengandung  $\beta$ -karoten dan  $\alpha$ -tokoferol yang sangat tinggi.<sup>11,12</sup> Penelitian Winarto membuktikan bahwa pemberian minyak buah merah (*Pandanus conoideus Lam*) dapat menurunkan stres oksidatif, meningkatkan aktivitas hipoglikemik dari glibenklamid dan mencegah progresivitas kerusakan Pulau Langerhans tikus DM.<sup>13</sup>

Penelitian ini bertujuan untuk membuktikan pengaruh kombinasi glibenklamid dan minyak buah merah (*P. conoideus Lam*) terhadap tingkat kerusakan tubulus renalis tikus DM.

## METODE PENELITIAN

Penelitian ini bersifat eksperimental laboratorik dengan *post test-only control group design*. Penelitian ini menggunakan sampel berupa 20 ekor tikus putih jantan galur Wistar (*Rattus norvegicus*) umur 3 bulan dengan berat badan antara 175-200 gram, yang diperoleh dari Unit Pemeliharaan Hewan Percobaan (UPHP) Universitas Gajah Mada. Bahan yang digunakan dalam penelitian ini adalah minyak buah merah (*Pandanus conoideus Lam*), *streptozotocin* dan glibenklamid (Kimia Farma).

Peralatan yang digunakan adalah kandang tikus, timbangan manual Sartorius, timbangan analitik Sartorius, kanula pencekok tikus, tabung reaksi, satu set alat bedah minor, satu set reagen untuk pemeriksaan glukosa darah, satu set alat untuk pemeriksaan preparat dengan pewarnaan Hematoksin Eosin dan *Periodic Acid Schiff* (PAS).

Hewan percobaan dibagi secara acak menjadi 4 grup yang masing-masing berjumlah 5 ekor tikus. Grup tikus normal terdiri dari grup 1 dan grup tikus diabetes terdiri dari grup 2, 3 dan 4. Tikus pada grup 2, 3 dan 4 diinjeksikan dengan *steptozotocin* dosis 60 mg/KgBB dalam buffer sitrat pH 4,5 secara intraperitoneal sebanyak satu kali. Tikus dengan kadar glukosa darah puasa  $\geq 240$  mg/dl dipilih sebagai subjek penelitian. Tikus normal diinjeksi dengan buffer sitrat dengan dosis yang sama.<sup>14</sup> Grup tikus diperlakukan sebagai berikut: grup 1 sebagai grup kontrol normal, grup 2 sebagai kontrol DM, grup 3 diberikan glibenklamid 0,09 mg/KgBB/hari dan grup 4 diberikan kombinasi minyak buah merah 0,3 ml/KgBB/hari dan glibenklamid 0,09 mg/KgBB/hari. Perlakuan diberikan selama 14 hari. Kadar glukosa darah puasa diukur secara periodik pada hari ke-3 sebelum perlakuan awal, 7 dan 14.

Pengambilan ginjal tikus dengan pembedahan dilakukan setelah tikus dianestesi dengan menggunakan eter. Ginjal yang sudah diambil difiksasi dalam larutan bufer formalin 10% untuk dilakukan pewarnaan Hematoksin Eosin dan *Periodic acid Schiff* (PAS). Penilaian mikroskopis dilakukan dengan menggunakan mikroskop cahaya dengan pembesaran 400x. Pengamatan dilakukan terhadap kerusakan tubulus proksimal (hipertrofi sel tubulus), diameter tubulus untuk mengetahui dilatasi tubulus, akumulasi glikogen intraseluler, fibrosis peritubular dan atrofi tubulus.

Diameter tubulus proksimal diukur dalam satuan mikrometer ( $\mu\text{m}$ ). Diameter tubulus dihitung pada tubulus potongan melintang dengan memilih 40 tubulus secara acak di korteks renalis pada setiap preparat dengan pewarnaan HE. Diameter yang diambil adalah diameter terpendek yang melewati pusat tubulus.<sup>15</sup> Fibrosis peritubular adalah peningkatan matriks ekstraseluler yang memisahkan tubulus di korteks renalis. Fibrosis peritubular diklasifikasikan berdasarkan luas area fibrosis dengan kriteria skoring 0-5 dimana 0 = tidak ada lesi, 1 =  $<10\%$ , 2 =  $10\% - 25\%$ , 3 =  $25\% - 50\%$ , 4 =  $50\% - 75\%$ , 5 =  $>75\%$ .<sup>16</sup>

Atrofi tubulus adalah gambaran membran basal tubulus yang tebal dengan penurunan diameter tubulus. Atrofi tubulus diklasifikasikan berdasarkan kriteria skoring 0-4 dimana 0 = normal, 1 =  $<10\%$ , 2 =  $10\% - 25\%$ , 3 =  $26\% - 50\%$ , 4 =  $> 50\%$ .<sup>17</sup> Akumulasi glikogen di

<sup>1</sup>Penulis untuk korespondensi: Fakultas Kedokteran Universitas Riau, Alamat: Jl. Diponegoro No. 1, Pekanbaru, E-mail: [elsirahmadhanihardi@gmail.com](mailto:elsirahmadhanihardi@gmail.com)

<sup>2</sup>Bagian Histologi Fakultas Kedokteran Universitas Riau

<sup>3</sup>Bagian Farmakologi Fakultas Kedokteran Universitas Riau

dalam sel tubulus renalis ditandai dengan sel tubulus yang jernih. Akumulasi glikogen di dalam sel tubulus disebut juga dengan lesi Ebstein-Armanni. Lesi Ebstein-Armanni diklasifikasikan menjadi 0 = tidak ditemukan lesi dan 1 = ditemukan lesi. Pengamatan dilakukan pada 10 lapangan pandang pada setiap preparat jaringan ginjal dengan Pewarnaan PAS.<sup>8,24</sup> Penebalan membran basal tubulus diklasifikasikan menjadi 0 = tidak ditemukan lesi dan 1 = ditemukan lesi. Tanda-tanda kerusakan sel tubulus yang diamati adalah hipertrofi sel-sel tubulus dan penutupan lumen tubulus. Pengamatan dilakukan dengan memilih 200 tubulus proksimal secara acak pada setiap preparat ginjal tikus dengan pewarnaan HE.<sup>8,16</sup> Data hasil penelitian diolah secara komputerisasi, kemudian disajikan dalam bentuk tabel distribusi frekuensi.<sup>18</sup>

## HASIL PENELITIAN

### 1. Tingkat kerusakan tubulus proksimal

Pada penelitian ini didapatkan data gambaran mikroskopis tingkat kerusakan tubulus proksimal (hipertrofi sel tubulus) yang dipulas dengan Pewarnaan Hematoksin Eosin (HE) seperti yang tercantum pada Tabel 1 berikut ini :

Tabel 1. Rata-rata gambaran mikroskopis kerusakan tubulus proksimal pada berbagai perlakuan

Nomor sampel	Tingkat kerusakan tubulus proksimal			
	Perlakuan			
	I	II	III	IV
1	0,13	0,57	0,50	0,21
2	0,16	0,85	0,52	0,19
3	0,10	0,61	0,51	0,28
4	0,14	0,62	0,59	0,17
5	0,15	0,69	0,45	0,20
Total	0,68	3,34	2,47	1,05
Rata-rata	0,14±0,02	0,66±0,11	0,51±0,05	0,21±0,04

Keterangan :

I : Kelompok normal

II : Kelompok DM

III : Kelompok DM yang diberi glibenklamid 0,09 mg/kgBB/hari

IV : Kelompok DM yang diberi kombinasi glibenklamid 0,09 mg/kgBB/hari dan minyak buah merah 0,3 ml/kgBB/hari

Tabel 1 menunjukkan tingkat kerusakan tubulus proksimal dari yang terbesar sampai yang terkecil secara berturut-turut adalah kelompok DM, kelompok DM yang diberi glibenklamid 0,09 mg/kgBB/hari, kelompok DM yang diberi kombinasi glibenklamid 0,09 mg/kgBB/hari dan minyak buah merah 0,3 ml/kgBB/hari dan kelompok normal. Hasil penelitian didapatkan bahwa sebaran data normal dan uji varians sama. Pada uji Anova diperoleh nilai  $p=0,00$  ( $p<0,05$ ) yang menunjukkan bahwa minimal terdapat dua kelompok yang berbeda secara bermakna. Selanjutnya, dilakukan uji *post hoc* untuk mengetahui lebih

<sup>1</sup>Penulis untuk korespondensi: Fakultas Kedokteran Universitas Riau, Alamat: Jl. Diponegoro No. 1, Pekanbaru, E-mail: [elsirahmadhanihardi@gmail.com](mailto:elsirahmadhanihardi@gmail.com)

<sup>2</sup>Bagian Histologi Fakultas Kedokteran Universitas Riau

<sup>3</sup>Bagian Farmakologi Fakultas Kedokteran Universitas Riau

lanjut tingkat kerusakan tubulus proksimal pada tiap kelompok. Hasilnya dapat dilihat pada Tabel 2 berikut ini :

Tabel 2. Perbandingan tingkat kerusakan tubulus proksimal pada berbagai perlakuan

Perlakuan	Signifikasi
Normal vs DM	p=0,00*
Normal vs DM + glibenklamid 0,09 mg/kgBB/hari	p=0,00*
Normal vs DM + kombinasi glibenklamid 0,09 mg/kgBB/hari dan minyak buah merah 0,3 ml/kgBB/hari	p=0,092
DM vs DM + glibenklamid 0,09 mg/kgBB/hari	p=0,002*
DM vs DM + kombinasi glibenklamid 0,09 mg/kgBB/hari dan minyak buah merah 0,3 ml/kgBB/hari	p=0,00*
DM + glibenklamid 0,09 mg/kgBB/hari vs DM + kombinasi glibenklamid 0,09 mg/kgBB/hari dan minyak buah merah 0,3 ml/kgBB/hari	p=0,00*

Keterangan:

\*(*significant*) : terdapat perbedaan yang bermakna secara statistik

Hasil uji statistik memperlihatkan bahwa kelompok normal memiliki perbedaan yang bermakna terhadap kelompok DM. Hal ini menunjukkan bahwa terjadi kerusakan tubulus proksimal yang lebih banyak pada kelompok DM dibandingkan dengan kelompok normal. Perbedaan yang bermakna juga terdapat antara kelompok normal dengan kelompok DM yang diberi glibenklamid 0,09 mg/kgBB/hari. Hal ini menunjukkan bahwa terjadi kerusakan tubulus proksimal yang lebih banyak pada kelompok DM yang diberi glibenklamid 0,09 mg/kgBB/hari dibandingkan kelompok normal.

Perbedaan tingkat kerusakan tubulus proksimal yang bermakna juga terdapat antara kelompok DM dengan kelompok DM yang diberi glibenklamid 0,09 mg/kgBB/hari. Hal ini menunjukkan bahwa pemberian glibenklamid 0,09 mg/kgBB/hari pada tikus DM mampu mengurangi kerusakan pada tubulus proksimal.

Perbedaan tingkat kerusakan tubulus proksimal yang bermakna juga terdapat antara kelompok DM dibandingkan dengan kelompok DM yang diberi kombinasi glibenklamid 0,09 mg/kgBB/hari dan minyak buah merah 0,3 ml/kgBB/hari. Hal ini menunjukkan bahwa pemberian kombinasi glibenklamid 0,09 mg/kgBB/hari dan minyak buah merah 0,3 ml/kgBB/hari pada tikus DM mampu mengurangi kerusakan pada tubulus proksimal.

Perbedaan tingkat kerusakan tubulus proksimal yang bermakna juga terdapat antara kelompok DM yang diberi glibenklamid 0,09 mg/kgBB/hari dibandingkan dengan kelompok DM yang diberi kombinasi glibenklamid 0,09 mg/kgBB/hari dan minyak buah merah 0,3 ml/kgBB/hari. Hal ini menunjukkan bahwa pemberian kombinasi glibenklamid 0,09 mg/kgBB/hari dan minyak buah merah 0,3 ml/kgBB/hari lebih mengurangi kerusakan pada tubulus proksimal dibandingkan dengan pemberian glibenklamid 0,09 mg/kgBB/hari saja.

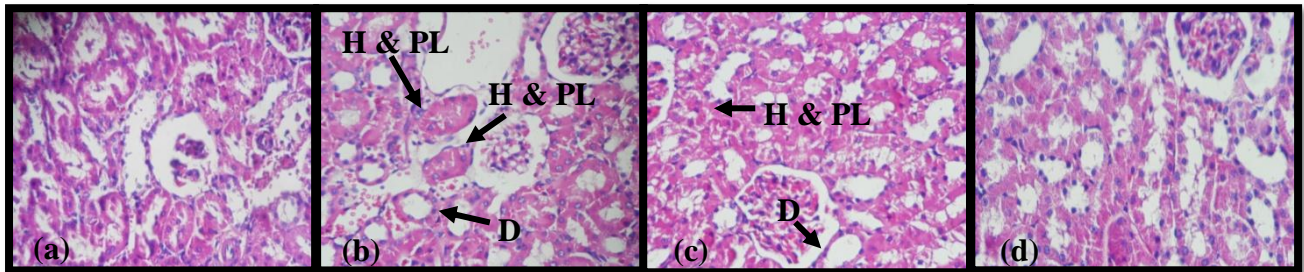
Perbandingan antara kelompok normal dengan kelompok DM yang diberi kombinasi glibenklamid 0,09 mg/kgBB/hari dan minyak buah merah 0,3 ml/kgBB/hari tidak ditemukan

<sup>1</sup>Penulis untuk korespondensi: Fakultas Kedokteran Universitas Riau, Alamat: Jl. Diponegoro No. 1, Pekanbaru, E-mail: [elsirahmadhanihardi@gmail.com](mailto:elsirahmadhanihardi@gmail.com)

<sup>2</sup>Bagian Histologi Fakultas Kedokteran Universitas Riau

<sup>3</sup>Bagian Farmakologi Fakultas Kedokteran Universitas Riau

rbedaan yang bermakna. Hal ini menunjukkan bahwa kelompok DM yang diberi kombinasi glibenklamid 0,09 mg/kgBB/hari dan minyak buah merah 0,3 ml/kgBB/hari memiliki gambaran mikroskopis tubulus proksimal yang mendekati normal. Gambaran mikroskopis kerusakan tubulus proksimal berbagai perlakuan terlihat di Gambar 1.



Gambar 1. Gambaran mikroskopis kerusakan tubulus proksimal berbagai perlakuan. Pembesaran x400. Pewarnaan HE. Keterangan : H (hipertrofi), PL (penutupan lumen) dan D (tubulus distal) (a) Kelompok normal; (b) Kelompok DM; (c) Kelompok DM yang diberi glibenklamid 0,09 mg/kgBB/hari; (d) Kelompok DM yang diberi kombinasi glibenklamid 0,09 mg/kgBB/hari dan minyak buah merah 0,3 ml/kgBB/hari

## 2. Lesi Ebstein Armanni

Pada penelitian ini didapatkan data gambaran mikroskopis lesi Ebstein Armanni yang dipulas dengan *Periodic Acid Schiff* (PAS) seperti yang tercantum pada Tabel 3 berikut :

Tabel 3. Rata-rata gambaran mikroskopis lesi Ebstein Armanni pada berbagai perlakuan

Nomor sampel	Lesi Ebstein Armanni			
	Perlakuan			
	I	II	III	IV
1	0,00	0,70	0,60	0,30
2	0,30	0,60	0,50	0,20
3	0,10	1,00	0,60	0,30
4	0,40	0,80	0,50	0,40
5	0,40	0,70	0,40	0,30
Total	1,2	3,8	2,6	1,5
Rata-rata	0,24±0,18	0,76±0,15	0,52±0,08	0,30±0,07

Keterangan :

I : Kelompok normal

II : Kelompok DM

III : Kelompok DM yang diberi glibenklamid 0,09 mg/kgBB/hari

IV : Kelompok DM yang diberi kombinasi glibenklamid 0,09 mg/kgBB/hari dan minyak buah merah 0,3 ml/kgBB/hari

Tabel 3 menunjukkan total lesi Ebstein Armanni dari yang terbesar sampai yang terkecil adalah kelompok DM, kelompok DM yang diberi glibenklamid 0,09 mg/kgBB/hari,

<sup>1</sup>Penulis untuk korespondensi: Fakultas Kedokteran Universitas Riau, Alamat: Jl. Diponegoro No. 1, Pekanbaru, E-mail: [elsirahmadhanihardi@gmail.com](mailto:elsirahmadhanihardi@gmail.com)

<sup>2</sup>Bagian Histologi Fakultas Kedokteran Universitas Riau

<sup>3</sup>Bagian Farmakologi Fakultas Kedokteran Universitas Riau



kelompok DM yang diberi kombinasi glibenklamid 0,09 mg/kgBB/hari dan minyak buah merah 0,3 ml/kgBB/hari, dan kelompok normal. Hasil penelitian didapatkan sebaran data normal dan uji varians sama. Pada uji Anova diperoleh nilai  $p=0,00$  ( $p<0,05$ ) yang menunjukkan bahwa minimal terdapat dua kelompok yang berbeda secara bermakna. Selanjutnya, dilakukan uji *post hoc* untuk mengetahui lebih lanjut total lesi Ebstein Armanni pada tiap kelompok perlakuan. Hasilnya dapat dilihat pada Tabel 4 berikut ini :

Tabel 4. Perbandingan lesi Ebstein Armanni pada berbagai perlakuan

Perlakuan	Signifikasi
Normal vs DM	$p=0,00^*$
Normal vs DM + glibenklamid 0,09 mg/kgBB/hari	$p=0,004^*$
Normal vs DM + kombinasi glibenklamid 0,09 mg/kgBB/hari dan minyak buah merah 0,3 ml/kgBB/hari	$p=0,477$
DM vs DM + glibenklamid 0,09 mg/kgBB/hari	$p=0,01^*$
DM vs DM + kombinasi glibenklamid 0,09 mg/kgBB/hari dan minyak buah merah 0,3 ml/kgBB/hari	$p=0,00^*$
DM + glibenklamid 0,09 mg/kgBB/hari vs DM + kombinasi glibenklamid 0,09 mg/kgBB/hari dan minyak buah merah 0,3 ml/kgBB/hari	$p=0,017^*$

Keterangan:

\*(*significant*) : terdapat perbedaan yang bermakna secara statistik

Hasil uji statistik menunjukkan bahwa kelompok normal berbeda secara bermakna terhadap kelompok DM. Hal ini menunjukkan bahwa kelompok DM memiliki total lesi Ebstein Armanni yang lebih banyak dibandingkan kelompok normal. Perbedaan yang bermakna juga terdapat antara kelompok normal dengan kelompok DM yang diberi glibenklamid 0,09 mg/kgBB/hari. Hal ini menunjukkan bahwa kelompok DM yang diberi glibenklamid 0,09 mg/kgBB/hari memiliki total lesi Ebstein Armanni yang lebih banyak dibandingkan kelompok normal.

Perbedaan total lesi Ebstein Armanni yang bermakna juga terdapat antara kelompok DM dan kelompok DM yang diberi glibenklamid 0,09 mg/kgBB/hari. Hal ini menunjukkan bahwa pemberian glibenklamid 0,09 mg/kgBB/hari dapat mengurangi terbentuknya lesi Ebstein Armanni. Perbedaan total lesi Ebstein Armanni yang bermakna juga terdapat antara kelompok DM dan kelompok DM yang diberi kombinasi glibenklamid 0,09 mg/kgBB/hari dan minyak buah merah 0,3 ml/kgBB/hari. Hal ini menunjukkan bahwa pemberian kombinasi glibenklamid 0,09 mg/kgBB/hari dan minyak buah merah 0,3 ml/kgBB/hari pada tikus DM dapat mengurangi terbentuknya lesi Ebstein Armanni.

Perbedaan total lesi Ebstein Armanni yang bermakna juga terdapat antara kelompok DM yang diberi glibenklamid 0,09 mg/kgBB/hari dan kelompok DM yang diberi kombinasi glibenklamid 0,09 mg/kgBB/hari dan minyak buah merah 0,3 ml/kgBB/hari. Hal ini menunjukkan bahwa pemberian kombinasi glibenklamid 0,09 mg/kgBB/hari dan minyak

<sup>1</sup>Penulis untuk korespondensi: Fakultas Kedokteran Universitas Riau, Alamat: Jl. Diponegoro No. 1, Pekanbaru, E-mail: [elsirahmadhanihardi@gmail.com](mailto:elsirahmadhanihardi@gmail.com)

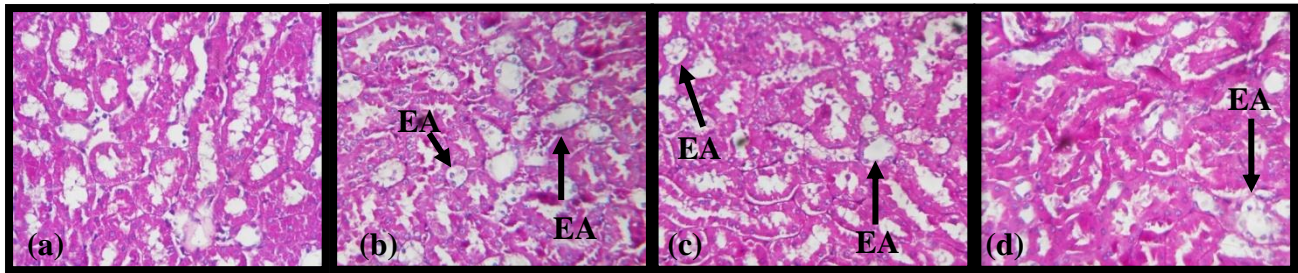
<sup>2</sup>Bagian Histologi Fakultas Kedokteran Universitas Riau

<sup>3</sup>Bagian Farmakologi Fakultas Kedokteran Universitas Riau

buah merah 0,3 ml/kgBB/hari lebih mengurangi terbentuknya lesi Ebstein Armanni dibandingkan dengan pemberian glibenklamid 0,09 mg/kgBB/hari saja.

Perbandingan antara kelompok normal dengan kelompok DM yang diberi kombinasi glibenklamid 0,09 mg/kgBB/hari dan minyak buah merah 0,3 ml/kgBB/hari tidak ditemukan perbedaan yang bermakna. Hal ini menunjukkan bahwa kelompok DM yang diberi kombinasi glibenklamid 0,09 mg/kgBB/hari dan minyak buah merah 0,3 ml/kgBB/hari memiliki gambaran mikroskopis tubulus yang mendekati normal.

Gambaran mikroskopis lesi Ebstein Armanni berbagai perlakuan terlihat pada Gambar 2.



Gambar 2. Gambaran mikroskopis lesi Ebstein Armanni berbagai perlakuan. Pembesaran x400. Pewarnaan PAS. Keterangan : EA (Ebstein Armanni). (a) Kelompok normal; (b) Kelompok DM; (c) Kelompok DM yang diberi glibenklamid 0,09 mg/kgBB/hari; (d) Kelompok DM yang diberi kombinasi glibenklamid 0,09 mg/kgBB/hari dan minyak buah merah 0,3 ml/kgBB/hari

### 3. Dilatasi tubulus proksimal

Pada penelitian ini didapatkan data gambaran mikroskopis dilatasi tubulus proksimal yang dipulas dengan Pewarnaan Hematoksin Eosin (HE) seperti yang tercantum pada Tabel 5 berikut ini :

Tabel 5. Rata-rata gambaran mikroskopis dilatasi tubulus proksimal pada berbagai perlakuan

Nomor sampel	Dilatasi tubulus proksimal ( $\mu\text{m}$ )			
	Perlakuan			
	I	II	III	IV
1	14,50	18,37	16,97	15,15
2	15,22	18,05	16,90	15,12
3	14,50	17,70	16,35	14,43
4	14,75	17,70	16,45	14,87
5	15,00	18,18	16,05	14,90
Total	73,97	90	82,72	74,47
Rata-rata	14,78 $\pm$ 0,32	17,99 $\pm$ 0,30	16,55 $\pm$ 0,39	14,90 $\pm$ 0,29

Keterangan :

I : Kelompok normal

II : Kelompok DM

III : Kelompok DM yang diberi glibenklamid 0,09 mg/kgBB/hari

<sup>1</sup>Penulis untuk korespondensi: Fakultas Kedokteran Universitas Riau, Alamat: Jl. Diponegoro No. 1, Pekanbaru, E-mail: [elsirahmadhanihardi@gmail.com](mailto:elsirahmadhanihardi@gmail.com)

<sup>2</sup>Bagian Histologi Fakultas Kedokteran Universitas Riau

<sup>3</sup>Bagian Farmakologi Fakultas Kedokteran Universitas Riau

IV : Kelompok DM yang diberi kombinasi glibenklamid 0,09 mg/kgBB/hari dan minyak buah merah 0,3 ml/kgBB/hari

Tabel 5 menunjukkan hasil tubulus proksimal yang mengalami dilatasi dari yang terbesar sampai yang terkecil adalah kelompok DM, kelompok DM yang diberi glibenklamid 0,09 mg/kgBB/hari dan kelompok DM yang diberi kombinasi glibenklamid 0,09 mg/kgBB/hari dan minyak buah merah 0,3 ml/kgBB/hari. Rata-rata diameter tubulus proksimal pada kelompok normal merupakan acuan diameter tubulus proksimal yang normal. Hasil penelitian didapatkan sebaran data normal dan uji varians sama. Pada uji Anova diperoleh nilai  $p=0,00$  ( $p<0,05$ ) yang menunjukkan bahwa minimal terdapat dua kelompok yang berbeda secara bermakna. Selanjutnya, dilakukan uji *post hoc* untuk mengetahui lebih lanjut perbedaan dilatasi tubulus proksimal pada tiap kelompok. Hasilnya dapat dilihat pada Tabel 6 berikut ini :

Tabel 6. Perbandingan dilatasi tubulus proksimal pada berbagai perlakuan

Perlakuan	Signifikansi
Normal vs DM	$p=0,00^*$
Normal vs DM + glibenklamid 0,09 mg/kgBB/hari	$p=0,00^*$
Normal vs DM + kombinasi glibenklamid 0,09 mg/kgBB/hari dan minyak buah merah 0,3 ml/kgBB/hari	$p=0,632$
DM vs DM + glibenklamid 0,09 mg/kgBB/hari	$p=0,00^*$
DM vs DM + kombinasi glibenklamid 0,09 mg/kgBB/hari dan minyak buah merah 0,3 ml/kgBB/hari	$p=0,00^*$
DM + glibenklamid 0,09 mg/kgBB/hari vs DM + kombinasi glibenklamid 0,09 mg/kgBB/hari dan minyak buah merah 0,3 ml/kgBB/hari	$p=0,00^*$

Keterangan:

\*(*significant*) : terdapat perbedaan yang bermakna secara statistik

Hasil uji statistik menunjukkan bahwa kelompok normal berbeda secara bermakna terhadap kelompok DM. Hal ini menunjukkan bahwa pada kelompok DM terdapat tubulus proksimal yang mengalami dilatasi dibandingkan kelompok normal. Perbedaan yang bermakna juga terdapat antara kelompok normal dengan kelompok DM yang diberi glibenklamid 0,09 mg/kgBB/hari. Hal ini menunjukkan bahwa pada kelompok DM yang diberi glibenklamid 0,09 mg/kgBB/hari terdapat tubulus proksimal yang mengalami dilatasi dibandingkan kelompok normal.

Perbedaan yang bermakna juga terdapat antara kelompok DM dengan kelompok DM yang diberi glibenklamid 0,09 mg/kgBB/hari. Hal ini menunjukkan bahwa pemberian glibenklamid 0,09 mg/kgBB/hari pada tikus DM mengurangi terjadinya dilatasi tubulus proksimal. Perbedaan yang bermakna juga terdapat antara kelompok DM dengan kelompok DM yang diberi kombinasi glibenklamid 0,09 mg/kgBB/hari dan minyak buah merah 0,3 ml/kgBB/hari. Hal ini menunjukkan bahwa pemberian kombinasi glibenklamid 0,09

<sup>1</sup>Penulis untuk korespondensi: Fakultas Kedokteran Universitas Riau, Alamat: Jl. Diponegoro No. 1, Pekanbaru, E-mail: [elsirahmadhanihardi@gmail.com](mailto:elsirahmadhanihardi@gmail.com)

<sup>2</sup>Bagian Histologi Fakultas Kedokteran Universitas Riau

<sup>3</sup>Bagian Farmakologi Fakultas Kedokteran Universitas Riau

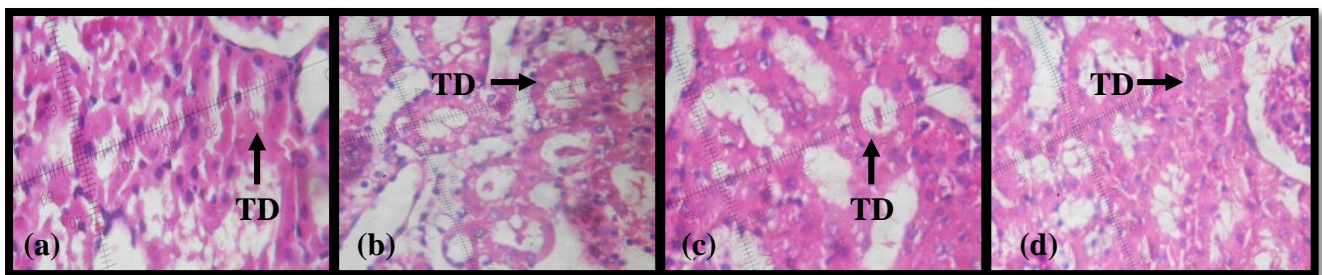


mg/kgBB/hari dan minyak buah merah 0,3 ml/kgBB/hari pada tikus DM mengurangi terjadinya dilatasi tubulus proksimal.

Perbandingan yang bermakna juga terdapat antara kelompok DM yang diberi glibenklamid 0,09 mg/kgBB/hari dengan kelompok DM yang diberi kombinasi glibenklamid 0,09 mg/kgBB/hari dan minyak buah merah 0,3 ml/kgBB/hari. Hal ini menunjukkan bahwa pemberian kombinasi glibenklamid 0,09 mg/kgBB/hari dan minyak buah merah 0,3 ml/kgBB/hari lebih mengurangi terjadinya dilatasi tubulus proksimal dibandingkan dengan pemberian glibenklamid 0,09 mg/kgBB/hari saja.

Perbandingan antara kelompok normal dengan kelompok DM yang diberi kombinasi glibenklamid 0,09 mg/kgBB/hari dan minyak buah merah 0,3 ml/kgBB/hari tidak ditemukan perbedaan yang bermakna. Hal ini menunjukkan bahwa kelompok DM yang diberi kombinasi glibenklamid 0,09 mg/kgBB/hari dan minyak buah merah 0,3 ml/kgBB/hari memiliki gambaran mikroskopis tubulus proksimal yang mendekati normal.

Gambaran mikroskopis dilatasi tubulus proksimal berbagai perlakuan terlihat pada Gambar 3.



Gambar 3. Gambaran mikroskopis diameter tubulus proksimal berbagai perlakuan. Pembesaran x400. Pewarnaan HE. Keterangan : TD (tubulus yang diukur) (a) Kelompok normal; (b) Kelompok DM; (c) Kelompok DM yang diberi glibenklamid 0,09 mg/kgBB/hari; (d) Kelompok DM yang diberi kombinasi glibenklamid 0,09 mg/kgBB/hari dan minyak buah merah 0,3 ml/kgBB/hari

Pada penelitian ini tidak ditemukan gambaran atrofi tubulus pada keempat kelompok hewan coba. Gambaran fibrosis peritubular juga tidak ditemukan pada sediaan ginjal keempat kelompok hewan coba.

## PEMBAHASAN

### 1. Pengaruh diabetes melitus terhadap gambaran mikroskopis tubulus proksimal renalis tikus

Perubahan struktur mikroskopis pada tubulus proksimal terjadi karena keadaan diabetes yang diinduksi pemberian *streptozotocin*. *Streptozotocin* menginduksi nekrosis sel  $\beta$  pankreas sehingga menghambat sekresi insulin dan menyebabkan *Insulin-Dependent Diabetes Mellitus* (IDDM). *Streptozotocin* memasuki sel  $\beta$  pankreas melalui *glucose transporter 2* (GLUT2) dan berakumulasi di dalam sel  $\beta$  pankreas. *Streptozotocin* menyebabkan alkilasi DNA dan deplesi  $NAD^+$  intraseluler yang pada akhirnya menyebabkan nekrosis sel  $\beta$  pankreas. Gangguan sintesis insulin di sel  $\beta$  pankreas menyebabkan keadaan DM pada hewan coba.<sup>19</sup>

<sup>1</sup>Penulis untuk korespondensi: Fakultas Kedokteran Universitas Riau, Alamat: Jl. Diponegoro No. 1, Pekanbaru, E-mail: [elsirahmadhanihardi@gmail.com](mailto:elsirahmadhanihardi@gmail.com)

<sup>2</sup>Bagian Histologi Fakultas Kedokteran Universitas Riau

<sup>3</sup>Bagian Farmakologi Fakultas Kedokteran Universitas Riau

Hasil penelitian pada kelompok DM yang diinduksi *streptozotocin* dengan dosis 60 mg/kgBB memperlihatkan gambaran mikroskopis ginjal yang mengalami hipertrofi sel tubulus proksimal, akumulasi glikogen intraseluler (lesi Ebstein Armanni) dan dilatasi tubulus. Hasil penelitian ini didukung oleh penelitian Teoh et al yang menunjukkan bahwa ginjal tikus DM memperlihatkan gambaran hipertrofi sel tubulus proksimal, akumulasi glikogen intraseluler (lesi Ebstein Armanni) dan dilatasi tubulus setelah 20 hari injeksi dosis tunggal *streptozotocin*.<sup>20</sup>

Kerusakan pada tubulus proksimal terjadi sebagai akibat langsung maupun tidak langsung DM. Kerusakan langsung tubulus proksimal diakibatkan oleh keadaan hiperglikemia dan stres oksidatif yang terjadi selama periode hiperglikemia. Kerusakan tidak langsung disebabkan oleh respon hormon vasoaktif di ginjal, sitokin proinflamasi, dan perubahan hemodinamik ginjal.<sup>7,8</sup>

Penyerapan glukosa oleh sel-sel tubulus proksimal tidak bergantung pada insulin sehingga sel tubulus proksimal sangat rentan terhadap kerusakan yang disebabkan oleh hiperglikemia. Periode hiperglikemia menyebabkan peningkatan beban kerja sel-sel tubulus proksimal dalam mereabsorpsi glukosa yang kemudian menginduksi terjadinya hipertrofi sel-sel tubulus proksimal.<sup>7</sup> Penelitian Vallon menunjukkan bahwa terjadi peningkatan reabsorpsi glukosa pada tikus DM yang diinduksi pemberian *streptozotocin* yang ditandai dengan meningkatnya ekspresi mRNA untuk protein SGLT 1 dan SGLT2. Protein SGLT1 dan SGLT2 merupakan transporter terkait natrium yang mengatur perpindahan glukosa dari lumen tubulus ke dalam sel tubulus.<sup>21</sup>

Hipertrofi sel-sel tubulus proksimal juga diinduksi oleh *transforming growth factor-β* (TGF-β). Hiperglikemia menyebabkan peningkatan produksi dan aktivasi TGF-β oleh sel tubulus proksimal. *Transforming growth factor-β* menginduksi berhentinya siklus pembelahan sel pada tahap G<sub>1</sub> dengan menginduksi *cyclin dependent kinase* (CDK) inhibitor dan p27. *Transforming growth factor-β* juga menstimulasi sintesis protein intraseluler dan menurunkan proteolisis protein intraseluler. Peningkatan jumlah protein intraseluler dan hambatan proliferasi sel mengakibatkan terjadinya hipertrofi sel tubulus proksimal.<sup>21,22</sup>

Hiperglikemia juga menyebabkan stres oksidatif pada diabetes yang ditandai dengan banyaknya radikal bebas di jaringan. Hiperglikemia menyebabkan peningkatan produksi peroksinitrit (ONOO<sup>-</sup>) di sel tubulus proksimal. Peroksinitrit meningkatkan aktivitas *caspase* 3, 8 dan 9. Aktivitas *caspase* 3, 8 dan 9 menyebabkan fragmentasi DNA yang pada akhirnya menyebabkan apoptosis sel tubulus proksimal.<sup>23</sup>

Kerusakan pada tubulus juga disebabkan oleh hormon vasoaktif seperti angiotensin II dan *nitric oxide* (NO) yang mengganggu aliran darah peritubular. Gangguan aliran darah menyebabkan hipoksia sel-sel tubulus proksimal yang selanjutnya berkontribusi dalam menyebabkan kerusakan tubulus proksimal.<sup>23</sup> Akumulasi kerusakan-kerusakan molekuler menyebabkan perubahan struktur histologis tubulus yang terjadi secara bertahap yaitu hipertrofi sel tubulus, akumulasi glikogen intraseluler, penebalan membran basal tubulus, dilatasi tubulus, atrofi tubulus dan fibrosis peritubular.<sup>7,8</sup>

Akumulasi glikogen intraseluler (lesi Ebstein Armanni) yang diamati pada ginjal kelompok DM terjadi karena adanya infiltrasi glikogen ke dalam sel-sel tubulus proksimal. Infiltrasi glikogen terjadi karena konsentrasi glukosa yang tinggi di plasma darah. Paparan hiperglikemia pada sel-sel tubulus proksimal tidak hanya terjadi pada membran basolateral sel tubulus tetapi juga pada membran luminal. Membran luminal terpajan kadar glukosa yang terdapat di dalam filtrat glomerulus. Hal ini menyebabkan sel tubulus lebih banyak mereabsorpsi dan terpajan glukosa.<sup>21</sup> Glukosa berlebihan yang direabsorpsi oleh sel tubulus

<sup>1</sup>Penulis untuk korespondensi: Fakultas Kedokteran Universitas Riau, Alamat: Jl. Diponegoro No. 1, Pekanbaru, E-mail: [elsirahmadhanihardi@gmail.com](mailto:elsirahmadhanihardi@gmail.com)

<sup>2</sup>Bagian Histologi Fakultas Kedokteran Universitas Riau

<sup>3</sup>Bagian Farmakologi Fakultas Kedokteran Universitas Riau

proksimal kemudian disimpan di dalam sel dalam bentuk glikogen yang terlihat jernih pada pewarnaan PAS.<sup>8,24</sup>

## 2. Pengaruh pemberian glibenklamid terhadap gambaran mikroskopis tubulus proksimal renalis tikus DM

Pemberian glibenklamid dosis 0,09 mg/kgBB/hari pada tikus DM memberikan perbaikan yang bermakna dalam menurunkan hipertrofi sel-sel tubulus proksimal, akumulasi glikogen intraseluler (lesi Ebstein Armanni) dan dilatasi tubulus proksimal dibandingkan kelompok DM. Perbaikan gambaran hipertrofi sel-sel tubulus, akumulasi glikogen intraseluler (lesi Ebstein Armanni) dan dilatasi tubulus proksimal pada kelompok ini diduga karena efek hipoglikemia yang distimulasi oleh glibenklamid.

Glibenklamid merupakan golongan sulfonilurea dengan waktu paruh 3-5 jam yang menyebabkan hipoglikemia dengan menstimulasi pengeluaran insulin oleh sel  $\beta$  pankreas. Sulfonilurea juga mereduksi metabolisme insulin oleh hepar sehingga waktu paruh insulin menjadi lebih panjang. Sulfonilurea berikatan dengan subunit *sulfonylurea receptor-1* (SUR1) dan kemudian menghambat kanal ATP-K<sup>+</sup>. Penurunan jumlah K<sup>+</sup> intraseluler menyebabkan depolarisasi membran dan terbukanya kanal Ca<sup>2+</sup>. Peningkatan konsentrasi Ca<sup>2+</sup> intraseluler menstimulasi sekresi insulin dari vesikel-vesikel yang terdapat di dalam sel  $\beta$  pankreas.<sup>25</sup>

Insulin yang disekresikan oleh sel  $\beta$  pankreas memiliki beberapa mekanisme kerja yang dapat menurunkan kadar glukosa darah. Insulin dapat menimbulkan efek pada sel sasaran dengan berikatan pada reseptor insulin yang kemudian menyebabkan fosforilasi *Insulin Receptor Substrat 1-4* (IRS 1-4). *Insulin Receptor Substrat* yang telah terfosforilasi kemudian berikatan dengan domain protein yang secara langsung terlibat dalam memperantarai berbagai efek insulin.<sup>25</sup>

Insulin mempermudah masuknya glukosa ke dalam sebagian besar sel dengan meningkatkan translokasi transporter glukosa ke membran sel. Insulin juga merangsang glikogenesis baik di otot maupun di hati dan menghambat glikogenolisis oleh hati. Insulin selanjutnya menurunkan pengeluaran glukosa oleh hati dengan menghambat glukoneogenesis.<sup>26</sup>

Kadar glukosa darah pada kelompok DM yang diberi glibenklamid menurun selama glibenklamid aktif bekerja, namun mulai naik ketika glibenklamid mulai di metabolisme. Hal ini diduga menyebabkan peningkatan yang tidak signifikan terhadap beban kerja reabsorpsi glukosa, pembentukan TGF- $\beta$ , pembentukan peroksinitrit dan gangguan hemodinamik ginjal. Peningkatan yang tidak signifikan ini menyebabkan perbaikan gambaran hipertrofi sel-sel tubulus proksimal, lesi Ebstein Armanni dan dilatasi tubulus yang bermakna dibandingkan dengan kelompok DM, namun belum mendekati gambaran mikroskopis normal. Penelitian Yassin *et al* juga menunjukkan bahwa pemberian glibenklamid pada tikus DM memberikan perbaikan pada gambaran mikroskopis tubulus proksimal renalis, namun berlangsung secara lambat.<sup>27</sup>

<sup>1</sup>Penulis untuk korespondensi: Fakultas Kedokteran Universitas Riau, Alamat: Jl. Diponegoro No. 1, Pekanbaru, E-mail: [elsirahmadhanihardi@gmail.com](mailto:elsirahmadhanihardi@gmail.com)

<sup>2</sup>Bagian Histologi Fakultas Kedokteran Universitas Riau

<sup>3</sup>Bagian Farmakologi Fakultas Kedokteran Universitas Riau

### 3. Pengaruh pemberian kombinasi glibenklamid dan minyak buah merah (*Pandanus conoideus* Lam) terhadap gambaran mikroskopis tubulus proksimal renalis tikus DM

Pemberian kombinasi glibenklamid 0,09 mg/kgBB/hari dan minyak buah merah 0,3 ml/kgBB/hari memberikan perbaikan yang bermakna dalam menurunkan hipertrofi sel-sel tubulus proksimal, akumulasi glikogen intraseluler (lesi Ebstein Armanni) dan dilatasi tubulus proksimal dibandingkan kelompok DM serta kelompok DM yang diberikan glibenklamid dosis 0,09 mg/kgBB. Perbaikan gambaran tubulus yang lebih baik pada kelompok DM yang diberi kombinasi glibenklamid 0,09 mg/kgBB/hari dan minyak buah merah 0,3 ml/kgBB/hari diduga terjadi karena kombinasi efek hipoglikemik dari glibenklamid dan efek antioksidan dari kandungan minyak buah merah.

Minyak buah merah (*P. conoideus* Lam) merupakan salah satu bahan makanan yang diketahui mengandung antioksidan seperti  $\beta$ -karoten dan  $\alpha$ -tokoferol yang sangat tinggi.<sup>11,12</sup>  $\beta$ -karoten bersifat sebagai antioksidan karena molekul  $\beta$ -karoten memiliki satu molekul elektron yang dapat disumbangkan ke radikal bebas dan mampu menangkap radikal peroksil.<sup>28</sup>  $\beta$ -karoten pada konsentrasi yang tinggi mampu melindungi lipid dari kerusakan oksidatif. Terdapat tiga mekanisme reaksi  $\beta$ -karoten terhadap radikal bebas, yaitu : penambahan radikal, abstraksi hidrogen dari  $\beta$ -karoten dan reaksi transfer elektron. Pemberian  $\beta$ -karoten pada keadaan stres oksidatif mampu menekan aktivasi NF $\kappa$ B, produksi IL-6, dan TNF- $\alpha$ .  $\beta$ -karoten juga menghambat apoptosis sel dengan meningkatkan ekspresi protein anti apoptosis Bcl-2.<sup>29</sup>

$\alpha$ -tokoferol memberikan efek antioksidan dengan melawan peroksidasi lipid.<sup>56</sup> Penelitian Craven *et al* menunjukkan bahwa pemberian suplementasi  $\alpha$ -tokoferol mampu menekan produksi TGF- $\beta$  di sel-sel tubulus proksimal.<sup>30</sup> Supresi TGF- $\beta$  pada pemberian minyak buah merah diduga turut menekan sintesis protein intraseluler dan hambatan proliferasi sel sehingga hipertrofi sel tidak terjadi secara bermakna.

Efek  $\beta$ -karoten dan  $\alpha$ -tokoferol secara bersama-sama saling meningkatkan kemampuan melawan radikal bebas.<sup>28</sup> Pemberian minyak buah merah diduga mampu menurunkan kadar radikal bebas seperti peroksinitrit (ONOO<sup>-</sup>) dan gangguan hemodinamik ginjal yang mampu merusak makromolekul sehingga mencegah dilatasi tubulus.

Penelitian Winarto juga menunjukkan bahwa minyak buah merah dapat meningkatkan efek hipoglikemik dari glibenklamid pada pemberian secara bersamaan. Pemberian minyak buah merah mampu menurunkan kadar glukosa darah hingga mencapai keadaan normoglikemik.<sup>18</sup> Kadar glukosa darah yang normal pada kelompok DM yang diberi kombinasi glibenklamid 0,09 mg/kgBB/hari dan minyak buah merah 0,3 ml/kgBB/hari diduga tidak menyebabkan peningkatan reabsorpsi glukosa oleh sel-sel tubulus proksimal, pembentukan TGF- $\beta$ , pembentukan radikal bebas dan gangguan hemodinamik sehingga tidak menginduksi terjadinya hipertrofi sel tubulus proksimal, lesi Ebstein Armanni serta dilatasi tubulus proksimal yang bermakna bila dibandingkan dengan kelompok DM.

Hasil penelitian selanjutnya menunjukkan perbandingan antara kelompok DM yang diberi kombinasi glibenklamid 0,09 mg/kgBB/hari dan minyak buah merah 0,3 ml/kgBB/hari dengan kelompok normal tidak memiliki perbedaan yang bermakna secara statistik pada ketiga parameter yang diamati. Perbaikan gambaran tubulus yang diamati pada kelompok DM yang diberi kombinasi glibenklamid 0,09 mg/kgBB/hari dan minyak buah merah 0,3 ml/kgBB/hari mendekati gambaran mikroskopis normal.

<sup>1</sup>Penulis untuk korespondensi: Fakultas Kedokteran Universitas Riau, Alamat: Jl. Diponegoro No. 1, Pekanbaru, E-mail: [elsirahmadhanihardi@gmail.com](mailto:elsirahmadhanihardi@gmail.com)

<sup>2</sup>Bagian Histologi Fakultas Kedokteran Universitas Riau

<sup>3</sup>Bagian Farmakologi Fakultas Kedokteran Universitas Riau

## **KESIMPULAN**

1. Gambaran mikroskopis ginjal tikus DM menunjukkan gambaran kerusakan tubulus (hipertrofi sel tubulus), lesi Ebstein Armanni dan dilatasi tubulus.
2. Pemberian glibenklamid pada tikus DM memperbaiki gambaran kerusakan tubulus (hipertrofi sel tubulus), lesi Ebstein Armanni dan dilatasi tubulus, namun belum mendekati gambaran mikroskopis normal.
3. Pemberian kombinasi glibenklamid dan minyak buah merah lebih memperbaiki gambaran kerusakan tubulus (hipertrofi sel tubulus), lesi Ebstein Armanni dan dilatasi tubulus bila dibandingkan dengan pemberian glibenklamid saja.

## **SARAN**

1. Perlu dilakukan penelitian lebih lanjut dengan periode penelitian yang lebih lama dan kadar glukosa darah tikus yang lebih tinggi agar pengaruh pemberian kombinasi glibenklamid dan minyak buah merah dalam mencegah progresivitas kerusakan tubulus renalis tikus DM dapat diamati lebih baik.
2. Perlu dilakukan penelitian histopatologi ginjal lebih lanjut dengan pewarnaan yang lebih spesifik dan penggunaan mikroskop elektron.

## **UCAPAN TERIMA KASIH**

Penulis mengucapkan terima kasih kepada dr. Winarto, M.Kes selaku pembimbing I dan dr. Dina Fauzia, Sp.FK selaku pembimbing II yang telah memberikan masukan, nasehat, ilmu serta meluangkan waktu dan pikirannya untuk membimbing penulis. Terima kasih juga kepada dr. Zulkifli Malik, Sp.PA dan dr. Dimas P. Nugraha, M.Sc selaku dosen penguji yang telah memberikan kritik dan sarannya demi kelancaran dan kesempurnaan skripsi ini, dr. Wiwit Ade F. Sp.PA selaku tim supervisi yang juga banyak memberikan masukan, bimbingan dan nasehat kepada penulis, serta dr. Amru Sofian, Sp.OG(K) Onk MWALS selaku penasehat akademis yang telah membimbing penulis selama ini.

## **DAFTAR PUSTAKA**

1. Powers AC. Diabetes mellitus. In: Fauci SA, Kasper LD, Longo DL, Braunwald E, Hauser LS, Jameson JL, editors. *Harrison's Principles of Internal Medicine*, 17th ed. New York: McGraw-Hill; 2008. p.2275-2304.
2. PB PERKENI. *Konsensus Pengelolaan Diabetes Melitus tipe 2*. Jakarta: PB PERKENI; 2006.
3. King GL, Mary RL. Hyperglycemia-induced oxidative stress in diabetic complication. *Histochem Cell Biol*.2004;122:333–338.
4. Fioretto P, Mauer M. Histopathology of diabetic nephropathy. *Semin Nephrol March* 2007; 27 (2) : 195-207.
5. Wei W, Liu Q, Tan Y, Liu L, Li, Cai L. Oxidative stress, diabetes, and diabetic complications. *Hemoglobin*. 2009; 33(5):370-377.

<sup>1</sup>Penulis untuk korespondensi: Fakultas Kedokteran Universitas Riau, Alamat: Jl. Diponegoro No. 1, Pekanbaru, E-mail: [elsirahmadhanihardi@gmail.com](mailto:elsirahmadhanihardi@gmail.com)

<sup>2</sup>Bagian Histologi Fakultas Kedokteran Universitas Riau

<sup>3</sup>Bagian Farmakologi Fakultas Kedokteran Universitas Riau



6. Taneda S, Honda K, Tomidokoro K, Uto K, Nitta K. Eicosapentaenoic acid restores diabetic tubular injury through regulating oxidative stress and mitochondrial apoptosis. *Am J Physiol Renal Physiol*. 2010; 299 : F1451 : F1461.
7. Singh DK, Farrington K. The tubulointerstitium in early diabetic nephropathy : prime target or bystander? *International Journal of Diabetes in Developing Country*. Oct – Dec 2010; Vol 30:4.
8. Ziyadeh FN, Goldfarb S. The renal tubulointerstitium in diabetes mellitus. *Kidney International*. 1991; Vol 39 : 464 – 475. Erejuwa OO, Sulaiman SA, Wahab MS, Sirajudeen KNS, Salleh MS, Gurtu S. Effect of glibenclamide alone versus glibenclamide and honey on oxidative stress in pancreas of streptozotocin-induced diabetic rats. *International Journal of Applied Research in Natural Product*. June-July 2011; Vol. 4 (2), pp : 1- 10.
9. Erejuwa OO, Sulaiman SA, Wahab MS, Sirajudeen KNS, Salleh MS, Gurtu S. Effect of glibenclamide alone versus glibenclamide and honey on oxidative stress in pancreas of streptozotocin-induced diabetic rats. *International Journal of Applied Research in Natural Product* [serial on the internet]. June-July 2011 [cited 2011 Oct 21] ; Vol. 4 (2), pp : 1- 10. Available online <http://www.doaj.org/doaj?func=openurl&issn=19406223&genre=journal>.
10. Gilbert RE, Cooper ME. The tubulointerstitium in progressive diabetic kidney disease : More than an aftermath of glomerular injury. *Kidney International*; Vol. 5, pp. 1627 – 1637.
11. Wahyuniari Ika, Soesatyo M, Ghufro M, Yustina, Sumiwi A, Wiryawan S. Minyak Buah Merah Meningkatkan Aktivitas Proliferasi Limfosit Limpa Mencit Setelah Infeksi *Listeria Monocytogenes*. *Jurnal Veteriner* September 2009 Vol. 10 No. 3 : 143-149.
12. Wijaya H, Pohan HG. Kajian teknis standar minyak buah merah. Prosiding PPI Standardisasi 2009 - Jakarta, 19 November 2009.
13. Winarto, Madiyan M, Anisah N. The effect of *Pandanus conoideus* Lam. oil on pancreatic  $\beta$ -cells and glibenclamide hypoglycemic effect of diabetic wistar rats. *BIK* Vol. 41, No.1, Maret 2009 : 11-19.
14. Soon YY, Tan BKH. Evaluation of the Hypoglycemic and Anti-Oxidant Activities of *Morinda officinalis* in Streptozotocin-induced Diabetic Rats. *Singapore Med J* 2002; 43(2): 077-085.
15. Pagtalunan ME, Miller P, Eagle SJ, Nelson RG, Myers BD, Rennke HG, et.al. Podocyte loss and progressive glomerular injury in type II diabetes. *The Journal of Clinical Investigation*. Jan 1997; Vol 99 : 2.
16. Sato N, Komatsu K, Kurumatani H. Late onset of diabetic nephropathy in spontaneously diabetic GK rats *Am J Nephrol*. 2003; 23 : 334 – 342.
17. Consensus on Pathology of IgA Nephropathy. The International IgA Nephropathy Network. (Sept 14- 16, 2005).
18. Dahlan MS. Statistik kedokteran dan kesehatan, edisi 5. Jakarta:Salemba Medika;2011.
19. Lenzen S. Alloxan and streptozotocin diabetes. *Int J Mol Med*. 2001;7:311-315.
20. Teoh SL, Latief A, Das S. Histological changes in kidneys of experimental diabetic rats fed with *Momordica charantia* (bitter melon) extract. *Romanian Journal of Morphology and Embryology*. 2010 51(1):91–95.

<sup>1</sup>Penulis untuk korespondensi: Fakultas Kedokteran Universitas Riau, Alamat: Jl. Diponegoro No. 1, Pekanbaru, E-mail: [elsirahmadhanihardi@gmail.com](mailto:elsirahmadhanihardi@gmail.com)

<sup>2</sup>Bagian Histologi Fakultas Kedokteran Universitas Riau

<sup>3</sup>Bagian Farmakologi Fakultas Kedokteran Universitas Riau

21. Valoon V. The proximal tubule in the pathophysiology of the diabetic kidney. *Am J Physiol Integr Comp Physiol*. 2011. 300:R1009-R1022.
22. Sharma K, Ziyadeh FN. Hyperglycemia and diabetic kidneys disease. The case for TGF- $\beta$  as a key mediator. *Diabetes*. 1995. Vol 44.
23. Allen DA, Harwood S, Varaganam M, Raftery MJ, Yaqoob MM. High glucose induced oxidative stress causes apoptosis in proximal tubular epithelial cells and is mediated by multiple caspases. *The Faseb Journal*. 2003. Vol 17 :908-910.
24. Kim HJ, Kong MK, Kim YC. Beneficial effects of phellodendri cortex extract on hyperglycemia and diabetic nephropathy in streptozotocin-induced diabetic rats. *BMB reports*. 2008.
25. Murray RK, Granner DK, Rodwell VW. *Biokimia harper*. Edisi : 27. Jakarta: EGC; 2009.
26. Sherwood L. *Fisiologi manusia dari sel ke sistem*. Jakarta : EGC;2001.
27. Yassin M, Ashour AR, Elyazhi NR. Alterations in body weight, protein profile, non-protein nitrogen constituents and kidney structure in diabetic rats under glibenclamide treatment. *Journal of the Islamic University of Gaza*. 2004. Vol 12;1;37-54.
28. Paiva S, Russell RM. B-carotene and other carotenoids as antioxidants. *Journal of the American College of Nutrition*. 1999. Vol 8;5;426-433.
29. Balsano C, Alisi A. Antioxidant effects of natural bioactive compounds. *Current Pharmaceutical Design*. 2009. 15:3063-3073.
30. Craven PA, Derubertis FR, Kagan VE, Melhem M, Studer RK. Effect of supplementation with vitamin C or E in albuminuria, glomerular TGF- $\beta$ , and glomerular size in diabetes. *Journal of the American Society of Nephrology*. 1997. 1046-1414.

<sup>1</sup>Penulis untuk korespondensi: Fakultas Kedokteran Universitas Riau, Alamat: Jl. Diponegoro No. 1, Pekanbaru, E-mail: [elsirahmadhanihardi@gmail.com](mailto:elsirahmadhanihardi@gmail.com)

<sup>2</sup>Bagian Histologi Fakultas Kedokteran Universitas Riau

<sup>3</sup>Bagian Farmakologi Fakultas Kedokteran Universitas Riau