

Gambaran Histologi Ren Tikus Putih (*Rattus norvegicus L.*) yang Diinduksi Insulin**Histological Overview of White Rat Kidneys (*Rattus norvegicus L.*) Induced by Insulin****Silvana Tana, Melia Nourmalitasari Shivaluhung, Teguh Suprihatin***

Program Studi Biologi, Fakultas Sains dan Matematika, Universitas Diponegoro

Jl. Prof. Jacob Rais, Tembalang, Semarang 50275, Indonesia

*Email : teguhsuprihatin@lecturer.undip.ac.id

Diterima 28 Juni 2022 / Disetujui 30 Oktober 2022

ABSTRAK

Prevalensi prediabetes meningkat setiap tahunnya dan diprediksi lebih dari 470 juta orang mengalami prediabetes pada tahun 2030. Induksi insulin eksogen secara terus-menerus menyebabkan resistensi insulin yang berujung pada kenaikan kadar glukosa darah yang dapat berefek pada histologi ren. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui gambaran histologi ren yang meliputi bobot ren, tebal kapsula Bowman, ukuran sel tubulus proksimal, ukuran sel tubulus distal, dan indeks ren setelah diinduksi dengan insulin eksogen. Penelitian ini dilaksanakan selama 6 bulan di Laboratorium Biologi Sktruktur dan Fungsi Hewan dan di kandang hewan uji, Departemen Biologi, Fakultas Sains dan Matematika, Universitas Diponegoro. Penelitian ini menggunakan 21 ekor tikus putih yang dibagi menjadi 3 kelompok perlakuan dan 7 ulangan. P0 (kontrol), P1 (diinduksi insulin glargine 1,80 IU/200gBB/hari selama 14 hari), dan P2 (diinduksi insulin glargine 1,80 IU/200gBB/hari selama 28 hari). Insulin glargine diinjeksikan melalui subkutan dengan menggunakan xiulin pen. Preparat histologi ren dibuat dengan metode parafin dan pewarnaan Hematoksilin-Eosin. Pengamatan preparat menggunakan alat fotomikrograf. Data penelitian kemudian dianalisis dengan uji Anova. Hasil uji Anova menunjukkan antar perlakuan berbeda tidak nyata. Kesimpulan dari penelitian ini adalah induksi insulin 1,80 IU/200gBB/hari selama 14 hari dan 28 hari tidak berpotensi menyebabkan perubahan pada struktur histologi ren tikus putih.

Kata kunci : insulin glargine, prediabetes, resistensi insulin

ABSTRACT

The prevalence of prediabetes increases every year and it is predicted that more than 470 million people will experience prediabetes in 2030. Continuous exogenous insulin induction causes insulin resistance which leads to an increase in blood glucose levels which can have an effect on renal histology. This study aims to determine the histology of the ren, which includes renal weight, Bowman's capsule thickness, proximal tubular cell size, distal tubular cell size, and ren index after being induced with exogenous insulin. This research was carried out for 6 months at the Laboratory of Structural and Functional Biology of Animals and in the cages of test animals, Department of Biology, Faculty of Science and Mathematics, Diponegoro University. This study used 21 white rats which were divided into 3 treatment groups and 7 replications. P0 (control), P1 (induced by insulin glargine 1.80 IU/200gBW/day for 14 days), and P2 (induced by insulin glargine 1.80 IU/200gBW/day for 28 days). Insulin glargine is injected subcutaneously using a xiulin pen. Renal histology preparations were made by paraffin method and Hematoxylin-Eosin staining. Observation of preparations using a photomicrograph. The research data were then analyzed by the Anova test. The results of the Anova test showed that the differences between treatments were not significantly different. The conclusion of this study was that insulin induction of 1.80 IU/200gBW/day for 14 days and 28 days did not have the potential to cause changes in the histological structure of the white rat's kidney.

Keywords : insulin glargine, prediabetes, insulin resistance

PENDAHULUAN

Prevalensi prediabetes meningkat setiap tahunnya dan diprediksi lebih dari 470 juta orang mengalami prediabetes pada tahun 2030, kejadian ini lebih tinggi dari prevalensi diabetes. Prediabetes didefinisikan sebagai kadar glukosa darah yang lebih tinggi dari batas normal, tetapi lebih rendah dari ambang batas diabetes. Prediabetes ditandai dengan kadar glukosa darah puasa sebesar 100-125 mg/dl dan kadar glukosa darah 2 jam setelah makan sebesar 140-199 mg/dl (Tabak et al., 2012). Prediabetes diawali oleh kondisi resistensi insulin. Insulin dibutuhkan untuk transportasi glukosa ke dalam sel dan dibutuhkan untuk mengubah permeabilitas membran sel terhadap glukosa. Induksi insulin eksogen secara terus menerus menyebabkan resistensi insulin. Resistensi insulin menyebabkan kemampuan sel target dalam merespon adanya insulin fisiologis menurun, sehingga penggunaan glukosa di dalam sel target juga menurun (Lestari, 2011).

Keadaan resistensi insulin direspon oleh pankreas dengan cara mensekresikan hormon insulin dengan jumlah yang lebih besar untuk menjaga kadar glukosa darah agar sel-sel tetap berenergi. Sel membutuhkan energi untuk berbagai proses sel, seperti pertumbuhan sel, pengiriman pesan sel, penuaan dan replikasi. Produksi insulin yang berlebihan oleh pankreas menyebabkan peningkatan kadar insulin yang bersirkulasi. Seiring berjalannya waktu, resistensi insulin cenderung memburuk dan fungsi sel beta pankreas menjadi tidak maksimal, sehingga pankreas tidak memproduksi insulin dengan kadar yang cukup. Dampaknya, terjadi peningkatan kadar glukosa darah dan akhirnya menuju pada kondisi prediabetes atau sampai ke diabetes melitus. Glukosa yang ada di sirkulasi darah akan difiltrasi pada glomerulus. Glukosa tidak terikat oleh protein atau makromolekul, oleh karena itu glukosa difiltrasi secara bebas di glomerulus (Tjandrawinata, 2016). Kadar glukosa darah akan semakin meningkat dan dapat menjadi toksik di tubuh, serta dapat menyebabkan perubahan histologi pada organ ren. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui gambaran histologi ren pada hewan coba yang diinduksi insulin. Indikator

penelitian yang diamati adalah diameter glomerulus, tebal kapsula Bowman, ukuran sel tubulus proksimal, ukuran sel tubulus distal, bobot ren dan Indeks ren.

METODE PENELITIAN

Penelitian sudah dilakukan selama 6 bulan di Laboratorium Biologi Struktur dan Fungsi Hewan dan di kandang hewan uji, Departemen Biologi, Fakultas Sains dan Matematika, Universitas Diponegoro. Pembuatan preparat histologi ren dilaksanakan di Balai Besar Veteriner Wates Yogyakarta. Penelitian ini telah disetujui oleh Komisi Etik Penelitian Kesehatan (KEPK) Fakultas Kedokteran, Universitas Diponegoro No.96/EC/H/FK-UNDIP/IX/2020.

Hewan Uji

Penelitian ini menggunakan hewan coba berupa tikus putih (*Rattus norvegicus L.*) strain wistar. Kriteria tikus putih yang digunakan adalah berjenis kelamin jantan, berumur 2 bulan, bobot 175-200 g dan memiliki kondisi tubuh yang sehat. Tikus putih didapatkan dari breeder yang terletak di Ngaliyan, Semarang, Jawa Tengah. Tikus putih diaklimasi di kandang individual dengan ukuran 30 x 30 x 40 cm selama 7 hari. Selama aklimasi tikus putih diberi makan dengan pakan komplit butiran Hi-Pro-Vit A594K dan minum secara ad libitum. Kandang dibersihkan dengan mengganti sekam selama 3 hari sekali. Tikus putih yang digunakan dalam penelitian ini berjumlah 21 ekor. Tikus putih dibagi menjadi 3 kelompok perlakuan dan 7 ulangan. Kelompok perlakuan terdiri dari kelompok P0 (Kelompok kontrol, tikus putih tidak diinduksi insulin glargine), kelompok P1 (kelompok yang diinduksi dengan insulin glargine 1,80 IU/200gBB/hari setiap hari selama 14 hari), kelompok P2 (Kelompok yang diinduksi dengan insulin glargine 1,80 IU/200gBB/hari setiap hari selama 28 hari). Tikus putih diinduksi dengan insulin glargine secara subkutan.

Pembuatan Preparat Histologi

Preparasi histologi ren dibuat dengan metode parafin dan pewarnaan Hematoksilin-Eosin

(Lampiran 2.1). Tahapan yang dilakukan yaitu organ ren diisolasi dan difiksasi dengan menggunakan larutan BNF 10% minimal 12-24 jam. Jaringan dimasukkan ke dalam tissue dek cassettes. Dehidrasi dilakukan menggunakan alkohol bertingkat dari konsentrasi 70% selama 1 jam diulang 2 kali, 95% selama 1 jam, alkohol absolut selama 1 jam dan diulang 4 kali. Clearing dilakukan dengan xylol selama 1 jam dan diulang 2 kali. Setelah proses clearing, jaringan kemudian diinfiltrasi dengan parafin selama 3 jam. Parafin pada proses ini memiliki titik leleh sekitar 54-58°C. Bahan tambahan seperti resin sintetik ditambahkan untuk meningkatkan kekerasan dan kelengketan agar potongan lebih baik. Parafin disimpan pada suhu 2-30°C di atas titik leleh parafin (60°C) agar parafin tetap berbentuk cair. Keseluruhan proses dari dehidrasi, clearing, dan infiltrasi dilakukan di dalam automatic tissue processor. Jaringan yang telah diproses perlu dibenamkan ke dalam parafin agar menjadi bentuk block sehingga mudah untuk dipotong. Embedding dilakukan dengan proses menuangkan sedikit parafin ke dalam cetakan jaringan dan dibiarkan terbentuk di lapisan bawah cetakan. Jaringan diambil dengan forceps hangat dan diletakkan di tengah cetakan. Tissue cassettes ditempatkan di atas cetakan. Cetakan kemudian dipindahkan ke pelat dingin untuk pendinginan. Pemotongan dilakukan dengan mikrotom putar dengan cara mengatur pisau mikrotom pada sudut 50°. Potongan jaringan diletakkan pada water bath dengan suhu sekitar 45°C hingga 50°C selama 30 detik. Potongan jaringan diletakkan di kaca objek yang sudah diberi mayer's albumin (Chong et al., 2012)

Pewarnaan dengan Hematoksin-Eosin (HE) dengan cara preparat dideparafinasi dengan xylol sampai bebas parafin, kemudian dimasukkan ke dalam alkohol 96%, 80%, 70%, 50%, 30%, aquadest, masukkan ke dalam larutan Hematoksin dengan waktu tertentu yaitu 3-7 detik. Air mengalir selama 10 menit kemudian cuci dengan aquadest. Preparat dimasukkan ke dalam alkohol berturut-turut mulai dari alkohol 30%, kemudian 50%, 70%. Kemudian ke dalam larutan Eosin selama 1-3 menit, lalu ke dalam alkohol 70%, 80%, 96%, 100% (alkohol absolut), selanjutnya dimasukkan ke dalam xylol. Preparat ditutup dengan gelas penutup setelah

ditetesi dengan canada balsam terlebih dahulu, kemudian diberi label (Mayangsari dkk., 2019).

Pengambilan Data

Penimbangan bobot ren dilakukan dengan menimbang ren kanan dan ren kiri. Organ ren ditimbang dengan timbangan digital (Mappa dkk., 2013). Penghitungan indeks ren dilakukan dengan menimbang tikus putih dan organ ren terlebih dahulu. Data bobot tikus putih dan bobot ren digunakan untuk perhitungan indeks ren dengan cara membandingkan bobot ren dan bobot tikus putih dengan rumus (Nasrullah dkk., 2015):

$$\frac{\text{Bobot ren}}{\text{Bobot tikus}} \times 100 \%$$

Pengamatan histologi ren dilakukan dengan menggunakan photomicrograph Olympus BX51. Diameter glomerulus dilakukan dengan mengukur diameter terlebar dan diameter tersempit kemudian dijumlah dan dibagi dua. Pengukuran jarak ruang kapsula Bowman dilakukan dengan mengukur pada tepi glomerulus sampai dengan tepi kapsula Bowman. Pengukuran tebal sel epitel tubulus proksimal dan distal diukur dari bagian tepi luar sampai ke dalam sel tubulus (Kotyk et al., 2016).

Analisis Data

Data gambaran histologi ren disajikan secara kuantitatif. Data hasil penelitian diameter glomerulus, tebal kapsula Bowman, ukuran sel tubulus proksimal, ukuran sel tubulus distal, bobot ren dan indeks ren pada kondisi prediabetes akibat resistensi insulin yang diinduksi secara eksogen, dianalisis statistik dengan menggunakan uji Anova dengan taraf kepercayaan 95% ($\alpha = 0,05$) menggunakan software SPSS 23 (Patala dkk., 2022).

HASIL DAN PEMBAHASAN

Hasil analisis statistik menunjukkan bahwa perlakuan insulin glargine dosis 1,80 IU/200gBB/hari terhadap diameter glomerulus, tebal kapsula Bowman, ukuran sel tubulus

proksimal, ukuran sel tubulus distal, bobot ren dan indeks ren menunjukkan berbeda tidak nyata ($P>0,05$) (Tabel 1.). Kelompok P0 berbeda tidak nyata dengan P1 dan P2. Kelompok P1 berbeda tidak nyata dengan P2. Induksi insulin glargine dosis 1,80 IU/200gBB/hari selama 14 dan 28 hari memberikan efek yang tidak nyata pada gambaran histologi ren tikus putih dikarenakan tikus putih belum mengalami diabetes, melainkan hanya sampai pada kondisi prediabetes. Hasil penelitian Saraswati dkk. (2021), menunjukkan bahwa pengukuran kadar glukosa darah dari tikus putih

yang diinduksi insulin glargine dosis 1,80 IU/200gBB/hari selama 14 dan 28 hari masih pada tahap prediabetes. Kadar glukosa darah kelompok kontrol sebesar $72,4 \pm 11,6$ mg/dL. Kelompok yang diinduksi insulin glargine dengan dosis 1,80 IU/200gBB/hari selama 14 hari sebesar $82,63 \pm 15,5$ mg/dL. Kelompok yang diinduksi insulin glargine dosis 1,80 IU/200gBB/hari selama 28 hari sebesar $117,33 \pm 8,8$ mg/dL, dimana kadar glukosa darah pada P2 menunjukkan bahwa tikus putih telah mengalami prediabetes.

Tabel 1. Rata-rata diameter glomerulus, tebal kapsula Bowman, ukuran sel tubulus proksimal, ukuran sel tubulus distal, bobot ren dan indeks ren dari tikus putih setelah diinduksi insulin

	P0 $\bar{x} \pm SD$	P1 $\bar{x} \pm SD$	P2 $\bar{x} \pm SD$
Diameter Glomerulus (μm)	$77,00 \pm 4,94$	$79,74 \pm 7,38$	$80,10 \pm 6,25$
Tebal Kapsula Bowman (μm)	$5,71 \pm 0,95$	$5,73 \pm 1,07$	$5,63 \pm 1,01$
Ukuran Sel Tubulus Proksimal (μm)	$13,82 \pm 0,81$	$13,85 \pm 0,56$	$13,37 \pm 0,67$
Ukuran Sel Tubulus Distal (μm)	$8,40 \pm 0,21$	$7,90 \pm 0,34$	$7,83 \pm 0,38$
Bobot ren (g)	$0,64 \pm 0,13$	$0,69 \pm 0,15$	$0,76 \pm 0,68$
Indeks Ren (%)	$0,27 \pm 0,03$	$0,30 \pm 0,04$	$0,32 \pm 0,02$

Keterangan : Data yang ditampilkan berupa rata-rata dan standar deviasi. Hasil uji Anova menunjukkan berbeda tidak nyata pada taraf kepercayaan 95% ($P>0,05$).

P0 : kontrol tidak diinduksi insulin glargine,

P1 : Perlakuan induksi insulin glargine 1,80 IU/200gBB/hari selama 14 hari,

P2 : Perlakuan induksi insulin glargine 1,80 IU/200gBB/hari selama 28 hari.

Analisis dengan Anova berdasarkan Tabel 1. menunjukkan berbeda tidak nyata ($P>0,05$) pada diameter glomerulus, tebal kapsula Bowman, ukuran sel tubulus proksimal, ukuran sel tubulus distal, bobot ren, dan indeks ren antar kelompok perlakuan. Hal ini dapat diartikan bahwa perlakuan insulin glargine tidak berpengaruh pada diameter glomerulus dan diameter glomerulus masih normal walaupun tikus sudah dalam kondisi prediabetes. Hasil penelitian Kotyk et al. (2016), menunjukkan bahwa ukuran normal diameter glomerulus pada tikus putih berumur 2 bulan yaitu 77-85 μm . Hasil penelitian Alipin et al. (2017), menunjukkan bahwa diameter glomerulus dapat mengalami pertambahan, namun hal itu hanya terjadi pada kondisi diabetes. Aktivitas dari faktor penyebab pertambahan ukuran glomerulus seperti

Transforming growth factor- β 1 (TGF - β 1) and angiotensin II mulai memberikan pengaruh yang nyata hanya saat pada kondisi diabetes, sehingga sebelum memasuki kondisi diabetes tidak terjadi pertambahan ukuran glomerulus. Hasil penelitian Herlitz et al. (2010), menunjukkan perbedaan yang nyata pada tebal kapsula Bowman hanya terjadi apabila terdapat pengaruh dari ukuran glomerulus yang dapat mendesak kapsula Bowman. Hasil penelitian Kotyk et al. (2016), menunjukkan letak kapsula Bowman mengelilingi bagian glomerulus dan berfungsi untuk menampung urin primer. Hasil pengukuran kapsula Bowman tergantung pada kondisi glomerulus, dimana ukuran kapsula Bowman menunjukkan masih dalam rentang normal pada glomerulus yang normal. Hasil penelitian Vallon (2011), menunjukkan hipertrofi

pada tubulus proksimal tidak terjadi sebelum kadar glukosa darah berada pada tahap diabetes. Hasil penelitian Vallon & Thomson (2012), menunjukkan tanda-tanda molekuler dari proliferasi sel dan hipertrofi hanya dapat diamati pada ren yang berada dalam kondisi diabetes. Hasil penelitian Bansal (2015), menunjukkan prediabetes merupakan keadaan dimana kadar glukosa darah melebihi normal, namun belum bisa dikategorikan sebagai diabetes. Hasil penelitian Vallon & Komers (2011), menunjukkan faktor-faktor penyebab penurunan ukuran sel distal mulai ditemukan pada kondisi diabetes. Hasil penelitian Zafar & Naqvi (2010), menunjukkan penambahan bobot ren hanya terjadi apabila terdapat penambahan ukuran pada histologi ren akibat kadar glukosa darah yang tinggi pada diabetes. Hasil penelitian Domon et al. (2021), menunjukkan penambahan pada bobot ren tergantung pada kondisi metabolisme organ dalam melaksanakan fungsinya dan penambahan bobot ren tidak terjadi sebelum kadar glukosa darah pada tahap diabetes. Hasil penelitian Whidyastuti dkk. (2019), menunjukkan bahwa pengaruh pemberian senyawa pada kelompok uji dapat diketahui dari signifikan atau tidaknya kelompok kontrol dengan kelompok uji melalui indeks ren. Hasil penelitian Nasrullah dkk. (2015), menunjukkan perhitungan indeks ren dilakukan dengan membandingkan bobot organ dan bobot badan. Perhitungan indeks organ bertujuan untuk memberikan gambaran efek dari pemberian senyawa yang tidak tampak secara morfologi.

Histologi glomerulus (Gambar 1.) pada kelompok perlakuan P0 menunjukkan bahwa glomerulus dalam keadaan normal. Kelompok perlakuan P1 dan P2 menunjukkan terdapat akumulasi matriks mesangial pada bagian glomerulus. Hasil penelitian Schlondorff & Banas (2009) menunjukkan, matriks mesangial adalah cairan ekstraseluler yang dihasilkan oleh sel mesangial dan berfungsi memberikan dukungan struktural pada mesangium. Matriks mesangial terletak di antara sel mesangial. Hasil penelitian Brunskill & Potter (2021) menunjukkan, sel mesangial menyediakan kerangka matriks ekstraseluler di dalam glomerulus.

Akumulasi matriks mesangial dapat dilihat dengan ciri terdapat akumulasi warna merah muda

diantara sel mesangium. Hasil penelitian Chan (2014) menunjukkan, matriks ekstraseluler bersifat eosinofilik, sehingga pada pewarnaan Hematoksin-Eosin terlihat berwarna merah muda. Penelitian Scindia et al. (2010) menyatakan, matriks mesangial tersusun atas kolagen tipe IV dan V, laminin, fibronektin, heparin sulfat dan kondroitin sulfat proteoglikan, dan nidogen. Hasil penelitian Rivandi & Yonata (2015) menunjukkan, akumulasi matriks mesangial disebabkan karena deregulasi pada produksi dan degradasi matriks mesangial akibat dari aktivitas Advanced Glycation End Products (AGEs) sebagai produk dari glikosilasi.

Histologi kapsula Bowman (Gambar 2.) pada kelompok P0 menunjukkan kapsula Bowman dalam keadaan normal. Kelompok perlakuan P1 dan P2 menunjukkan adanya akumulasi matriks ekstraseluler pada membran basal kapsula Bowman. Akumulasi matriks ekstraseluler ditunjukkan dengan warna merah muda yang lebih pekat dan melebar. Hasil penelitian Chan (2014) menunjukkan, matriks ekstraseluler akan terlihat berwarna merah muda pada pewarnaan HE karena bersifat eosinofilik. Hasil penelitian Kawaguchi et al. (2021) menunjukkan, akumulasi maktrijs ekstraseluler terjadi karena aktivasi Parietal Epithelial Cells (PECs) pada kapsula Bowman memproduksi matriks ekstraseluler secara berlebihan akibat dari AGEs sebagai produk hasil glikosilasi.

Histologi tubulus proksimal (Gambar 3.) pada kelompok perlakuan P0 menunjukkan sel tubulus proksimal dalam keadaan normal. Histologi kelompok perlakuan P1 menunjukkan bahwa terjadi akumulasi matriks ekstraseluler pada membran basal tubulus sehingga membran basal tubulus terlihat lebih merah karena terjadi deposisi pewarna eosin. Hasil penelitian Pujar et al. (2015) menunjukkan, bahwa pada pewarnaan Hematoksin-Eosin menyebabkan membran basal tampak eosinofilik dibawah epithelium. Hasil penelitian Slyne et al. (2015), menunjukkan akumulasi matriks ekstraseluler pada membran basal tubulus diakibatkan oleh peningkatan ekspresi Transforming Growth Factor β (TGF- β) yang dapat menstimulasi produksi protein matriks. Ekspresi

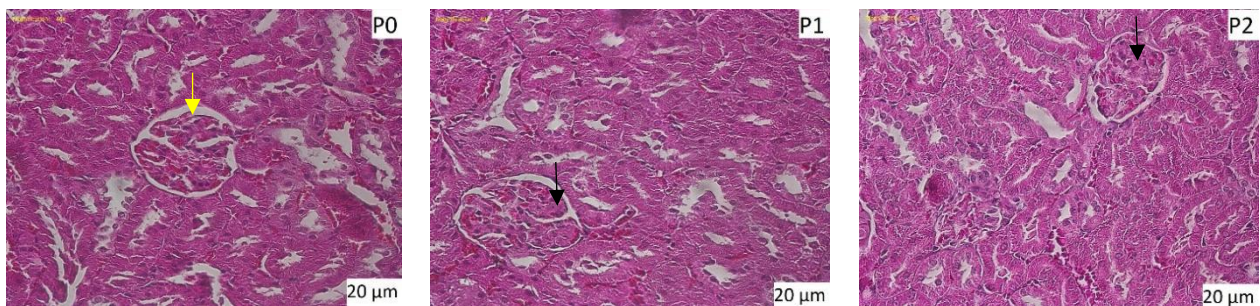
TGF- β dipicu oleh aktivitas AGEs sebagai produk glikosilasi.

Histologi kelompok perlakuan P2 menunjukkan sel tubulus proksimal mengalami piknotik dengan ciri inti sel kecil, gelap, dan padat. Hasil penelitian Surasa dkk. (2014), menunjukkan piknotik merupakan tahap awal terjadinya nekrosis dengan ciri-ciri inti sel terlihat menyusut, berwarna gelap, dan batasnya tidak teratur. Hasil penelitian Habib (2013), menunjukkan piknotik sebagai tahap awal terjadinya nekrosis disebabkan karena adanya radikal bebas dan stres oksidatif di sel tubulus. Reactive Oxygen Species (ROS) menjadi mediator dari respon biologis seperti nekrosis. Kelompok perlakuan P2 menunjukkan hanya ada sedikit sel yang mengalami piknotik. Hasil penelitian Jannah & Budijastuti (2022), menunjukkan bahwa jaringan mengalami kerusakan tahap ringan apabila nekrosis sel mencapai 25% dan tahap sedang apabila nekrosis sel mencapai 50%. Hal ini menunjukkan bahwa pada keadaan prediabetes, tidak menyebabkan kerusakan sel yang berarti.

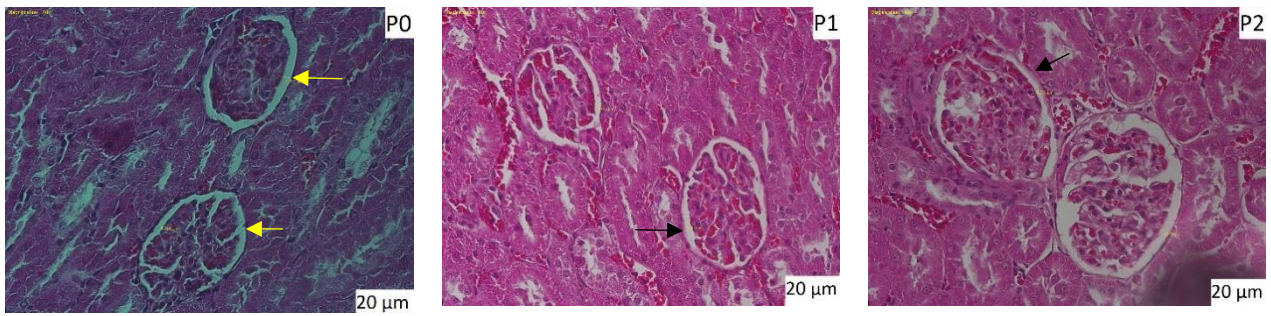
Histologi sel tubulus distal (Gambar 4.) pada kelompok perlakuan P0 menunjukkan bahwa sel tubulus distal dalam keadaan normal. Histologi sel tubulus distal pada perlakuan P1 dan P2 terlihat bahwa terjadi piknotik yang ditandai dengan inti sel kecil, gelap, dan padat. Hasil penelitian Hakimah

dkk. (2021), menunjukkan piknotik merupakan tahap awal terjadinya nekrosis dengan ciri-ciri inti sel terlihat menyusut, berwarna gelap, dan batasnya tidak teratur. Hasil penelitian Singh & Farrington (2010), menunjukkan bahwa sel yang mengalami piknotik akan terlihat memiliki inti sel yang lebih gelap dibandingkan dengan inti sel tubulus normal. Penelitian Surasa dkk. (2014) menyatakan, inti piknotik merupakan pengerutan inti akibat adanya homogenisasi sitoplasma dan peningkatan eosinofilik.

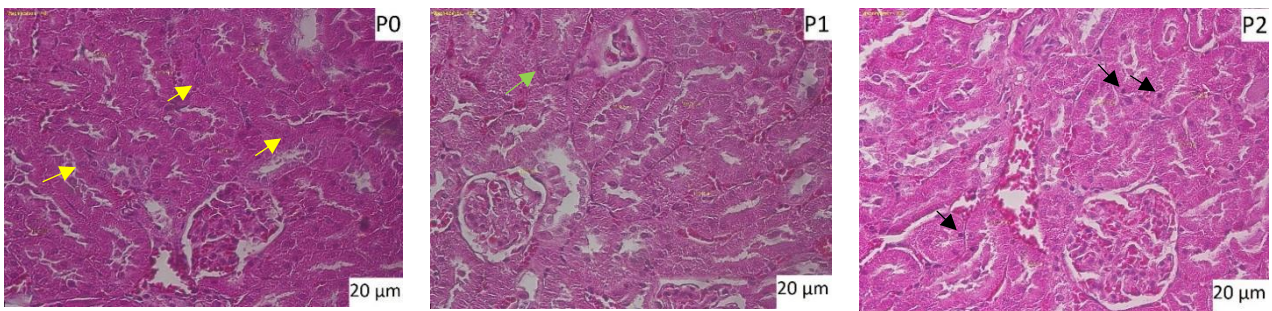
Hasil penelitian Nida dkk. (2022), menunjukkan tahap terjadinya nekrosis yaitu diawali dengan piknotik, kemudian akan terjadi karioreksis dimana inti sel akan hancur dan meninggalkan pecahan kromatin yang tersebar di dalam sel. Kariolisis merupakan tahap akhir dari kerusakan dimana inti sel telah mati dan kehilangan kemampuan untuk diwarnai. Kelompok perlakuan P1 dan P2 menunjukkan hanya ada sedikit sel yang mengalami piknotik. Hasil penelitian Jannah & Budijastuti (2022), menunjukkan bahwa jaringan mengalami kerusakan tahap ringan apabila nekrosis sel mencapai 25% dan tahap sedang apabila nekrosis sel mencapai 50%. Hal ini menunjukkan bahwa pada keadaan prediabetes, tidak menyebabkan kerusakan sel yang berarti.



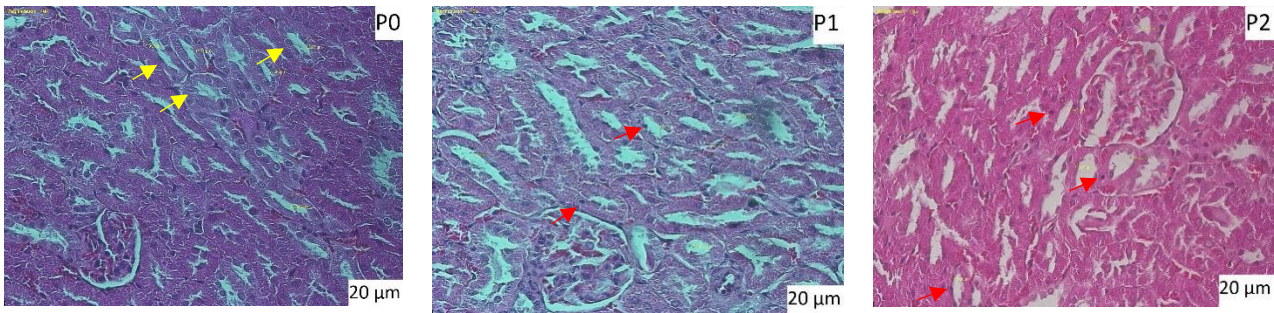
Gambar 1. Histologi glomerulus dari tiga kelompok perlakuan (Pewarnaan HE; Perbesaran 400X).
Keterangan : Garis kuning (glomerulus normal), garis hitam (terlihat akumulasi matriks mesangial).



Gambar 2. Histologi kapsula Bowman dari tiga kelompok perlakuan (Pewarnaan HE; Perbesaran 400X). Keterangan : Garis panah kuning (kapsula Bowman normal), garis panah hitam (terlihat akumulasi matriks ekstraseluler pada membran basal kapsula Bowman).



Gambar 3. Histologi sel tubulus proksimal dari tiga kelompok perlakuan (Pewarnaan HE; Perbesaran 400X). Keterangan : Garis panah kuning (sel normal), Garis panah hijau (akumulasi matriks ekstraseluler di membran basal tubular), Garis panah hitam (inti sel mengalami piknotik).



Gambar 4. Histologi sel tubulus distal dari tiga kelompok perlakuan (Pewarnaan HE; Perbesaran 400X). Keterangan : Garis panah kuning (sel normal), Garis panah merah (inti sel mengalami piknotik).

KESIMPULAN

Kesimpulan dari penelitian ini adalah pemberian induksi insulin eksogen 1,80 IU/200gBB/hari selama 14 hari dan 28 hari tidak berpotensi menyebabkan perubahan pada struktur histologi ren tikus putih.

DAFTAR PUSTAKA

Alipin, K., Sari, E. P., Madihah, Setiawati, T., Ratningsih, N., and 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. <https://doi.org/10.13057/nusbiosci/n090312>.

Anas, Y., Rositasati, R., Fitriani, M. R., dan Suharjono, S. (2015). Pengembangan Model Hewan Percobaan Tikus Diabetes Mellitus Tipe 2 karena Resistensi Insulin yang Diinduksi dengan Human Insulin Jangka Panjang. *Jurnal Ilmu Farmasi dan*

- Farmasi Klinik, 2(12), 16-23. <http://dx.doi.org/10.31942/jiffk.v12i2.1408>.
- Bansal, N. (2015). Prediabetes Diagnosis and Treatment : a Review. *World Journal Diabetes*, 6(2), 293-303. <https://doi.org/10.4239/wjd.v6.i2.296>.
- Brunskill, E. W., and Potter, S. S. (2012). Changes in the Gene Expression Programs of Renal Mesangial Cells during Diabetic Nephropathy. *BMC Nephrology*, 13(70), 164-179. <https://doi.org/10.1186/1471-2369-13-70>.
- Chan, J. K. C. (2014). The Wonderful Colors of the Hematoxylin-Eosin Stain in Diagnostic Surgical Pathology. *International Journal of Surgical Pathology*, 22(1), 12-33. <https://doi.org/doi:10.1177/1066896913517939>.
- Domon, A., Katayama, K., Yamada, T., Tochigi, Y., and Suzuki, H. (2021). Characterization of Enlarged Kidneys and Their Potential for Inducing Diabetes in DEK Rats. *Biology*, 10(633), 161-177. <https://doi.org/10.3390/biology10070633>.
- Habib, S. L. (2013). Diabetes and Renal Tubular Cell Apoptosis. *World Journal of Diabetes*, 4(2), 27-30. <https://doi.org/doi:10.4239/wjd.v4.i2.27>
- Hakimah, A., Sjafoer, N. A. A., dan Mubarakati, N. J. (2021). Profil Histopatologi Otot Jantung pada Tikus Hipertensi (Doca-Garam) yang dipapar Kombinasi Ekstrak Metanolik Benalu Teh dan Benalu Mangga (EMBTBM). *Metamorfosa*, 8(2), 359-366. <https://doi.org/10.24843/metamorfosa.2021.v08.i02.p20>.
- Herlitz, L. C., Markowitz, G. S., Farriz, A. B., Schwimmer, J. A., Stokes, M. B., Kunis, C., Colvin, R. B., and D'Agati, V. D. (2010). Development of Volcal Segmental of Glomerulosclerosis After Anabolic Steroid Abuse. *Journal of the American Society of Nephrology*, 21(1), 163-172. <https://doi.org/10.1681/ASN.2009040450>.
- Jannah, D. R. dan Budijastuti, W. (2022). Gambaran Histopatologi Toksisitas Ginjal Tikus Jantan (*Rattus norvegicus*) yang diberi Sirup Umbi Yakon (*Smallanthus sonchifolius*). *LenteraBio : Berkala Ilmiah Biologi*, 11(2), 238-246. <https://doi.org/10.26740/lenterabio.v11n2.p238-246>.
- Kawaguchi, T., Hasegawa, K., Yasuda, I., Muraoka, H., Umino, H., Tokuyama, H., Hashiguchi A., Wakino S., and Itoh, H. (2021). Diabetic Condition Induces Hypertrophy and Vacuolization in Glomerular Parietal Epithelial Cells. *Scientific Reports*, 11(1), 1-12. <https://doi.org/10.1038/s41598-021-81027-8>.
- Kotyk, T., Dey, N., Ashour, A. S., Rad, D., Chakraborty, S., Ashour, A. S., and 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(10), 143-153. <https://doi.org/10.1016/j.cmpb.2015.10.023>.
- Lestari, A. A. W. (2011). Resistensi Insulin: Definisi, Mekanisme dan Pemeriksaan Laboratoriumnya. *Buku Ilmiah Clinical Pathology Update on Suramade*, 1(2), 1-8. <https://repositori.unud.ac.id/protected/storage/upload/repositori/ad31ce278a7564c52f74b34e9c5fa38e.pdf>
- Mappa, I. S., Kairupan, C., dan Loho, L. (2013). Gambaran Histologi Ginjal Tikus Putih (Wistar) setelah Pemberian Rifampisin. *Jurnal e-Biomedik*, 1(1), 338-342. <https://doi.org/10.35790/ebm.v1i1.4368>.
- Mayangsari, M. A., Nuroini, F., dan Ariyadi, T. (2019). Perbedaan Kualitas Preparat Ginjal Marmut pada Proses Deparafinasi menggunakan Xylol dan Minyak Zaitun pada Pewarna HE. *Prosiding Mahasiswa Seminar Nasional Unimus*, 2(1), 190-194. <https://prosiding.unimus.ac.id/index.php/mahasiswa/article/view/460/463>
- Nasrullah., Riza, H., Fajriaty, I., Prananda, Y., dan Hasibuan, V. M. (2015). Pengaruh Pemberian Ekstrak Etanol Daun Simpup (*Dillenia indica* Linn) terhadap Indeks Organ Jantung, Hati dan Lambung pada Tikus Putih (*Rattus norvegicus L.*) Galur Wistar. *Jurnal Mahasiswa Farmasi Fakultas Kedokteran Universitas Tanjungpura*, 1(3), 1-14. <https://jurnal.untan.ac.id/index.php/jmfarmasi/article/view/30974>
- Nida, H. K., Sjafoer, N. A. A., Mubarakati, N. J. (2022). Uji Toksisitas Subkronik 28 Hari Ekstrak Metanolik Kombinasi Daun Benalu Teh dan Benalu Mangga terhadap Fungsi Hepar pada Tikus (*Rattus norvegicus*) Betina. *Biosaintropis*, 7(2), 58-63. <https://doi.org/10.33474/e-jbst.v7i2.355>
- Patala, R., Mandang, M. A., dan Tandi, J. (2022). Uji Efek Ekstrak Etanol Daun Pandan Wangi terhadap Histopatologi Ginjal Tikus Putih diinduksi Streptozotocin. *Farmakologika Jurnal Farmasi*, 19(1), 68-77. <https://jfarma.org/index.php/farmakologika/article/view/340>

- Pujar, A., Pereira, T., Tamgadge, A., Bhalerao, S., and Tamgadge, S. (2015). Comparing the Efficacy of Hematoxylin and Eosin, Periodic Acid Schiff and Fluorescent Periodic Acid Schiff-Acriflavine Techniques for Demonstration of Basement Membrane in Oral Lichen Planus: A Histochemical Study. *Indian Journal Dermatology*, 60(5), 450-456. <https://doi.org/10.4103/0019-5154.159626>.
- Rabiah, E. S., Berata, I. K., dan Suri, S. (2015). Gambaran Histopatologi Ginjal Tikus Putih yang diberi Deksametason dan Vitamin E. *Indonesia Medicus Veterinus*, 4(1), 249-256. <https://ojs.unud.ac.id/index.php/imv/article/view/17504>
- Rivandi J., dan Yonata, A. (2015). Hubungan Diabetes Melitus Dengan Kejadian Gagal Ginjal Kronik. *Jurnal Majority*, 4(9), 27-34. <https://juke.kedokteran.unila.ac.id/index.php/majority/article/view/1404>
- Saraswati, T. R., Suartini, I. G. A. A., and Tana, S. (2021). Development of Diabetic Animal Model via Insulin Glargine Induction. *Asian Journal of Animal Science*, 15(2), 67-74. <https://doi.org/10.3923/ajas.2021.67.74>
- Schlondorff, D., and Banas, B. (2009). The Mesangial Cell Revisited: No Cells is an Island. *Journal of the American Society of Nephrology*, 20(6), 1179-1187. <https://doi.org/doi:10.1681/ASN.2008050549>.
- Scindia, Y. M., Deshmukh, U. S., and Bagavant, H. (2010). Mesangial Pathology in Glomerular Disease: Targets for Therapeutic Intervention. *Advanced Drug Delivery Reviews*, 62(14), 1337-1343. <https://doi.org/doi:10.1016/j.addr.2010.08.011>.
- Singh D. K., and Farrington, K. (2010). The Tubulointerstitium in Early Diabetic Nephropathy : Prime Target or Bystander. *International Journal of Diabetes in Developing Country*, 4(30), 185-189. https://www.academia.edu/21387629/The_tubulointerstitium_in_early_diabetic_nephropathy_Prime_target_or_bystander
- Slyne, J., Slattery, C., McMorrow, T., and Ryan, M. P. (2015). New Developments Concerning the Proximal Tubule in Diabetic Nephropathy: in vitro models and mechanism. *Nephrol Dial Transplant*, 30(4), 60-67. <https://doi.org/doi:10.1093/ndt/gfv264>.
- Surasa, N. J., Utami, N. R., dan Isnaeni, W. (2014). Struktur Mikroanatomi Hati dan Kadar Kolesterol Total Plasma Darah Tikus Putih Strain Wistar Pasca Suplementasi Minyak Lemuru dan Minyak Sawit. *Biosaintifika*, 6(2), 141-151. <https://doi.org/10.15294/biosaintifika.v6i2.3778>
- Tabak, A. G., Herder, C., Rathmann, W., Brunner, E. J., and Kivimaki, M. (2012). Prediabetes : a High-Risk State for Diabetes Development. *Lancet*, 16(379), 2279-90. [https://doi.org/doi:10.1016/S0140-6736\(12\)60283-9](https://doi.org/doi:10.1016/S0140-6736(12)60283-9).
- Tjandrawinata, R. R. (2016). Patogenesis Diabetes Tipe 2: Resistensi Insulin dan Defisiensi Insulin. *Dexa Medica*, 29(1), 1-5. https://www.researchgate.net/publication/292615802_Patogenesis_Diabetes_Tipe_2_Resistensi_Insulin_dan_Defisiensi_Insulin/citations
- Vallon, V. (2011). The Proximal Tubule in the Pathophysiology of the Diabetic Kidney. *American Journal Physiology Regulatory Integrative Comparative Physiology*, 300(5), 1009-1022. <https://doi.org/10.1152/ajpregu.00809.2010>
- Vallon, V. and Thomson, S. C. (2012). Renal Function in Diabetic Disease Models: the Tubular System in the Pathophysiology of the Diabetic Kidney. *Annual Review of Physiology*, 74, 75-351. <https://doi:10.1146/annurev-physiol-020911-153333>
- Vallon, V., and Komers, R. (2011). Pathophysiology of the Diabetic Kidney. *Comprehensive Physiology*, 1(3), 232-1175. <https://10.1002/cphy.c100049>.
- Zafar, M. and Naqvi, S. N. H. (2010). Effects of STZ-Induced Diabetes on the Relative Weights of Kidney, Liver and Pancreas in Albino Rats: A Comparative Study. *International Journal of Morphology*, 28(1), 135-142. <https://doi.org/10.4067/S0717-95022010000100019>.