

## LAMPIRAN

### 1. Cara Pembuatan Ekstrak Propolis (metode CMCE)

Propolis yang digunakan pada penelitian didapatkan dari Ekstrak Propolis (metode CMCE) (merek dagang HDI Ekstrak propolis (metode CMCE) 200 mg/cap) yang didapat dari *High Desert* Indonesia. Adapun teknik pembuatan ekstrak propolis adalah dengan teknik CMCE (Continuous Multi-stage Countercurrent Extraction). Continuous Multi-stage Countercurrent Extraction adalah pengembangan ekstraksi satu stage dimana rafinat yang keluar dari stage pertama dicampur dengan solven segar pada stage kedua dan rafinat dari stage kedua dicampur dengan solven segar pada stage ketiga. Ekstrak dari stage pertama digabung dengan ekstrak dari stage kedua dan stage ke tiga. Hasil akhir adalah ekstrak (E1+E2+E3) dan Rafinat R3. Komposisi komponen – komponen di dalam aliran E dan R sudah dalam kesetimbangan sehingga E dan R lokasinya terletak pada kurve kesetimbangan: E1 setimbang dengan R1, E2 setimbang dengan R2 dan E3 setimbang dengan R3.

### 2. Cara pengukuran Kadar MDA dengan Uji TBA

Sebanyak 0,5 gram organ ginjal tikus bersama pasir kuarsa digerus dengan mortar hingga halus. Kemudian ditambahkan 200  $\mu\text{L}$  NaCl-fisiologis ke dalam mortar. Homogenat dimasukkan ke dalam tabung polipropilen dan ditambah 550  $\mu\text{L}$  akuades. Kemudian ditambah 100  $\mu\text{L}$  TCA dan dihomogenkan. Selanjutnya ditambah 250  $\mu\text{L}$  HCl 1N dan dihomogenkan.

Lalu campuran ditambah 100  $\mu$ L Na-Thio 1% dan disentrifugasi pada kecepatan 500 rpm selama 10 menit. Supernatan diambil dan disaring menggunakan glass wool. Supernatan yang diperoleh dipanaskan dalam waterbath 100oC selama 20 menit. Supernatan yang telah dipanaskan selanjutnya didinginkan pada temperatur ruang. Setelah itu ditentukan nilai absorbansi sampel menggunakan spektrofotometer UV-Vis pada panjang gelombang maksimum.

### **3. Pembuatan Preparat Histopatologi Ginjal**

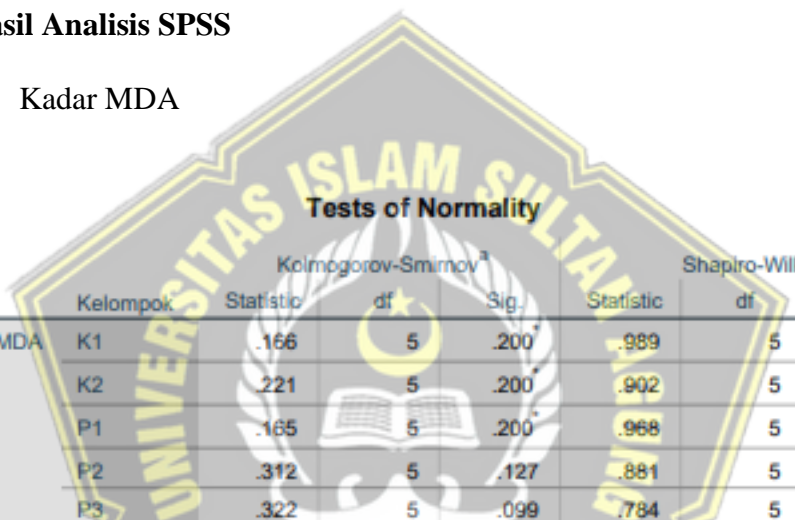
Pembuatan preparat histopatologi dilakukan determinasi Tikus Wistar dengan dislokasi tulang leher, kemudian pada bagian abdomen dibuka dengan gunting bedah dan ginjal diambil. Ginjal dicuci dengan aquades steril, difiksasi dengan menggunakan larutan Netral Buffer formalin 10% selama 3 jam, dan dilakukan proses dehidrasi secara bertingkat menggunakan alkohol 70% dan alkohol 95% masing-masing selama 30 menit kemudian alkohol 100% sebanyak 3 kali. Rendaman yang pertama selama 30 menit, rendaman ke-dua, ke-tiga dan ke-empat masing-masing 1 jam.

Tahap selanjutnya adalah clearing, dengan memasukkan ginjal ke dalam xylol lalu dimasukkan ke dalam parafin sebanyak 3 kali. Parafin pertama selama 2,5 jam dan yang ke-dua selama 4 jam. Setelah itu, jaringan dimasukkan ke dalam cassette untuk dicetak di dalam parafin dan disimpan dalam lemari pendingin. Kemudian Blok-blok paraffin tersebut dipotong

tipis, dengan ketebalan 5-6  $\mu\text{m}$  menggunakan mikrotom. Hasil potongan lalu diapungkan dalam air hangat bersuhu  $60^{\circ}\text{C}$  untuk meregangkan agar jaringan tidak berlipat. Sediaan kemudian diangkat dan diletakkan dalam gelas objek untuk dilakukan pewarnaan Hematoxylin dan Eosin (HE). Selanjutnya diperiksa dibawah mikroskop.

#### 4. Hasil Analisis SPSS

##### b. Kadar MDA



**Tests of Normality**

Kelompok	Kolmogorov-Smirnov <sup>a</sup>			Shapiro-Wilk		
	Statistic	df	Sig.	Statistic	df	Sig.
Hasil MDA K1	.166	5	.200 <sup>*</sup>	.989	5	.977
K2	.221	5	.200 <sup>*</sup>	.902	5	.421
P1	.165	5	.200 <sup>*</sup>	.968	5	.865
P2	.312	5	.127	.881	5	.314
P3	.322	5	.099	.784	5	.060

\*. This is a lower bound of the true significance.

##### a. Lilliefors Significance Correction

**Test of Homogeneity of Variances**

	Levene Statistic	df1	df2	Sig.
Hasil MDA Based on Mean	2.309	4	20	.093
Based on Median	1.423	4	20	.263
Based on Median and with adjusted df	1.423	4	9.632	.298
Based on trimmed mean	2.045	4	20	.127

#### Descriptives

Hasil MDA

	N	Mean	Std. Deviation	Std. Error	95% Confidence Interval for Mean	
					Lower Bound	Upper Bound
K1	5	2.200	.2915	.1304	1.838	2.562
K2	5	1.860	.2608	.1166	1.536	2.184
P1	5	1.440	.7765	.3473	.476	2.404
P2	5	.840	.2510	.1122	.528	1.152
P3	5	1.240	.7301	.3265	.334	2.146
Total	25	1.516	.6780	.1356	1.236	1.796

## ANOVA

Hasil MDA

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	5.626	4	1.406	5.201	.005
Within Groups	5.408	20	.270		
Total	11.034	24			

## Multiple Comparisons

Dependent Variable: Hasil MDA

LSD

(I) Kelompok	(J) Kelompok	Mean Difference (I-J)	Std. Error	Sig.	95% Confidence Interval	
					Lower Bound	Upper Bound
K1	K2	.3400*	.3289	.314	-.346	1.026
	P1	.7600*	.3289	.032	.074	1.446
	P2	1.3600*	.3289	.001	.674	2.046
	P3	.9600*	.3289	.008	.274	1.646
K2	K1	-.3400	.3289	.314	-1.026	.346
	P1	.4200	.3289	.216	-.266	1.106
	P2	1.0200*	.3289	.006	.334	1.706
	P3	.6200	.3289	.074	-.066	1.306
P1	K1	-.7600	.3289	.032	-1.446	-.074
	K2	-.4200	.3289	.216	-1.106	.266
	P2	.6000	.3289	.083	-.086	1.286
	P3	.2000	.3289	.550	-.486	.886
P2	K1	-1.3600*	.3289	.001	-2.046	-.674
	K2	-1.0200*	.3289	.006	-1.706	-.334
	P1	-.6000	.3289	.083	-1.286	.086
	P3	-.4000	.3289	.238	-1.086	.286
P3	K1	-.9600*	.3289	.008	-1.646	-.274
	K2	-.6200	.3289	.074	-1.306	.066
	P1	-.2000	.3289	.550	-.886	.486
	P2	.4000	.3289	.238	-.286	1.086

\*. The mean difference is significant at the 0.05 level.

c. Hasil PA (Skor total deg. Tubulus)

Tests of Normality						
Kelompok	Kolmogorov-Smirnov <sup>a</sup>			Shapiro-Wilk		
	Statistic	df	Sig.	Statistic	df	
Skor Total Deg. Tubulus	K1	.	5	.	5	
	K2	.242	5	.200*	5	
	P1	.305	5	.145	5	
	P2	.441	5	.002	5	
	P3	.454	5	.001	5	

Test of Homogeneity of Variances				
Kelompok	Based on	Levene Statistic	df1	df2
	Based on Median	2.198	4	20
	Based on Median and with adjusted df	2.198	4	9.385
	Based on trimmed mean	5.740	4	20

### Descriptives

Skor Total Deg. Tubulus

	N	Mean	Std. Deviation	Std. Error	95% Confidence Interval for Mean	
					Lower Bound	Upper Bound
K1	5	.00	.000	.000	.00	.00
K2	5	569.80	310.617	138.912	184.12	955.48
P1	5	83.60	97.703	43.694	-37.71	204.91
P2	5	87.00	127.724	57.120	-71.59	245.59
P3	5	60.40	97.256	43.494	-60.36	181.16
Total	25	160.16	258.224	51.645	53.57	266.75

## ANOVA

Skor Total Deg. Tubulus

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	1073110.160	4	268277.540	10.177	.000
Within Groups	527203.200	20	26360.160		
Total	1600313.360	24			

## Multiple Comparisons

Dependent Variable: Skor Total Deg. Tubulus

LSD

(I) Kelompok	(J) Kelompok	Mean Difference (I-J)	Std. Error	Sig.	95% Confidence Interval	
					Lower Bound	Upper Bound
K1	K2	-569.800*	102.684	.000	-784.00	-355.60
	P1	-83.600	102.684	.425	-297.80	130.60
	P2	-97.000	102.684	.407	-301.20	127.20
	P3	-60.400	102.684	.563	-274.80	153.80
K2	K1	569.800*	102.684	.000	355.60	784.00
	P1	486.200*	102.684	.000	272.00	700.40
	P2	482.800*	102.684	.000	268.60	697.00
	P3	509.400*	102.684	.000	295.20	723.60
P1	K1	83.600	102.684	.425	-130.60	297.80
	K2	-486.200*	102.684	.000	-700.40	-272.00
	P2	-3.400	102.684	.974	-217.60	210.80
	P3	23.200	102.684	.824	-191.00	237.40
P2	K1	87.000	102.684	.407	-127.20	301.20
	K2	-482.800*	102.684	.000	-697.00	-268.60
	P1	3.400	102.684	.974	-210.80	217.60
	P3	26.600	102.684	.798	-187.60	240.80
P3	K1	60.400	102.684	.563	-153.80	274.60
	K2	-509.400*	102.684	.000	-723.60	-295.20
	P1	-23.200	102.684	.824	-237.40	191.00
	P2	-26.600	102.684	.798	-240.80	187.60

\*. The mean difference is significant at the 0.05 level.



## Multiple Comparisons

LSD

Dependent Variable	(I) Kelompok	(J) Kelompok	Mean Difference (I-J)	Std. Error	Sig.	95% Confidence Interval		
						Lower Bound	Upper Bound	
Deg. Parenkim	K1	K2	-102.000*	33.260	.006	-171.38	-32.62	
		P1	-69.200	33.260	.051	-138.58	.18	
		P2	-16.600	33.260	.623	-85.98	52.78	
		P3	-22.800	33.260	.501	-92.18	46.58	
	K2	K1	102.000*	33.260	.006	32.62	171.38	
		P1	32.800	33.260	.336	-36.58	102.18	
		P2	85.400*	33.260	.018	16.02	154.78	
		P3	79.200*	33.260	.027	9.82	148.58	
	P1	K1	69.200	33.260	.051	-.18	138.58	
		K2	-32.800	33.260	.336	-102.18	36.58	
		P2	52.600	33.260	.129	-16.78	121.98	
		P3	46.400	33.260	.178	-22.98	115.78	
	P2	K1	16.600	33.260	.623	-52.78	85.98	
		K2	-85.400*	33.260	.018	-154.78	-16.02	
		P1	-52.600	33.260	.129	-121.98	16.78	
		P3	-6.200	33.260	.854	-75.58	63.18	
	P3	K1	22.800	33.260	.501	-46.58	92.18	
		K2	-79.200*	33.260	.027	-148.58	-9.82	
		P1	-46.400	33.260	.178	-115.78	22.98	
		P2	6.200	33.260	.854	-63.18	75.58	
	Deg. Hidropik	K1	K2	-222.800*	55.040	.001	-337.61	-107.99
			P1	-7.200	55.040	.897	-122.01	107.61
			P2	-33.600	55.040	.548	-148.41	81.21
			P3	-18.800	55.040	.736	-133.61	96.01
K2		K1	222.800*	55.040	.001	107.99	337.61	
		P1	215.600*	55.040	.001	100.79	330.41	
		P2	189.200*	55.040	.003	74.39	304.01	
		P3	204.000*	55.040	.001	89.19	318.81	
P1		K1	7.200	55.040	.897	-107.61	122.01	
		K2	-215.600*	55.040	.001	-330.41	-100.79	
		P2	-26.400	55.040	.637	-141.21	88.41	
		P3	-11.600	55.040	.835	-126.41	103.21	
P2		K1	33.600	55.040	.548	-81.21	148.41	
		K2	-189.200*	55.040	.003	-304.01	-74.39	
		P1	26.400	55.040	.637	-88.41	141.21	
		P3	14.800	55.040	.791	-100.01	129.61	
P3		K1	18.800	55.040	.736	-96.01	133.61	
		K2	-204.000*	55.040	.001	-318.81	-89.19	
		P1	11.600	55.040	.835	-103.21	126.41	
		P2	-14.800	55.040	.791	-129.61	100.01	

Deg. Lemak	K1	K2	-1.000*	.400	.021	-1.83	-.17	
		P1	.000	.400	1.000	-.83	.83	
		P2	.000	.400	1.000	-.83	.83	
		P3	.000	.400	1.000	-.83	.83	
	K2	K1	1.000*	.400	.021	.17	1.83	
		P1	1.000*	.400	.021	.17	1.83	
		P2	1.000*	.400	.021	.17	1.83	
		P3	1.000*	.400	.021	.17	1.83	
	P1	K1	.000	.400	1.000	-.83	.83	
		K2	-1.000*	.400	.021	-1.83	-.17	
		P2	.000	.400	1.000	-.83	.83	
		P3	.000	.400	1.000	-.83	.83	
	P2	K1	.000	.400	1.000	-.83	.83	
		K2	-1.000*	.400	.021	-1.83	-.17	
		P1	.000	.400	1.000	-.83	.83	
		P3	.000	.400	1.000	-.83	.83	
	P3	K1	.000	.400	1.000	-.83	.83	
		K2	-1.000*	.400	.021	-1.83	-.17	
		P1	.000	.400	1.000	-.83	.83	
		P2	.000	.400	1.000	-.83	.83	
	Nekrosis	K1	K2	-4.800*	1.659	.009	-8.26	-1.34
			P1	.000	1.659	1.000	-3.46	3.46
			P2	-.800	1.659	.635	-4.26	2.66
			P3	.000	1.659	1.000	-3.46	3.46
K2		K1	4.800*	1.659	.009	1.34	8.26	
		P1	4.800*	1.659	.009	1.34	8.26	
		P2	4.000*	1.659	.026	.54	7.46	
		P3	4.800*	1.659	.009	1.34	8.26	
P1		K1	.000	1.659	1.000	-3.46	3.46	
		K2	-4.800*	1.659	.009	-8.26	-1.34	
		P2	-.800	1.659	.635	-4.26	2.66	
		P3	.000	1.659	1.000	-3.46	3.46	
P2	K1	.800	1.659	.635	-2.66	4.26		
	K2	-4.000*	1.659	.026	-7.46	-.54		
	P1	.800	1.659	.635	-2.66	4.26		
	P3	.800	1.659	.635	-2.66	4.26		
P3	K1	.000	1.659	1.000	-3.46	3.46		
	K2	-4.800*	1.659	.009	-8.26	-1.34		
	P1	.000	1.659	1.000	-3.46	3.46		
	P2	-.800	1.659	.635	-4.26	2.66		

\*. The mean difference is significant at the 0.05 level.





**UNIVERSITAS ISLAM SULTAN AGUNG (UNISSULA)**

**INTEGRATED BIOMEDICAL LABORATORY**

**FAKULTAS KEDOKTERAN**

**Jl. Raya Kaligawe KM.4, Semarang 50112  
Tel. +62246583584, email: [ibl@unissula.ac.id](mailto:ibl@unissula.ac.id)**

Laboratorium Biomedik Terintegrasi

**SURAT KETERANGAN**  
**No. 131 /IBL-FK-SA/VII/2020**

Yang Bertanda tangan di bawah ini :

Nama : Dina Fatmawati, M.Sc.  
Jabatan : Kepala Laboratorium Biomedik Terintegrasi FK Unissula

Menerangkan bahwa :

Nama : Alamsyah  
NIM/NIK : MBK 17.9.01.0112  
Fakultas : Kedokteran / Biomedik  
Universitas : Islam Sultan Agung  
Judul : Pengaruh Ekstrak Propolis (Metode CMCE) Terhadap Kadar MDA dan Skor Total Degenerasi Tubulus Renalis (Pada Tikus Wistar yang Diinduksi Gentamisin)

Telah selesai melakukan penelitian di Laboratorium Biomedik Terintegrasi Fakultas Kedokteran Universitas Islam Sultan Agung, untuk menunjang penyusunan Tugas Akhir (Tesis). Adapun penelitian dilakukan pada bulan Maret 2020 - Juli 2020, dengan hasil terlampir.

Demikian surat keterangan ini dibuat untuk dapat dipergunakan seperlunya.

Semarang, 27 Juli 2020

Mengetahui,

Kepala Lab. Biomedik Terintegrasi  
Fakultas Kedokteran Unissula

**Dina Fatmawati, M.Sc.**

NIK. 210109143



UNIVERSITAS ISLAM SULTAN AGUNG (UNISSULA)

INTEGRATED BIOMEDICAL LABORATORY

FAKULTAS KEDOKTERAN

Jl. Raya Kaligawe KM.4, Semarang 50112  
Tel. +62246583584, email: [ibl@unissula.ac.id](mailto:ibl@unissula.ac.id)

Laboratorium Biomedik Terintegrasi

Hasil Uji MDA (*Malondialdehyde*)

Kode Sampel	Konsentrasi
K(-) 1	2,2
K(-) 2	1,8
K(-) 3	2,3
K(-) 4	2,1
K(-) 5	2,6
K(+) 1	2,1
K(+) 2	1,9
K(+) 3	1,7
K(+) 4	2,1
K(+) 5	1,5
P1	2,4
P1	2,0
P1	0,5
P1	0,9
P1	1,4
P2	1,0
P2	0,6
P2	1,2
P2	0,7
P2	0,7
P3	1,0
P3	2,5
P3	0,7
P3	1,2
P3	0,8

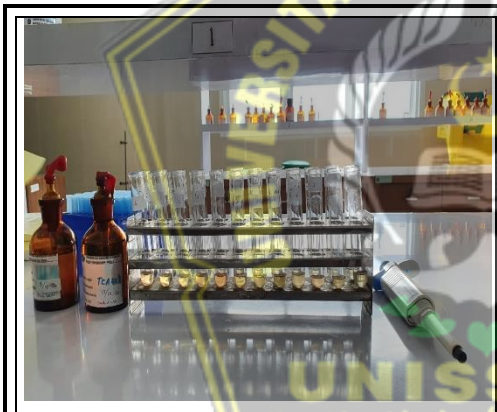
**LAMPIRAN**  
**DOKUMENTASI KEGIATAN PENELITIAN**



Alat Spektrofotometer untuk pembacaan kadar MDA



Sampel yang diinkubasi dengan suhu 94 derajat



Alat dan bahan untuk pemeriksaan MDA



Perubahan Warna merah muda setelah diinkubasi



Tikus diberikan gentamisin dengan cara di sounde



Alat sentrifuge untuk memisahkan darah dan serum

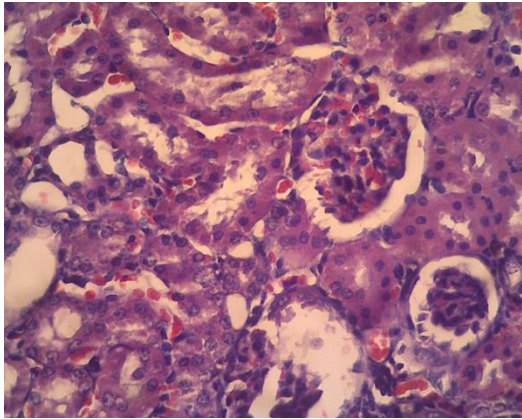


Hasil pembacaan histopatologi ginjal

no	kelompok	L1				L2				L3				L4				L5				Total			
		a	h	l	n	a	h	l	n	a	h	l	n	a	h	l	n	a	h	l	n	a	h	l	n
1	k-1	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
2	k-2	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
3	k-3	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
4	k-4	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
-5-	k-5	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
6	K+1	11	-	-	-	32	-	-	-	45	5	-	-	18	32	-	1	18	5	2	1				
7	K+2	-	92	1	-	2	66	2	-	16	51	-	2	15	31	-	-	-	96	-	4				
8	K+3	0	96	-	4	1	99	-	-	-	94	-	1	-	96	-	4	-	95	-	5				
9	K+4	12	2	-	-	40	7	-	-	25	53	-	-	11	52	-	-	95	2	-	-				
10	K+5	15	55	-	-	22	50	-	1	55	11	-	-	45	17	-	-	32	7	-	1				
11	P1.1	18	2	-	-	21	10	-	-	11	7	-	-	72	-	-	-	87	-	-	-				
12	P1.2	6	2	-	-	2	-	-	-	4	-	-	-	9	-	-	-	6	-	-	-				
13	P1.3	3	-	-	-	2	-	-	-	4	-	-	-	2	-	-	-	4	-	-	-				
14	P1.4	4	-	-	-	2	3	-	-	3	-	-	-	3	-	-	-	5	-	-	-				
15	P1.5	10	-	-	-	15	2	-	-	9	5	-	-	32	5	-	-	12	-	-	-				
16	P2.1	-	-	-	-	2	-	-	-	-	-	-	-	4	-	-	-	-	14	-	-				
17	P2.2	2	-	-	-	6	-	-	-	3	-	-	-	6	-	-	-	2	-	-	-				
18	P2.3	-	53	-	-	-	31	-	-	4	32	-	-	2	27	-	4	7	-	-	-				
19	P2.4	4	-	-	-	5	-	-	-	5	3	-	-	2	2	-	-	3	6	-	-				
20	P2.5	8	-	-	-	7	-	-	-	4	-	-	-	5	-	-	-	2	-	-	-				
21	P3.1	2	-	-	-	6	-	-	-	2	-	-	-	-	-	-	-	12	-	-	-				
22	P3.2	3	62	-	-	8	2	-	-	5	14	-	-	6	11	-	-	34	-	-	-				
23	P3.3	5	1	-	-	4	-	-	-	6	-	-	-	3	-	-	-	-	-	-	-				
24	P3.4	1	-	-	-	-	-	-	-	2	-	-	-	-	-	-	-	3	-	-	-				
25	P3.5	5	-	-	-	2	3	-	-	1	-	-	-	2	-	-	-	2	1	-	-				



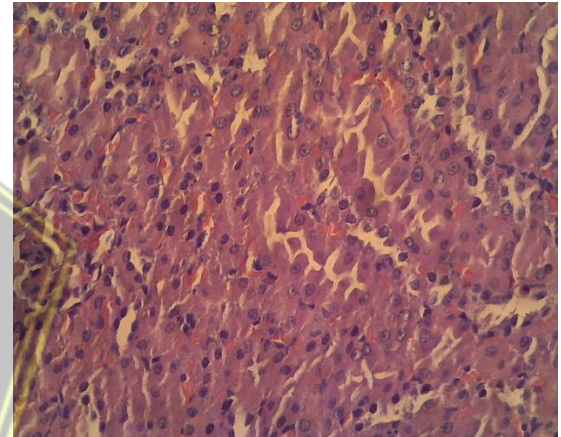
Kontrol negatif



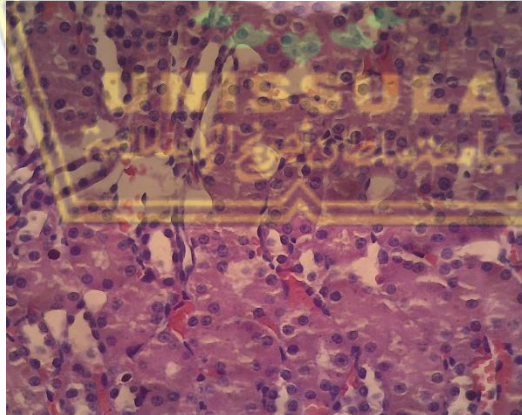
kontrol positif



P1



P2



P3

