



UNIVERSITAS INDONESIA

**PENGARUH PEMBERIAN LOSARTAN
TERHADAP PENURUNAN KADAR GLUKOSA DARAH
OLEH METFORMIN PADA TIKUS PUTIH JANTAN**

SKRIPSI

**PRICELLYA
0606070926**

**FAKULTAS MATEMATIKA DAN ILMU PENGETAHUAN ALAM
PROGRAM S1 FARMASI
DEPOK
JULI 2010**



UNIVERSITAS INDONESIA

**PENGARUH PEMBERIAN LOSARTAN
TERHADAP PENURUNAN KADAR GLUKOSA DARAH
OLEH METFORMIN PADA TIKUS PUTIH JANTAN**

SKRIPSI

**Diajukan sebagai salah satu syarat untuk memperoleh gelar Sarjana
Farmasi**

**PRICELLYA
0606070926**

**FAKULTAS MATEMATIKA DAN ILMU PENGETAHUAN ALAM
PROGRAM S1 FARMASI
DEPOK
JULI 2010**

ii

HALAMAN PERNYATAAN ORISINALITAS

Skripsi ini adalah hasil karya saya sendiri, dan semua sumber baik yang dikutip maupun dirujuk telah saya nyatakan dengan benar.

Nama : Pricellya

NPM : 0606070926

Tanda Tangan : 

Tanggal : 1 Juli 2010

HALAMAN PENGESAHAN

Skripsi ini diajukan oleh
Nama : Pricellya
NPM : 0606070926
Program Studi : Farmasi
Judul Skripsi : Pengaruh Pemberian Losartan terhadap Penurunan Kadar Glukosa Darah oleh Metformin pada Tikus Putih Jantan

Telah berhasil dipertahankan di hadapan Dewan Penguji dan diterima sebagai bagian persyaratan yang diperlukan untuk memperoleh gelar Sarjana Farmasi pada Program Studi Farmasi, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Indonesia

DEWAN PENGUJI

Pembimbing I : Drs. Umar Mansur, M.Sc. (.....)
Pembimbing II : Santi Purna Sari, M.Si. (.....)
Penguji : Prof. Dr. Endang Hanani (.....)
Penguji : Dra. Juheini Amin, M.Si. (.....)
Penguji : Dr. Ary Yanuar, MS (.....)

Ditetapkan di : Depok
Tanggal : 15 Juli 2010

KATA PENGANTAR

Puji dan syukur Penulis panjatkan kehadirat Allah SWT atas segala rahmat dan karunia-Nya sehingga Penulis dapat menyelesaikan skripsi ini. Penulisan skripsi ini dilakukan dalam rangka memenuhi salah satu syarat untuk mencapai gelar Sarjana Farmasi FMIPA UI.

Pada kesempatan ini Penulis mengucapkan terima kasih kepada :

1. Bapak Drs. Umar Mansur, M.Sc. selaku pembimbing I, atas bimbingan dan pengarahan selama penelitian dan penyusunan skripsi ini.
2. Ibu Santi Purna Sari, M.Si. selaku pembimbing II, yang telah meluangkan waktunya untuk memberikan bimbingan dan kesabarannya menanggapi permasalahan yang terjadi selama masa penelitian.
3. Ibu Dr. Yahdiana Harahap, MS. selaku Ketua Departemen Farmasi FMIPA UI, yang telah memberikan kesempatan untuk melakukan penelitian ini.
4. Bapak Drs. Hayun, M.Si. selaku pembimbing akademis atas dukungan dan saran selama masa pendidikan di Departemen Farmasi FMIPA UI.
5. PT. Kalbe Farma atas bantuan bahan baku untuk penelitian.
6. Seluruh staf pengajar, laboran dan karyawan Departemen Farmasi FMIPA UI yang telah membantu kelancaran dalam perkuliahan dan mengurus keperluan alat-alat untuk penelitian.
7. Segenap cinta dan kasih sayang untuk Mama, Alm. Papa, Kak Ima dan keluarga besar yang telah meluangkan waktu, perhatian, dan doa-doanya. Semoga Allah memberikan yang terbaik untuk kita.
8. Anak-anak penelitian Farmakologi : Lita, Olip, Abi, Ayu, Kak reni, Sandi, Visto, Rianti yang banyak membantu dan menemani selama masa penelitian.
9. Teman-teman Farmasi angkatan 2006, khususnya sahabat-sahabatku Dudu, Nida, Sari, terima kasih atas waktu dan kebersamaan kita, semoga *Rainbow United* semakin kompak.
10. Semua pihak yang tidak dapat disebutkan satu-persatu.

Akhir kata, saya berharap Tuhan Yang Maha Esa membalas segala kebaikan semua pihak yang telah membantu. Semoga skripsi ini membawa manfaat bagi para pembaca.

Penulis

2010



**HALAMAN PERNYATAAN PERSETUJUAN PUBLIKASI
TUGAS AKHIR UNTUK KEPENTINGAN AKADEMIS**

Sebagai sivitas akademik Universitas Indonesia, saya yang bertanda tangan di bawah ini :

Nama : Pricellya
NPM : 0606070926
Program Studi : S1
Departemen : Farmasi
Fakultas : MIPA
Jenis karya : Skripsi

Demi pengembangan ilmu pengetahuan, menyetujui untuk memberikan kepada Universitas Indonesia Hak Bebas Royalti Noneksklusif (*Non-exclusive Royalty Free Right*) atas karya ilmiah saya yang berjudul :

Pengaruh Pemberian Losartan terhadap Penurunan Kadar Glukosa Darah oleh Metformin pada Tikus Putih Jantan

beserta perangkat yang ada (jika diperlukan). Dengan Hak Bebas Royalti Noneksklusif ini Universitas Indonesia berhak menyimpan, mengalihmedia/formatkan, mengelola dalam bentuk pangkalan data (database), merawat, dan mempublikasikan tugas akhir saya selama tetap mencantumkan nama saya sebagai penulis/pencipta dan sebagai pemilik Hak Cipta.

Demikian pernyataan ini saya buat dengan sebenarnya.

Dibuat di : Depok

Pada tanggal : 28 Juni 2010

Yang menyatakan



(Pricellya)

vii

ABSTRAK

Nama : Pricellya
Program studi : Farmasi
Judul : Pengaruh Pemberian Losartan terhadap Penurunan Kadar Glukosa Darah oleh Metformin pada Tikus Putih Jantan

Penyakit Diabetes Melitus bila tidak dikontrol dengan baik dapat mengakibatkan berbagai komplikasi, salah satunya hipertensi. Losartan merupakan antihipertensi golongan *Angiotensin Receptor Blocker* yang umum digunakan oleh penderita hipertensi-diabetes. Metformin merupakan obat antidiabetes golongan biguanid yang biasa digunakan oleh penderita diabetes tipe II. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui pengaruh pemberian losartan terhadap penurunan kadar glukosa darah oleh metformin pada tikus putih jantan. Penelitian dilakukan dengan rancangan acak lengkap menggunakan 25 ekor tikus putih jantan galur *Sprague-Dawley* yang terbagi dalam 5 kelompok : (1) kontrol normal yang hanya diberi akuades; (2) kontrol metformin (90mg/200 g bb); (3) kontrol losartan (18mg/200g bb); (4) diberikan larutan kalium losartan dosis I (9 mg/200 g bb) dan larutan metformin hidroklorida (90 mg/200 g bb); (5) diberikan larutan kalium losartan dosis II (18 mg/200 g bb) dan larutan metformin hidroklorida (90 mg/200 g bb). Semua larutan uji diberikan secara per oral. Satu setengah jam setelah perlakuan, masing-masing tikus diberikan larutan glukosa monohidrat secara per oral dengan dosis 440 mg/200 g bb tikus. Kadar glukosa darah diukur pada menit ke 0,90, 105,120,135,150,165,180,195,dan 210 menggunakan glukometer. Hasil penelitian menunjukkan bahwa pemberian losartan memberikan pengaruh terhadap penurunan kadar glukosa darah oleh metformin pada tikus putih jantan dengan menurunkan kadar glukosa darah pada waktu 15-120 menit setelah pemberian glukosa.

Kata kunci: angiotensin, glukosa darah, losartan, metformin
xiv+72 halaman; 6 gambar; 7 tabel; 12 lampiran
Daftar Pustaka: 46 (1964-2010)

ABSTRACT

Name : Pricellya
Program study : Pharmacy
Title : The Impact of Losartan on Decrease of Blood Glucose Level by Metformin on Male Albino Rats

Diabetes Mellitus can result a lot of complication diseases, such as hypertension, if it is not treated well. Losartan is antihypertensive agent categorized as *Angiotensin Receptor Blocker*, usually given to hypertensive-diabetic patient. Metformin is antidiabetic agent categorized as biguanide, usually used by diabetic-type II patients. This research was carried out to know the impact of losartan on decrease of blood glucose level by metformin on male albino rats. This study was conducted by employing a complete random design, using 25 male Sprague-Dawley rats divided into 5 groups : (1) normal control, was given aquadest; (2) control metformin (90 mg/200 g body weight); (3) control losartan (18 mg/200g body weight); (4) was given losartan potassium dose 1 (9 mg/200 g body weight) and metformin hydrochloride (90 mg/200 g body weight); and (5) was given losartan potassium dose 2 (18 mg/200 g body weight) and metformin hydrochloride (90 mg/200 g body weight). All of the test solutions were given orally. One and half hour later, each rat was given orally glucose monohydrate dose 440 mg/200 g body weight. Blood glucose level was measured by glucometer at 0,90,105,120,135,150,165,180,195 and 210 minutes. The result showed that losartan gave impact on decrease of blood glucose level by metformin on male albino rats by lowering blood glucose level in 15-120 minutes after glucose intake.

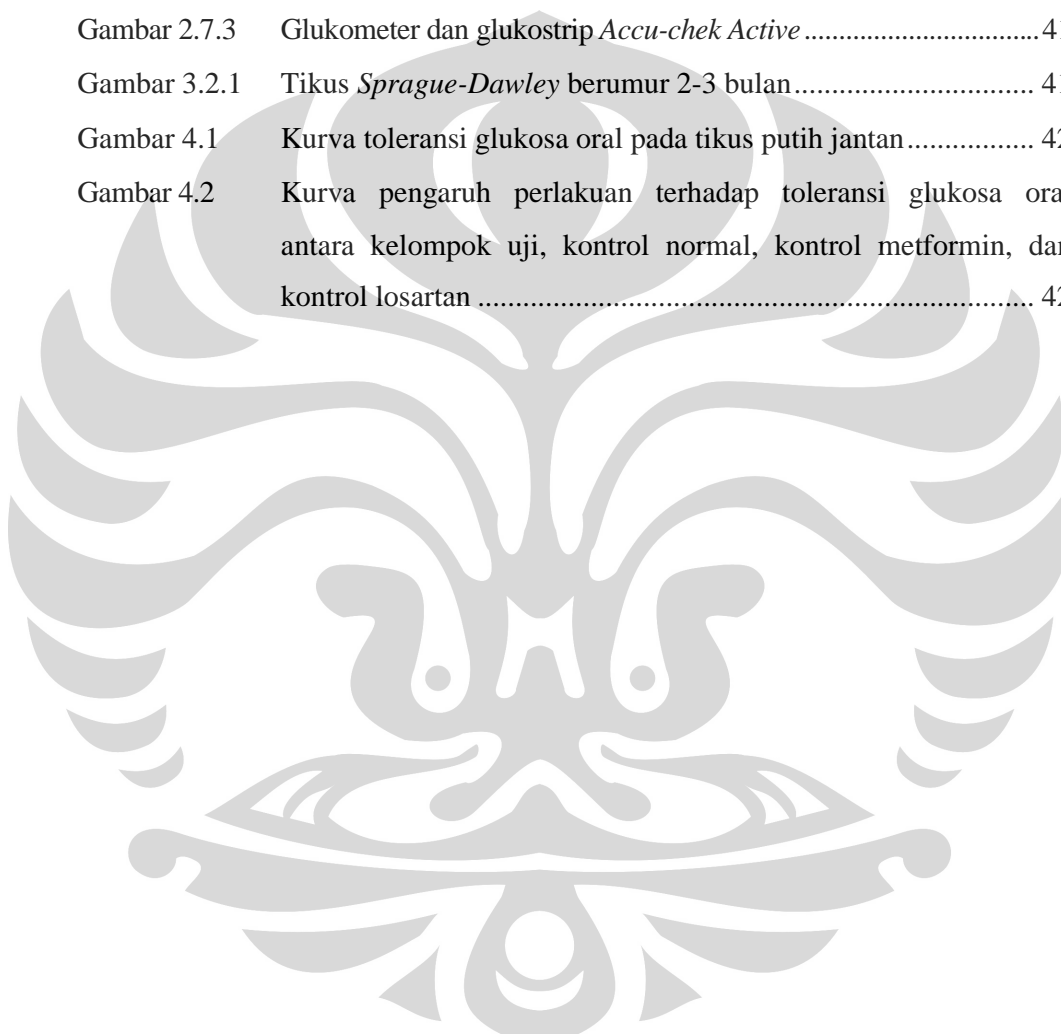
Keywords: angiotensin, blood glucose, losartan, metformin
xiv+72 pages ; 6 pictures; 7 tables; 12 appendices
Bibliography : 46 (1964-2010)

DAFTAR ISI

HALAMAN JUDUL	ii
HALAMAN PERNYATAAN ORISINALITAS	iii
LEMBAR PENGESAHAN	iv
KATA PENGANTAR.....	v
LEMBAR PERSETUJUAN PUBLIKASI KARYA ILMIAH	vii
ABSTRAK	viii
ABSTRACT.....	ix
DAFTAR ISI.....	x
DAFTAR GAMBAR.....	xi
DAFTAR TABEL.....	xii
DAFTAR LAMPIRAN	xiii
1. PENDAHULUAN.....	1
1.1 Latar belakang.....	1
1.2 Hipotesis	2
1.3 Tujuan penelitian	2
2. TINJAUAN PUSTAKA	3
2.1 Diabetes melitus.....	3
2.2 Hipertensi.....	8
2.3 <i>Renin-Angiotensin System (RAS)</i>	9
2.4 Hubungan antara DM dan hipertensi.....	11
2.5 Interaksi obat.....	13
2.6 Metode uji efek antidiabetes.....	17
2.7 Metode pemeriksaan kadar glukosa darah.....	18
3. METODE PENELITIAN	21
3.1 Lokasi.....	21
3.2 Bahan	21
3.3 Alat.....	21
3.4 Cara kerja.....	21
4. HASIL DAN PEMBAHASAN.....	27
5. KESIMPULAN DAN SARAN	35
5.1 Kesimpulan	35
5.2 Saran.....	35
DAFTAR ACUAN	36

DAFTAR GAMBAR

Gambar	Halaman
Gambar 2.5.1.1 Struktur kimia Metformin HCl	14
Gambar 2.5.1.2 Struktur kimia Kalium Losartan	15
Gambar 2.7.3 Glukometer dan glukostrip <i>Accu-chek Active</i>	41
Gambar 3.2.1 Tikus <i>Sprague-Dawley</i> berumur 2-3 bulan	41
Gambar 4.1 Kurva toleransi glukosa oral pada tikus putih jantan	42
Gambar 4.2 Kurva pengaruh perlakuan terhadap toleransi glukosa oral antara kelompok uji, kontrol normal, kontrol metformin, dan kontrol losartan	42



DAFTAR TABEL

Tabel		Halaman
Tabel 3.4.4.1	Pembagian kelompok hewan uji.....	24
Tabel 4.1	Hasil pengukuran kadar glukosa darah rata-rata pada semua kelompok perlakuan	27
Tabel 4.2	Hasil pengukuran kadar glukosa darah pada kelompok kontrol normal.....	43
Tabel 4.3	Hasil pengukuran kadar glukosa darah pada kelompok kontrol metformin	44
Tabel 4.4	Hasil pengukuran kadar glukosa darah pada kelompok kontrol losartan	45
Tabel 4.5	Hasil pengukuran kadar glukosa darah pada kelompok losartan dosis I + metformin	46
Tabel 4.6	Hasil pengukuran kadar glukosa darah pada kelompok losartan dosis II + metformin	47

DAFTAR LAMPIRAN

Lampiran	Halaman
Lampiran 2.9.1.1	Sertifikat analisis Metformin HCl48
Lampiran 2.9.1.2	Sertifikat analisis Kalium Losartan49
Lampiran 4.1	Uji normalitas (Uji Saphiro-Wilk) terhadap kadar glukosa darah seluruh kelompok hewan uji sebelum perlakuan (SPSS 15.0) 50
Lampiran 4.2	Uji homogenitas (Uji Levene) terhadap kadar glukosa darah seluruh kelompok hewan uji sebelum perlakuan (SPSS 15.0)..... 51
Lampiran 4.3	Uji Analisis variansi (ANAVA) satu arah terhadap kadar glukosa darah seluruh kelompok hewan uji sebelum perlakuan (SPSS 15.0) 52
Lampiran 4.4	Uji normalitas (Uji Saphiro-Wilk) terhadap kadar glukosa darah seluruh kelompok hewan uji 1,5 jam setelah perlakuan (SPSS 15.0)..... 53
Lampiran 4.5	Uji homogenitas (Uji Levene) terhadap kadar glukosa darah seluruh kelompok hewan uji 1,5 jam setelah perlakuan (SPSS 15.0)..... 54
Lampiran 4.6	Uji Analisis variansi (ANAVA) satu arah terhadap kadar glukosa darah seluruh kelompok hewan uji 1,5 jam setelah perlakuan (SPSS 15.0) 55
Lampiran 4.7	Uji normalitas (Uji Saphiro-Wilk) terhadap kadar glukosa darah seluruh kelompok hewan uji setelah pemberian glukosa (SPSS 15.0)..... 56
Lampiran 4.8	Uji homogenitas (Uji Levene) terhadap kadar glukosa darah seluruh kelompok hewan uji setelah pemberian glukosa (SPSS 15.0)..... 61

Lampiran 4.9	Uji Analisis variansi (ANAVA) satu arah terhadap kadar glukosa darah seluruh kelompok hewan uji setelah pemberian glukosa (SPSS 15.0).....	63
Lampiran 4.10	Uji Beda Nyata Terkecil (BNT) terhadap kadar glukosa darah antar kelompok hewan uji setelah pemberian glukosa (SPSS 15.0).....	65



BAB 1

PENDAHULUAN

1.1 Latar belakang

Diabetes Melitus (DM) didefinisikan sebagai sindrom kelainan metabolisme karbohidrat, lemak, dan protein yang disebabkan oleh defisiensi sekresi insulin atau penurunan sensitivitas reseptor terhadap insulin. Jika tidak dikelola dengan baik, DM dapat mengakibatkan komplikasi, salah satunya adalah hipertensi (Guyton, Hall, 2006).

Hipertensi pada penderita DM menyebabkan pasien harus mengonsumsi obat-obatan untuk mengatasi hipertensi tersebut selain obat-obatan untuk mengatasi DM itu sendiri. Obat-obatan antidiabetik oral yang dapat digunakan untuk terapi DM tipe 2 ada berbagai golongan, yaitu sulfonilurea, biguanid, penghambat α -glukosidase, meglitinid, tiazolidindion. Penderita DM tipe 2, terutama yang disertai obesitas, umumnya diterapi dengan golongan biguanid, contohnya metformin, karena obat ini dapat menurunkan kadar trigliserida plasma (Triplitt, Reasner, Isley, 2008). Metformin bekerja meningkatkan sensitivitas reseptor insulin di jaringan, sehingga meningkatkan ambilan glukosa perifer dan penggunaannya (Hermann, 1979; Iannello, Camuto, Cavaleri, Millazo, Pisano, Bellomia, 2004). Selain itu, metformin juga mengurangi produksi glukosa hepatic (Johnson, Webster, Sum, 1993) dan mengurangi absorpsi glukosa di saluran pencernaan (Walker, Edwards, 2003).

Obat-obatan yang dapat digunakan untuk terapi hipertensi ada berbagai macam, yaitu diuretik, penghambat adrenergik, vasodilator, *Angiotensin Converting Enzym Inhibitor* (ACEI), *Angiotensin Receptor Blocker* (ARB), dan antagonis kalsium. Antihipertensi yang disarankan bagi penderita DM adalah golongan ACEI dan ARB karena dapat mencegah proteinuria (Saseen, Maclaughlin, 2008). Losartan merupakan antihipertensi golongan ARB yang bekerja menghambat angiotensin II dalam berikatan dengan reseptor AT1, termasuk angiotensin II yang dihasilkan di pankreas dan kelenjar adrenal. Losartan menghambat semua efek yang seharusnya dihasilkan oleh angiotensin II.

Sebagai akibatnya, losartan akan meningkatkan aliran darah pankreatis, terutama di pulau Langerhans (Huang,Jansson,Sjoholm, 2006; Lau,Carlsson,Leung, 2004). Selain itu, losartan juga mencegah efek inhibisi angiotensin II terhadap sekresi insulin sel pankreas, sehingga konsentrasi insulin serum akan meningkat dan mengakibatkan penurunan kadar glukosa darah (Jin,Pan,2007; Mulcahy, Norman, Price, Henriksen, 2002). Pada kelenjar adrenal, losartan mencegah efek angiotensin II dalam merangsang pelepasan epinefrin dan norepinefrin (Lenzen,Tiege,Jorns,Munday, 1996). Hal ini menyebabkan peningkatan kadar glukosa darah yang diinduksi oleh epinefrin dan norepinefrin dapat dihambat (Mulcahy, Norman, Price, Henriksen, 2002).

Interaksi obat dapat terjadi bila pasien mengkonsumsi lebih dari satu obat bersama-sama. Interaksi dapat terjadi dengan berbagai cara, salah satunya adalah interaksi farmakodinamik (Setiawati, 2007). Dalam hal ini, losartan yang diberikan bersama dengan metformin mungkin dapat menimbulkan interaksi. Berdasarkan mekanisme kerjanya, kedua obat tersebut memiliki efek menurunkan kadar glukosa darah. Penggunaan losartan bersama-sama dengan metformin memungkinkan terjadinya penurunan kadar glukosa darah yang lebih besar daripada penggunaan metformin saja. Oleh sebab itu, perlu dilakukan pengamatan terhadap penggunaan kedua obat agar dapat diketahui apakah terjadi interaksi yang dapat mengubah kualitas terapi dari metformin.

1.2 Tujuan penelitian

Mengetahui pengaruh pemberian losartan terhadap penurunan kadar glukosa darah oleh metformin pada tikus putih jantan.

1.3 Hipotesis

Pemberian losartan memberikan pengaruh terhadap penurunan kadar glukosa darah oleh metformin pada tikus putih jantan.

BAB 2

TINJAUAN PUSTAKA

2.1 Diabetes Melitus

2.1.1 Definisi

Diabetes Melitus (DM) adalah sindrom kelainan metabolisme karbohidrat, lemak, dan protein yang disebabkan oleh defisiensi sekresi insulin atau penurunan sensitivitas reseptor terhadap insulin (Guyton, Hall, 2006).

2.1.2 Metabolisme karbohidrat (Murray, Granner, Rodwell, 2006)

Karbohidrat adalah turunan aldehida atau keton dari alkohol polihidrat. Karbohidrat diklasifikasikan menjadi monosakarida, disakarida, oligosakarida, dan polisakarida. Glukosa termasuk dalam monosakarida.

Glukosa berfungsi sebagai sumber energi utama untuk berbagai jaringan. Glukosa dimetabolisme menjadi piruvat melalui jalur glikolisis. Jaringan aerob memetabolisme piruvat menjadi asetil-koA yang dapat memasuki siklus asam sitrat untuk dioksidasi sempurna menjadi CO_2 dan H_2O , yang berkaitan dengan pembentukan ATP dalam proses fosforilasi oksidatif. Glikolisis juga dapat berlangsung secara anaerob, dengan produk akhir berupa laktat.

Glukosa dan metabolitnya juga ikut berperan dalam proses lain, misalnya sintesis glikogen di otot rangka dan hati (glikogenesis); jalur pentosa fosfat yaitu sumber ekivalen pereduksi (NADPH) untuk sintesis asam lemak dan sumber ribosa untuk membentuk nukleotida dan asam nukleat. Glukoneogenesis adalah pembentukan glukosa dari sumber nonkarbohidrat, misalnya laktat, asam amino, dan gliserol.

2.1.3 Pengaturan kadar glukosa darah (Sherwood, 1996)

Proses pengaturan kadar glukosa darah dalam tubuh manusia melibatkan beberapa hormon, yaitu insulin, glukagon, epinefrin, kortisol, dan hormon pertumbuhan.

Insulin dihasilkan oleh sel pankreas. Insulin menurunkan kadar glukosa darah dan meningkatkan penyimpanan karbohidrat dengan mekanisme sebagai berikut. Insulin meningkatkan mekanisme difusi terfasilitasi glukosa ke dalam sel-tergantung insulin. Sekresi insulin memicu pergerakan transporter glukosa menuju membran plasma. Apabila sekresi insulin berkurang, sebagian transporter akan dikembalikan ke simpanan intrasel. Pada hati, insulin akan meningkatkan metabolisme glukosa oleh hati dengan merangsang fosforilasi glukosa menjadi glukosa-6-fosfat. Fosforilasi ini menyebabkan konsentrasi glukosa bebas intrasel tetap rendah, sehingga menimbulkan gradien konsentrasi yang mempermudah difusi terfasilitasi glukosa ke dalam sel. Insulin juga merangsang glikogenesis dan menghambat glikogenolisis. Selanjutnya insulin menurunkan pengeluaran glukosa oleh hati dengan menghambat glukoneogenesis, dengan cara menurunkan jumlah asam amino dalam darah dan menghambat enzim-enzim hati yang diperlukan untuk mengubah asam amino menjadi glukosa.

Glukagon dihasilkan oleh sel pankreas. Glukagon menimbulkan efek hiperglikemia dengan menurunkan sintesis glikogen, meningkatkan glikogenolisis, dan merangsang glukoneogenesis.

Epinefrin dan kortisol dihasilkan oleh kelenjar adrenal. Keduanya meningkatkan kadar glukosa dan asam lemak dalam darah. Kortisol dapat meningkatkan glukoneogenesis melalui peningkatan katabolisme protein di dalam jaringan dan peningkatan ambilan asam amino oleh hati. Selain itu, kortisol dapat menghambat penggunaan glukosa oleh jaringan ekstrahepatik. Epinefrin merangsang glukoneogenesis dan glikogenolisis di hati. Epinefrin juga menghambat sekresi insulin dan merangsang sekresi glukagon.

Hormon pertumbuhan dapat meningkatkan kadar glukosa darah. Hormon ini menurunkan ambilan glukosa oleh jaringan tertentu. Selain itu, hormon pertumbuhan memobilisasi asam lemak bebas dari jaringan adiposa.

2.1.4 Diagnosis Diabetes Melitus

Seseorang didiagnosis menderita DM bila kadar gula darah sewaktu 200 mg/dl atau kadar gula darah puasa 126 mg/dl atau kadar gula darah 2 jam pada Tes Toleransi Gula Darah Oral (TTGO) 200 mg/dl. Gula darah sewaktu merupakan hasil pemeriksaan sesaat pada suatu hari tanpa memperhatikan waktu makan terakhir. Puasa diartikan pasien tidak mendapat kalori tambahan minimal 8 jam. TTGO dilakukan dengan Standar WHO, menggunakan beban glukosa yang setara dengan 75 g glukosa anhidrat yang dilarutkan dalam 300 ml air (Fischbach, 1992; Triplitt, Reasner, Isley, 2008).

Selain tes glukosa darah, diagnosis DM juga dapat dilakukan dengan tes HbA1c. Semakin tinggi kadar glukosa darah, maka semakin banyak jumlah HbA1 yang terglukosilasi (Price, Wilson, 2008; Triplitt, Reasner, Isley, 2008).

2.1.5 Klasifikasi Diabetes Melitus

Berdasarkan penyebabnya, DM dapat dikelompokkan menjadi 4 macam, yaitu DM tipe 1, DM tipe 2, DM gestasional, dan DM lain-lain (Price, Wilson, 2008; Triplitt, Reasner, Isley, 2008).

1) Tipe 1

Diabetes ini disebut juga diabetes tergantung insulin. DM tipe 1 terjadi akibat destruksi sel pankreas karena autoimun. Kerusakan sel pankreas pada penderita DM tipe 1 sekitar 90%. Sebagai penanda terjadinya destruksi sel pankreas adalah autoantibodi sel pulau Langerhans, dan atau antibodi insulin, dan atau antibodi asam glutamat dekarboksilase sekitar 85-90%. Pada DM tipe ini ada atau tidaknya sekresi insulin dapat ditentukan dengan kadar protein c-peptida yang jumlahnya sedikit atau tidak terdeteksi sama sekali (Price, Wilson, 2008; Triplitt, Reasner, Isley, 2008).

2) Tipe 2

Berbeda dengan DM tipe 1, DM tipe 2 berhubungan dengan meningkatnya konsentrasi insulin plasma (hiperinsulinemia). Hal ini terjadi sebagai respon kompensasi oleh sel pankreas terhadap resistensi insulin. Umumnya penderita

DM tipe 2 juga mengalami obesitas. Selain itu, pada DM tipe 2 biasanya disertai hipertensi dan dislipidemia (Price, Wilson, 2008; Triplitt, Reasner, Isley, 2008).

Faktor risiko untuk DM tipe 2 meliputi : obesitas, usia > 45 tahun, riwayat keluarga yang mengidap DM, riwayat DM gestasional, toleransi glukosa terganggu, kurangnya aktivitas fisik, dan ras (Beggs, 2006).

3) DM Gestasional

DM gestasional didefinisikan sebagai abnormalitas kadar glukosa darah yang terjadi selama kehamilan. Selama kehamilan, plasenta dan hormon plasenta menghasilkan resistensi insulin yang biasanya muncul saat trimester akhir (Katzung, 2006).

4) DM lain-lain

DM lain-lain dapat disebabkan oleh cacat genetik pada kromosom sel , penyakit pada eksokrin pankreas, endokrinopati, infeksi, obat-obatan atau zat kimia, dan sindrom lainnya (Triplitt, Reasner, Isley, 2008).

2.1.6 Pengobatan Diabetes Melitus

Pengobatan DM secara menyeluruh mencakup diet yang benar, olahraga teratur, dan obat yang diminum atau suntikan insulin. Pada DM tipe 1, mutlak diperlukan suntikan insulin setiap hari. Sedangkan pada DM tipe 2, kadang dengan diet dan olahraga saja glukosa darah dapat menjadi normal. Namun, umumnya pasien tipe 2 perlu mengonsumsi obat antidiabetes. Pada keadaan tertentu, penderita tipe 2 juga memerlukan suntikan insulin, atau bahkan kombinasi suntikan insulin dan obat antidiabetes oral (Price, Wilson, 2008).

Obat antidiabetes oral terdiri dari berbagai golongan, yaitu : (Brody, Larner, Minneman, 1998; Goodman, Hardman, Limbird, 2001; Suherman, 2007; Triplitt, Reasner, Isley, 2008)

a. Sulfonilurea

Mekanisme kerja obat golongan sulfonilurea adalah meningkatkan sekresi insulin sebagai akibat rangsangan glukosa. Oleh karena itu, sulfonilurea hanya dapat bermanfaat pada pasien yang masih mempunyai kemampuan untuk mensekresi insulin.

b. Biguanid

Mekanisme kerja obat golongan biguanid adalah meningkatkan sensitivitas reseptor insulin di jaringan otot dan adiposa terhadap insulin, menurunkan produksi glukosa hepatic, dan mengurangi absorpsi glukosa pada usus. Obat golongan ini tidak menstimulasi sekresi insulin.

c. Penghambat α -glukosidase

Obat ini merupakan suatu penghambat enzim alfa glukosidase yang terdapat pada dinding usus halus. Inhibisi sistem enzim ini secara efektif dapat mengurangi absorpsi karbohidrat, sehingga pada pasien diabetes dapat mengurangi peningkatan kadar glukosa postprandial.

d. Tiazolidindion

Tiazolidindion mempunyai efek farmakologi meningkatkan sensitivitas insulin, sehingga dapat mengatasi masalah resistensi insulin dan berbagai masalah akibat resistensi insulin.

Tiazolidindion berikatan pada *Peroxisome Proliferator Activated Receptor gamma* (PPAR γ), suatu reseptor inti di sel otot dan sel adiposa. Tiazolidindion bekerja dengan meningkatkan aksi insulin dan meningkatkan penggunaan glukosa di jaringan perifer, dengan menstimulasi metabolisme glukosa non-oksidatif di otot dan menekan glukoneogenesis di hati. Obat golongan ini tidak mendorong pankreas untuk meningkatkan sekresi insulin.

2.1.7 Komplikasi Diabetes Melitus

Komplikasi DM dapat dibagi menjadi 2 kategori, yaitu komplikasi metabolik akut dan komplikasi vaskular jangka panjang. Komplikasi metabolik akut contohnya ketoasidosis diabetik. Komplikasi vaskular jangka panjang

meliputi komplikasi mikrovaskular, contohnya retinopati, neuropati, dan kaki diabetik; dan komplikasi makrovaskular, contohnya aterosklerosis (Triplitt, Reasner, Isley, 2008; WHO, 1999; Wood, Cantrill, 2003).

2.2 Hipertensi

2.2.1 Definisi

Hipertensi merupakan suatu keadaan dimana tekanan darah meningkat melebihi batas normal. Batas tekanan darah normal bervariasi sesuai dengan usia. Kondisi dimana tekanan darah sistol ≥ 140 mmHg dan tekanan darah diastol ≥ 90 mmHg dapat dinyatakan sebagai hipertensi (Fischbach, 1992).

2.2.2 Klasifikasi etiologis

Hipertensi dapat diklasifikasikan berdasarkan etiologi yaitu dengan penyebab yang tidak diketahui (hipertensi esensial/ primer atau idiopatik) dan dengan penyebab diketahui (hipertensi sekunder) (Nafrialdi, 2007; Walker, Edwards, 2003).

Hipertensi esensial adalah hipertensi tanpa kelainan dasar patologi yang jelas. Penyebabnya multifaktorial meliputi faktor genetik dan lingkungan. Faktor genetik mempengaruhi kepekaan terhadap natrium, reaktivitas pembuluh darah terhadap vasokonstriktor, resistensi insulin dan lain-lain. Sedangkan yang termasuk faktor lingkungan antara lain makanan, kebiasaan merokok, emosi, obesitas dan lain-lain (Nafrialdi, 2007; Walker, Edwards, 2003).

Hipertensi sekunder contohnya hipertensi akibat penyakit ginjal (hipertensi renal), hipertensi endokrin, kelainan saraf pusat, obat-obatan, dan lain-lain (Nafrialdi, 2007; Walker, Edwards, 2003).

2.2.3 Pengobatan

Pengobatan hipertensi bertujuan menurunkan tekanan darah pasien menjadi $140/90$ mmHg, dan untuk pasien DM atau penyakit ginjal kronis menjadi $130/80$ mmHg (Saseen, MacLaughlin, 2008).

Diuretik, ACEI (*Angiotensin Converting Enzyme Inhibitor*), ARB (*Angiotensin II Receptor Blocker*), dan CCB (*Calcium Channel Blocker*) merupakan antihipertensi yang dianggap sebagai pilihan pertama. Pada keadaan tertentu dapat digunakan *-blocker*. Selain itu, pasien hipertensi juga dapat diberikan antihipertensi alternatif seperti β_1 -blocker, agonis α_2 sentral, atau vasodilator langsung (Saseen, MacLaughlin, 2008; Leung, 2010).

2.3 *Renin-Angiotensin System (RAS)* (Sherwood, 1996)

Renin-Angiotensin System (RAS) memegang peranan penting dalam pengaturan tekanan darah. Mekanisme kerja sistem ini sebagai berikut. Sel-sel aparatus jukstaglomerulus mensekresikan hormon renin ke dalam darah sebagai respons terhadap penurunan NaCl / volume cairan ekstraselular / tekanan darah. Renin bekerja mengaktifkan angiotensinogen menjadi angiotensin I. Angiotensinogen adalah protein plasma yang disintesis oleh hati dan selalu ada dalam konsentrasi tinggi. Pada saat melewati paru melalui sirkulasi paru, angiotensin I diubah oleh *Angiotensin Converting Enzyme (ACE)*, yang banyak terdapat di kapiler paru, menjadi angiotensin II. Angiotensin II adalah stimulus utama untuk sekresi hormon aldosteron dari kelenjar adrenal.

Salah satu efek aldosteron adalah meningkatkan reabsorpsi Na^+ oleh tubulus distal dan tubulus pengumpul. Hormon ini melaksanakannya dengan merangsang sintesis protein-protein baru di dalam sel-sel tubulus tersebut. Protein-protein itu, yang disebut *aldosterone-induced proteins*, meningkatkan reabsorpsi Na^+ melalui dua cara. Pertama, mereka terlibat dalam pembentukan saluran Na^+ di membran luminal sel tubulus distal dan pengumpul, sehingga meningkatkan perpindahan pasif Na^+ dari lumen ke dalam sel. Kedua, mereka menginduksi sintesis pembawa $\text{Na}^+\text{-K}^+$ ATPase, yang disisipkan ke dalam membran basolateral sel-sel tersebut. Aliran masuk Na^+ yang berlangsung secara pasif mendorong peningkatan pemompaan aktif Na^+ keluar dari sel ke dalam ruang lateral, lalu ke dalam plasma oleh pembawa $\text{Na}^+\text{-K}^+$ ATPase basolateral. Hasil akhirnya adalah peningkatan reabsorpsi Na^+ . Ion klorida (Cl^-) mengikuti secara pasif sesuai gradien listrik yang tercipta oleh reabsorpsi aktif Na^+ . Dengan

demikian, RAS mendorong retensi garam yang akhirnya menyebabkan retensi air dan peningkatan tekanan darah arteri.

Selain merangsang sekresi aldosteron, angiotensin II juga merupakan konstriktor kuat bagi arteriol, sehingga secara langsung meningkatkan tekanan darah dengan meningkatkan resistensi perifer total. Angiotensin II juga merangsang rasa haus dan merangsang vasopresin, keduanya berperan menyebabkan ekspansi volume plasma dan peningkatan tekanan darah arteri.

2.3.1 RAS jaringan (Ganong, 2006; Leung, 2010)

Selain RAS sistemik, beberapa jaringan memiliki RAS independen yang juga menghasilkan angiotensin II untuk penggunaan lokal. Jaringan tersebut antara lain mata, pankreas, jantung, adiposa, korteks adrenal, testis, ovarium, kelenjar pineal, dan otak. RAS lokal ini menghasilkan berbagai aksi di berbagai organ. Pada beberapa jaringan, RAS lokal ini diatur secara independen dari RAS plasma. Hal ini dibuktikan oleh penelitian di mana nefrektomi (menghasilkan penurunan angiotensin II dalam plasma) tidak menyebabkan perubahan apa-apa pada RAS lokal, misalnya yang dihasilkan oleh kelenjar adrenal dan otak. Sebaliknya, pada sistem organ lain terdapat hubungan antara RAS lokal dan RAS sistemik. Pada organ pencernaan, misalnya pankreas, RAS lokal ini berperan dalam fungsi fisiologis parakrin, autokrin, dan juga intrakrin.

RAS yang berada di organ pankreas berperan dalam pengaturan sekresi hormon-hormon pankreas. Aksi biologis RAS pankreatis ini diperantarai oleh reseptor angiotensin II tipe 1 dan 2, terutama tipe 1. Angiotensin II menyebabkan aliran darah pankreatis maupun pulau Langerhans menurun (Leung, 2007). Angiotensin II pankreatis juga mengurangi sekresi insulin-yang distimulasi glukosa, dengan cara menekan eksositosis insulin sel β dan dengan menghambat perfusi darah pulau Langerhans (Ganong, 2006; Lenzen, Tiege, Jorns, Munday, 1996; Sherwood, 1996).

Pada kelenjar adrenal, angiotensin II akan meningkatkan aktivitas simpatis melalui peningkatan pelepasan epinefrin dan norepinefrin. Epinefrin dapat meningkatkan kadar glukosa darah dengan menstimulasi glukoneogenesis dan glikogenolisis di hati. Epinefrin dan norepinefrin juga memiliki efek hiperglikemik dengan menghambat sekresi insulin dan merangsang sekresi glukagon. Hal ini menyebabkan kadar glukosa darah meningkat (Lenzen, Tiege, Jorns, Munday, 1996; Sherwood, 1996).

2.3.2 Reseptor Angiotensin II (Ganong, 2006)

Aksi angiotensin II, baik dalam RAS sistemik, maupun RAS lokal, diperantarai oleh reseptor. Terdapat minimum dua kelas reseptor angiotensin II. Pertama, reseptor angiotensin II tipe 1 (AT1), adalah reseptor berkelok yang terangkai ke fosfolipase C oleh protein G. Pada manusia, gen reseptor AT1 berada di kromosom 3. Kedua, reseptor angiotensin II tipe 2 (AT2). Reseptor ini bekerja melalui sebuah protein untuk melawan efek pertumbuhan dan membuka kanal K^+ . Reseptor AT2 lebih banyak ditemukan pada masa janin dan neonatus, tetapi tetap dapat dijumpai di otak dan organ lain pada orang dewasa.

2.4 Hubungan antara DM dan hipertensi

Pada penderita DM tipe 2, hipertensi berhubungan dengan resistensi insulin. Resistensi insulin menyebabkan glukosa tidak dapat masuk ke dalam sel, sehingga sel kekurangan energi. Untuk memenuhi kebutuhan energi, terjadi peningkatan lipolisis triasilgliserol yang menghasilkan asam lemak bebas dan gliserol. Asam lemak bebas ini akan dioksidasi menjadi asetil-koA. Asetil-koA merupakan prekursor pembentukan kolesterol. Kolesterol yang terbentuk diangkut oleh *Low Density Lipoprotein* (LDL) ke berbagai jaringan (Murray, Granner, Rodwell, 2006).

Cedera endotel menimbulkan perlekatan trombosit dan leukosit, peningkatan permeabilitas pembuluh darah, dan migrasi monosit ke dalam dinding pembuluh darah. Akibat peningkatan permeabilitas pembuluh darah, kolesterol-LDL masuk ke dalam lapisan endotel pembuluh darah.

Kolesterol-LDL ini bila teroksidasi, maka akan difagosit oleh makrofag membentuk sel busa. Lepasnya trombosit dari tempat pelekatannya menyebabkan sel-sel otot polos berproliferasi dan membentuk lapisan fibrosa. Lapisan ini merupakan campuran leukosit, debris, sel busa dan lipid bebas yang membentuk inti nekrotik. Penimbunan kalsium ke dalam lapisan fibrosa akan menyebabkan pengerasan. Plak ini dapat menyebar ke dalam dinding pembuluh darah, sehingga pembuluh darah akan menebal dan terjadi penyempitan lumen. Keadaan ini dikenal sebagai aterosklerosis (Price, Wilson, 2008).

Sel endotelial pembuluh darah mensintesis beberapa substansi bioaktif kuat yang mengatur struktur fungsi pembuluh darah. Substansi ini meliputi nitrat oksida, prostaglandin, dan endotelin. Oksidasi kolesterol-LDL pada sel endotel arteri akan menghasilkan senyawa radikal bebas. Radikal ini dapat menonaktifkan nitrat oksida, yaitu senyawa yang menimbulkan efek vasodilatasi. Akibat inaktivasi nitrat oksida ini adalah penekanan efek vasodilatasi. Hal tersebut dapat menyebabkan hipertensi (Price, Wilson, 2008).

2.4.1 Terapi hipertensi pada penderita DM

ACEI dan ARB merupakan obat antihipertensi yang dianjurkan bagi penderita DM sebab kedua obat ini bersifat renoprotektif. Kedua obat ini akan menurunkan tekanan darah dan mengurangi ekskresi protein dalam urin (proteinuria) (Guyton, Hall, 2006; Saseen, MacLaughlin, 2008).

Senyawa ARB, contohnya losartan, kandesartan, irbesartan, dan valsartan, menggantikan angiotensin II dari tempat ikatan angiotensin II dengan reseptor angiotensin II tipe 1 (AT1) (Libby, 2008).

Berbeda dengan ACEI, obat-obat golongan ARB tidak menghambat pemecahan bradikinin dan kinin-kinin lainnya, sehingga tidak menimbulkan batuk kering persisten yang biasanya mengganggu pada terapi dengan ACEI (Libby, 2008).

2.5 Interaksi obat (Stockley, 2005)

Interaksi obat dapat didefinisikan sebagai modifikasi efek suatu obat akibat obat lain yang diberikan sebelumnya atau diberikan bersamaan, atau bila dua atau lebih obat berinteraksi sedemikian rupa sehingga efektivitas atau toksisitas satu obat atau lebih akan berubah. Menurut jenisnya, interaksi obat dapat dibedakan menjadi interaksi farmasetik / inkompatibilitas, interaksi farmakokinetik, dan interaksi farmakodinamik.

Interaksi farmasetik / inkompatibilitas ini terjadi di luar tubuh (sebelum obat diberikan) antar obat yang inkompatibel. Interaksi ini biasanya berakibat inaktivasi obat.

Interaksi farmakokinetik dapat terjadi pada berbagai tahap, meliputi absorpsi, distribusi, metabolisme, atau ekskresi. Interaksi ini meningkatkan atau mengurangi jumlah obat yang tersedia dalam tubuh untuk menimbulkan efek farmakologinya.

Interaksi pada proses absorpsi terjadi karena absorpsi obat tergantung pada formulasi farmasetik, pKa dan kelarutan obat dalam lemak, pH, flora usus, dan aliran darah dalam organ pencernaan. Interaksi yang mengurangi kecepatan absorpsi dengan interaksi yang mengurangi jumlah obat yang diabsorpsi perlu dibedakan. Sebagian besar interaksi yang berkaitan dengan absorpsi tidak bermakna secara klinis dan dapat diatur dengan memisahkan waktu pemberian obat.

Interaksi pada proses distribusi terjadi bila dua obat berkompetisi pada tempat ikatan dengan protein plasma yang sama dan satu atau lebih obat didesak dari ikatannya dengan protein tersebut. Hal ini mengakibatkan peningkatan sementara konsentrasi obat bebas (aktif), biasanya peningkatan tersebut diikuti dengan peningkatan metabolisme atau ekskresi. Interaksi ini melibatkan obat-obat yang ikatannya dengan protein tinggi.

Interaksi pada proses metabolisme terjadi pada obat yang dimetabolisme di hati, terutama oleh sistem enzim sitokrom P450 monooksigenase. Induksi enzim oleh suatu obat dapat meningkatkan kecepatan metabolisme obat lain dan mengakibatkan pengurangan efek. Sebaliknya, inhibisi enzim dapat

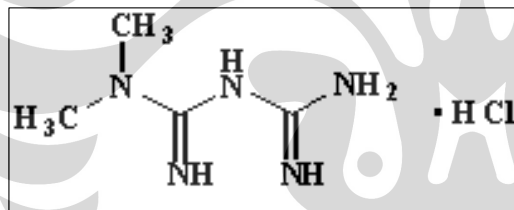
mengakibatkan akumulasi dan peningkatan toksisitas obat lain. Kebanyakan interaksi demikian terjadi akibat kompetisi antar substrat untuk enzim metabolisme yang sama.

Interaksi pada proses eliminasi terjadi pada obat yang dieliminasi sebagian besar melalui ginjal. Jadi, obat yang mempengaruhi ekskresi obat melalui ginjal dapat mempengaruhi konsentrasi obat lain dalam plasma. Hanya sejumlah kecil obat yang cukup larut dalam air yang mendasarkan ekskresinya melalui ginjal sebagai eliminasi utamanya, yaitu obat yang tanpa lebih dulu dimetabolisme di hati.

Interaksi farmakodinamik adalah interaksi antara obat yang bekerja pada sistem fisiologis yang sama sehingga terjadi efek yang aditif, sinergis atau antagonis.

2.5.1 Interaksi antara metformin dan losartan

2.5.1.1 Metformin HCl (Lampiran 2.7.1.1)



Gambar 2.5.1.1 Struktur kimia Metformin HCl

Rumus molekul : $C_4H_{11}N_5 \cdot HCl$

Berat molekul : 165,6

Pemerian : serbuk hablur berwarna putih, tidak berbau atau hampir tidak berbau, higroskopis, dan rasanya pahit.

Kelarutan : larut dalam 2 bagian air, 100 bagian alkohol, praktis tidak larut dalam kloroform dan eter.

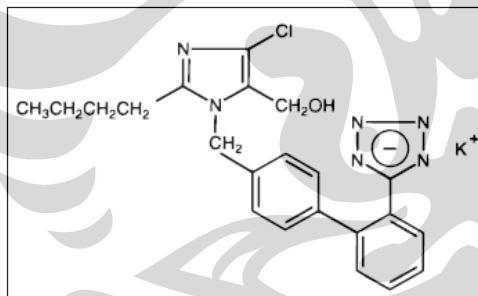
Farmakokinetik

Bioavailabilitas dari metformin berkisar antara 50-60%, kelarutannya dalam lemak rendah, dan volume distribusi yang hampir mencapai volume air dalam tubuh. Metformin tidak mengalami metabolisme hepatic dan tidak terikat pada protein plasma. Metformin diekskresikan lewat urin ($\pm 90\%$ sebagai obat utuh). Waktu paruh rata-rata dari metformin adalah ± 6 jam. Waktu yang dibutuhkan untuk mencapai kadar puncak 4-8 jam (Lacy, Armstrong, Goldman, Lance, 2008; Suherman, 2007).

Dosis peroral

Dewasa 17 tahun : dosis awal 500 mg, umumnya dosis pemeliharaan 3 x 500 mg, atau 850 mg sekali sehari. Dosis maksimum sehari 2,5 gram. Obat diminum pada waktu makan (Lacy, Armstrong, Goldman, Lance, 2008; Suherman, 2007).

2.5.1.2 Kalium losartan (Lampiran 2.7.2.1)



Gambar 2.5.1.2 Struktur kimia Kalium losartan

Monografi (Martindale, 1982)

Rumus molekul $C_{22}H_{22}ClKN_6O$.

Berat molekul 461,01.

Kalium losartan merupakan serbuk kristal putih dan tidak berbau.

Mudah larut dalam air, larut dalam alkohol, dan agak sukar larut dalam pelarut organik, seperti asetonitril dan metil etil keton.

Farmakokinetika

Losartan berikatan kuat dengan protein plasma. Losartan mengalami metabolisme di hati. Bioavailabilitas losartan berkisar antara 25%-33%. Losartan cepat diekskresi dengan waktu paruh eliminasi 1,5-2 jam. Waktu yang dibutuhkan untuk mencapai kadar puncak dalam darah sekitar 1 jam. Losartan diekskresi lewat urin 4% sebagai obat utuh dan 6% sebagai metabolit aktif (Guyton, Hall, 2006; Katzung, 2006; Nafrialdi, 2007).

Dosis peroral

Dosis awal : 50 mg/hari, losartan dapat diminum 1-2 kali sehari dengan dosis lazim 25-100 mg/ hari (Nafrialdi, 2007; Lacy, Armstrong, Goldman, Lance, 2008).

2.5.1.3 Mekanisme interaksi antara losartan dan metformin

Penggunaan losartan bersamaan dengan metformin mungkin menimbulkan terjadinya interaksi. Adanya interaksi ini dapat diprediksi bila kita mengetahui mekanisme kerja masing-masing obat.

Metformin bekerja dengan menurunkan produksi glukosa hepatic (Johnson, Webster, Sum, 1993), mengurangi absorpsi glukosa pada usus (Lacy, Armstrong, Goldman, Lance, 2008) dan meningkatkan sensitivitas reseptor insulin pada jaringan hati dan otot terhadap insulin (Hermann, 1979; Iannello, Camuto, Cavaleri, Pisano, Bellomia, 2004). Bila reseptor insulin di sel-sel ini diaktifkan, vesikel yang berisi transporter glukosa akan bergerak cepat ke membran sel lalu berfusi sambil menyisipkan transporter ke dalam membran sel. Akibatnya, ambilan glukosa perifer meningkat (Katzung, 2006; Leung, 2010; Schupp, Jurke, Clasen, 2004; Schupp, Jurke, Clasen, 2006).

Losartan berinteraksi dengan reseptor angiotensin II tipe 1 (AT1). Hal ini menyebabkan angiotensin II tidak dapat berikatan dengan reseptor AT1 (Saseen, MacLaughlin, 2008; Schupp, Jurke, Clasen, 2004). Sebagai akibatnya, aliran darah

pankreatitis, terutama di pulau Langerhans, akan meningkat (Lau, Carlsson, Leung, 2004; Huang, Jansson, Sjoholm, 2006). Selain itu, inhibisi angiotensin II terhadap sekresi insulin sel pankreas dapat dicegah, sehingga konsentrasi insulin serum meningkat dan mengakibatkan penurunan kadar glukosa darah (Jin, Pan, 2007; Mulcahy, Norman, Price, Henriksen, 2002).

Losartan juga bekerja pada reseptor AT1 di kelenjar adrenal. Losartan mencegah pelepasan epinefrin dan norepinefrin yang disebabkan oleh angiotensin II. Dengan demikian, losartan dapat mencegah efek hiperglikemik yang dapat dihasilkan oleh pelepasan epinefrin dan norepinefrin (Mulcahy, Norman, Price, Henriksen, 2002).

Berdasarkan mekanisme kerja kedua obat tersebut, dapat dilihat bahwa keduanya memiliki efek menurunkan kadar glukosa darah. Dengan demikian, penggunaan losartan bersamaan dengan metformin diprediksi menimbulkan efek penurunan kadar glukosa darah yang lebih besar.

2.6 Metode uji efek antidiabetes

2.6.1 Metode tes toleransi glukosa peroral (TTGO)

Hewan uji dipuasakan 20-24 jam lalu diberi larutan glukosa peroral. Pada awal percobaan sebelum pemberian obat dilakukan pengukuran glukosa darah sebagai kadar glukosa darah awal. Pengambilan sampel darah diulangi setelah perlakuan pada waktu-waktu tertentu. Keadaan hiperglikemia pada uji toleransi glukosa hanya berlangsung beberapa menit setelah pemberian glukosa sebagai diabetogen (Lenzen, Tiege, Jorns, Munday, 1996; Neal, 2004).

2.6.2 Metode uji dengan perusakan pankreas (Lenzen, Tiege, Jorns, Munday, 1996)

Metode ini dilakukan dengan memberikan diabetogen yang dapat menyebabkan pankreas hewan uji rusak sehingga terkondisi seperti pada penderita DM. Diabetogen yang banyak digunakan adalah aloksan. Aloksan terdapat dalam tiga bentuk senyawa yaitu aloksan anhidrat, aloksan monohidrat, dan aloksan tetrahidrat.

Prinsip metode ini adalah induksi diabetes pada hewan uji dengan diberikan suntikan aloksan monohidrat secara intravena. Hewan uji akan mengalami fase hipoglikemi-hiperglikemi. Sebelum terjadi hiperglikemi permanen, hewan uji akan mengalami keadaan sebagai berikut :

Setelah 5-10 menit dari pemberian aloksan secara intravena, akan terjadi hipoglikemi awal. Pada fase ini saraf otonom akan mempengaruhi insulin yang dilepaskan sehingga insulin yang tersimpan dalam sel beta akan dimetabolisme dan masuk ke dalam peredaran darah dan menyebabkan hipoglikemi. Hal ini berlangsung singkat, tetapi dapat berakibat fatal bagi hewan.

Setelah 30-120 menit sejak pemberian aloksan, terjadi fase hiperglikemia. Pada fase ini mula-mula terjadi stimulasi ortosimpatik yang disebabkan adanya inhibisi sekresi insulin ke dalam sel-sel beta pankreas oleh aloksan.

Pada fase ketiga terjadi hipoglikemia sekunder dan kadang terjadi konvulsi pada hewan. Terjadi antara jam ketiga dan jam kesepuluh setelah pemberian aloksan secara intravena. Pada fase ini kadar gula darah menurun dan mencapai keadaan yang lebih gawat dari semula. Jika keadaan fatal, dianjurkan pemberian glukosa.

Pada fase terakhir terjadi hiperglikemia awal permanen. Fase ini terjadi setelah 24-48 jam setelah pemberian aloksan secara intravena, tetapi pada dasarnya keadaan dapat menjadi normal kembali secara spontan setelah selang waktu tersebut. Oleh karena itu, pemeriksaan sebaiknya dilakukan setelah tahap keempat atau pada hari ketiga.

2.7 Metode pemeriksaan kadar glukosa darah

2.7.1 Metode reduksi-oksidasi

Pengukuran glukosa didasarkan pada sifatnya sebagai pereduksi dalam larutan alkali panas. Metode ini tidak spesifik karena adanya zat-zat bukan glukosa yang juga bersifat mereduksi. Walaupun demikian di beberapa negara berkembang, metode ini masih digunakan dalam pemeriksaan glukosa dalam urin (Raphael, 1983).

2.7.2 Metode kondensasi (O-Toluidine Methods) (Hendry, J.R., 1986)

Berbagai senyawa amin aromatis seperti aniline, benzidin, 2-aminidifenil, dan o-toluidin bereaksi dengan glukosa dalam larutan asam asetat panas membentuk derivat-derivat yang berwarna. Senyawa amin aromatis lain diduga bersifat karsinogenik, sehingga pemakaian reagen hanya terbatas pada o-toluidin.

O-toluidin berkondensasi dengan gugus aldehid dari glukosa membentuk campuran setimbang dari glikosamin dan basa Schiff. Reaksi selanjutnya menghasilkan suatu campuran kromogen biru-hijau dengan panjang gelombang maksimum 630 nm. Intensitas warna memberikan sensitivitas yang tinggi. Pengukuran dilakukan menggunakan spektrofotometer UV-Vis.

2.7.3 Metode enzimatik menggunakan glukometer (Hones,Muller,SurrIDGE, 2008; Husseini,Rahim,Awartani, 2000)

Pengukuran glukosa darah dengan glukometer dilakukan berdasarkan prinsip fotometri yang disebabkan oleh reaksi dari glukosa dengan bahan pereaksi glukosa pada elektrode strip. Strip uji mengandung bahan-bahan kimia : glukosa dehidrogenase (0,7 U), quinoneimine (8,3 μ g), 2,18-asam fosfomolibdat (88 μ g), stabilisator (0,18mg), dan bahan-bahan nonreaktif (2,1mg).

Sampel darah diserap masuk ke dalam ujung strip uji berdasarkan reaksi kapilaritas. Apabila sampel darah mengisi ruangan reaksi pada strip uji, akan terjadi reaksi enzimatik sebagai berikut. Glukosa dehidrogenase mengoksidasi glukosa menjadi glukonolakton. Glukosa dehidrogenase yang tereduksi selanjutnya bereaksi dengan quioneimine menghasilkan phenylendiamine dengan melepaskan 2 elektron. Transfer elektron pada elektrode dengan indikator asam fosfomolibdat berlangsung sangat cepat dan menghasilkan perubahan warna. Setelah 5 detik, kadar glukosa darah akan muncul pada monitor glukometer. Untuk pengamatan manual, setelah 30-60 detik, warna yang dihasilkan pada glukostrip dibandingkan dengan grafik warna yang terdapat pada botol kemasan glukostrip.

Glukometer (Accu-Chek Active) telah disesuaikan dengan persyaratan *EN ISO 15197-requirements for blood glucose monitoring systems for self testing in managing diabetes mellitus* dengan karakteristik sebagai berikut : akurasi 99% dan simpangan baku maksimal 4%; limit deteksi 10mg/dl dan rentang pengukuran 10-600 mg/dl.



BAB 3 METODE PENELITIAN

3.1 Lokasi

Penelitian dilaksanakan di Departemen Farmasi FMIPA Universitas Indonesia. Penelitian dilakukan dari bulan Februari 2010 sampai bulan Mei 2010.

3.2 Bahan

Hewan uji

Hewan uji yang digunakan pada penelitian ini adalah tikus albino jantan *Sprague Dawley* berumur 2–3 bulan dengan berat badan 150-250 gram sebanyak 25 ekor (Gambar 3.2.1). Hewan uji diperoleh dari Bagian Non Ruminansia dan Satwa Harapan Fakultas Peternakan Institut Pertanian Bogor.

Bahan uji dan bahan kimia :

Metformin HCl (Kalbe Farma), kalium losartan (Kalbe Farma), akuades, alkohol 70%, glukosa monohidrat (Merck).

3.3 Alat

Sonde lambung, timbangan analitik (Ohaus), timbangan tikus (Ohaus), spuit, penangas air, glukometer (Accu-chek active, Roche Diagnostics), glukostrip (Accu-chek active, Roche Diagnostics), alat-alat gelas, *surgical blade*.

3.4 Cara kerja

3.4.1 Persiapan hewan uji

Tikus diaklimatisasi selama 2 minggu di kandang hewan FMIPA UI. Aklimatisasi bertujuan agar tikus beradaptasi dengan lingkungan baru dan meminimalisasi efek stress pada tikus yang dapat berpengaruh pada metabolismenya dan dapat mengganggu penelitian. Setiap tikus diberi makan dan minum serta ditimbang berat badannya secara rutin. Tikus yang digunakan dalam penelitian harus sehat dengan tanda-tanda bulu tidak berdiri, warna putih bersih, mata jernih, tingkah laku normal, serta mengalami peningkatan berat badan dalam batas tertentu yang diukur secara rutin.

3.4.2 Penetapan dosis

3.4.2.1 Metformin HCl

Metformin HCl diberikan dalam bentuk larutan sesuai dosis peroral efektif pada manusia (500 mg) yang dikonversikan berdasarkan konversi Paget dan Barnes (Paget,Barnes, 1964) yaitu dosis untuk setiap 200 g berat badan tikus setara dengan 0,018 kali dosis manusia lalu dikalikan faktor farmakokinetik (10). Dosis pada tikus : $0,018 \times 500 \text{ mg} \times 10 = 90 \text{ mg}$.

3.4.2.2 Kalium losartan

Kalium losartan diberikan dalam bentuk larutan sesuai dosis peroral efektif pada manusia (50 mg dan 100 mg) yang dikonversikan berdasarkan konversi Paget dan Barnes (Paget,Barnes, 1964) yaitu dosis untuk setiap 200 g berat badan tikus setara dengan 0,018 kali dosis manusia lalu dikalikan faktor farmakokinetik (10). Dosis pada tikus : $0,018 \times 50 \text{ mg} \times 10 = 9 \text{ mg}$ sebagai dosis I dan $0,018 \times 100 \text{ mg} \times 10 = 18 \text{ mg}$ sebagai dosis II.

Volume masing-masing larutan uji yang diberikan pada setiap kelompok uji, kontrol metformin, dan kontrol losartan sama dengan volume akuades yang diberikan pada kontrol normal, yaitu sebanyak 1ml/200 g BB.

3.4.2.3 Glukosa monohidrat

Dosis glukosa anhidrat untuk tikus pada uji TTGO adalah 2 g/kg BB. Untuk tikus dengan berat badan 200 gram, dosisnya adalah $0,2 \times 2 \text{ g} = 0,4 \text{ g} = 400 \text{ mg}$.

Dalam penelitian ini digunakan glukosa monohidrat sehingga harus dikonversi terlebih dahulu berdasarkan berat molekulnya (BM).

$$\text{BM glukosa anhidrat} = 180,16$$

$$\text{BM glukosa monohidrat} = 198,17$$

Untuk tikus dengan berat badan 200 gram, dosis glukosa monohidrat yang digunakan adalah $\frac{198,17}{180,16} \times 400 \text{ mg} = 440 \text{ mg}$.

3.4.3 Penyiapan bahan uji

3.4.3.1 Pembuatan larutan metformin HCl

Sebanyak 900 mg serbuk metformin HCl ditimbang kemudian dilarutkan dalam akuades sampai volume 10,0 ml, sehingga diperoleh larutan dengan konsentrasi 90 mg/ml.

3.4.3.2 Pembuatan larutan kalium losartan

Dosis I : sebanyak 90 mg serbuk kalium losartan ditimbang lalu dilarutkan dalam akuades sampai volume 10,0 ml, sehingga diperoleh larutan dengan konsentrasi 9 mg/ml. Dosis II: sebanyak 180 mg serbuk kalium losartan ditimbang lalu dilarutkan dalam akuades sampai volume 10,0 ml, sehingga diperoleh larutan dengan konsentrasi 18 mg/ml.

3.4.3.3 Pembuatan larutan glukosa

Sebanyak 4,4 gram glukosa monohidrat ditimbang lalu dilarutkan dalam akuades sampai volume 10,0 ml, sehingga diperoleh larutan dengan konsentrasi 440 mg/ml.

3.4.4 Pelaksanaan percobaan

Untuk mengetahui adanya pengaruh losartan terhadap penurunan kadar glukosa darah oleh metformin digunakan metode uji toleransi glukosa oral. Tikus dipilih menggunakan metode rancangan acak lengkap (RAL). Uji ini menggunakan satu kelompok kontrol normal, satu kelompok kontrol metformin, satu kelompok kontrol losartan dan dua kelompok variasi dosis uji. Masing-masing kelompok terdiri dari 5 ekor tikus putih jantan. Penentuan jumlah tikus pada setiap kelompok dihitung berdasarkan rumus Federer : $(n - 1)(t - 1) \geq 15$, dimana n menunjukkan jumlah ulangan minimal dari tiap perlakuan dan t menunjukkan jumlah perlakuan. Penentuan jumlah hewan uji dan pembagian kelompok adalah sebagai berikut :

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

$$(n - 1)(5 - 1) \geq 15$$

$$(n - 1)(4) \geq 15$$

$$4n - 4 \geq 15$$

$$4n \geq 19$$

$$n \geq 4,75 \approx 5$$

Tabel 3.4.4.1 Pembagian kelompok hewan uji

Kelompok	Jumlah hewan uji	Perlakuan
1	5	Kontrol normal, diberi akuades 1ml/200 g BB, dibebani glukosa 440 mg/200 g BB
2	5	Kontrol metformin, diberi metformin HCl 90 mg/200 g BB, dibebani glukosa 440 mg/200 g BB
3	5	Kontrol losartan, diberi kalium losartan dosis II (18 mg/200 g BB), dibebani glukosa 440 mg/200 g BB
4	5	Diberi kalium losartan dosis I (9 mg/200 g BB), metformin HCl 90 mg/200 g BB, dibebani glukosa 440 mg/200 g BB
5	5	Diberi kalium losartan dosis II (18 mg/200 g BB), metformin HCl 90 mg/200 g BB, dibebani glukosa 440 mg/200 g BB

Masing-masing tikus dari setiap kelompok mendapat perlakuan sebagai berikut (Neal, 2004) :

1) Hewan uji dipuasakan selama 20 jam dengan tetap diberi minum, kemudian darah diambil melalui vena ekor tikus dan diukur kadar glukosa darahnya sebagai kadar glukosa darah awal (T0). Lalu hewan uji kelompok 3,4, dan 5 diberi larutan

uji kalium losartan masing-masing dengan dosis 18mg/200g bb; 9mg/200 g bb; dan 18mg/200 g bb secara peroral menggunakan sonde. Kelompok lainnya diberi akuades.

2) Satu jam kemudian, hewan uji kelompok 2, 4, dan 5 diberi larutan metformin HCl dengan dosis 90 mg/200 g BB secara peroral menggunakan sonde. Kelompok lainnya diberi akuades.

3) Setengah jam kemudian, dilakukan pengukuran kadar glukosa darah pada semua kelompok sebagai kadar glukosa darah 1,5 jam setelah pemberian oral larutan uji (T1,5). Setelah itu, segera diberikan larutan glukosa dengan dosis 440 mg/200 g BB tikus secara oral.

4) Pengukuran kadar glukosa darah kembali dilakukan pada 0,25; 0,5; 0,75; 1; 1,25; 1,5; 1,75; dan 2 jam setelah pemberian glukosa oral sebagai kadar glukosa darah pada 0,25; 0,5; 0,75; 1; 1,25; 1,5; 1,75; dan 2 jam setelah pemberian glukosa (Tg0,25; Tg0,5; Tg0,75; Tg1; Tg1,25; Tg1,5; Tg1,75; dan Tg2). Pengukuran kadar glukosa darah ini dilakukan pada semua kelompok.

3.4.5 Pengambilan sampel darah melalui ekor (Hoff, 2000)

Tikus dimasukkan ke dalam kandang hewan, sehingga tikus tidak dapat bergerak. Ekor tikus dibersihkan dengan kapas yang telah dibasahi air hangat untuk melebarkan pembuluh darah. Setelah itu, vena ekor yang terbesar ditoreh menggunakan *surgical blade* hingga meneteskan darah. Darah tersebut harus segera diteteskan pada glukostrip yang sudah terpasang pada glukometer.

Pengambilan darah dilakukan melalui vena ekor tikus karena cara ini lebih mudah dan cepat dibandingkan melalui sinus orbital dan tidak perlu menganestesi tikus terlebih dahulu. Selain itu, sampel darah yang dibutuhkan untuk pengukuran kadar glukosa darah menggunakan glukometer hanya 1-2 μ l, sehingga sampel darah dari vena ekor sudah cukup memberikan hasil.

3.4.6 Uji statistik terhadap kadar glukosa darah

Data kadar glukosa darah yang diperoleh diolah secara statistik menggunakan uji normalitas (Uji *Saphiro-Wilk*) dan uji homogenitas (Uji *Levene*). Bila data terdistribusi normal dan homogen, maka dilanjutkan dengan analisis

ANOVA satu arah untuk melihat perbedaan antar kelompok. Jika terdapat perbedaan secara bermakna, maka dilanjutkan dengan uji beda nyata terkecil (BNT).

Apabila data yang diperoleh tidak terdistribusi secara normal atau homogen, analisis data dilanjutkan dengan metode uji nonparametrik. Metode uji nonparametrik yang digunakan adalah uji *Kruskal-Wallis* dan uji *Mann-Whitney*.



BAB 4

HASIL DAN PEMBAHASAN

Hasil pengukuran kadar glukosa darah rata-rata semua kelompok sebelum dan sesudah perlakuan sebagai berikut.

Tabel 4.1 Hasil pengukuran kadar glukosa darah rata-rata pada semua kelompok perlakuan

Waktu pengukuran (jam)	Kadar glukosa darah rata-rata (mg/dl)				
	Kontrol normal	Metformin (90mg/200g bb)	Losartan (18mg/200g bb)	Losartan (9mg/200g bb) + metformin (90mg/200g bb)	Losartan (18mg/200g bb) + metformin (90mg/200g bb)
T ₀	66.60±6.62	65.40±3.51	65.20±3.28	65.00±5.43	65.40±4.28
T _{1,5}	66.20±6.69	62.20±3.03	64.80±4.55	63.00±4.95	61.00±3.94
Tg _{0,25}	99.60±5.94	87.80±4.76	97.80±5.98	86.60±5.03	83.40±5.60
Tg _{0,5}	129.20±1.92	108.20±3.70	123.40±2.07	104.80±4.66	95.80±6.87
Tg _{0,75}	128.00±3.08	103.80±3.96	118.00±2.55	100.80±4.03	89.80±10.35
Tg ₁	122.20±3.19	99.40±4.04	112.80±3.70	97.00±4.06	88.60±8.56
Tg _{1,25}	116.80±2.86	95.20±4.97	108.00±4.36	95.20±4.55	86.20±7.60
Tg _{1,5}	113.00±3.16	92.00±6.08	103.80±4.44	90.40±5.73	81.80±7.40
Tg _{1,75}	109.40±3.78	88.40±7.50	99.40±3.13	87.40±6.43	79.00±8.34
Tg ₂	105.60±3.36	85.60±5.68	96.20±3.77	83.40±6.69	76.60±8.79

Pada diabetes melitus tipe 2, terjadinya hiperglikemia antara lain dikarenakan terjadinya resistensi insulin dimana reseptor insulin pada jaringan perifer tidak lagi sensitif terhadap insulin sehingga kemampuan jaringan tersebut untuk menggunakan glukosa menurun. Oleh karena itu, penelitian ini dilakukan dengan metode tes toleransi glukosa oral untuk melihat kinerja metformin dalam menurunkan kadar glukosa darah apabila metformin digunakan bersama dengan losartan. Pada kurva toleransi glukosa oral normal, setelah pemberian glukosa secara oral, kadar glukosa darah akan meningkat tajam dan mencapai puncaknya setelah 0,5 sampai 1 jam. Kurva akan menurun perlahan dan kembali mencapai kadar glukosa darah normal atau puasa setelah 2 jam (lihat Gambar 4.1).

Metode tes toleransi glukosa oral dilakukan dengan memuaskan terlebih dahulu tikus yang akan diberi perlakuan selama 20 jam agar kadar glukosa darah tikus tidak dipengaruhi oleh makanan. Kadar glukosa darah puasa diukur sebagai kadar glukosa darah awal (T₀). Setelah pengukuran kadar glukosa darah, hewan uji segera diberi larutan uji. Pada penelitian ini, larutan kalium losartan diberikan satu jam lebih dulu sebelum larutan metformin HCl sebab mula kerja (onset) losartan lebih lama daripada metformin (Lacy, et al, 2008). Setengah jam setelah pemberian larutan metformin HCl, kembali dilakukan pengambilan darah sebagai kadar glukosa darah satu setengah jam setelah pemberian oral larutan kalium losartan dan metformin HCl (T_{1,5}). Hal ini dilakukan untuk mengetahui apakah larutan uji telah memberikan pengaruh terhadap kadar glukosa darah setelah satu setengah jam diberikan. Larutan glukosa diberikan setengah jam setelah pemberian larutan uji dimaksudkan untuk memberikan waktu bagi bahan uji agar dapat diabsorpsi dengan baik dalam tubuh tikus. Pengukuran kadar glukosa darah kembali dilakukan pada 0,25; 0,5; 0,75; 1; 1,25; 1,5; 1,75; dan 2 jam setelah pemberian glukosa peroral (Tg_{0,25}, Tg_{0,5}, Tg_{0,75}, Tg₁, Tg_{1,25}, Tg_{1,5}, Tg_{1,75}, dan Tg₂). Pengukuran kadar glukosa darah dilakukan dengan interval 15 menit setelah pemberian glukosa selama 2 jam disebabkan waktu paruh losartan sangat singkat (2 jam). Agar dapat menunjukkan pengaruh losartan terhadap kadar glukosa darah, pengukuran kadar glukosa darah sebaiknya dilakukan dengan interval waktu yang singkat, dalam penelitian ini 15 menit (Neal, 2004).

Kadar glukosa darah sebelum perlakuan (T0) dari semua kelompok perlakuan dianggap sebagai kadar glukosa darah awal. Kadar glukosa darah ini lebih rendah daripada kadar glukosa darah setelah pemberian glukosa (Tg0,25-Tg2). Data kadar glukosa darah kemudian dianalisis secara statistik menggunakan program SPSS 15.0. Berdasarkan uji normalitas *Saphiro-Wilk* dan uji homogenitas *Levene* diperoleh hasil bahwa kadar glukosa darah seluruh kelompok sebelum perlakuan terdistribusi normal dan bervariasi homogen ($\alpha > 0,05$) (lihat Lampiran 4.1 dan Lampiran 4.2). Pengujian ini dilanjutkan dengan analisis varians (ANOVA) satu arah. Uji ANOVA satu arah ($\alpha > 0,05$) menunjukkan tidak ada perbedaan bermakna pada kadar glukosa darah antar kelompok perlakuan (lihat Lampiran 4.3).

Data kadar glukosa darah 1,5 jam setelah perlakuan menunjukkan penurunan kadar glukosa darah dibandingkan pada saat T0. Penurunan terbesar hingga terkecil secara berurutan dihasilkan oleh kelompok losartan dosis II + metformin, kontrol metformin, losartan dosis I + metformin, kontrol losartan, dan kontrol normal (lihat Tabel 4.1). Penurunan tersebut menunjukkan bahwa bahan uji sudah bekerja di dalam tubuh tikus.

Uji normalitas *Saphiro-Wilk* dan uji homogenitas *Levene* menunjukkan bahwa kadar glukosa darah semua kelompok perlakuan pada waktu 1,5 jam setelah perlakuan terdistribusi normal dan bervariasi homogen ($\alpha > 0,05$) (lihat Lampiran 4.4 dan Lampiran 4.5). Pengujian ini dilanjutkan dengan analisis varians (ANOVA) satu arah. Uji ANOVA satu arah ($\alpha > 0,05$) menunjukkan tidak ada perbedaan bermakna pada kadar glukosa darah antar kelompok perlakuan (lihat Lampiran 4.6).

Pada waktu 15 menit setelah pemberian glukosa (Tg0,25) terjadi peningkatan kadar glukosa darah akibat dari pemberian glukosa. Peningkatan kadar glukosa darah yang dimaksud disini adalah selisih antara kadar glukosa darah pada waktu tersebut (Tg0,25) dan kadar glukosa darah pada waktu pengukuran sebelumnya (T1,5). Peningkatan kadar glukosa darah terbesar hingga terkecil secara berurutan dihasilkan oleh kelompok kontrol normal, kontrol

losartan, kontrol metformin, losartan dosis I dan metformin, losartan dosis II dan metformin (lihat Tabel 4.1).

Selang waktu 30 menit setelah pemberian glukosa (Tg0,5), kadar glukosa darah masih mengalami peningkatan. Peningkatan terkecil dihasilkan oleh kelompok losartan dosis II + metformin. Kadar glukosa darah 45 menit setelah pemberian glukosa (Tg0,75) mengalami penurunan. Kelompok losartan dosis II + metformin menghasilkan penurunan terbesar. Satu hingga dua jam setelah pemberian glukosa (Tg1-Tg2), kadar glukosa darah berangsur-angsur turun (lihat Tabel 4.1). Hal ini menunjukkan bahwa glukosa sudah masuk ke dalam jaringan, sehingga kadar glukosa dalam darah berkurang.

Berdasarkan analisis statistik, kadar glukosa darah seluruh kelompok pada waktu 15 menit hingga 2 jam setelah pemberian glukosa terdistribusi normal dan bervariasi homogen ($\alpha > 0,05$) (lihat Lampiran 4.7 dan Lampiran 4.8). Pengujian dilanjutkan dengan analisis varians (ANAVA) satu arah. Uji ANAVA satu arah ($\alpha > 0,05$) menunjukkan adanya perbedaan bermakna pada kadar glukosa darah antar kelompok perlakuan (lihat Lampiran 4.9). Pengujian dilanjutkan dengan uji Beda Nyata Terkecil (BNT) untuk mengetahui letak perbedaan antarkelompok.

Uji BNT menunjukkan bahwa pada waktu 15 menit setelah pemberian glukosa (Tg0,25) kontrol normal berbeda dengan kelompok-kelompok lainnya, kontrol metformin tidak berbeda dengan kelompok losartan dosis I + metformin dan kelompok losartan dosis II + metformin. Pada waktu 30 menit hingga 105 menit setelah pemberian glukosa (Tg1-Tg1,75), kadar glukosa darah kelompok losartan dosis II + metformin berbeda dengan kontrol metformin dan kontrol normal, sementara kelompok losartan dosis I + metformin tidak berbeda dengan kontrol metformin. Pada saat 2 jam setelah pemberian glukosa (Tg2), kadar glukosa darah kontrol metformin tidak berbeda dengan kelompok losartan dosis I + metformin, namun kontrol metformin berbeda dengan kelompok losartan dosis II + metformin. Kelompok losartan dosis I+metformin tidak berbeda dengan kelompok losartan dosis II+metformin. Ketiga kelompok tersebut tetap berbeda dengan kontrol normal dan kontrol losartan (lihat Lampiran 4.10).

Pemberian losartan bersama dengan metformin meningkatkan efek penurunan kadar glukosa darah dari metformin, terlihat pada kelompok losartan dosis II + metformin, terutama pada waktu 15-45 menit setelah pemberian glukosa (lihat Tabel 4.1). Hal ini disebabkan karena kadar losartan dalam plasma tikus pada selang waktu tersebut mencapai kadar maksimum. Setelah 45 menit, kadar losartan dalam plasma berkurang akibat proses eliminasi, sehingga efeknya terhadap kadar glukosa darah juga ikut berkurang. Sementara itu, losartan dosis I+metformin tidak memberikan pengaruh signifikan terhadap efek penurunan kadar glukosa darah dari metformin. Hal ini dapat disebabkan karena kadar losartan dosis I dalam plasma tidak adekuat untuk menghasilkan efek penurunan kadar glukosa darah.

Kurva pengaruh perlakuan terhadap toleransi glukosa oral (lihat Gambar 4.2) memperlihatkan bahwa setelah pemberian glukosa, kurva dari kelompok kontrol normal terletak paling atas, kurva dari kelompok kontrol losartan terletak pada posisi kedua, pada posisi ketiga terdapat kurva dari kontrol metformin yang hampir berhimpitan dengan kurva dari kelompok losartan dosis I + metformin, dan kurva dari kelompok losartan dosis II + metformin terletak pada posisi terbawah. Dari kurva ini dapat dilihat bahwa pemberian metformin dosis 90mg/200 g bb menyebabkan penurunan kadar glukosa darah pada tikus putih jantan. Pemberian losartan dosis I (9mg/200 g bb) bersama dengan metformin dosis 90mg/200 g bb menghasilkan efek yang tidak berbeda dengan kontrol metformin. Losartan dosis II (18mg/200 g bb) yang diberikan bersama dengan metformin dosis 90 mg/200 g bb menyebabkan kadar glukosa darah menjadi lebih rendah dibandingkan dengan kontrol metformin. Penggunaan losartan dosis 18mg/200 g bb menyebabkan penurunan kadar glukosa darah yang tidak sebesar penurunan kadar glukosa darah oleh metformin dosis 18mg/200 g bb.

Pengaruh losartan terhadap penurunan kadar glukosa darah oleh metformin disebabkan oleh aktivitas losartan pada *Renin-angiotensin system* (RAS) jaringan (Lau, Carlsson, Leung, 2004; Huang,Jansson,Sjoholm, 2006). Losartan menghalangi angiotensin II dalam berikatan dengan reseptor angiotensin II tipe 1 (AT1), termasuk angiotensin II di jaringan pankreas dan kelenjar adrenal.

Pada kelenjar pankreas, angiotensin II mengurangi perfusi darah pankreatis, termasuk pulau Langerhans (Leung, 2007). Angiotensin II pankreatis juga mengurangi sekresi insulin-yang distimulasi glukosa, dengan cara menekan eksositosis insulin sel β dan dengan menghambat biosintesis (pro)insulin (Lenzen, Tiege, Jorns, Munday, 1996; Ganong, 2006; Sherwood, 1996). Efek dari angiotensin II tersebut dimediasi oleh reseptor AT1 yang terdapat dominan di dalam duktus pankreas, pembuluh darah, dan sel-sel acinar pankreas. Losartan mencegah efek penurunan perfusi darah pankreatis dari angiotensin II dan meningkatkan perfusi darah pankreatis, terutama pulau Langerhans (Lau, Carlsson, Leung, 2004; Huang, Jansson, Sjöholm, 2006). Selain itu, losartan juga mencegah inhibisi angiotensin II terhadap sekresi insulin sel β pankreas dan meningkatkan biosintesis (pro)insulin. Sebagai akibatnya, konsentrasi insulin serum meningkat. Insulin ini berperan dalam menurunkan kadar glukosa darah (Jin, Pan, 2007; Mulcahy, Norman, Price, Henriksen, 2002).

Pada kelenjar adrenal, angiotensin II meningkatkan pelepasan epinefrin dan norepinefrin. Epinefrin dapat meningkatkan kadar glukosa darah dengan merangsang glukoneogenesis dan glikogenolisis di hati. Epinefrin dan norepinefrin juga memiliki efek hiperglikemik dengan menghambat sekresi insulin dan merangsang sekresi glukagon (Lenzen, Tiege, Jorns, Munday, 1996; Gunawan, Setiabudy, Nafrialdi, Elysa, 2007). Losartan mencegah berikatannya angiotensin II dengan reseptor AT1 di kelenjar adrenal, sehingga mencegah peningkatan aktivitas simpatis yang disebabkan oleh angiotensin II. Sebagai akibatnya, tidak terjadi efek hiperglikemik yang dapat dihasilkan oleh epinefrin dan norepinefrin (Mulcahy, Norman, Price, Henriksen, 2002).

Beberapa penelitian menyebutkan bahwa losartan dapat memperbaiki sensitivitas insulin dan homeostasis glukosa pada penderita diabetes tipe 2 (Jin, Yui, 2007; Mulcahy, Norman, Price, Henriksen, 2002). Hal ini dikaitkan dengan aktivitas metabolit losartan sebagai agonis parsial *Peroxisome Proliferator-Activated Receptor* (PPAR α) (Schupp, Jurke, Clasen, 2006). Aktivasi PPAR α pada jaringan adiposa dengan mekanisme biomolekular dapat meningkatkan ekspresi adiponektin, yang dapat menstimulasi fosforilasi dan

aktivasi *5'-AMP-activated protein kinase* (AMPK) untuk meningkatkan oksidasi asam lemak dan ambilan glukosa pada otot rangka (Yasuo,Hara,Yamauchi,Kadowaki, 2003).

Metformin hanya efektif apabila sel tetap dapat menghasilkan insulin. Metformin menurunkan kadar glukosa darah dengan berbagai mekanisme. Pada hati, metformin mengurangi laju glukoneogenesis dan mengurangi produksi glukosa hepatic (Johnson,Webster,Sum,1993). Metformin juga meningkatkan sensitivitas reseptor insulin di jaringan perifer (Hermann,1979; Iannello, Camuto,Cavaleri,Pisano,Bellomia, 2004). Kompleks insulin-reseptor yang terbentuk akan mempercepat translokasi vesikel berisi cadangan transporter glukosa GLUT4 dari sitoplasma ke membran sel. Selanjutnya, vesikel tersebut berfusi dengan membran sel dan menyisipkan transporter ke dalam membran sel. Transporter inilah yang mengangkut glukosa ke dalam sel (Sherwood,1996). Dengan meningkatnya sensitivitas reseptor insulin di jaringan perifer, pengangkutan glukosa ke dalam sel juga meningkat, terutama ketika ada asupan makanan. Selain itu, metformin mengurangi absorpsi glukosa dari saluran pencernaan, sehingga dapat mengurangi kadar glukosa dalam darah (Gunton,Delhanty,Takahashi,Baxter, 2003).

Pemberian losartan mempengaruhi penurunan kadar glukosa darah oleh metformin pada tikus putih jantan dengan menurunkan kadar glukosa darah pada waktu 15-105 menit setelah pemberian glukosa. Losartan, dengan mekanisme kerja yang telah dijelaskan sebelumnya, meningkatkan perfusi darah pulau Langerhans sehingga dapat meningkatkan konsentrasi insulin serum yang berguna untuk menurunkan kadar glukosa darah. Insulin ini selanjutnya akan membentuk kompleks insulin-reseptor, di mana reseptor tersebut telah ditingkatkan sensitivitasnya oleh metformin, sehingga dapat meningkatkan ambilan glukosa perifer. Di samping itu, losartan menghambat pelepasan epinefrin dan norepinefrin, sehingga dapat mencegah efek hiperglikemik yang dapat dihasilkan oleh epinefrin dan norepinefrin. Sementara itu, metformin bekerja mengurangi produksi glukosa hepatic, sehingga mencegah hiperglikemia. Dengan demikian, losartan akan membantu metformin dalam menurunkan kadar

glukosa darah. Interaksi antara losartan dan metformin ini tergolong interaksi farmakodinamik aditif.

Terapi menggunakan losartan bersama dengan metformin pada penderita hipertensi-DM dapat menurunkan kadar glukosa darah sehingga kadar glukosa darah semakin rendah. Oleh sebab itu, kadar glukosa darah pasien harus selalu dimonitor apabila menggunakan kedua obat ini dalam jangka panjang.



BAB 5

KESIMPULAN DAN SARAN

5.1 Kesimpulan

Pemberian losartan memberikan pengaruh terhadap penurunan kadar glukosa darah oleh metformin pada tikus putih jantan dengan menurunkan kadar glukosa darah pada waktu 15 hingga 120 menit setelah pemberian glukosa, sehingga kadar glukosa darah tikus semakin rendah.

5.2 Saran

Perlu dilakukan penelitian lebih lanjut untuk mengetahui pengaruh pemberian losartan terhadap penurunan kadar glukosa darah oleh metformin bila kedua obat dikonsumsi bersama-sama dalam jangka waktu yang lama.

DAFTAR ACUAN

- Bailey, C.J., Path, M.R.C., Turner, R.C. (1996). Metformin. *The New England Journal of Medicine*, vol.36, no.9, 574-579.
- Beggs, Susan. (2006). *Introductory Clinical Pharmacology*. New York: McGraw Hill, 487-508.
- Brody, T.M., Larner, J., Minneman, K.P. (1998). *Human Pharmacology Molecular to Clinic*. St.Louis: Mosby-Year Book, 181-194.
- Carlsson, P.O., Berne, C. (1998). Angiotensin II and the Endocrine Pancreas: Effect on Islet Blood Flow and Insulin Secretion in Rats. *Diabetologia*, 41, 127-133.
- Fischbach, Frances Talaska. (1992). *Laboratory and Diagnostic Tests*. J.B. Lippincott Company, 303-305.
- Ganong, William F. (2006). *Buku Ajar Fisiologi Kedokteran*. (Edisi 22). Terj. dari *Review of Medical Physiology*. (22nd edition). Jakarta: EGC, 347-366, 473-476.
- Goodman, G.A., Hardma, J.G., Limbird, L.E. (ed).(2001). *Goodman & Gilman's the Pharmacological Basis of Therapeutics*. (10th Edition). New York: McGraw-Hill, 1701-1706.
- Gunton, J.E., Delhanty, P.J., Takahashi, S.I., Baxter, C. (2003). Metformin Rapidly Increases Insulin Receptor Activation in Human Liver and Signals Preferentially through Insulin-Receptor Substrate-2. *The Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism*, vol. 88, no.3, 1323-1332.
- Guyton, A.C., J.E. Hall. (2006). *Textbook of Medical Physiology*. (11th Edition). Philadelphia: Elsevier, 216-230, 972-976.
- Hendry, J.R. (1986). *Clinical Chemistry Principles and Technic*. (2nd edition). Heber Medical: Harber and Row, 1285-1288.

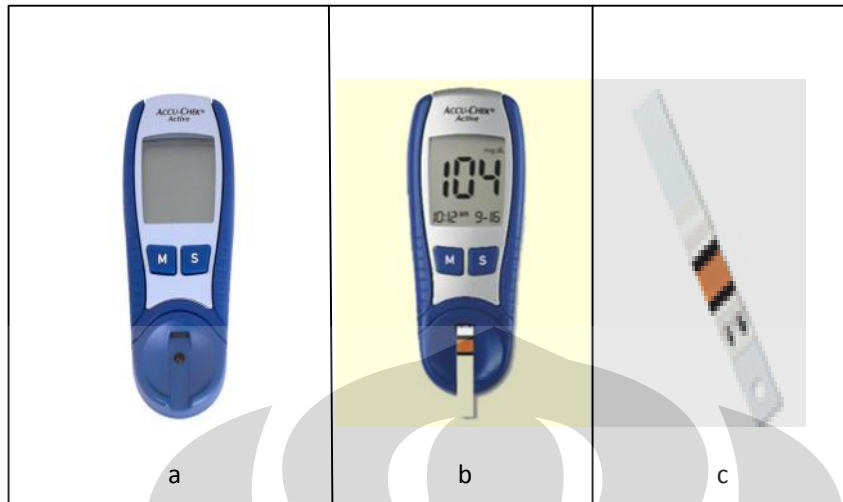
Universitas Indonesia

- Hermann, L.S. (1979). Metformin: A Review of Its Pharmacological Properties and Therapeutic Use. *Diabetes Metabolism Res Review*, 5, 233-245.
- Hoff, Janet. (2000). *Method of Blood Collection in The Mouse*. Michigan: Laboratory Animal University of Michigan, vol.29, no.10, 50-51.
- Hones, J.,Muller, P., Surridge, N. (2008). The Technology behind Glucose meters: Test Strips. *Diabetes Technology and Therapeutics*, vol.10, no.1.1-17.
- Huang, Zhen, Jansson, L., Sjöholm, A. (2006). Pancreatic Islet Blood Flow is Selectively Enhanced by Captopril, Irbesartan, and Pravastatin. *Biochemical and Biophysical Research Communications*, 346, 26-32.
- Huang, Zhen, Jansson, L., Sjöholm, A. (2008). Gender-Specific Regulation of Pancreatic Islet Blood Flow, Insulin Levels and Glycaemia in Spontaneously Diabetic Goto-Kakizaki Rats. *Clinical Science*, 115, 35-42.
- Husseini, A., Rahim, H.A., Awartani, F. (2000). The Utility of A Single Glucometer Measurement of Fasting Capillary Blood Glucose in An Urban Adult Palestinian Population. *Scandinavian Journal Clinical Lab Investigation*, 60, 457-462.
- Iannello,S., Camuto, M., Cavaleri, F.Pisano, J.L.Bellomia. (2004). Effects of Short-Term Metformin Treatment on Insulin Sensitivity of Blood Glucose and Free Fatty Acids. *Jour. Diabetes, Obesity and Metabolism*, 6, 8-15.
- Jin, Hui Min, Yu Pan. (2007). Angiotensin Type-1 Receptor Blockade with Losartan Increases Insulin Sensitivity and Improves Glucose Homeostasis in Subjects with Type 2 Diabetes and Nephropathy. *Nephrol Dial Transplant*, 45, 1-7.
- Johnson, A.B., Webster, J.M., Sum, C.F. (1993). The Impact of Metformin Therapy on Hepatic Glucose Production and Skeletal Muscle Glycogen Synthase in Overweight Type II Diabetic Patients. *J Metabolism*,42, 1217-1222.

- Katzung, B.G. (2006). *Basic and Clinical Pharmacology*. (10th Edition). New York: McGraw Hill, 325-341.
- Lacy, C.F., Armstrong, L.L., Goldman, M.P., Lance, L.L. (2008). *Drug Information Handbook*. (17th edition). Ohio: Lexi-Comp, 1012-1013, 959-960.
- Lau T., Carlsson, P.O., Leung, P.S. (2004). Evidence for A Local Angiotensin-Generating System and Dose-Dependent Inhibition of Glucose-Stimulated Insulin Release by Angiotensin II in Isolated Pancreatic Islets. *Diabetologia*, 47, 240-248.
- Lenzen, S., Tiede, M., Jorns, A., Munday, C. (1996). *Lessons from Animal Diabetes*. Boston: Birkhouser, 113-122.
- Leung P.S. (2007). The Physiology of A Local Renin-Angiotensin System in the Pancreas. *Journal of Physiology*, 580, 31-37.
- Leung, Po Sing. (2010). The RAS in the Pancreas. *Advances in Experimental Medicine and Biology*, 690. 39-88.
- Libby, Peter. (2008). *Braunwald's Heart Disease: A Textbook of Cardiovascular Medicine*. (8th ed). Philadelphia: Saunders Elsevier, 472-480, 534-548.
- Martindale The Extra Pharmacopoeia*. (28th edition). (1982). London: The Pharmaceutical Press, 502,856.
- Mulcahy, M.P., Norman, K., Price, D.A., et al. (2002). Effect of Losartan on Insulin Sensitivity and Serum Lipids in Hypertensive Type 2 Diabetic Patients. *British Journal of Diabetes & Vascular Disease*, vol.2, no.1,67-68.
- Murray, R.K., Granner, D.K., Rodwell, V.W. (2006). *Biokimia Harper*. (Edisi 27). Terj. dari *Harper's Illustrated Biochemistry*. (27th edition). Jakarta: EGC, 139-183, 225-238.

- Nafrialdi. Antihipertensi. Dalam: Sulistia G.G.(ed).(2007). *Farmakologi dan Terapi*. (Edisi 5). Jakarta: Bagian Farmakologi Fakultas Kedokteran Universitas Indonesia, 341-360.
- Neal, M.J. (2004). *Medical Pharmacology at a Glance*. Oxford: Blackwell Scientific Publication, 71.
- Paget, G.E., Barnes, J.M. Interspecies dosage conversion schem in evaluation of results and quantitative application in different species. In: Laurence, Bacharach A.L.(eds). (1964). *Evaluation of drug activities: Pharmacometrics*, vol. 1. London: Acamemic Press, 160-162.
- Paul, Martin, Mehr, A.P., Kreutz, R. (2006). Physiology of Local Renin-Angiotensin Systems. *Physiology Review*, 86. 747–803.
- Price, S. A., Wilson, L.M. (2008). *Patophysiology: Clinical Concepts of Disease Processes*. (6th edition). New York: McGraw Hill, 585-588,1259-1270.
- Raphael. S.S. (1983). *Lynch's Medical Laboratory Technology*. (4th edition). Tokyo: WB. Saunders. 119-127.
- Saseen, J.L., MacLaughlin, E.J. Hypertension. In: Joseph J.D. (ed). (2008). *Pharmacotherapy a Patophysiologic Approach*. (Seventh Edition). New York: McGraw Hill, 139-171.
- Schupp, M., Jurke, J., Clasen, R. (2004). Angiotensin Type 1 Receptor Blockers Induce Peroxisome Proliferator-Activated Receptor Activity. *Journal of Circulation*, 109. 2054-2057.
- Schupp, M., Jurke, J., Clasen, R. (2006). Regulation of Peroxisome Proliferator-Activated Receptor Activity by Losartan Metabolites. *Journal of Hypertension*, 47. 1-4.
- Setiawati, A. Interaksi Obat. Dalam: Sulistia G.G.(ed). (2007). *Farmakologi dan Terapi*. (Edisi 5). Jakarta: Bagian Farmakologi Fakultas Kedokteran Universitas Indonesia, 862-863.

- Sherwood, Laura Lee. (1996). *Human Physiology: From Cells to Systems*. West Virginia: A Division of International Thomson Publishing, 478, 651-677.
- Stockley, Ivan H. (2005). *Drug Interactions Electronic Version*. London: Pharmaceutical Press, 1985-1987, 2002-2005.
- Suherman, S.K. Insulin dan Antidiabetik Oral. Dalam: Sulistia G.G.(ed).(2007). *Farmakologi dan Terapi*. (Edisi 5). Jakarta: Bagian Farmakologi Fakultas Kedokteran Universitas Indonesia, 485-493.
- Triplitt, C.L., Reasner, C.A., Isley, W.L. Diabetes Mellitus. In: Joseph J.D. (2008). *Pharmacotherapy a Pathophysiologic Approach*. (Seventh Edition). New York: McGraw Hill, 1206-1212.
- Walker, R., Edwards, C. (2003). *Clinical Pharmacy and Therapeutics*. (3rd edition). New York: Churchill Livingstone, 265-276, 657-676.
- WHO. (1999). *Definition, Diagnosis and Classification of Diabetes Mellitus and Its Complications*. http://www.staff.ncl.ac.uk/philip.home/who_dmg.pdf. (12 Jan 2010, pukul 14.50 WIB)
- Yasuo, T., Hara, K., Yamauchi, T., Kadowaki, T. (2003). Molecular Mechanism of Insulin Resistance and Obesity. *Experimental Biology and Medicine*, 228, 1111-1117.



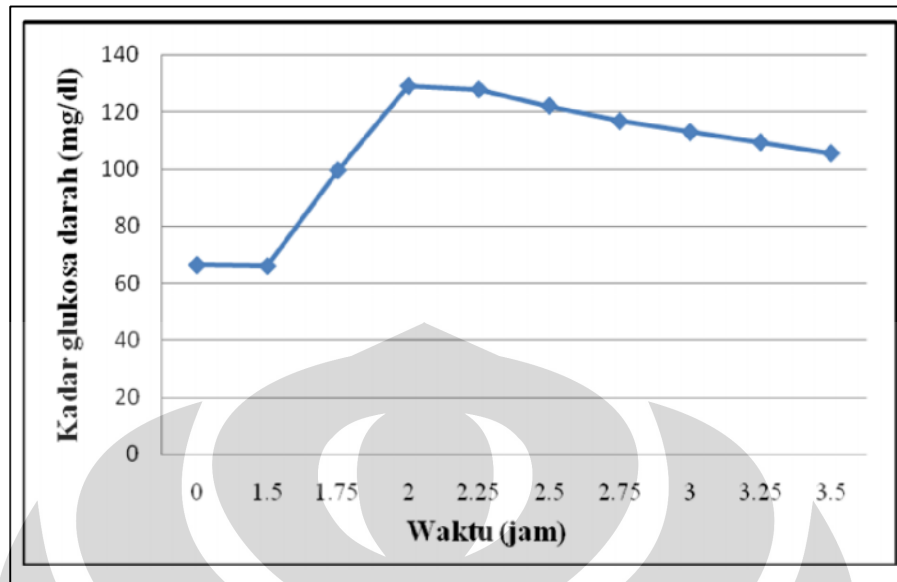
Keterangan : a= glukometer dalam keadaan tidak menyala
 b= glukometer dalam keadaan menyala
 c= glukostrip

[Sumber : Hones, J.,Muller, P., Surridge, N. (2008). The Technology behind Glucose meters: Test Strips. *Diabetes Technology and Therapeutics*, vol.10, no.1.1-17]

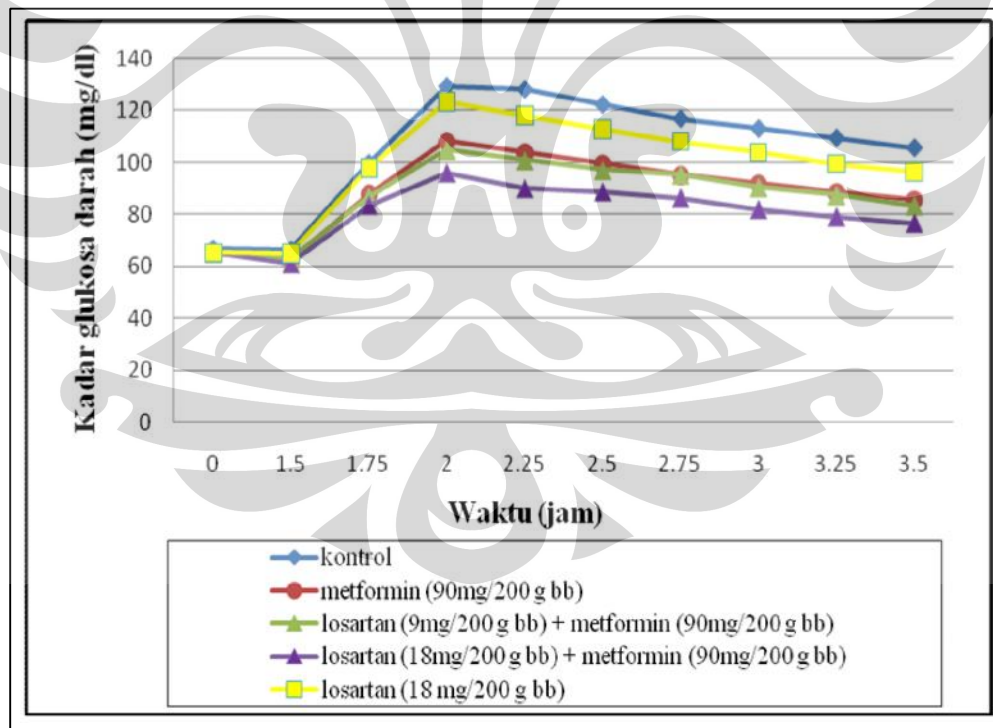
Gambar 2.7.3 Glukometer dan glukostrip *Accu-Chek Active*



Gambar 3.2.1 Tikus *Sprague Dawley* berumur 2-3 bulan



Gambar 4.1 Kurva toleransi glukosa oral pada tikus putih jantan



Gambar 4.2 Kurva pengaruh perlakuan terhadap toleransi glukosa oral antara kelompok uji, kontrol normal, kontrol metformin, dan kontrol losartan

Tabel 4.2 Hasil pengukuran kadar glukosa darah pada kelompok kontrol normal

Waktu pengukuran (jam)	Kadar glukosa darah (mg/dl)				
	Tikus no.1	Tikus no.2	Tikus no.3	Tikus no.4	Tikus no.5
T ₀	56	72	68	72	65
T _{1,5}	55	71	70	70	65
Tg _{0,25}	90	104	100	105	99
Tg _{0,5}	127	132	129	130	128
Tg _{0,75}	123	128	131	128	130
Tg ₁	118	124	123	120	126
Tg _{1,25}	113	119	117	115	120
Tg _{1,5}	108	115	114	112	116
Tg _{1,75}	105	110	110	107	115
Tg ₂	102	106	105	104	111

Tabel 4.3 Hasil pengukuran kadar glukosa darah pada kelompok kontrol metformin

Waktu pengukuran (jam)	Kadar glukosa darah (mg/dl)				
	Tikus no.1	Tikus no.2	Tikus no.3	Tikus no.4	Tikus no.5
T ₀	65	62	62	69	69
T _{1,5}	60	60	60	65	66
Tg _{0,25}	85	86	90	83	95
Tg _{0,5}	104	105	110	109	112
Tg _{0,75}	100	101	103	105	110
Tg ₁	95	96	100	101	105
Tg _{1,25}	91	90	98	95	102
Tg _{1,5}	85	87	99	92	97
Tg _{1,75}	78	83	94	92	95
Tg ₂	80	79	90	88	91

Tabel 4.4 Hasil pengukuran kadar glukosa darah pada kelompok kontrol losartan

Waktu pengukuran (jam)	Kadar glukosa darah (mg/dl)				
	Tikus no.1	Tikus no.2	Tikus no.3	Tikus no.4	Tikus no.5
T ₀	63	62	70	64	67
T _{1,5}	62	60	68	63	71
Tg _{0,25}	91	93	99	100	106
Tg _{0,5}	121	123	125	122	126
Tg _{0,75}	115	118	121	116	120
Tg ₁	110	112	119	110	113
Tg _{1,25}	107	105	115	104	109
Tg _{1,5}	105	100	110	99	105
Tg _{1,75}	100	96	104	99	100
Tg ₂	96	92	102	97	94

Tabel 4.5 Hasil pengukuran kadar glukosa darah pada kelompok losartan dosis I + metformin

Waktu pengukuran (jam)	Kadar glukosa darah (mg/dl)				
	Tikus no.1	Tikus no.2	Tikus no.3	Tikus no.4	Tikus no.5
T ₀	58	63	73	66	65
T _{1,5}	58	60	71	63	63
Tg _{0,25}	79	87	92	85	90
Tg _{0,5}	98	103	108	105	110
Tg _{0,75}	95	99	105	101	104
Tg ₁	91	95	101	98	100
Tg _{1,25}	89	92	98	100	97
Tg _{1,5}	81	89	95	95	93
Tg _{1,75}	78	85	94	91	88
Tg ₂	74	80	91	88	84

Tabel 4.6 Hasil pengukuran kadar glukosa darah pada kelompok losartan dosis II + metformin

Waktu pengukuran (jam)	Kadar glukosa darah (mg/dl)				
	Tikus no.1	Tikus no.2	Tikus no.3	Tikus no.4	Tikus no.5
T ₀	60	68	71	65	63
T _{1,5}	55	64	65	61	60
Tg _{0,25}	91	84	86	77	79
Tg _{0,5}	84	100	101	96	98
Tg _{0,75}	72	92	94	92	99
Tg ₁	74	89	91	93	96
Tg _{1,25}	73	87	89	90	92
Tg _{1,5}	69	82	85	86	87
Tg _{1,75}	65	78	83	83	86
Tg ₂	62	75	83	80	83

Lampiran 2.9.1.1 Sertifikat analisis Metformin HCl

WL 09.57

01 FEB 2010.

EFFEPI srl

Messrs
PT ENSEVAL PUTERA MEGATRADING TBK
INDONESIA

Seregno, January 14 2010




Certificate of Analysis

METFORMIN HCL BP/EP
BATCH NO. MT-B-02741109
MFG DATE: NOVEMBER 2009 EXP DATE: OCTOBER 2014

TESTS	SPECIFICATIONS	RESULTS
CHARACTERS	White crystals	White crystals
SOLUBILITY	Freely soluble in water, slightly soluble in alcohol Practically insoluble in acetone and in methylene Chloride	Freely soluble in water slightly soluble in alcohol practically insoluble in Acetone and in methylene Chloride
IDENTIFICATION: A. MELTING POINT B. IR C. BY TLC	222°C to 226°C Concordant with Ref.Spectra obtained with metformin HCL RS The principal spot in the chromatogram obtained with Test solution should be similar in position colour and Size to principal spot in the chromatogram obtained With reference solution	223°C positive complies
D. COLOURATION WITH A-NAPHTHOL	A pink colour should develop	complies
E. REACTION OF CHLORIDES	Should be positive	complies
APPEARANCE OF SOLUTION	Solution S is clear and colourless	complies
RELATED SUBSTANCES (BY HPLC) a) Cyanoguanidine b) Other impurity	Not more than 0.02% Not more than 0.10%	0.001% 0.01%
HEAVY METALS LOSS ON DRYING SULPHATED ASH	Not more than 10ppm Not more than 0.5% Not more than 0.1%	Less than 10ppm 0.16% 0.05%
ASSAY ON DRY BASIS	Between 98.5% and 101.0% of C ₄ H ₁₂ CIN ₅	99.4%
PARTICLE SIZE	NLT 100.0% passing through 20 mesh	100.0%

EFFEPI srl
Mr Giancarlo Rini - Quality Control Manager

Lampiran 2.9.2.1 Sertifikat analisis Kalium Losartan

 Ipca Laboratories Limited P. O. SEJAVTA 457 002. DIST. RATLAM (M. P.)			TEL. : 07412 - 278244, 278259, 278000 TELEFAX : 07412 - 278084, 278083
QUALITY DIVISION CERTIFICATE OF ANALYSIS			<i>42237215</i>
NAME OF THE PRODUCT : LOSARTAN POTASSIUM USP			
BATCH SIZE : 224.0 Kgs	BATCH No. : 9086LB4RIX		
MFG. DATE : Nov. 2009	A.R. No. : IBN - 091226		
EXP. DATE : Oct. 2014	DATE : 14/01/2010		
TESTS	SPECIFICATIONS	RESULTS	
DESCRIPTION	White to off-white powder.	Conforms	
SOLUBILITY	Freely soluble in water; slightly soluble in acetonitrile.	Conforms	
IDENTIFICATION	A. Infrared Absorption spectrum of test and standard are concordant.	Conforms	
	B. The UV absorption spectra of a 10µg/ml solution of test and standard in methanol, exhibit maxima and minima at the same wavelengths.	Conforms	
	C. It meets the requirements of the test for Potassium.	Conforms	
WATER	NMT 0.5% w/w	0.39% w/w	
HEAVY METALS	NMT 0.001% w/w	< 0.001% w/w	
CHROMATOGRAPHIC PURITY (By HPLC)	Any individual impurity : NMT 0.20%	0.02%	
	Total impurities : NMT 0.50%	0.14%	
RESIDUAL SOLVENT	Toluene : NMT 890 ppm	< 17.7 ppm	
	Methanol : NMT 3000 ppm	< 78.2 ppm	
	Acetone : NMT 5000-ppm	< 500 ppm	
	Isopropyl alcohol : NMT 5000 ppm	Not Detected	
ASSAY (By HPLC)	98.5% - 101.0% C ₂₂ H ₂₂ ClKN ₄ O (on anhydrous, solvent-free basis)	99.8% (oab)	
REMARKS :	The above sample CONFORMS as per USP Specifications.		
 ANALYST DATE : 09/02/2010	 MANAGER QUALITY CONTROL DATE OF PRINT : 09/02/2010		

Lampiran 4.1 Uji normalitas (Uji Saphiro-Wilk) terhadap kadar glukosa darah seluruh kelompok hewan uji sebelum perlakuan (SPSS 15.0)

Tujuan : Untuk melihat data kadar glukosa darah seluruh kelompok hewan uji sebelum perlakuan terdistribusi normal atau tidak

Hipotesis : Ho = Data kadar glukosa darah tikus terdistribusi normal

Ha = Data kadar glukosa darah tikus tidak terdistribusi normal

: 0,05

Pengambilan kesimpulan:

Ho diterima jika nilai signifikansi $> 0,05$

Ho ditolak jika nilai signifikansi $< 0,05$

Hasil Uji Normalitas				
	Kelompok perlakuan	Saphiro-Wilk		
		statistik	df	signifikansi
T₀	kontrol normal	0,867	5	0,254
	kontrol metformin	0,903	5	0,429
	kontrol losartan	0,922	5	0,544
	losartan I +metformin	0,969	5	0,869
	losartan II +metformin	0,991	5	0,984

Hasil : nilai signifikansi pada waktu T₀ :

- Kontrol normal = 0,254; signifikansi $>0,05$, maka Ho diterima
- Metformin (90mg/200g bb) = 0,429; signifikansi $>0,05$, maka Ho diterima
- Losartan (18mg/200g bb) = 0,544; signifikansi $>0,05$, maka Ho diterima
- Losartan (9mg/200g bb) dan metformin (90mg/200g bb) = 0,869; signifikansi $>0,05$, maka Ho diterima
- Losartan (18mg/200g bb) dan metformin (90mg/200g bb) = 0,984; signifikansi $>0,05$, maka Ho diterima

Kesimpulan : Ho diterima sehingga data kadar glukosa darah seluruh kelompok hewan uji sebelum perlakuan terdistribusi normal

Lampiran 4.2 Uji homogenitas (Uji Levene) terhadap kadar glukosa darah seluruh kelompok hewan uji sebelum perlakuan
(SPSS 15.0)

Tujuan : Untuk melihat data kadar glukosa darah seluruh kelompok hewan uji sebelum perlakuan bervariasi homogen atau tidak

Hipotesis : H_0 = Data kadar glukosa darah tikus bervariasi secara homogen

H_a = Data kadar glukosa darah tikus tidak bervariasi secara homogen

: 0,05

Pengambilan kesimpulan: H_0 diterima jika nilai signifikansi > 0,05

H_0 ditolak jika nilai signifikansi < 0,05

Test of Homogeneity of Variances

	Levene Statistik	df1	df2	Signifikansi
T ₀	0,654	4	20	0,631

Hasil : nilai signifikansi = 0,631 >

Kesimpulan: H_0 diterima sehingga data kadar glukosa darah seluruh kelompok hewan uji sebelum perlakuan bervariasi homogen

Lampiran 4.3 Uji Analisis Variansi (ANOVA) satu arah terhadap kadar glukosa darah antar kelompok hewan uji sebelum perlakuan
(SPSS 15.0)

Tujuan : Untuk mengetahui ada tidaknya perbedaan data kadar glukosa darah antar kelompok hewan uji sebelum perlakuan

Hipotesis : Ho = Data kadar glukosa darah tikus tidak berbeda secara bermakna

Ha = Data kadar glukosa darah tikus berbeda secara bermakna

: 0,05

Pengambilan kesimpulan: Ho diterima jika nilai signifikansi > 0,05

Ho ditolak jika nilai signifikansi < 0,05

ANOVA

T0

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	8,960	4	2,240	0,100	0,981
Within Groups	447,200	20	.22,360		
Total	456,160	24			

Hasil : nilai signifikansi = 0,981 >

Kesimpulan: Ho diterima sehingga data kadar glukosa darah antar kelompok hewan uji sebelum perlakuan tidak berbeda secara bermakna

Lampiran 4.4 Uji normalitas (Uji Saphiro-Wilk) terhadap kadar glukosa darah seluruh kelompok hewan uji 1,5 jam setelah perlakuan (SPSS 15.0)

Tujuan : Untuk melihat data kadar glukosa darah seluruh kelompok hewan uji 1,5 jam setelah perlakuan terdistribusi normal atau tidak

Hipotesis : Ho = Data kadar glukosa darah tikus terdistribusi normal

Ha = Data kadar glukosa darah tikus tidak terdistribusi normal

: 0,05

Pengambilan kesimpulan: Ho diterima jika nilai signifikansi $> 0,05$

Ho ditolak jika nilai signifikansi $< 0,05$

Hasil Uji Normalitas				
	Kelompok perlakuan	Saphiro-Wilk		
		statistik	df	signifikansi
T₀	kontrol normal	0,784	5	0,060
	kontrol metformin	0,817	5	0,111
	kontrol losartan	0,927	5	0,573
	losartan I +metformin	0,895	5	0,382
	losartan II +metformin	0,935	5	0,627

Hasil : nilai signifikansi pada waktu T_{1,5} :

- Kontrol normal = 0,060; signifikansi $>0,05$, maka Ho diterima
- Metformin (90mg/200g bb) = 0,111; signifikansi $>0,05$, maka Ho diterima
- Losartan (18mg/200g bb) = 0,573; signifikansi $>0,05$, maka Ho diterima
- Losartan (9mg/200g bb) dan metformin (90mg/200g bb) = 0,382; signifikansi $>0,05$, maka Ho diterima
- Losartan (18mg/200g bb) dan metformin (90mg/200g bb) = 0,627; signifikansi $>0,05$, maka Ho diterima

Kesimpulan: Ho diterima sehingga data kadar glukosa darah seluruh kelompok hewan uji 1,5 jam setelah perlakuan terdistribusi normal

Lampiran 4.5 Uji homogenitas (Uji Levene) terhadap kadar glukosa darah seluruh kelompok hewan uji 1,5 jam setelah perlakuan
(SPSS 15.0)

Tujuan : Untuk melihat data kadar glukosa darah seluruh kelompok hewan uji 1,5 jam setelah perlakuan bervariasi homogen atau tidak

Hipotesis : H_0 = Data kadar glukosa darah tikus bervariasi secara homogen

H_a = Data kadar glukosa darah tikus tidak bervariasi secara homogen

: 0,05

Pengambilan kesimpulan: H_0 diterima jika nilai signifikansi $> 0,05$

H_0 ditolak jika nilai signifikansi $< 0,05$

Test of Homogeneity of Variances

	Levene Statistik	df1	df2	Signifikansi
T_0	0,583	4	20	0,679

Hasil : nilai signifikansi = 0,679 $>$

Kesimpulan: H_0 diterima sehingga data kadar glukosa darah seluruh kelompok hewan uji 1,5 jam setelah perlakuan bervariasi homogen

Lampiran 4.6 Uji analisis variansi (ANOVA) satu arah terhadap kadar glukosa darah antar kelompok hewan uji 1,5 jam setelah perlakuan (SPSS 15.0)

Tujuan : Untuk mengetahui ada tidaknya perbedaan data kadar glukosa darah antar kelompok hewan uji 1,5 jam setelah perlakuan

Hipotesis : H_0 = Data kadar glukosa darah tikus tidak berbeda secara bermakna

H_a = Data kadar glukosa darah tikus berbeda secara bermakna

: 0,05

Pengambilan kesimpulan: H_0 diterima jika nilai signifikansi $> 0,05$

H_0 ditolak jika nilai signifikansi $< 0,05$

ANOVA

T1,5

	Sum of Squares	Df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	88,400	4	22,100	0,953	0,454
Within Groups	436,600	20	23,180		
Total	552,000	24			

Hasil : nilai signifikansi = 0,454 $>$

Kesimpulan: H_0 diterima sehingga data kadar glukosa darah antar kelompok hewan uji 1,5 jam setelah perlakuan tidak berbeda secara bermakna

Lampiran 4.7 Uji normalitas (Saphiro-Wilk) terhadap kadar glukosa darah seluruh kelompok hewan uji setelah pemberian glukosa (SPSS 15.0)

Tujuan : Untuk melihat data kadar glukosa darah seluruh kelompok hewan uji 0,5 jam setelah pemberian glukosa terdistribusi normal atau tidak

Hipotesis : Ho = Data kadar glukosa darah tikus terdistribusi normal

Ha = Data kadar glukosa darah tikus tidak terdistribusi normal

: 0,05

Pengambilan kesimpulan : Ho diterima jika nilai signifikansi > 0,05

Ho ditolak jika nilai signifikansi < 0,05

		Hasil Uji Normalitas		
		Shapiro-Wilk		
		Statistik	df	Signifikansi
Tg15	kontrol normal	0,885	5	0,331
	kontrol metformin	0,929	5	0,587
	kontrol losartan	0,952	5	0,751
	losartan I+metformin	0,958	5	0,795
	losartan II+metformin	0,965	5	0,846
Tg30	kontrol normal	0,979	5	0,928
	kontrol metformin	0,943	5	0,687
	kontrol losartan	0,952	5	0,754
	losartan I+metformin	0,971	5	0,884
	losartan II+metformin	0,797	5	0,076
Tg45	kontrol normal	0,885	5	0,334
	kontrol metformin	0,923	5	0,547
	kontrol losartan	0,944	5	0,692
	losartan I+metformin	0,952	5	0,750
	losartan II+metformin	0,792	5	0,070
Tg60	kontrol normal	0,967	5	0,858
	kontrol metformin	0,946	5	0,708
	kontrol losartan	0,821	5	0,118
	losartan I+metformin	0,934	5	0,627
	losartan II+metformin	0,841	5	0,168
Tg75	kontrol normal	0,962	5	0,823
	kontrol metformin	0,946	5	0,705
	kontrol losartan	0,901	5	0,417
	losartan I+metformin	0,927	5	0,573
	losartan II+metformin	0,836	5	0,155

(lanjutan)

Tg90	kontrol normal	0,885	5	0,331
	kontrol metformin	0,929	5	0,587
	kontrol losartan	0,952	5	0,751
	losartan I+metformin	0,958	5	0,795
	losartan II+metformin	0,965	5	0,846
Tg105	kontrol normal	0,979	5	0,928
	kontrol metformin	0,943	5	0,687
	kontrol losartan	0,952	5	0,754
	losartan I+metformin	0,971	5	0,884
	losartan II+metformin	0,797	5	0,076
Tg120	kontrol normal	0,885	5	0,334
	kontrol metformin	0,923	5	0,547
	kontrol losartan	0,944	5	0,692
	losartan I+metformin	0,952	5	0,750
	losartan II+metformin	0,792	5	0,070
Tg135	kontrol normal	0,967	5	0,858
	kontrol metformin	0,946	5	0,708
	kontrol losartan	0,821	5	0,118
	losartan I+metformin	0,934	5	0,627
	losartan II+metformin	0,841	5	0,168
Tg150	kontrol normal	0,962	5	0,823
	kontrol metformin	0,946	5	0,705
	kontrol losartan	0,901	5	0,417
	losartan I+metformin	0,927	5	0,573
	losartan II+metformin	0,836	5	0,155

Hasil :

Nilai signifikansi pada waktu Tg15 :

- a. Kontrol normal = 0,331; signifikansi $>0,05$, maka H_0 diterima
- b. Metformin (90mg/200g bb) = 0,587; signifikansi $>0,05$, maka H_0 diterima
- c. Losartan (18mg/200g bb) = 0,751; signifikansi $>0,05$, maka H_0 diterima
- d. Losartan (9mg/200g bb) dan metformin (90mg/200g bb) = 0,795; signifikansi $>0,05$, maka H_0 diterima
- e. Losartan (18mg/200g bb) dan metformin (90mg/200g bb) = 0,846; signifikansi $>0,05$, maka H_0 diterima

Kesimpulan: H_0 diterima sehingga data kadar glukosa darah seluruh kelompok hewan uji 15 menit setelah pemberian glukosa terdistribusi normal

Nilai signifikansi pada waktu Tg30 :

- a. Kontrol normal = 0,928; signifikansi $>0,05$, maka H_0 diterima
- b. Metformin (90mg/200g bb) = 0,687; signifikansi $>0,05$, maka H_0 diterima
- c. Losartan (18mg/200g bb) = 0,754; signifikansi $>0,05$, maka H_0 diterima
- d. Losartan (9mg/200g bb) dan metformin (90mg/200g bb) = 0,884; signifikansi $>0,05$, maka H_0 diterima
- e. Losartan (18mg/200g bb) dan metformin (90mg/200g bb) = 0,076; signifikansi $>0,05$, maka H_0 diterima

Kesimpulan: H_0 diterima sehingga data kadar glukosa darah seluruh kelompok hewan uji 30 menit setelah pemberian glukosa terdistribusi normal

Nilai signifikansi pada waktu Tg45:

- a. Kontrol normal = 0,334; signifikansi $>0,05$, maka H_0 diterima
- b. Metformin (90mg/200g bb) = 0,547; signifikansi $>0,05$, maka H_0 diterima
- c. Losartan (18mg/200g bb) = 0,692; signifikansi $>0,05$, maka H_0 diterima
- d. Losartan (9mg/200g bb) dan metformin (90mg/200g bb) = 0,750; signifikansi $>0,05$, maka H_0 diterima
- e. Losartan (18mg/200g bb) dan metformin (90mg/200g bb) = 0,070; signifikansi $>0,05$, maka H_0 diterima

Kesimpulan: H_0 diterima sehingga data kadar glukosa darah seluruh kelompok hewan uji 45 menit setelah pemberian glukosa terdistribusi normal

Nilai signifikansi pada waktu Tg60:

- a. Kontrol normal = 0,858; signifikansi $>0,05$, maka H_0 diterima
- b. Metformin (90mg/200g bb) = 0,708; signifikansi $>0,05$, maka H_0 diterima
- c. Losartan (18mg/200g bb) = 0,118; signifikansi $>0,05$, maka H_0 diterima
- d. Losartan (9mg/200g bb) dan metformin (90mg/200g bb) = 0,627; signifikansi $>0,05$, maka H_0 diterima
- e. Losartan (18mg/200g bb) dan metformin (90mg/200g bb) = 0,168; signifikansi $>0,05$, maka H_0 diterima

Kesimpulan: H_0 diterima sehingga data kadar glukosa darah seluruh kelompok hewan uji 60 menit setelah pemberian glukosa terdistribusi normal

Nilai signifikansi pada waktu Tg75:

- a. Kontrol normal = 0,823; signifikansi $>0,05$, maka H_0 diterima
- b. Metformin (90mg/200g bb) = 0,705; signifikansi $>0,05$, maka H_0 diterima
- c. Losartan (18mg/200g bb) = 0,417; signifikansi $>0,05$, maka H_0 diterima
- d. Losartan (9mg/200g bb) dan metformin (90mg/200g bb) = 0,573; signifikansi $>0,05$, maka H_0 diterima
- e. Losartan (18mg/200g bb) dan metformin (90mg/200g bb) = 0,155; signifikansi $>0,05$, maka H_0 diterima

Kesimpulan: H_0 diterima sehingga data kadar glukosa darah seluruh kelompok hewan uji 75 menit setelah pemberian glukosa terdistribusi normal

Nilai signifikansi pada waktu Tg90:

- a. Kontrol normal = 0,482; signifikansi $>0,05$, maka H_0 diterima
- b. Metformin (90mg/200g bb) = 0,582; signifikansi $>0,05$, maka H_0 diterima
- c. Losartan (18mg/200g bb) = 0,535; signifikansi $>0,05$, maka H_0 diterima
- d. Losartan (9mg/200g bb) dan metformin (90mg/200g bb) = 0,171; signifikansi $>0,05$, maka H_0 diterima
- e. Losartan (18mg/200g bb) dan metformin (90mg/200g bb) = 0,078; signifikansi $>0,05$, maka H_0 diterima

Kesimpulan: H_0 diterima sehingga data kadar glukosa darah seluruh kelompok hewan uji 90 menit setelah pemberian glukosa terdistribusi normal

Nilai signifikansi pada waktu Tg105:

- a. Kontrol normal = 0,735; signifikansi $>0,05$, maka H_0 diterima
- b. Metformin (90mg/200g bb) = 0,245; signifikansi $>0,05$, maka H_0 diterima
- c. Losartan (18mg/200g bb) = 0,603; signifikansi $>0,05$, maka H_0 diterima
- d. Losartan (9mg/200g bb) dan metformin (90mg/200g bb) = 0,953; signifikansi $>0,05$, maka H_0 diterima

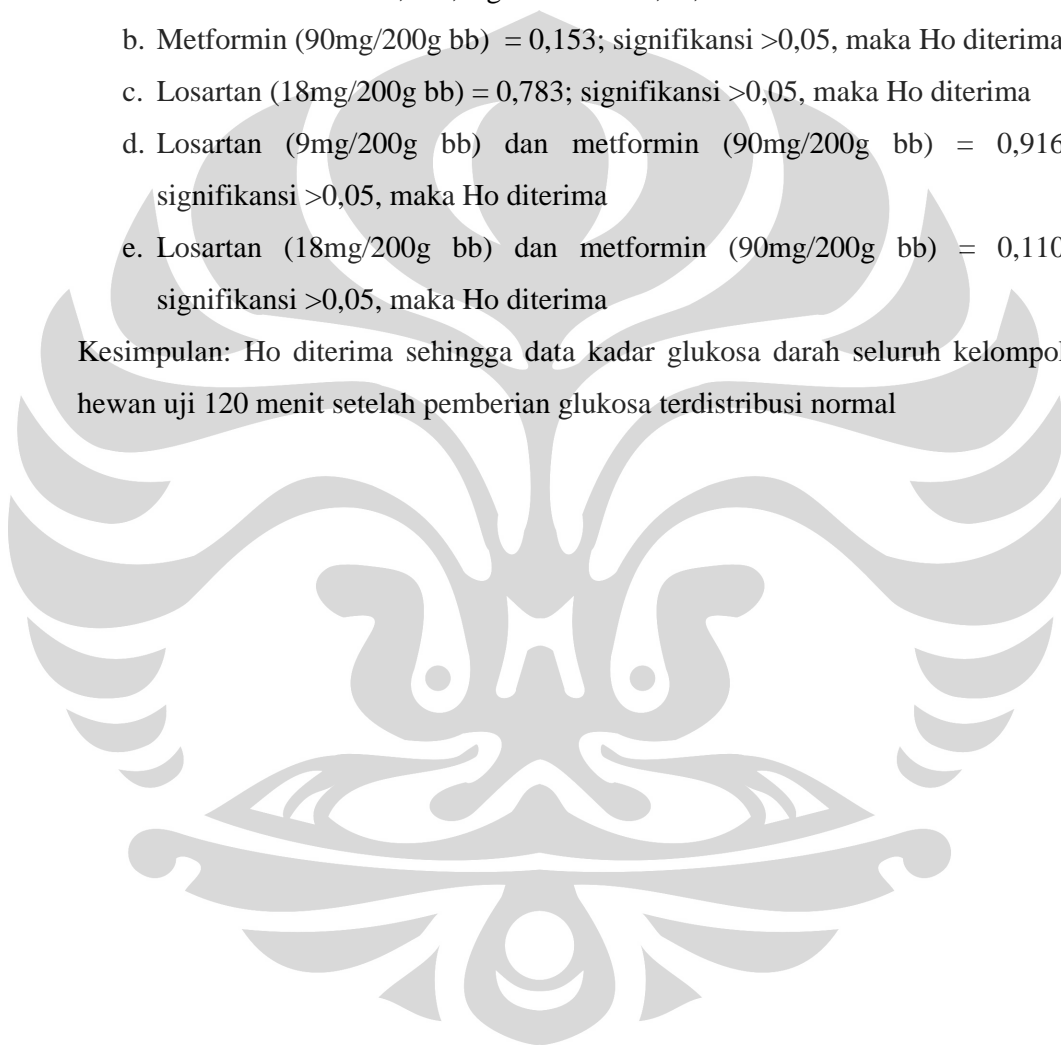
- e. Losartan (18mg/200g bb) dan metformin (90mg/200g bb) = 0,132; signifikansi >0,05, maka Ho diterima

Kesimpulan: Ho diterima sehingga data kadar glukosa darah seluruh kelompok hewan uji 105 menit setelah pemberian glukosa terdistribusi normal

Nilai signifikansi pada waktu Tg120:

- a. Kontrol normal = 0,560; signifikansi >0,05, maka Ho diterima
- b. Metformin (90mg/200g bb) = 0,153; signifikansi >0,05, maka Ho diterima
- c. Losartan (18mg/200g bb) = 0,783; signifikansi >0,05, maka Ho diterima
- d. Losartan (9mg/200g bb) dan metformin (90mg/200g bb) = 0,916; signifikansi >0,05, maka Ho diterima
- e. Losartan (18mg/200g bb) dan metformin (90mg/200g bb) = 0,110; signifikansi >0,05, maka Ho diterima

Kesimpulan: Ho diterima sehingga data kadar glukosa darah seluruh kelompok hewan uji 120 menit setelah pemberian glukosa terdistribusi normal



Lampiran 4.8 Uji homogenitas (Uji Levene) terhadap kadar glukosa darah seluruh kelompok hewan uji setelah pemberian glukosa
(SPSS 15.0)

Tujuan : Untuk melihat data kadar glukosa darah seluruh kelompok hewan uji setelah pemberian glukosa bervariasi homogen atau tidak

Hipotesis : Ho = Data kadar glukosa darah tikus bervariasi secara homogen

Ha = Data kadar glukosa darah tikus tidak bervariasi secara homogen

: 0,05

Pengambilan kesimpulan : Ho diterima jika nilai signifikansi > 0,05

Ho ditolak jika nilai signifikansi < 0,05

Test of Homogeneity of Variances

	Levene Statistik	df1	df 2	Signifikansi
Tg15	0,298	4	25	0,876
Tg30	2,475	4	25	0,070
Tg45	2,632	4	25	0,058
Tg60	2,445	4	25	0,073
Tg75	2,441	4	25	0,073
Tg90	1,227	4	25	0,325
Tg105	2,385	4	25	0,078
Tg120	1,705	4	25	0,180

Hasil :

a. Nilai signifikansi pada Tg15 = 0,876 >

Kesimpulan: Ho diterima sehingga data kadar glukosa darah seluruh kelompok hewan uji 15 menit setelah pemberian glukosa bervariasi homogen

b. Nilai signifikansi pada Tg30 = 0,070 >

Kesimpulan: Ho diterima sehingga data kadar glukosa darah seluruh kelompok hewan uji 30 menit setelah pemberian glukosa bervariasi homogen

c. Nilai signifikansi pada $Tg45 = 0,058 >$

Kesimpulan: H_0 diterima sehingga data kadar glukosa darah seluruh kelompok hewan uji 45 menit setelah pemberian glukosa bervariasi homogen

d. Nilai signifikansi pada $Tg60 = 0,073 >$

Kesimpulan: H_0 diterima sehingga data kadar glukosa darah seluruh kelompok hewan uji 60 menit setelah pemberian glukosa bervariasi homogen

e. Nilai signifikansi pada $Tg75 = 0,073 >$

Kesimpulan: H_0 diterima sehingga data kadar glukosa darah seluruh kelompok hewan uji 75 menit setelah pemberian glukosa bervariasi homogen

f. Nilai signifikansi pada $Tg90 = 0,325 >$

Kesimpulan: H_0 diterima sehingga data kadar glukosa darah seluruh kelompok hewan uji 90 menit setelah pemberian glukosa bervariasi homogen

g. Nilai signifikansi pada $Tg105 = 0,078 >$

Kesimpulan: H_0 diterima sehingga data kadar glukosa darah seluruh kelompok hewan uji 105 menit setelah pemberian glukosa bervariasi homogen

h. Nilai signifikansi pada $Tg120 = 0,180 >$

Kesimpulan: H_0 diterima sehingga data kadar glukosa darah seluruh kelompok hewan uji 120 menit setelah pemberian glukosa bervariasi homogen

Lampiran 4.9 Uji analisis variansi (ANOVA) satu arah terhadap kadar glukosa darah antar kelompok hewan uji setelah pemberian glukosa
(SPSS 15.0)

Tujuan : Untuk mengetahui ada tidaknya perbedaan data kadar glukosa darah antar kelompok hewan uji setelah pemberian glukosa

Hipotesis : Ho = Data kadar glukosa darah tikus tidak berbeda secara bermakna

Ha = Data kadar glukosa darah tikus berbeda secara bermakna

: 0,05

Pengambilan kesimpulan: Ho diterima jika nilai signifikansi > 0,05

Ho ditolak jika nilai signifikansi < 0,05

ANOVA

		df	F	Sig.
Tg15	Between groups	4	10,451	0,000
	Within groups	25		
	Total	29		
Tg30	Between groups	4	63,812	0,000
	Within groups	25		
	Total	29		
Tg45	Between groups	4	51,654	0,000
	Within groups	25		
	Total	29		
Tg60	Between groups	4	40,883	0,000
	Within groups	25		
	Total	29		
Tg75	Between groups	4	35,382	0,000
	Within groups	25		
	Total	29		
Tg90	Between groups	4	29,031	0,000
	Within groups	25		
	Total	29		
Tg105	Between groups	4	22,990	0,000
	Within groups	25		
	Total	29		
Tg120	Between groups	4	21,620	0,000
	Within groups	25		
	Total	29		

Hasil :

a. Nilai signifikansi pada $Tg15 = 0,000 <$

Kesimpulan: H_0 diterima sehingga data kadar glukosa darah seluruh kelompok hewan uji 15 menit setelah pemberian glukosa berbeda secara bermakna

b. Nilai signifikansi pada $Tg30 = 0,000 <$

Kesimpulan: H_0 diterima sehingga data kadar glukosa darah seluruh kelompok hewan uji 30 menit setelah pemberian glukosa berbeda secara bermakna

c. Nilai signifikansi pada $Tg45 = 0,000 >$

Kesimpulan: H_0 diterima sehingga data kadar glukosa darah seluruh kelompok hewan uji 45 menit setelah pemberian glukosa berbeda secara bermakna

d. Nilai signifikansi pada $Tg60 = 0,000 <$

Kesimpulan: H_0 diterima sehingga data kadar glukosa darah seluruh kelompok hewan uji 60 menit setelah pemberian glukosa berbeda secara bermakna

e. Nilai signifikansi pada $Tg75 = 0,000 <$

Kesimpulan: H_0 diterima sehingga data kadar glukosa darah seluruh kelompok hewan uji 75 menit setelah pemberian glukosa berbeda secara bermakna

f. Nilai signifikansi pada $Tg90 = 0,000 <$

Kesimpulan: H_0 diterima sehingga data kadar glukosa darah seluruh kelompok hewan uji 90 menit setelah pemberian glukosa berbeda secara bermakna

g. Nilai signifikansi pada $Tg105 = 0,000 <$

Kesimpulan: H_0 diterima sehingga data kadar glukosa darah seluruh kelompok hewan uji 105 menit setelah pemberian glukosa berbeda secara bermakna

h. Nilai signifikansi pada $Tg120 = 0,000 <$

Kesimpulan: H_0 diterima sehingga data kadar glukosa darah seluruh kelompok hewan uji 120 menit berbeda secara bermakna

Lampiran 4.10 Uji Beda Nyata Terkecil (BNT) terhadap kadar glukosa darah antar kelompok hewan uji setelah pemberian glukosa
(SPSS 15.0)

Tujuan : Untuk mengetahui letak perbedaan data kadar glukosa darah antar kelompok hewan uji setelah pemberian glukosa

Hipotesis : H_0 = Data kadar glukosa darah tikus tidak memiliki perbedaan

H_a = Data kadar glukosa darah tikus memiliki perbedaan

: 0,05

Pengambilan kesimpulan: H_0 diterima jika nilai signifikansi $\geq 0,05$

H_0 ditolak jika nilai signifikansi $< 0,05$

Dependent Variable	(I) kelompok	(J)kelompok	Mean Difference (I-J)	Std. Error	Sig.
Tg15	kontrol normal	metformin	11.800*	3.468	.003
		losartan	1.800	3.468	.609
		losartan I+metformin	13.000*	3.468	.001
		losartan II + metformin	16.200*	3.468	.000

metformin	kontrol normal	-11.800*	3.468	.003
	losartan	-10.000*	3.468	.009
	losartan I+metformin	1.200	3.468	.733
	losartan II + metformin	4.400	3.468	.219
losartan	kontrol normal	-1.800	3.468	.609
	metformin	10.000*	3.468	.009
	losartan I+metformin	11.200*	3.468	.004
	losartan II + metformin	14.400*	3.468	.000
losartan I+metformin	kontrol normal	-13.000*	3.468	.001
	metformin	-1.200	3.468	.733
	losartan	-11.200*	3.468	.004
	losartan II + metformin	3.200	3.468	.367
losartan II + metformin	kontrol normal	-16.200*	3.468	.000
	metformin	-4.400	3.468	.219
	losartan	-14.400*	3.468	.000
	losartan I+metformin	-3.200	3.468	.367
Tg30 kontrol normal	metformin	21.000*	2.692	.000
	losartan	5.800*	2.692	.044
	losartan I+metformin	24.400*	2.692	.000
	losartan II + metformin	33.400*	2.692	.000
metformin	kontrol normal	-21.000*	2.692	.000
	losartan	-15.200*	2.692	.000
	losartan I+metformin	3.400	2.692	.221
	losartan II + metformin	12.400*	2.692	.000
losartan	kontrol normal	-5.800*	2.692	.044
	metformin	15.200*	2.692	.000
	losartan I+metformin	18.600*	2.692	.000
	losartan II + metformin	27.600*	2.692	.000
losartan I+metformin	kontrol normal	-24.400*	2.692	.000
	metformin	-3.400	2.692	.221
	losartan	-18.600*	2.692	.000
	losartan II + metformin	9.000*	2.692	.003

	losartan II + metformin	kontrol normal	-33.400*	2.692	.000
		metformin	-12.400*	2.692	.000
		losartan	-27.600*	2.692	.000
		losartan I+metformin	-9.000*	2.692	.003
Tg45	kontrol normal	metformin	24.200*	3.522	.000
		losartan	10.000*	3.522	.010
		losartan I+metformin	27.200*	3.522	.000
		losartan II + metformin	38.200*	3.522	.000
	metformin	kontrol normal	-24.200*	3.522	.000
		losartan	-14.200*	3.522	.001
		losartan I+metformin	3.000	3.522	.404
		losartan II + metformin	14.000*	3.522	.001
	losartan	kontrol normal	-10.000*	3.522	.010
		metformin	14.200*	3.522	.001
		losartan I+metformin	17.200*	3.522	.000
		losartan II + metformin	28.200*	3.522	.000
	losartan I+metformin	kontrol normal	-27.200*	3.522	.000
		metformin	-3.000	3.522	.404
		losartan	-17.200*	3.522	.000
		losartan II + metformin	11.000*	3.522	.005
	losartan II + metformin	kontrol normal	-38.200*	3.522	.000
		metformin	-14.000*	3.522	.001
		losartan	-28.200*	3.522	.000
		losartan I+metformin	-11.000*	3.522	.005
Tg60	kontrol normal	metformin	22.800*	3.136	.000
		losartan	9.400*	3.136	.007
		losartan I+metformin	25.200*	3.136	.000
		losartan II + metformin	33.400*	3.136	.000
	metformin	kontrol normal	-22.800*	3.136	.000
		losartan	-13.400*	3.136	.000
		losartan I+metformin	2.400	3.136	.453
		losartan II + metformin	10.600*	3.136	.003

losartan	kontrol normal	-9.400*	3.136	.007
	metformin	13.400*	3.136	.000
	losartan I+metformin	15.800*	3.136	.000
	losartan II + metformin	24.000*	3.136	.000
losartan I+metformin	kontrol normal	-25.200*	3.136	.000
	metformin	-2.400	3.136	.453
	losartan	-15.800*	3.136	.000
	losartan II + metformin	8.200*	3.136	.017
losartan II + metformin	kontrol normal	-33.400*	3.136	.000
	metformin	-10.600*	3.136	.003
	losartan	-24.000*	3.136	.000
	losartan I+metformin	-8.200*	3.136	.017
Tg75 kontrol normal	metformin	21.600*	3.174	.000
	losartan	8.800*	3.174	.012
	losartan I+metformin	21.600*	3.174	.000
	losartan II + metformin	31.400*	3.174	.000
metformin	kontrol normal	-21.600*	3.174	.000
	losartan	-12.800*	3.174	.001
	losartan I+metformin	.000	3.174	1.000
	losartan II + metformin	9.800*	3.174	.006
losartan	kontrol normal	-8.800*	3.174	.012
	metformin	12.800*	3.174	.001
	losartan I+metformin	12.800*	3.174	.001
	losartan II + metformin	22.600*	3.174	.000
losartan I+metformin	kontrol normal	-21.600*	3.174	.000
	metformin	.000	3.174	1.000
	losartan	-12.800*	3.174	.001
	losartan II + metformin	9.800*	3.174	.006
losartan II + metformin	kontrol normal	-31.400*	3.174	.000
	metformin	-9.800*	3.174	.006
	losartan	-22.600*	3.174	.000
	losartan I+metformin	-9.800*	3.174	.006

Tg90	kontrol normal	metformin	21.000*	3.404	.000
		losartan	9.200*	3.404	.014
		losartan I+metformin	22.600*	3.404	.000
		losartan II + metformin	31.400*	3.404	.000
	metformin	kontrol normal	-21.000*	3.404	.000
		losartan	-11.800*	3.404	.002
		losartan I+metformin	1.600	3.404	.643
		losartan II + metformin	10.400*	3.404	.006
	losartan	kontrol normal	-9.200*	3.404	.014
		metformin	11.800*	3.404	.002
		losartan I+metformin	13.400*	3.404	.001
		losartan II + metformin	22.200*	3.404	.000
	losartan I+metformin	kontrol normal	-22.600*	3.404	.000
		metformin	-1.600	3.404	.643
		losartan	-13.400*	3.404	.001
		losartan II + metformin	8.800*	3.404	.018
losartan II + metformin	kontrol normal	-31.400*	3.404	.000	
	metformin	-10.400*	3.404	.006	
	losartan	-22.200*	3.404	.000	
	losartan I+metformin	-8.800*	3.404	.018	
Tg105	kontrol normal	metformin	21.000*	3.911	.000
		losartan	10.000*	3.911	.019
		losartan I+metformin	22.000*	3.911	.000
		losartan II + metformin	30.400*	3.911	.000
	metformin	kontrol normal	-21.000*	3.911	.000
		losartan	-11.000*	3.911	.011
		losartan I+metformin	1.000	3.911	.801
		losartan II + metformin	9.400*	3.911	.026
	losartan	kontrol normal	-10.000*	3.911	.019
		metformin	11.000*	3.911	.011
		losartan I+metformin	12.000*	3.911	.006
		losartan II + metformin	20.400*	3.911	.000

	losartan I+metformin	kontrol normal	-22.000*	3.911	.000
		metformin	-1.000	3.911	.801
		losartan	-12.000*	3.911	.006
		losartan II + metformin	8.400*	3.911	.044
	losartan II + metformin	kontrol normal	-30.400*	3.911	.000
		metformin	-9.400*	3.911	.026
		losartan	-20.400*	3.911	.000
		losartan I+metformin	-8.400*	3.911	.044
Tg120	kontrol normal	metformin	20.000*	3.794	.000
		losartan	9.400*	3.794	.022
		losartan I+metformin	22.200*	3.794	.000
		losartan II + metformin	29.000*	3.794	.000
		metformin	kontrol normal	-20.000*	3.794
	metformin	losartan	-10.600*	3.794	.011
		losartan I+metformin	2.200	3.794	.568
		losartan II + metformin	9.000*	3.794	.028
		losartan	kontrol normal	-9.400*	3.794
	losartan	metformin	10.600*	3.794	.011
		losartan I+metformin	12.800*	3.794	.003
		losartan II + metformin	19.600*	3.794	.000
		losartan I+metformin	kontrol normal	-22.200*	3.794
	losartan I+metformin	metformin	-2.200	3.794	.568
		losartan	-12.800*	3.794	.003
		losartan II + metformin	6.800	3.794	.088
		losartan II + metformin	kontrol normal	-29.000*	3.794
	losartan II + metformin	metformin	-9.000*	3.794	.028
		losartan	-19.600*	3.794	.000
		losartan I+metformin	-6.800	3.794	.088

*The mean significance at .05 level

Kesimpulan :

Pada waktu 15 menit setelah pemberian glukosa :

kontrol normal berbeda dengan kontrol metformin, losartan dosis I + metformin, dan losartan dosis II + metformin. Kontrol metformin berbeda dengan kontrol losartan. Kontrol losartan berbeda dengan losartan dosis I + metformin dan losartan dosis II + metformin.

Pada waktu 30 menit setelah pemberian glukosa :

Kontrol normal berbeda dengan kelompok-kelompok lainnya. Kontrol losartan berbeda dengan kelompok lainnya. Kontrol metformin berbeda dengan losartan dosis II + metformin. Losartan dosis I + metformin berbeda dengan losartan dosis II + metformin.

Pada waktu 45 menit setelah pemberian glukosa :

Kontrol normal berbeda dengan kelompok-kelompok lainnya. Kontrol losartan berbeda dengan kelompok lainnya. Kontrol metformin berbeda dengan losartan dosis II + metformin. Losartan dosis I + metformin berbeda dengan losartan dosis II + metformin.

Pada waktu 60 menit setelah pemberian glukosa :

Kontrol normal berbeda dengan kelompok-kelompok lainnya. Kontrol losartan berbeda dengan kelompok lainnya. Kontrol metformin berbeda dengan losartan dosis II + metformin. Losartan dosis I + metformin berbeda dengan losartan dosis II + metformin.

Pada waktu 75 menit setelah pemberian glukosa :

Kontrol normal berbeda dengan kelompok-kelompok lainnya. Kontrol losartan berbeda dengan kelompok lainnya. Kontrol metformin berbeda dengan losartan dosis II + metformin. Losartan dosis I + metformin berbeda dengan losartan dosis II + metformin.

Pada waktu 90 menit setelah pemberian glukosa :

Kontrol normal berbeda dengan kelompok-kelompok lainnya. Kontrol losartan berbeda dengan kelompok lainnya. Kontrol metformin berbeda dengan losartan dosis II + metformin. Losartan dosis I + metformin berbeda dengan losartan dosis II + metformin.

Pada waktu 105 menit setelah pemberian glukosa :

Kontrol normal berbeda dengan kelompok-kelompok lainnya. Kontrol losartan berbeda dengan kelompok lainnya. Kontrol metformin berbeda dengan losartan dosis II + metformin. Losartan dosis I + metformin berbeda dengan losartan dosis II + metformin.

Pada waktu 120 menit setelah pemberian glukosa :

Kontrol normal berbeda dengan kelompok-kelompok lainnya. Kontrol losartan berbeda dengan kelompok lainnya. Kontrol metformin berbeda dengan losartan dosis II + metformin.