

**UJI TOKSISITAS AKUT DAN UJI KHASIAT ANTIDIABETES CAMPURAN
EKSTRAK BIJI JINTEN HITAM (*Nigella sativa Linn*) DAN EKSTRAK
KELOPAK BUNGA ROSELLA (*Hibiscus sabdariffa Linn*)
TERHADAP TIKUS PUTIH YANG DIBUAT DIABETES
DENGAN ALOKSAN**

INGGIT ARTI SARI

0305250298



**UNIVERSITAS INDONESIA
FAKULTAS MATEMATIKA DAN ILMU PENGETAHUAN ALAM
DEPARTEMEN FARMASI
JURUSAN EKSTENSI
DEPOK
2008**

**UJI TOKSISITAS AKUT DAN UJI KHASIAT ANTIDIABETES CAMPURAN
EKSTRAK BIJI JINTEN HITAM (*Nigella sativa Linn*) DAN EKSTRAK
KELOPAK BUNGA ROSELLA (*Hibiscus sabdariffa Linn*)
TERHADAP TIKUS PUTIH YANG DIBUAT DIABETES
DENGAN ALOKSAN**

Skripsi Ini Disusun Sebagai Syarat Untuk Memperoleh Gelar Sarjana Farmasi

INGGIT ARTI SARI

0305250298



**UNIVERSITAS INDONESIA
FAKULTAS MATEMATIKA DAN ILMU PENGETAHUAN ALAM
DEPARTEMEN FARMASI
JURUSAN EKSTENSI
DEPOK
2008**

LEMBAR PENGESAHAN

SKRIPSI : UJI TOKSISITAS AKUT DAN UJI KHASIAT ANTIDIABETES
CAMPURAN EKSTRAK BIJI JINTEN HITAM (*Nigella sativa*
Linn) DAN EKSTRAK KELOPAK BUNGA ROSELLA
(*Hibiscus sabdariffa Linn*) TERHADAP TIKUS PUTIH
YANG DIBUAT DIABETES DENGAN ALOKSAN

NAMA : INGGIT ARTI SARI

NPM : 0305250298

SKRIPSI INI TELAH DIPERIKSA DAN DISETUJUI

DEPOK, DESEMBER 2008



Dra. Azizahwati, MS

Pembimbing I



Prof. Dr. Sumali Wiryowidagdo

Pembimbing II

Tanggal Lulus Ujian Sidang Sarjana	30 Agustus 2008
Penguji I	: Santi Purna Sari SSi., MSi
Penguji II	: Drs. Hayun MSi
Penguji III	: DR. Katrin MS

KATA PENGANTAR

Bismillahirrahmanirrohim,

Alhamdulillah, puji syukur penulis panjatkan kehadirat Allah SWT karena atas Nikmat, Rahmat dan Hidayat-Nya, penulis dapat menyelesaikan skripsi ini.

Penulisan skripsi ini merupakan syarat bagi mahasiswa S1 untuk mendapatkan gelar sarjana. Dalam penyusunan skripsi ini, penulis telah banyak mendapat bimbingan serta bantuan dari berbagai pihak. Oleh karena itu, dalam kesempatan ini penulis ingin menyampaikan ucapan terima kasih yang sebesar-besarnya kepada :

1. Ibu Dra. Azizahwati, MS. dan Bapak Prof. Dr. Sumali Wiryowidagdo selaku Dosen Pembimbing Skripsi yang telah memberikan bimbingan dan pengarahan sehingga skripsi ini dapat terselesaikan.
2. Ibu Dr. Yahdiana Harahap, MS. selaku Ketua Departemen Farmasi FMIPA UI yang telah memberikan kesempatan untuk melakukan penelitian ini.
3. Bapak Dr. Abdul Mun'im, MS. selaku Ketua Program Ekstensi Departemen Farmasi FMIPA UI.
4. Bapak Sutriyo, SSi, MSi., Apt. selaku Dosen Pembimbing Akademis yang telah banyak memberikan bimbingan kepada penulis selama menempuh pendidikan di Departemen Farmasi FMIPA UI.
5. Ibu Dra. Retnosari Andrajati, MS. selaku Kepala Laboratorium Farmakologi dan Ibu Dra. Maryati, MSi. selaku Kepala Laboratorium Kimia

Kualitatif Departemen Farmasi FMIPA UI yang telah memberikan kesempatan dan fasilitas selama penelitian berlangsung.

6. Seluruh Dosen Departemen Farmasi FMIPA UI.
7. Seluruh Karyawan Departemen Farmasi FMIPA UI.
8. Seluruh keluarga besar, khususnya Mama dan Papa yang selalu memberikan dukungan, do'a serta bantuan materiil sehingga penulis dapat menyelesaikan skripsi ini.
9. Mas Eko Budi Susanto yang telah memberikan dukungan dan do'a sehingga skripsi ini dapat terselesaikan.
10. Seluruh teman penulis khususnya Vina, Vilka, Freddo, Sandi, Elsa, Firdaus, Etty, Netty, Rika, Rina, Pita, Asri dan Agung yang selalu memberikan dukungan serta banyak membantu dalam penelitian serta penulisan skripsi ini.

Semoga Allah SWT melimpahkan berkat dan rahmat-Nya serta membalas jasa-jasa mereka.

Akhirnya penulis berharap, semoga skripsi ini dapat memberikan manfaat bagi ilmu pengetahuan khususnya dunia farmasi dan bagi masyarakat pada umumnya.

Penulis

2008

ABSTRAK

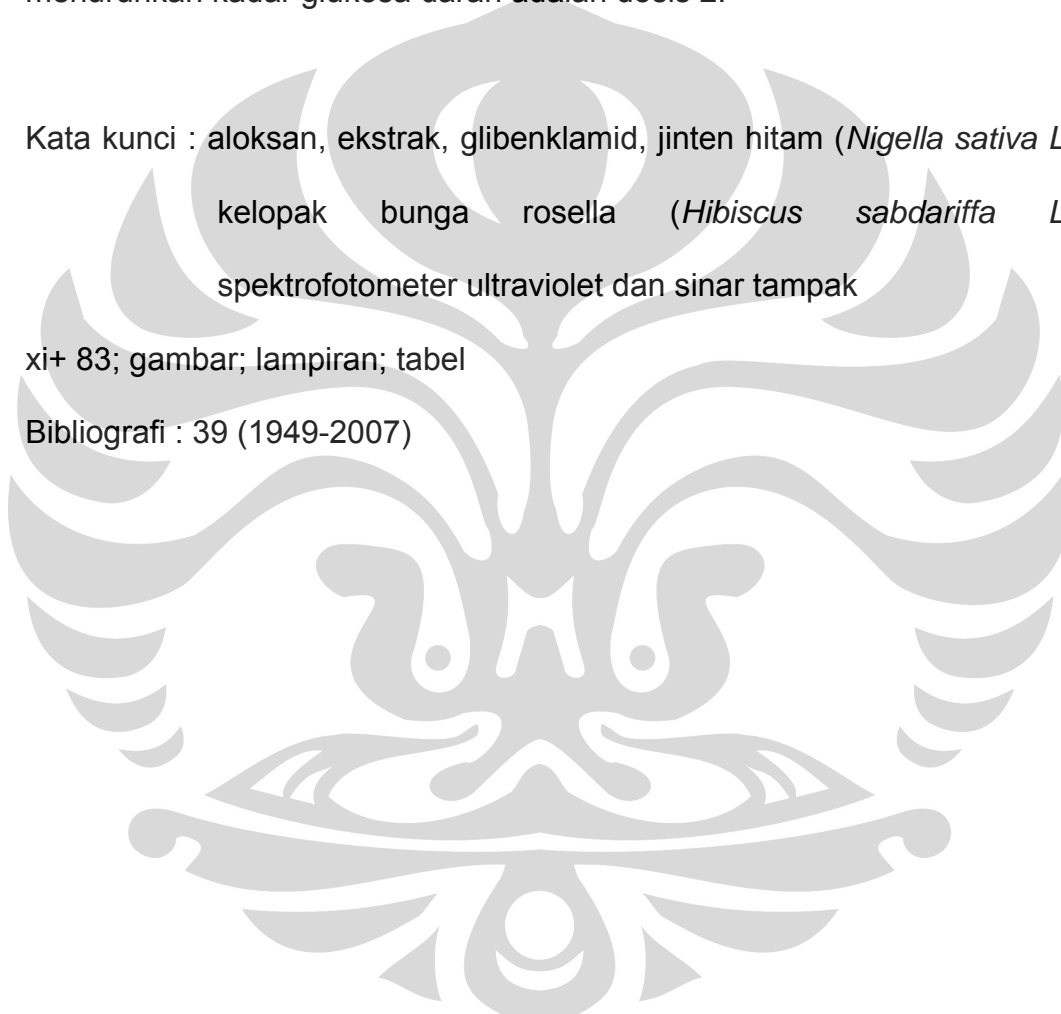
Biji jinten hitam (*Nigella sativa Linn*) dan kelopak bunga rosella (*Hibiscus sabdariffa Linn*) telah digunakan oleh masyarakat Indonesia sebagai obat tradisional yang dapat menurunkan kadar glukosa darah dalam tubuh. Penelitian ini dilakukan untuk menguji toksisitas akut serta untuk mengetahui efek penurunan kadar glukosa darah dari campuran kedua bahan alam tersebut yang dibuat dalam bentuk ekstrak. Uji toksisitas akut dilakukan terhadap 8 kelompok perlakuan yaitu 4 kelompok mencit jantan dan 4 kelompok mencit betina, masing-masing terdiri atas 6 ekor mencit. Dosis yang digunakan adalah campuran 2,5159 g ekstrak biji jinten hitam dan 2,4387 g ekstrak kelopak bunga rosella sebagai dosis 4. Untuk dosis 3, dosis 2 dan dosis 1 merupakan pengenceran 2 kali, 4 kali dan 8 kali dari dosis 4. Uji khasiat dilakukan menggunakan 6 kelompok perlakuan masing-masing terdiri atas 4 ekor tikus putih jantan. Induksi diabetes dilakukan dengan memberikan aloksan secara intravena dengan dosis 18 mg/200g bb kepada 5 kelompok sedangkan 1 kelompok tidak diinduksi sebagai kontrol normal. Dosis bahan uji yang digunakan adalah campuran dari 113,4 mg ekstrak biji jinten hitam dan 204,156 mg ekstrak kelopak bunga rosella sebagai dosis 1. Untuk dosis 2 dan dosis 3 merupakan kelipatan 2 kali dan 4 kali dari dosis 1. Sebagai pembanding digunakan glibenklamid 0,3% dan untuk kelompok normal serta kelompok normal perlakuan diberikan CMC 0,5%. Pengukuran kadar glukosa darah dilakukan dengan metode o-toluidin menggunakan

spektrofotometer ultraviolet dan sinar tampak pada panjang gelombang 633 nm. Hasil pengujian menunjukkan bahwa campuran ekstrak biji jinten hitam dan ekstrak kelopak bunga rosella aman untuk dikonsumsi serta mampu menurunkan kadar glukosa darah dan dosis yang paling optimal dalam menurunkan kadar glukosa darah adalah dosis 2.

Kata kunci : aloksan, ekstrak, glibenklamid, jinten hitam (*Nigella sativa Linn*), kelopak bunga rosella (*Hibiscus sabdariffa Linn*), spektrofotometer ultraviolet dan sinar tampak

xi+ 83; gambar; lampiran; tabel

Bibliografi : 39 (1949-2007)



ABSTRACT

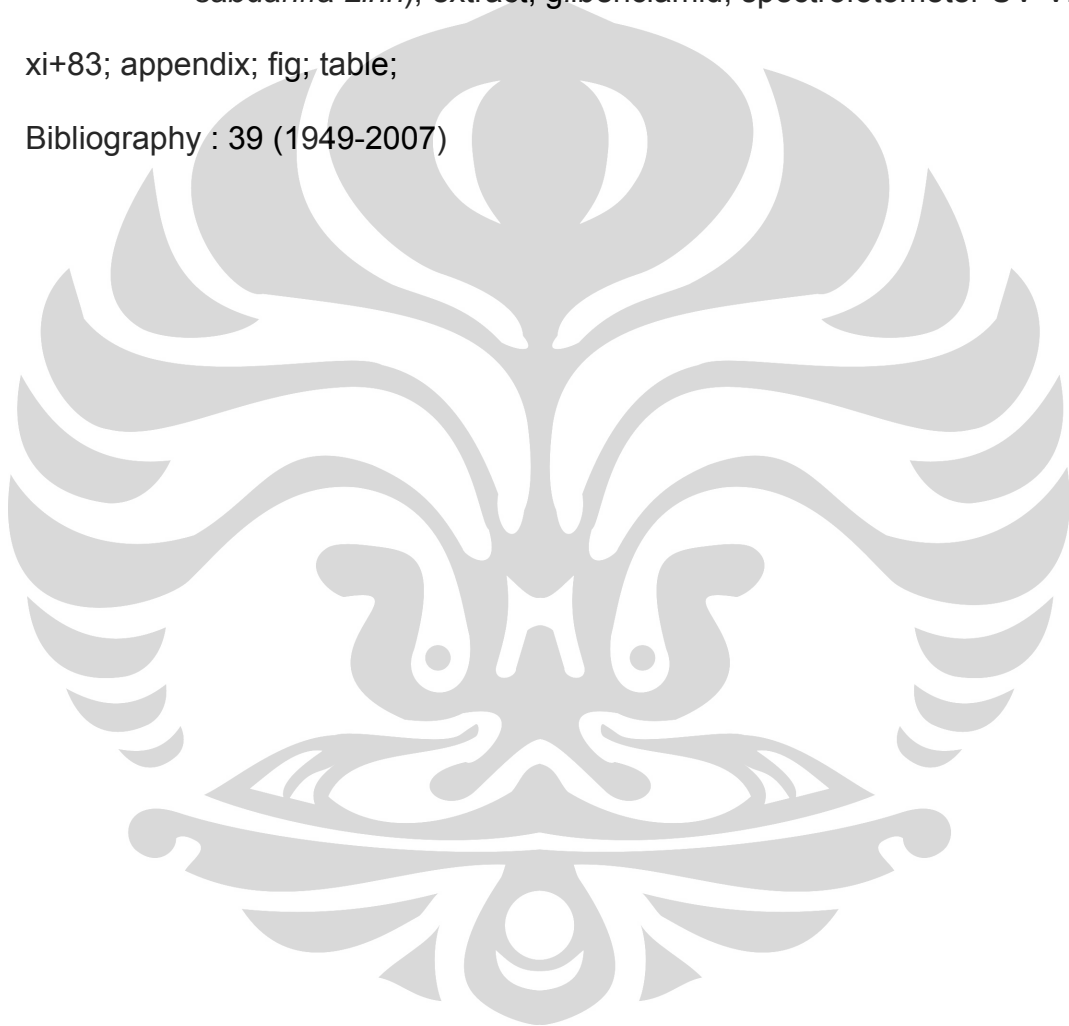
Black seed (*Nigella sativa* Linn) and calyx of roselle (*Hibiscus sabdariffa* Linn) has been used by people in Indonesia as traditional medicine which can be reduce the level of glucose blood on the body. This research has been carried out to measure of acute toxicity and for known the effect of glucose blood from the mixed of the natural material which made in extract. The experiment of acute toxicity was done on 8 different treatment consisted of 4 groups for male mice and 4 groups for female mice, which for each group consisted of 6 mice. The mixed doses was 2,5159 g black seed extract and 2,4387 g calyx roselle extract for dose 4. For dose 3, dose 2 and dose 1 was thinning 2 times, 4 times and 8 times from dose 4. The glucose blood test was made in 6 different treatment which was each group consisted of 4 male white rats. The induced of diabetic was done by given the alloxan which dose 18 mg/200 g bw intravenously for 5 different class while for the other one have not been induced for the normal control. The mixed doses was 113,4 mg black seed extract and 204,156 mg calyx roselle extract for dose 1. For dose 2 and dose 3 was the multiple 2 times and 4 times from dose 1. Glibenclamid 0,3% was respectively used as standart and CMC 0,5% was used as normal control and treatment control. Measurement of the glucose blood level that used o-toluidine methode was done by spectrophotometry UV-Vis at wavelength of maximum absorption 633 nm. The result of the research shows that the mixed of black seed extract and calyx roselle extract

was secure to consumed and can reduce glucose blood level and then the optimal dose which can reduce the blood glucose was dose 2.

Keywords : alloxan, black seed (*Nigella sativa Linn*), calyx roselle (*Hibiscus sabdariffa Linn*), extract, glibenclamid, spectrofotometer UV-Vis

xi+83; appendix; fig; table;

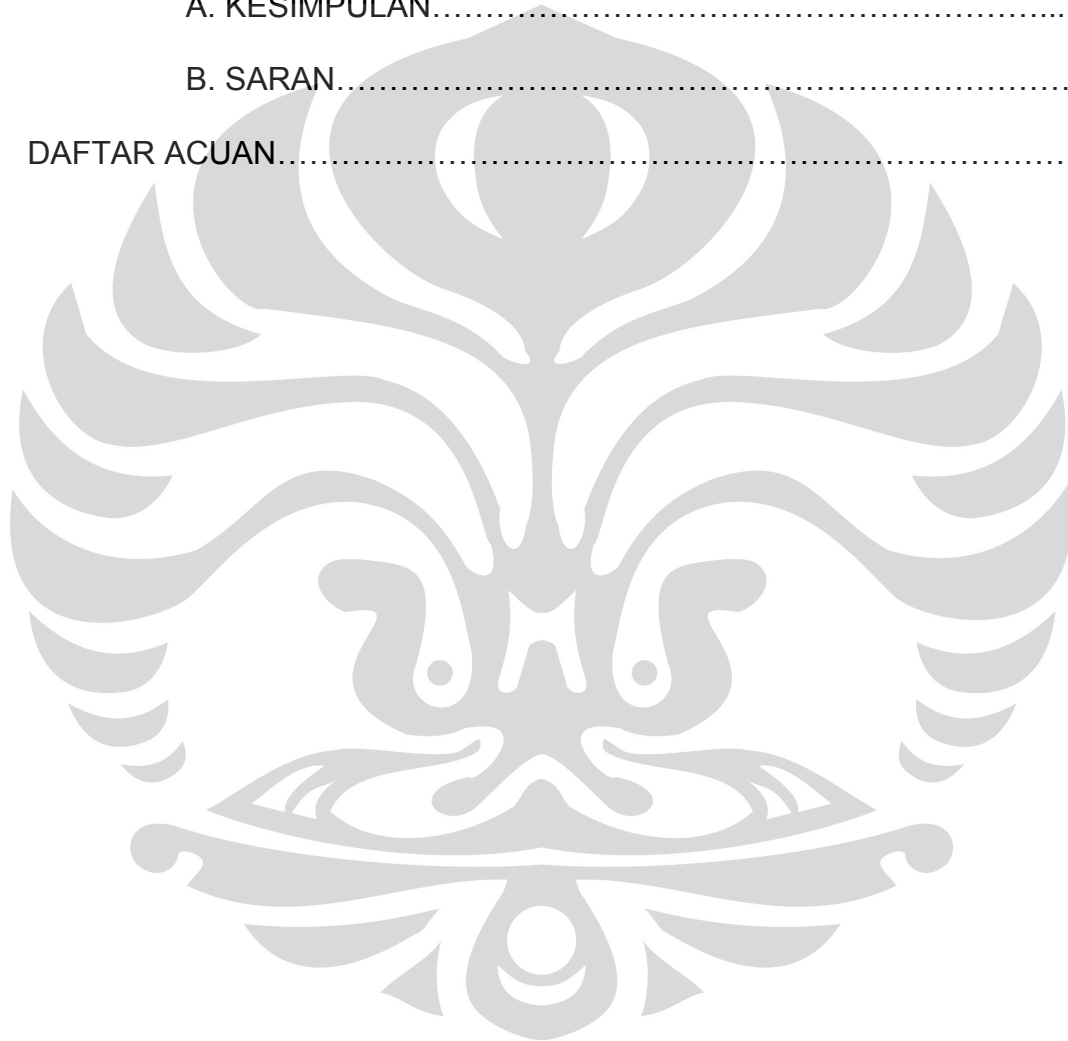
Bibliography : 39 (1949-2007)



DAFTAR ISI

	Halaman
KATA PENGANTAR.....	i
ABSTRAK.....	iii
ABSTRACT.....	v
DAFTAR ISI.....	vii
DAFTAR GAMBAR.....	ix
DAFTAR TABEL.....	x
DAFTAR LAMPIRAN.....	xi
BAB I PENDAHULUAN.....	1
A. LATAR BELAKANG.....	1
B. TUJUAN.....	3
C. HIPOTESIS.....	3
BAB II TINJAUAN PUSTAKA.....	4
A. JINTEN HITAM.....	4
B. ROSELLA.....	6
C. DIABETES MELITUS.....	8
D. METODE PENGUJIAN.....	18
BAB III BAHAN DAN CARA KERJA.....	29
A. BAHAN.....	29
B. CARA KERJA.....	30

BAB IV	HASIL PERCOBAAN DAN PEMBAHASAN.....	44
	A. HASIL PERCOBAAN.....	44
	B. PEMBAHASAN.....	45
BAB V	KESIMPULAN DAN SARAN.....	51
	A. KESIMPULAN.....	51
	B. SARAN.....	51
DAFTAR ACUAN.....		52



DAFTAR GAMBAR

Gambar		Halaman
1	Sruktur Kimia Aloksan.....	24
2	Biji Jinten Hitam.....	56
3	Kelopak Bunga Rosella.....	56
4	Kurva Panjang Gelombang Maksimum Senyawa Hasil Reaksi Antara O-Toluidin dan Glukosa ($\lambda=633$ nm).....	57
5	Kurva kadar glukosa darah kelompok 1.....	58
6	Kurva kadar glukosa darah kelompok 2.....	58
7	Kurva kadar glukosa darah kelompok 3.....	59
7	Kurva kadar glukosa darah kelompok 4.....	59
8	Kurva kadar glukosa darah kelompok 5.....	60
9	Kurva kadar glukosa darah kelompok 6.....	60
10	Kadar glukosa darah puasa.....	61
11	Kadar glukosa darah post prandial.....	61

DAFTAR TABEL

Tabel	Halaman
1. Pembagian Kelompok dan Uji Toksisitas Campuran Ekstrak Biji Jinten Hitam dan Ekstrak Kelopak Bunga Rosella.....	34
2. Pembagian Kelompok dan Dosis Uji Khasiat Campuran Ekstrak Biji Jinten Hitam dan Ekstrak Kelopak Bunga Rosella.....	37
3. Hasil Rendemen Ekstrak Biji Jinten Hitam.....	62
4. Hasil Rendemen Ekstrak Kelopak Bunga Rosella.....	63
5. Hasil Uji Toksisitas Akut Mencit Jantan.....	64
6. Hasil Uji Toksisitas Akut Mencit Betina.....	65
7. Hasil Pengukuran Kadar Glukosa Darah Kelompok 1.....	66
8. Hasil Pengukuran Kadar Glukosa Darah Kelompok 2.....	66
9. Hasil Pengukuran Kadar Glukosa Darah Kelompok 3.....	67
10. Hasil Pengukuran Kadar Glukosa Darah Kelompok 4.....	67
11. Hasil Pengukuran Kadar Glukosa Darah Kelompok 5.....	68
12. Hasil Pengukuran Kadar Glukosa Darah Kelompok 6.....	68

DAFTAR LAMPIRAN

Lampiran		Halaman
1.	Hasil Determinasi Kelopak Bunga Rosella.....	69
2.	Hasil Determinasi Biji Jinten Hitam.....	70
3.	Sertifikat Analisis Glibentelamid.....	71
4.	Uji t Untuk Dua Populasi (Paired Test).....	72
5.	Uji Kebebasan Galat Terhadap Kadar Glukosa Darah Dengan Metode Tukey (Minitab 14.12).....	74
6.	Uji Kehomogenan Ragam Terhadap Kadar Glukosa Darah Dengan Metode Levene.....	75
7.	Uji Normalitas Terhadap Kadar Glukosa Darah Dengan Metode Saphiro Wilk (Minitab 14.12).....	78
8.	Uji ANOVA (Analisis Variasi) Satu Arah dan BNT (Beda Nyata Terkecil) Pada To dan T2.....	80
9.	Uji Main Effect Plot dan Uji Interaction Plot.....	82

BAB I

PENDAHULUAN

A. LATAR BELAKANG

Diabetes Melitus atau yang lebih dikenal dengan nama penyakit gula (kencing manis) ini disebabkan karena pankreas sebagai produsen insulin tidak dapat memproduksi insulin atau tidak memproduksi insulin dalam jumlah yang cukup besar daripada yang dibutuhkan oleh tubuh, sehingga pembakaran dan penggunaan karbohidrat tidak sempurna (1).

Diabetes Melitus sering juga disebut sebagai *The Great Imitator*, karena penyakit ini dapat mengenai semua organ tubuh dan menimbulkan berbagai macam keluhan. Gejalanya bervariasi dan dapat timbul secara perlahan-lahan sehingga angka kesakitan dan angka komplikasi akibat diabetes seperti buta, penyakit jantung koroner, gagal ginjal, penurunan kemampuan seksual serta neuropati simtomatik cenderung makin meningkat. Bahkan penyakit ini berada di urutan keenam dari 10 penyakit yang dapat menyebabkan kematian di rumah sakit Indonesia pada tahun 2002 dan berada di urutan pertama penyebab kematian pada pasien rawat inap di rumah sakit pada tahun 2005, sehingga dibutuhkan jalur penunjang untuk pengobatan konvensional pada penyakit diabetes dengan menggunakan sumber daya alam yang dimiliki oleh Indonesia (2). Sumber daya alam tersebut dapat diperoleh dari tumbuhan, bagian tubuh hewan maupun dari

mineral yang memenuhi persyaratan pengobatan yaitu aman, berkhasiat, logis dalam pemikiran kedokteran dan mudah pelaksanaannya.

Bahan alam yang telah digunakan oleh masyarakat Indonesia sebagai obat tradisional yang dapat menurunkan kadar glukosa darah dalam tubuh antara lain biji jinten hitam, kelopak bunga rosella, buah mengkudu, daun mimba, buah pare, daun lidah buaya, daun dan bunga tapak dara, biji mahoni, biji alpukat, batang brotowali, daun dan buah jambu biji, bunga kembang pukul empat dan lain sebagainya. Sebelumnya telah dilakukan uji toksisitas dan uji khasiat terhadap masing-masing ekstrak biji jinten hitam dan ekstrak kelopak bunga rosella yang menunjukkan bahwa masing-masing ekstrak tersebut tidak toksik dan dapat menurunkan kadar glukosa darah dalam tubuh (3,4,5).

Penelitian ini dilakukan terhadap campuran ekstrak biji jinten hitam (*Nigella sativa Linn*) dan ekstrak kelopak bunga rosella (*Hibiscus sabdariffa Linn*) yang meliputi uji toksisitas akut serta uji khasiat untuk membuktikan bahwa kombinasi bahan alam tersebut aman untuk dikonsumsi dan diharapkan efek terhadap penurunan kadar glukosa darah dapat lebih maksimal.

B. TUJUAN PENELITIAN

Untuk menentukan toksisitas akut berdasarkan nilai LD₅₀ serta menguji khasiat dari campuran ekstrak biji jinten hitam (*N. sativa L*) dan ekstrak kelopak bunga rosella (*H. sabdariffa L*) pada hewan uji.

C. HIPOTESIS

Campuran ekstrak biji jinten hitam (*N. sativa L*) dan ekstrak kelopak bunga rosella (*H. sabdariffa L*) aman untuk digunakan serta dapat menurunkan kadar glukosa darah hewan uji.

BAB II

TINJAUAN PUSTAKA

A. JINTEN HITAM

1. Klasifikasi (6)

Kerajaan : Plantae
Divisi : Magnoliophyta
Kelas : Magnoliopsida
Sub kelas : Magnoliidae
Bangsa : Ranunculales
Suku : Ranunculaceae
Marga : *Nigella*
Jenis : *Nigella sativa* Linn

2. Nama daerah

Jawa : Jinten ireng (7)

3. Morfologi

Tanaman ini berupa tanaman semak semusim dengan tinggi ± 30 cm. Batang tegak, lunak, beralur dan berwarna hijau kemerahan. Batang biasanya berusuk, berbulu kasar dan berkelenjar. Daun tunggal, lonjong, ujung dan pangkal runcing, tepi beringgit, pertulangan menyirip dan berwarna hijau. Terdapat 3 tulang daun yang berbulu. Daun bagian bawah bertingkat dan bagian atas duduk. Daun pembalut bunga

berukuran kecil. Bunga berupa bunga majemuk berbentuk karang. Kelopak bunga berjumlah 5 dengan bentuk bundar telur dan ujung agak meruncing. Pangkal kelopak bunga mengecil membentuk sudut yang pendek dan besar. Mahkota bunga pada umumnya berjumlah 8 dengan bentuk corong agak memanjang dan lebih kecil dari kelopak bunga. Mahkota bunga berwarna putih kekuningan serta memiliki bulu yang jarang dan pendek. Bibir bunga berjumlah 2 dan bibir bunga bagian atas berbentuk lanset dengan ujung memanjang seperti benang. Ujung bibir bunga bagian bawah berbentuk tumpul. Benang sari banyak, tangkai sari dan kepala sari berwarna kuning. Kepala sari berbentuk jorong dan sedikit tajam. Buah berupa polong, bulat panjang dan berwarna coklat kehitaman. Biji kecil, jorong bersudut 3 tidak beraturan dan sedikit berbentuk kerucut, panjang 3 mm, berkelenjar, berwarna hitam dan berasa pedas. Akar tunggang berwarna coklat (7,8).

4. Kandungan kimia

Biji jinten hitam mengandung minyak atsiri, minyak lemak, glikosida saponin, polifenol dan zat pahit. Minyak jinten hitam mengandung 58% asam lemak esensial termasuk omega-6, omega-3, asam miristat dan asam oleat. Kandungan lainnya adalah alanina, arginina, asparagina, fenilalanina, glisina, isoleusina, lisina, leusina, metionina, triptofana, tirosina, asam glutamat, fitosterol, glukosa, kalium, nigelon, thimokinon dan zat besi (8,9,10).

5. Manfaat

Manfaat jinten hitam antara lain : untuk menghangatkan tubuh, sebagai obat antidiabetes, obat cacing, alergi, batuk, demam, flu, asma, anti kanker, penguat sistem kekebalan tubuh, sebagai anti oksidan dan bronkodilator (7,10).

B. ROSELLA

1. Klasifikasi (6)

Kerajaan : Plantae
Divisi : Magnoliophyta
Kelas : Magnoliopsida
Sub kelas : Dilleniidae
Bangsa : Malvales
Suku : Malvaceae
Marga : Hibiscus
Jenis : *Hibiscus sabdariffa* Linn

2. Nama daerah

Tanaman ini mempunyai nama lain untuk masing-masing daerah, antara lain : Gamet balonda (Jawa Barat), Mrambos (Jawa Tengah), Kasturi riroha (Ternate) (11).

3. Morfologi

Tanaman ini merupakan tanaman semak dengan tinggi 0,5-3,0 m. Batangnya berwarna merah, berbentuk bulat, tegak dan berkayu. Daunnya tunggal, berwarna hijau, berbentuk bulat telur dengan panjang 6-15 cm, lebar 5-8 cm, bertangkai dengan panjang 4-7 cm, pertulangan menjari, ujung tumpul, tepi beringgit, pangkal berlekuk, penampang berbentuk bulat. Bunga tunggal berwarna merah dan terletak di ketiak daun, kelopak terdiri dari 8-11 daun kelopak, berbulu, panjang 1 cm, pangkal berlekatan, mahkota bunga berbentuk corong, terdiri dari 5 daun mahkota dengan panjang 3-5 cm. Putik berbentuk tabung berwarna kuning dan tangkai benang sari memiliki panjang ± 5 mm. Buah berwarna merah, berbentuk kerucut, berambut dan terbagi menjadi 5 ruang. Biji berbentuk ginjal, berbulu, panjang ± 5 mm dan lebar ± 4 mm. Bila masih muda, biji berwarna putih dan setelah tua berwarna abu-abu. Akarnya tunggang dan berwarna putih. (11)

4. Kandungan kimia

Kelopak bunga rosella mengandung vitamin C, vitamin A dan asam amino yang diperlukan tubuh. Selain itu juga mengandung saponin, flavonoid, polifenol, antosianin dan glikosida hibiskin. (8,9)

5. Manfaat

Manfaat rosella antara lain : sebagai obat mual, pencegah kanker, sebagai obat untuk mengatasi batuk, sakit tenggorokan, menormalkan kadar glukosa darah, mengobati sariawan dan lain sebagainya. (10,11)

C. DIABETES MELITUS

Diabetes Melitus adalah suatu keadaan yang timbul karena defisiensi insulin relatif maupun absolut. Hiperglikemia timbul karena penyerapan glukosa ke dalam sel terhambat serta metabolismenya terganggu. Dalam keadaan normal, kira-kira 50% glukosa yang dikonsumsi mengalami metabolisme sempurna menjadi CO₂ dan air, 5% diubah menjadi glikogen dan kira-kira 30-40% diubah menjadi lemak (12).

Berikut ini merupakan proses yang terjadi pada tubuh yang berhubungan dengan glukosa darah :

a). Metabolisme Karbohidrat

Karbohidrat terdapat dalam berbagai bentuk, yaitu dalam bentuk gula sederhana (monosakarida) dan gula yang lebih kompleks (disakarida, oligosakarida dan polisakarida). Dalam saluran pencernaan, karbohidrat akan dicerna oleh enzim amilase menjadi monosakarida untuk kemudian diabsorpsi terutama dalam duodenum dan jejunum proksimal untuk kemudian dikonversi didalam hati (13,14). Secara biomedis, glukosa merupakan monosakarida yang paling penting karena hampir semua karbohidrat dalam makanan akan dikonversi menjadi glukosa untuk metabolisme selanjutnya. Glukosa berfungsi sebagai bahan bakar utama bagi jaringan mamalia, bahan bakar universal bagi janin dan sebagai penyedia energi untuk metabolisme lainnya (13).

Peristiwa-peristiwa yang terjadi dalam metabolisme glukosa dalam tubuh adalah sebagai berikut (13):

1. Glikolisis

Glikolisis merupakan proses oksidasi glukosa atau glikogen menjadi piruvat dan atau laktat oleh jalur Embden Meyerhof.

2. Oksidasi piruvat menjadi asetil ko-A dalam mitokondria

3. Siklus asam sitrat (siklus krebs)

Siklus asam sitrat merupakan lintasan akhir bersama untuk oksidasi lipid, karbohidrat dan protein.

4. Glikogenesis

Glikogenesis merupakan sintesis glikogen dari glukosa didalam hati dan otot.

5. Glikogenolisis

Glikogenolisis merupakan peristiwa pemecahan glikogen menjadi glukosa didalam hati dan otot.

6. HMP (Heksosa Mono Phospat) Shunt

HMP Shunt merupakan jalan pentosa oksidasi fosfoglukonat yang berfungsi untuk sintesis NADPH dan ribosa.

7. Glukoneogenesis

Glukoneogenesis merupakan proses pembentukan glukosa atau glikogen dari prekursor selain karbohidrat seperti asam amino, asam laktat dan gliserol.

b). Pengaturan Kadar Glukosa Darah

Pengaturan fisiologis kadar glukosa darah sebagian besar tergantung dari sintesis glukosa, sintesis glikogen dan glikogenolisis dalam hati. Selain itu, jaringan perifer otot dan adiposa juga menggunakan glukosa sebagai sumber energi. Jaringan ini ikut berperan dalam mempertahankan kadar glukosa darah meskipun secara kuantitatif tidak sebesar hati (15). Jumlah glukosa yang diambil dan dilepaskan oleh hati yang digunakan oleh jaringan-jaringan perifer tergantung dari keseimbangan fisiologis beberapa hormon.

Hormon-hormon yang mempengaruhi kadar glukosa darah adalah (15,16) :

1) Insulin

Insulin disintesis oleh sel β pulau langerhans pankreas dan merupakan hormon yang dapat menurunkan kadar glukosa darah.

2) Glukagon

Glukagon merupakan hormon yang dihasilkan oleh sel α pulau langerhans pankreas. Sekresi hormon ini dirangsang oleh keadaan hipoglikemia. Glukagon menyebabkan glikogenolisis dengan mengaktifkan enzim fosforilase dan meningkatkan glukoneogenesis dari asam amino dan laktat sehingga menimbulkan efek hiperglikemia yang kerjanya berlawanan dengan insulin.

3) Hormon Pertumbuhan dan Adenokortikotropin (ACTH)

Hormon ini disekresi oleh kelenjar hipofisis anterior yang cenderung menaikkan kadar glukosa darah. Sekresi hormon pertumbuhan dirangsang oleh keadaan hipoglikemia.

4) Glukokortikoid

Hormon ini disekresi oleh korteks adrenal dan dapat meningkatkan glukoneogenesis. Peristiwa ini terjadi akibat peningkatan katabolisme dan peningkatan aktivitas enzim transaminase serta enzim lainnya yang berhubungan dengan glukoneogenesis didalam hati. Selain itu, glukokortikoid menghambat penggunaan glukosa dalam jaringan hepatic.

5) Epinefrin

Hormon ini disekresi oleh medula adrenal sebagai akibat dari rangsangan yang menimbulkan stress dan glikogenolisis didalam hati serta otot karena stimulasi enzim fosforilase.

6) Tiroid

Hormon ini menurunkan glukosa darah dengan meningkatkan kecepatan absorpsi glukosa dari saluran gastrointestinal. Selain itu, tiroid meningkatkan glukoneogenesis dan glikogenolisis di hati.

Pada diabetes melitus, glukosa tidak dapat masuk ke dalam sel sehingga energi utama diperoleh dari metabolisme protein dan lemak. Sebenarnya, hiperglikemia relatif tidak berbahaya kecuali bila hebat sekali hingga darah menjadi hiperosmotik terhadap cairan intrasel, yang nyata

berbahaya ialah glikosuria yang timbul, karena glukosa bersifat diuretik osmotik, sehingga diuresis sangat meningkat disertai hilangnya berbagai elektrolit. Hal inilah yang menyebabkan terjadinya dehidrasi dan hilangnya elektrolit pada penderita diabetes yang tidak diobati.

Diabetes Mellitus juga sering didefinisikan sebagai penyakit dimana tubuh penderita tidak dapat secara otomatis mengendalikan tingkat glukosa dalam darahnya atau tidak dapat memproduksi insulin dalam jumlah yang cukup, sehingga terjadi kelebihan gula didalam tubuh. Insulin sendiri merupakan hormon yang diperlukan untuk mengubah glukosa, karbohidrat, dan zat lain menjadi energi untuk kehidupan. Kelebihan glukosa yang kronis didalam darah (hiperglikemia) menyebabkan penyakit ini menjadi penyakit degeneratif yang memerlukan upaya penanganan yang tepat dan serius. Jika tidak, dampak dari penyakit tersebut akan membawa berbagai komplikasi penyakit serius lainnya, seperti penyakit jantung, stroke, disfungsi ereksi, gagal ginjal, dan kerusakan sistem saraf. Menurut data Organisasi Kesehatan Dunia (WHO), Indonesia menempati urutan keenam di dunia sebagai negara dengan jumlah penderita Diabetes Mellitus terbanyak setelah India, China, Uni Sovyet, Jepang, dan Brasil. Tercatat pada tahun 1995, jumlah penderita diabetes di Indonesia mencapai 5 juta dengan peningkatan sebanyak 230.000 pasien diabetes per tahunnya, sehingga pada tahun 2025 diperkirakan akan mencapai 12,4 juta penderita (2,12).

1. Tipe Diabetes (17)

a. Diabetes Tipe I (Insulin Dependent Diabetes Mellitus / Diabetes yang tergantung insulin)

Diabetes tipe I ini dikenal juga sebagai Juvenile diabetes, merupakan diabetes yang disebabkan oleh defisiensi insulin absolut. Ketidakmampuan pankreas untuk mensekresikan insulin ini dapat diakibatkan oleh infeksi virus, autoimun maupun faktor genetika sehingga sel-sel β pulau langerhans mengalami kerusakan. Penderita juvenile diabetes ini secara mutlak bergantung pada pasokan insulin eksogen selama hidupnya. Tipe ini umumnya disertai dengan ketosis. Pada hewan uji, keadaan ini dapat ditimbulkan dengan pankreatomi total atau dengan pemberian aloksan.

b. Diabetes Tipe II (Non Insulin Dependent Diabetes Mellitus / Diabetes yang tidak tergantung insulin)

Penderita diabetes tipe ini umumnya tidak mengalami ketosis dan seringkali terjadi pada pasien obesitas yang berusia lebih dari 40 tahun. Pada tipe ini, dapat terjadi 2 kemungkinan, yaitu : 1) Pankreas dapat menghasilkan insulin dalam jumlah yang relatif mencukupi namun kepekaan reseptor terhadap insulin berkurang, atau 2) Kepekaan reseptor terhadap insulin normal, namun jumlah insulin yang disekresi kurang. Pada hewan uji, keadaan ini dapat ditimbulkan dengan pankreatomi subtotal atau dengan pemberian aloksan.

c. Diabetes Gestasional

Diabetes Gestasional adalah diabetes yang timbul pada wanita hamil. Terjadi pada sekitar 4% wanita hamil.

d. Penyebab diabetes lainnya

1. Diabetes yang berhubungan dengan keadaan atau sindrom tertentu,

seperti :

- a) Kadar kortikosteroid yang tinggi
- b) Kelainan atau penyakit pankreas
- c) Kelainan hormonal
- d) Kelainan reseptor insulin
- e) Kelainan genetik
- f) Obat-obatan dan bahan kimia yang dapat merusak pankreas.
- g) Racun yang mempengaruhi pembentukan atau efek dari insulin, dan lain-lain.

2. Diabetes yang terkait malnutrisi

Berkaitan dengan kekurangan makanan dan tidak ditemukan ketosis, terdiri dari :

- a) *Fibrocalculous Pancreatic Diabetes Mellitus*
- b) *Protein Deficient Pancreatic Diabetes Mellitus*

2. Diagnosis Diabetes (16,19)

Diagnosis diabetes mellitus ditegakkan berdasarkan gejala khas klinis berupa poliuri, polidipsi, polifagi, lemas, berat badan turun dan keluhan–keluhan penyerta diabetes lainnya. Diagnosis diabetes mellitus

yang dianjurkan adalah yang sesuai dengan anjuran WHO pada tahun 1985 dengan mengambil sampel glukosa darah vena puasa dan 2 jam post prandial. Adapun beberapa pemeriksaan lainnya yang dapat dilakukan adalah pemeriksaan urin (mendeteksi adanya glukosuria), tes toleransi glukosa oral (TTGO) dan tes glikohemoglobin.

3. Pengobatan Diabetes Mellitus (16,19)

Penatalaksanaan diabetes mellitus berdasar pada tahapan : diet, menggunakan agen hipoglikemik dan pengaturan aktivitas fisik. Agen hipoglikemik digunakan berdasarkan klasifikasi diabetes mellitus sebagai berikut :

a. Diabetes tipe I

Diabetes tipe ini dapat diobati dengan :

1) Insulin (parenteral)

- a). Insulin kerja cepat dengan mula kerja 1 jam setelah pemberian dan dengan lama kerja 8-14 jam, contoh : insulin regular
- b). Insulin kerja sedang dengan mula kerja 2 jam setelah pemberian dan dengan lama kerja 18-24 jam, contoh : insulin lente
- c). Insulin kerja panjang dengan mula kerja 7 jam setelah pemberian dan dengan lama kerja 36 jam, contoh : seng protamin insulin

2) Transplantasi pankreas manusia

Transplantasi dapat mengatasi masalah ketergantungan insulin seumur hidup pada pasien diabetes melitus, tetapi ada masalah yang dihadapi dalam transplantasi ini, yaitu : pengadaan sumber, biaya dan penolakan tubuh terhadap organ yang ditransplantasikan.

b. Diabetes tipe II

Diabetes tipe ini dapat diobati dengan :

1) Pola makan yang teratur

Dasar utama penanggulangan diabetes mellitus adalah pengaturan pola makan yang baik sesuai dengan anjuran dokter atau ahli gizi.

2) Olahraga yang seimbang dan teratur

Olahraga dan kegiatan fisik yang dilakukan secara seimbang dan teratur akan meningkatkan kepekaan insulin pada jaringan perifer sehingga mengurangi kebutuhan insulin

3) Antidiabetik oral

Antidiabetik oral dapat dibagi menjadi 4 golongan, yaitu :

a). Derivat sulfonilurea

Derivat ini memiliki mekanisme antara lain merangsang sekresi insulin dari sel β pulau langerhans, meningkatkan glukogenesis dan menghambat penguraian insulin dari hati serta meningkatkan penyerapan glukosa di jaringan otot dan lemak dengan meningkatkan ikatan reseptor insulin. Derivat ini dibagi atas 3

generasi, yaitu : generasi pertama dikenal pada tahun 1856, terdiri dari tolbutamid, klorpropamid, glibmidin, asetoheksamid, tozalamid, dan klorbutamid. Generasi kedua dikenal pada tahun 1869, terdiri dari glibenklamid, gliborunid, glipizid, gliqidon, glikazid, dan generasi ketiga yang terdiri dari glimepirida.

Glibenklamid. Obat ini 200 kali lebih kuat dari tolbutamid, diabsorpsi pada gastrointestinal dan terikat pada protein plasma. Waktu paruhnya 10 jam dan durasinya 24 jam. Bila pemberian dihentikan, obat akan bersih dari serum setelah 36 jam. Hampir seluruhnya dimetabolisme di hati, 25% diekskresi melalui urin dan sisanya di ekskresi melalui empedu dan feses. Dosis pemberian 2,5 - 15 mg/hari.

b). Derivat biguanid

Mekanisme derivat ini tidak dengan merangsang sekresi insulin tetapi dengan meningkatkan kepekaan tubuh terhadap insulin endogen dan merangsang glikolisis anaerob sehingga glukosa yang masuk ke sel otot lebih banyak serta merangsang perubahan asam laktat kembali menjadi glukosa.

c). Golongan inhibitor α glukosidase

Obat ini bekerja secara kompetitif menghambat kerja enzim α glukosidase didalam saluran cerna sehingga dapat menurunkan penyerapan glukosa dan menurunkan hiperglikemia post prandial. Golongan ini bekerja di lumen usus dan tidak menyebabkan

hipoglikemia dan tidak mempengaruhi kadar insulin. Contoh golongan ini adalah akarbose.

d). *Insulin sensitizing agent*

Thiazolidindion adalah golongan obat yang mempunyai efek farmakologi meningkatkan sensitivitas insulin. Mekanisme kerjanya adalah dengan meningkatkan glikogenesis pada sel dan mengurangi produksi glukosa oleh hati.

D. METODE PENGUJIAN

1. Metode uji toksisitas akut

Uji toksisitas merupakan suatu uji keamanan yang perlu dilakukan pada zat yang akan digunakan manusia. Hal ini dilakukan untuk mengetahui batas keamanan pemakaian dan efek toksik yang mungkin timbul bila digunakan pada manusia baik dalam jangka pendek maupun jangka panjang (20). Pada dasarnya, uji toksisitas akut dibagi menjadi 2, yaitu uji toksisitas umum (akut, subkronis dan kronis) dan uji toksisitas khusus (teratogenik, mutagenik, dan karsinogenik). Uji toksisitas umum adalah uji toksikologi yang dirancang untuk mengevaluasi keseluruhan atau spektrum efek toksik suatu senyawa pada aneka ragam jenis hewan uji (21,22). Berikut ini uji yang termasuk dalam uji toksisitas umum :

a). Uji Toksisitas Akut

Uji ini dilakukan dengan memberikan zat yang akan diuji sebanyak 1 kali kepada hewan coba dalam jangka waktu 24 jam (20,23).

b). Uji Toksisitas Jangka Pendek (Subkronis)

Uji ini dilakukan dengan memberikan zat yang akan diuji secara berulang-ulang, biasanya setiap hari atau 5 kali seminggu selama jangka waktu $\pm 10\%$ dari masa hidup hewan yaitu 3 bulan untuk tikus dan 1 atau 2 tahun untuk anjing (22).

c). Uji Toksisitas Jangka Panjang (Kronis)

Uji ini dilakukan dengan memberikan zat yang akan diuji secara berulang-ulang selama 3-6 bulan atau seumur hidup hewan, misalnya 18 bulan untuk mencit, 24 bulan untuk tikus dan 7-10 tahun untuk anjing dan monyet (22).

Uji toksisitas dimaksudkan untuk mencari efek toksik obat, sedangkan uji toksisitas kronik dilakukan untuk menguji keamanan obat. Toksisitas akut dirancang untuk menentukan efek yang merugikan yang terjadi dalam waktu singkat dari pemberian suatu substansi dosis tunggal yang diberikan dalam jangka waktu 24 jam (23,24). Data kuantitatif yang diperoleh dari uji ini adalah nilai LD_{50} yang didefinisikan sebagai dosis suatu zat baik tunggal maupun campuran yang secara spesifik diharapkan dapat membunuh 50% hewan coba (20,23). Percobaan ini juga dapat menunjukkan gambaran klinis dan morfologi organ sasaran yang mungkin dirusak serta memberikan petunjuk mengenai dosis yang sebaiknya

digunakan dalam pengujian yang lebih lama (22). Hewan yang umum digunakan untuk uji toksisitas akut adalah tikus dan mencit (20,23). Namun penggunaan mencit untuk toksisitas akut lebih baik daripada tikus. Hal ini disebabkan karena LD₅₀ manusia lebih dapat diprediksi dari data LD₅₀ mencit (23). Setelah zat uji diberikan, jumlah hewan yang mati dan waktu kematiannya harus diamati untuk memperkirakan LD₅₀. Selain itu, perlu dilakukan pemeriksaan fungsi organ tubuh yang tergolong vital seperti ginjal dan hati. Hewan uji yang bertahan hidup sampai batas akhir masa pengamatan perlu untuk dilakukan autopsi (24).

Berikut ini beberapa metode yang dapat digunakan dalam uji toksisitas akut atau penentuan LD₅₀ :

a. Metode Weil, C.S.

Pada metode ini, hewan uji dibagi dalam beberapa kelompok dengan jumlah hewan uji 2-10 ekor dalam masing-masing kelompok. Umumnya jumlah hewan uji antara 4-5 ekor dalam masing-masing kelompok. Nilai LD₅₀ diperoleh dari data kombinasi kematian dari percobaan yang dicocokkan dengan tabel yang dibuat Weil dengan taraf kepercayaan 95% (25,26). Nilai LD₅₀ didapat berdasarkan rumus:

$$\text{Log } m = \text{log } D + d (f+1)$$

Keterangan :

M = harga LD₅₀

D = dosis terendah yang digunakan

d = log R (log kelipatan dosis)

f = suatu faktor dalam tabel biometrik

Rentang LD₅₀ dapat ditentukan dengan :

Batas atas LD₅₀ = antilog (log m + 2δ log m)

Batas bawah LD₅₀ = antilog (log m - 2δ log m)

$$\delta \log m = d \times \delta f$$

δf adalah faktor dalam tabel biometrik

b. Metode FI III (27)

Nilai LD₅₀ didapat berdasarkan rumus :

$$M = a - b (\sum p_i - 0,5)$$

Keterangan :

M = log LD₅₀

a = log dosis terendah yang menyebabkan jumlah kematian 100% dalam 1 kelompok

b = selisih log dosis yang berurutan

p_i = jumlah hewan uji yang mati setelah menerima dosis i dibagi dengan jumlah seluruh hewan yang menerima dosis

Syarat yang harus dipenuhi dalam metode ini adalah perlakuan menggunakan seri dosis dengan pengenceran berkelipatan tetap. Jumlah hewan uji tiap kelompok harus sama dan dosis diatur sedemikian rupa sehingga memberi efek kematian 0-100%.

c. Metode Grafik Probit (28)

Hewan uji diberi dosis-dosis tertentu yang menurun secara eksponensial sehingga diperoleh data persentase kematian yang dapat menghasilkan sebuah garis linear. Tingkat kepercayaan diperoleh dengan rumus :

$$\Delta s = LD_{50} \pm Sx$$

$$Sx = \frac{25}{(2N)^{1/2}}$$

$$S = \frac{LD_{84} - LD_{16}}{2}$$

Keterangan :

Δs = batas kepercayaan

Sx = simpangan baku rata-rata LD_{50}

N = jumlah hewan uji keseluruhan dalam kelompok
hewan uji dengan persentase kematian antara 7–93%

2. Metode uji khasiat antidiabetes

a. Metode uji efek antidiabetes (19,29)

Pengujian efek anti diabetes dapat dilakukan dengan 2 cara, yaitu :

1) Metode uji toleransi glukosa oral

Kemampuan tubuh untuk menggunakan karbohidrat disebut toleransi karbohidrat (toleransi glukosa). Dengan memberikan glukosa 1 g/ kg bb secara oral, kadar glukosa darah akan naik.

Tetapi tetap dalam keadaan normal, tidak pernah melebihi 150-170 mg/ 100 ml. puncak kadar glukosa darah dicapai dalam ½ atau 1 jam dan kembali normal setelah 2-3 jam.

Prinsip metode :

Kepada hewan uji yang telah dipuasakan selama 16 jam, diambil cuplikan darah venanya lalu diberikan bahan uji obat antidiabetes dan diberi larutan glukosa peroral, kemudian cuplikan darah diambil lagi setelah interval waktu tertentu.

2) Metode uji aloksan

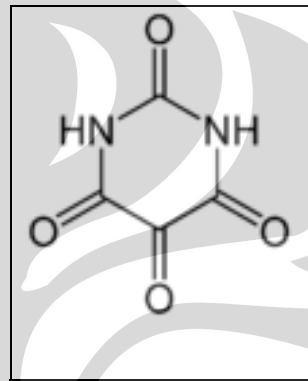
Keadaan diabetes pada hewan uji ini dapat dilakukan dengan cara pankreotomi dan juga secara kimia. Zat-zat kimia sebagai induktor (diabetogen) antara lain aloksan streptozotosin yang pada umumnya dapat diberikan secara parenteral dan aloksan monohidrat yang dapat diberikan secara intravena. Zat tersebut mampu menginduksi hiperglikemi yang permanen dalam waktu 2 sampai 3 hari.

Prinsip metode : (30)

Keadaan diabetes pada hewan uji dilakukan dengan memberikan aloksan monohidrat secara intravena dengan dosis 18 mg/ kg bb. Hewan uji yang berbeda dengan kondisi yang berbeda akan menghasilkan dosis yang berbeda sehingga uji pendahuluan tetap dilakukan untuk menetapkan dosis aloksan. Selanjutnya perkembangan hiperglikemia diperiksa setiap hari. Pemberian

tanaman obat yang akan diuji dilakukan 8 hari setelah pemberian aloksan. Pemberian obat anti diabetik secara oral dapat menurunkan kadar glukosa darah dibandingkan terhadap hewan uji normal.

Aloksan (31)



Gambar 1. Strukurur Kimia Aloksan

Aloksan ($C_4H_2N_2O_4$) nama lainnya adalah 1,3–diazinan-2,4,5,6-tetron atau mesoxalylurea–5–oxso–barbituric acid. Aloksan merupakan senyawa hasil kondensasi yang berasal dari 1 molekul urea dengan 1 molekul asam mesooksalat. Aloksan bekerja secara langsung dan khas pada β pankreas menyebabkan sel–sel itu mengalami nekrosis. Hewan yang mengalami diabetik aloksan sama sekali tidak kehilangan insulin. Asam–asam dehidroaskorbat dan dehidroisoaskorbat struktur kimianya menyerupai aloksan dan menghasilkan efek diabetogenik serupa. Aloksan mudah larut dalam air, aseton, alkohol dan petroleum eter. Larutan dalam air panas berwarna

kuning dan setelah dingin, warnanya hilang. Pada penyimpanan yang lama dengan suhu kamar, secara perlahan-lahan aloksan akan terurai menjadi asam dialurat, asam aloksanat, ureum dan aloksantin. Aloksan yang sudah terurai menjadi warna merah muda / kuning dan akan berkurang kelarutannya dalam air. Keadaan diabetes yang permanen pada hewan uji dapat dicapai dengan pemberian dosis aloksan yang optimum. Sebelum mencapai keadaan tersebut, hewan akan mengalami beberapa tahapan fluktuatif dimana terjadi fase hiperglikemia, fase hipoglikemia dan kadang-kadang secara spontan akan kembali normal bahkan dapat menyebabkan kematian. Adapun fase-fase yang terjadi adalah :

- a). Fase pertama. Setelah 5–19 menit pemberian aloksan secara intravena, akan terjadi fase hipoglikemia awal dimana saraf otonom akan mempengaruhi sel β pankreas agar melepaskan insulin yang tersimpan sehingga insulin masuk ke peredaran darah dan menyebabkan hipoglikemia. Fase ini berlangsung singkat namun dapat berakibat fatal pada hewan.
- b). Fase kedua. Dalam fase ini mula-mula terjadi stimulasi ortosimpatik dimana terjadi kekurangan insulin yang disebabkan adanya inhibisi sekresi insulin dalam sel-sel β pankreas. Fase ini berlangsung 30–120 menit setelah

pemberian aloksan. Dalam fase ini, kadang–kadang kadar glukosa mencapai 6 g/ L.

c). Fase ketiga. Pada fase ini terjadi hipoglikemia sekunder dan kadang terjadi konvulsi pada hewan uji. Kadar glukosa darah menurun dan mencapai pada keadaan yang lebih gawat dari semula. Tahap yang terjadi antara jam ke 3 sampai jam ke 10 setelah pemberian aloksan secara intravena sangat berbahaya dan dapat menyebabkan kematian. Untuk keadaan fatal, dianjurkan pemberian glukosa.

d). Fase keempat. Pada fase ini hewan uji menjadi hiperglikemia permanen. Terjadi setelah 24–48 jam setelah pemberian aloksan secara intravena. Tetapi pada fase ini hewan dapat pula menjadi normal kembali secara spontan setelah selang waktu tersebut. Oleh karena itu, sebaiknya pemeriksaan kadar gula darah dilakukan setelah tahap ke 4 atau hari ke 3. Diperkirakan sindrom diabetes permanen terjadi akibat rusaknya sebagian sel β pulau langerhans, tetapi ada yang menyatakan bahwa hanya fungsi sel β langerhans saja yang ambang rangsangannya menurun.

b. Metode pemeriksaan kadar glukosa darah

Pemeriksaan kadar glukosa darah dapat ditentukan dengan 3 metode, yaitu (32):

1). Metode oksidasi reduksi

Pengukuran glukosa berdasar kepada sifatnya sebagai zat pereduksi dalam larutan alkali panas. Metode ini tidak spesifik karena adanya zat-zat non glukosa yang juga bersifat mereduksi. Metode yang termasuk dalam metode ini antara lain :

a). Metode Folin-Wu

Pada metode ini, protein yang terdapat dalam sampel di endapkan dengan asam tungstat dan filtratnya yang jernih serta bebas protein direaksikan dengan senyawa kupri.

b). Metode Somogyi-Nelson

Pada metode ini, protein dalam sampel dipisahkan dengan penambahan barium hidroksida dan seng sulfat. Filtrat yang jernih dan bebas zat-zat pereduksi non glukosa kemudian direaksikan dengan pereaksi Samogyi.

c). Metode Neocuproine

Pada metode ini, glukosa dalam larutan alkali panas mereduksi ion-ion kupri menjadi kupro. Dengan neocuproine, ion kupro membentuk kompleks berwarna jingga yang dapat diukur secara fotometri.

d). Metode Ferrisianida

Pada metode ini, ion ferrisianida yang berwarna kuning direduksi oleh glukosa dalam larutan alkali panas menjadi ion ferrodianida yang tidak berwarna. Pengurangan intensitas

warna dari ferrisianida ini sebanding dengan peningkatan konsentrasi glukosa. Pengukuran absorpsi dilakukan secara spektrofotometri pada panjang gelombang 419 nm.

2). Metode kondensasi (30)

Senyawa amin aromatik seperti anilin, benzidin, 2-aminodifenil dan o-toluidin bereaksi dengan glukosa dalam larutan asam asetat panas akan membentuk derivat yang berwarna. O-toluidin berkondensasi dengan gugus aldehid pada glukosa membentuk campuran seimbang dari glikosilamin dan basa Schiff. Reaksi ini selanjutnya menghasilkan suatu campuran kromogen biru-hijau dengan panjang gelombang maksimum 630 nm dan pengukuran serapan dilakukan menggunakan spektrofotometer.

3) Metode enzimatik (33)

Metode ini menggunakan enzim yang bekerja secara spesifik pada glukosa sehingga memberikan hasil yang relatif lebih tepat dibandingkan metode lainnya. Beberapa metode enzimatik yang digunakan antara lain :

- a). Metode Glukosa Heksokinase
- b). Metode Glukosa Oksidase
- c). Metode Glukosa Oksidase Standar Kolorimeter
- d). Metode Glukosa Dehidrogenase

BAB III

BAHAN DAN CARA KERJA

A. BAHAN

1. Hewan Uji

Hewan yang digunakan untuk uji toksisitas akut dan uji khasiat terdiri atas :

- a. Untuk toksisitas akut, digunakan mencit putih jantan dan betina galur *DDY (Deutsche Yoken)* dengan berat 16 g sampai 24 g yang diperoleh dari Fakultas Peternakan Institut Pertanian Bogor.
- b. Untuk uji khasiat, digunakan tikus putih jantan galur *Sprague Dawley* dengan berat 200 g sampai 300 g yang diperoleh dari Fakultas Peternakan Institut Pertanian Bogor.

2. Bahan uji

Bahan uji yang digunakan untuk uji toksisitas akut dan uji khasiat terdiri atas :

- a. Biji jinten hitam (*Nigella sativa Linn*) yang diperoleh dari Wonogiri.
- b. Kelopak bunga rosella (*Hibiscus sabdariffa Linn*) yang diperoleh dari Institut Pertanian Bogor.

Masing-masing bahan uji tersebut telah dideterminasi oleh Lembaga Herbarium Bogoriense (Lampiran 1 dan 2).

3. Bahan kimia

Bahan kimia yang digunakan untuk uji toksisitas akut dan uji khasiat adalah :

Glibenklamid (PT.Indofarma), Aquades, Alkohol 70%, Heparin, Eter, Aloksan monohidrat (Sigma), Asam trikloro asetat (Merck), Asam asetat glasial (Merck), o-toluidin (Merck), Tiourea (Merck), CMC (Merck), Natrium klorida (Merck) dan Glukosa anhidrat (Merck).

4. Alat

Alat yang digunakan untuk uji toksisitas akut dan uji khasiat adalah : Sonde lambung, Timbangan hewan (Ohaus), Sduit, Jarum suntik, Sentrifugator, Mikrotube, Mikrohematokrit, Hot plate, Panci ekstrak, Termometer, Spektrofotometer UV-Vis single beam (Thermospectronic), Timbangan analitik (Ohaus) dan Alat gelas.

B. CARA KERJA

a. Pembuatan Ekstrak

1. Ekstrak air biji jinten hitam 10%

Biji jinten hitam (Gambar 2) ditumbuk dan dihaluskan kemudian sebanyak 100 g serbuk dimasukkan dalam panci dengan air sebanyak 1 L. Kemudian dipanaskan diatas penangas air selama 15 menit terhitung mulai suhu mencapai 90°C sambil

diaduk. Lalu disaring dengan kain flanel dan filtrat yang diperoleh ditampung dalam tempat yang sesuai (34). Kemudian dilakukan pengulangan pembuatan ekstrak sebanyak 3 kali dengan menggunakan ampas yang tersisa pada kain flanel agar ekstrak yang diperoleh sempurna. Lalu ketiga filtrat yang diperoleh tersebut dicampur dan diuapkan diatas penangas air hingga menjadi ekstrak kental. Pembuatan ekstrak dilakukan sebanyak 10 kali hingga berat total serbuk simplisia adalah 1 kg. Kemudian berat ekstrak ditimbang dan dilakukan perhitungan berat rendemen yang diperoleh untuk digunakan dalam perhitungan dosis.

2. Ekstrak air kelopak bunga rosella 10%

Kelopak bunga rosella (Gambar 3) dikeringkan kemudian ditimbang sebanyak 100 g serbuk dan dimasukkan dalam panci dengan air sebanyak 1 L. Kemudian dipanaskan diatas penangas air selama 15 menit terhitung mulai suhu mencapai 90°C sambil diaduk. Lalu disaring dengan kain flanel dan filtrat yang diperoleh ditampung dalam tempat yang sesuai (34). Kemudian dilakukan pengulangan pembuatan ekstrak sebanyak 3 kali dengan menggunakan ampas yang tersisa pada kain flanel agar ekstrak yang diperoleh sempurna. Lalu ketiga filtrat yang diperoleh tersebut dicampur dan diuapkan diatas penangas air hingga menjadi ekstrak kental. Pembuatan ekstrak dilakukan sebanyak 10 kali

hingga berat total serbuk simplisia adalah 1 kg. Kemudian berat ekstrak ditimbang dan dilakukan perhitungan berat rendemen yang diperoleh untuk digunakan dalam perhitungan dosis.

b. Pengujian

1. Uji Toksisitas Akut

Sebelum percobaan, hewan diaklimatisasi selama 1 minggu dan dilakukan pengamatan keadaan umum dan penimbangan berat badan. Hewan coba yang tampak sakit tidak diikutsertakan dalam penelitian. Tanda-tanda hewan uji yang sakit adalah aktivitas berkurang, lebih banyak diam, serta bulu-bulunya berdiri. Masing-masing bahan uji diberikan secara oral menggunakan sonde lambung. Pengamatan yang dilakukan hanya meliputi tingkah laku hewan uji selama 3 jam setelah pemberian dosis dan jumlah hewan yang mati pada masing-masing kelompok uji setelah 24 jam.

Uji toksisitas akut campuran ekstrak biji jinten hitam dan ekstrak kelopak bunga rosella :

Hewan uji : mencit putih jantan dan betina galur *DDY (Deutsche Yoken)* dengan berat 16g sampai 24g

Jumlah hewan uji : berdasarkan rumus Federer (35)

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

Dimana n = jumlah ulangan minimal dari tiap perlakuan

t = jumlah perlakuan

Jumlah hewan uji yang digunakan adalah :

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

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

$$(n-1)(3) \geq 15$$

$$3n - 3 \geq 15$$

$$3n \geq 18$$

$$n \geq 6$$

Dosis yang diberikan adalah :

Dosis 1 = 16 x dosis lazim dari campuran masing-masing simplisia, yaitu : 0,3145 g ekstrak biji jinten hitam dan 0,3048 g ekstrak kelopak bunga rosella

Dosis 2 = 32 x dosis lazim dari campuran masing-masing simplisia, yaitu : 0,6289 g ekstrak biji jinten hitam dan 0,6097 g ekstrak kelopak bunga rosella

Dosis 3 = 64 x dosis lazim dari campuran masing-masing simplisia, yaitu : 1,2579 g ekstrak biji jinten hitam dan 1,2193 g ekstrak kelopak bunga rosella

Dosis 4 = 128 x dosis lazim dari campuran masing-masing simplisia, yaitu : 2,5159 g ekstrak biji jinten hitam dan 2,4387 g ekstrak kelopak bunga rosella

Masing-masing dosis tersebut disuspensikan dengan CMC 0,5% dan volume yang diberikan ke hewan uji adalah sebanyak 0,5 mL/20 gr b.

Tabel 1
Pembagian kelompok dan dosis uji toksisitas campuran ekstrak biji jinten hitam dan ekstrak kelopak bunga rosella

Kelompok	Jumlah hewan uji	Perlakuan
1	6	Diberi campuran ekstrak biji jinten hitam dan ekstrak kelopak bunga rosella dosis I, yaitu sebanyak 0,3145 g ekstrak biji jinten hitam dan 0,3048 g ekstrak kelopak bunga rosella dengan CMC 0,5% sebagai zat pensuspensi
2	6	Diberi campuran ekstrak biji jinten hitam dan ekstrak kelopak bunga rosella dosis II, yaitu sebanyak 0,6289 g ekstrak biji jinten hitam dan 0,6097 g ekstrak kelopak bunga rosella dengan CMC 0,5% sebagai zat pensuspensi
3	6	Diberi campuran ekstrak biji jinten hitam dan ekstrak kelopak bunga rosella dosis III, yaitu sebanyak 1,2579 g ekstrak biji jinten hitam dan 1,2193 g ekstrak kelopak bunga rosella dengan CMC 0,5% sebagai zat pensuspensi
4	6	Diberi campuran ekstrak biji jinten hitam dan ekstrak kelopak bunga rosella dosis IV, yaitu sebanyak 2,5159 g ekstrak biji jinten hitam dan 2,4387 g ekstrak kelopak bunga rosella dengan CMC 0,5% sebagai zat pensuspensi

Penghitungan LD₅₀ dilakukan dengan cara :

$$\text{Log LD}_{50} = \text{Log D} + d (f+1)$$

Dimana : D = dosis terkecil

d = log kelipatan dosis

f = lihat tabel, untuk n = 4, K = 3

Kisaran LD₅₀ dihitung dengan cara :

$$\text{LD}_{50} = \text{Log LD}_{50} \pm 2d.df$$

Potensi ketoksikan akut berdasarkan LD₅₀ (28):

< 5 mg/kg bb	= super toksik
5 – 50 mg/kg bb	= sangat toksik
50 – 500 mg/kg bb	= toksik
500 – 5000 mg/kg bb	= cukup toksik
5 – 15 g/kg bb	= sedikit toksik
> 15 g/kg bb	= tidak toksik

2. Uji Khasiat

a) Penyiapan hewan uji

Tikus putih jantan galur *Sprague Dawley* dengan berat 200 g sampai 300 g diaklimatisasi selama 1 minggu agar dapat menyesuaikan diri dengan lingkungan dan selama proses tersebut, dilakukan pengamatan kondisi umum serta penimbangan berat badan. Hewan yang sakit tidak digunakan (36).

b) Bahan uji

Bahan uji yang digunakan adalah campuran ekstrak biji jinten hitam dan ekstrak kelopak bunga rosella.

c) Bahan kimia

Aloksan sebagai penginduksi diabetes, glibenklamid sebagai kontrol pembanding dan CMC 0,5% sebagai kontrol normal dan kontrol perlakuan.

d) Rancangan percobaan

Hewan uji dipilih secara acak sebanyak 24 ekor untuk dibagi kedalam 6 kelompok. Masing-masing kelompok terdiri dari 4 ekor. Untuk uji pendahuluan dosis aloksan, diperlukan tikus sebanyak 5 ekor.

Jumlah hewan uji : berdasarkan rumus Federer (35) :

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

Dimana n = jumlah ulangan minimal dari tiap perlakuan

t = jumlah perlakuan

Jumlah hewan uji yang digunakan adalah :

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

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

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

$$5n - 5 \geq 15$$

$$5n \geq 20$$

$$n \geq 4$$

Tabel 2
Pembagian kelompok dan dosis uji khasiat campuran ekstrak biji jinten hitam dan ekstrak kelopak bunga rosella

Kelompok	Jumlah hewan uji	Perlakuan
1	4	Kontrol normal, diberi CMC 0,5% 2 mL/ 200g bb
2	4	Kontrol perlakuan, dibuat diabetes, diberi CMC 0,5% 2 mL/ 200g bb
3	4	Kontrol pembanding, diinduksi aloksan, diberi suspensi glibenklamid 0,3% sebanyak 2 mL/ 200g bb dengan CMC 0,5% sebagai zat pensuspensi
4	4	Diinduksi aloksan, diberi campuran ekstrak biji jinten hitam dan ekstrak kelopak bunga rosella dosis I, yaitu campuran dari 113,4 mg ekstrak biji jinten hitam dan 204,156 mg ekstrak kelopak bunga rosella dengan CMC 0,5% sebagai zat pensuspensi.
5	4	Diinduksi aloksan, diberi campuran ekstrak biji jinten hitam dan ekstrak kelopak bunga rosella dosis II, yaitu campuran dari 226,8 mg ekstrak biji jinten hitam dan 408,312 mg ekstrak kelopak bunga rosella dengan CMC 0,5% sebagai zat pensuspensi.
6	4	Diinduksi aloksan, diberi campuran ekstrak biji jinten hitam dan ekstrak kelopak bunga rosella dosis III, yaitu campuran dari 453,6 mg ekstrak biji jinten hitam dan 816,624 mg ekstrak kelopak bunga rosella dengan CMC 0,5% sebagai zat pensuspensi.

e) Penentuan dosis

1. Dosis campuran ekstrak yang digunakan adalah :

Dosis I : campuran dosis lazim dari masing–masing simplisia, yaitu campuran dari 113,4 mg ekstrak biji jinten hitam dan 204,156 mg ekstrak kelopak bunga rosella.

Dosis II : 2 x dosis I, yaitu campuran dari 226,8 mg ekstrak biji jinten hitam dan 408,312 mg ekstrak kelopak bunga rosella.

Dosis III : 4 x dosis I, yaitu campuran dari 453,6 mg ekstrak biji jinten hitam dan 816,624 mg ekstrak kelopak bunga rosella.

Volume larutan uji yang diberikan pada setiap kelompok uji dan kontrol pembanding sama dengan volume CMC yang diberikan pada kontrol normal dan kontrol perlakuan, yaitu sebanyak 2 mL/200g bb.

2. Dosis glibenklamid sebagai kontrol pembanding

Glibenklamid diberikan dalam bentuk suspensi dengan CMC 0,3% sesuai dosis oral efektif pada manusia (5 mg) yang dikonversi berdasarkan konversi Lawrence dan Bacharach yaitu dosis untuk setiap 200g bb tikus setara dengan $0,018 \times$ dosis manusia dan dikalikan faktor farmakokinetik = 10 (35).

3. Dosis aloksan

Dosis aloksan ditetapkan berdasarkan hasil uji pendahuluan sebanyak 18 mg/200g bb.

f) Penyiapan larutan uji

1. Pembuatan suspensi glibenklamid

Suspensi glibenklamid 0,3% b/v dibuat dengan CMC 0,5% sebagai zat pensuspensi.

2. Pembuatan larutan aloksan

Aloksan monohidrat dilarutkan dalam larutan fisiologis (NaCl 0,9% b/v) hingga kadarnya 18 mg/mL

g) Penyiapan pereaksi untuk analisis glukosa

1. Larutan glukosa standar

Glukosa anhidrat seberat 100 mg dilarutkan dalam aquades hingga volume 100 mL.

2. Larutan o-toluidin

Tiourea 3 g dilarutkan dalam 1920 mL asam asetat glasial kemudian ditambahkan 80 mL o-toluidin.

3. Larutan asam trikloro asetat

Asam trikloro asetat 30 g dilarutkan dalam aquades hingga 1000 mL.

h) Cara pengambilan darah

Sebelum pengambilan sampel darah, tabung penampung darah (mikrotube) dioleskan heparin kemudian dikeringkan. Setelah itu tikus dimasukkan kedalam wadah tertutup yang telah berisi kapas yang telah dibasahi oleh eter (1-2 mL) sampai hilangnya refleks nosiseptif (hilangnya rasa sakit) pada tikus selama \pm 2 menit (dianastesi dengan eter). Kemudian tikus dikeluarkan dari wadah dan darahnya diambil melalui mata (sinus orbital) dengan cara menusukkan pipet mikrohematokrit dengan sudut 45°. Kemudian darah yang keluar ditampung dalam mikrotube sebanyak 0,2-0,3 mL (37).

i) Penetapan kadar glukosa darah

1. Penetapan panjang gelombang maksimum

Sebanyak 0,1 mL larutan glukosa standar 100 mg/mL ditambahkan dalam mikrotube yang berisi 0,9 mL larutan asam trikloro asetat 3% lalu disentrifugasi selama 5 menit dengan kecepatan 4000 rpm. Dari larutan ini diambil 0,5 mL supernatan kemudian ditambahkan 3,5 mL o-toluidin dalam tabung reaksi. Kemudian dilakukan pemanasan dengan hot plate 100°C selama 10 menit. Setelah itu tabung didinginkan selama 1-2 menit dan serapan diukur dengan spektrofotometer ultraviolet dan sinar tampak. Dari spektrum, akan diketahui panjang gelombang yang menunjukkan serapan maksimum.

2. Penetapan kadar glukosa sampel

Protein darah diendapkan dengan cara memasukkan 0,1 mL sampel darah kedalam mikrotube yang berisi 0,9 mL larutan asam trikloro asetat 3% b/v, kemudian disentrifugasi selama 5 menit dengan kecepatan 4000 rpm. Setelah itu 0,5 mL supernatan yang jernih ditambahkan pada 3,5 mL larutan o-toluidin. Sebagai standar, digunakan 0,1 mL glukosa standar 100 mg/mL, sedangkan untuk blanko digunakan 0,1 mL aquades dan masing-masing ditambah larutan asam trikloro asetat 3% b/v. Seluruh tabung dimasukkan kedalam penangas air 100°C selama 10 menit dan didinginkan 1-2

menit, kemudian serapan diukur pada panjang gelombang maksimum. Kadar glukosa darah dihitung dengan rumus :

$$\frac{A \text{ sampel}}{A \text{ standar}} \times 100 \text{ mg/dl} = \text{kadar glukosa darah (mg/dl)}$$

j) Percobaan

Pada uji pendahuluan, tikus diinduksi dengan aloksan 18 ml/200g bb dibagian vena ekor. Setelah penginduksian, keadaan tikus diamati untuk meyakinkan bahwa aloksan dengan dosis tersebut menyebabkan kerusakan pankreas sehingga menimbulkan gejala diabetes.

Pada hari ke-1 percobaan dimulai, semua hewan uji dipuasakan selama 16 jam. Kemudian larutan aloksan disuntikkan dibagian vena ekor tikus pada 5 kelompok tikus. Sampel darah yang diperoleh merupakan sampel darah untuk pengukuran kadar glukosa darah minggu pertama awal. Kemudian tikus diberi makan dan minum seperti biasa. Setelah 2 jam, dilakukan lagi pengambilan sampel darah dan diukur sebagai kadar glukosa darah minggu pertama post prandial.

Pada hari ke-3, keadaan tikus diamati meliputi berat badan, polidipsi, dan poliuri. Kemudian ditunggu selama 5 hari untuk menstabilkan hiperglikemia pada tikus.

Pada hari ke-8, tikus yang telah dipuasakan 16 jam diambil darahnya untuk pengukuran kadar glukosa darah minggu kedua atau

hiperglikemia awal. Kemudian tikus diberi bahan uji sesuai rancangan percobaan dan 2 jam setelah pemberian bahan uji, sampel darah diambil lagi untuk diukur sebagai kadar glukosa darah minggu kedua post prandial.

Setelah selesai perlakuan, semua tikus diistirahatkan di dalam kandang masing-masing serta diberi makan dan minum seperti biasa. Pemberian larutan bahan uji, pembanding dan aquades, dilakukan setiap hari selama 5 minggu. Pengukuran kadar glukosa darah selanjutnya dilakukan pada hari ke-15, ke-22 dan ke-29 setelah pemberian bahan uji yang pertama. Kadar glukosa darah puasa ditetapkan sebagai kadar glukosa darah sebelum pemberian bahan uji. Sedangkan kadar glukosa darah post prandial ditetapkan sebagai kadar glukosa darah setelah pemberian bahan uji (36).

k) Uji statistik terhadap kadar glukosa darah

Hasil percobaan dihitung secara statistik dengan uji t untuk melihat efek terhadap perlakuan induksi. Kemudian dilakukan uji kebebasan galat untuk melihat apakah data tersebar secara merata atau tidak. Selanjutnya dilakukan uji homogenitas dengan metode *Levene* dan uji kenormalan dengan metode *Saphiro Wilk*. Bila kedua uji ini dipenuhi, maka dilanjutkan dengan uji analisis variansi (ANOVA) satu arah untuk melihat perbedaan antar kelompok. Jika ada perbedaan secara bermakna antar kelompok perlakuan, maka dilanjutkan dengan

uji beda nyata terkecil (BNT). Selanjutnya dilakukan uji main effect untuk melihat hasil berdasarkan waktu dan perlakuan serta uji interaction plot untuk mengetahui adanya interaksi antar perlakuan (38,39).



BAB IV

HASIL PERCOBAAN DAN PEMBAHASAN

A. HASIL PERCOBAAN

1. Rendemen Ekstrak

Rendemen ekstrak biji jinten hitam yang diperoleh adalah : 18,58%; 18,64%; 16,76%; 21,80%; 19,15%; 15,84%; 17,90%; 19,44%; 21,11% dan 15,93%. Sedangkan rendemen ekstrak kelopak bunga rosella yang diperoleh adalah : 51,60%; 60,11%; 53,57%; 58,15%; 56,73%; 49,90%; 36,64%; 50,65%; 45,74% dan 58,14%. Untuk lebih jelas, dapat dilihat pada Tabel 3 dan Tabel 4.

2. Hasil Uji Toksisitas Akut

Uji toksisitas akut yang telah dilakukan menunjukkan bahwa tidak terdapat hewan uji yang mati setelah 24 jam baik pada kelompok jantan maupun kelompok betina. Hal ini dapat dilihat pada Tabel 5 dan Tabel 6.

3. Panjang Gelombang Maksimum Senyawa Hasil Reaksi Antara Glukosa dan O-Toluidin Secara Spektrofotometri Ultraviolet Dan Cahaya Tampak

Panjang gelombang maksimum yang diperoleh dari hasil pengukuran terhadap larutan glukosa standar yang telah direaksikan dengan pereaksi o-toluidin adalah 633 nm.

5. Hasil Pengukuran Kadar Glukosa Darah

Hasil pengukuran kadar glukosa darah hewan uji sebelum dan sesudah perlakuan dapat dilihat dalam Tabel 7 hingga Tabel 12.

B. PEMBAHASAN

Pada penelitian ini digunakan campuran biji jinten hitam dan kelopak bunga rosella karena kedua bahan alam tersebut mudah diperoleh dan telah digunakan oleh masyarakat Indonesia sebagai obat tradisional yang dapat menurunkan kadar glukosa darah. Pengulangan pembuatan ekstrak dilakukan sebanyak 3 kali agar ekstrak yang diperoleh sempurna dan dibuat sebanyak 10 kali hingga berat total serbuk simplisia yang digunakan adalah 1 kg agar cukup untuk digunakan hingga akhir pengujian, baik pada uji toksisitas akut maupun pada uji khasiat.

Pada uji toksisitas akut, pembagian kelompok dan jumlah hewan uji dihitung menurut rumus Federer sedangkan pembagian hewan uji perkelompok dilakukan dengan cara RAL atau Rancang Acak Lengkap dimana hewan uji yang telah diaklimatisasi diberi nomor kemudian diundi (35). Hal ini dilakukan agar hewan uji yang digunakan terpilih secara acak dan homogen. Kemudian, hewan uji pada masing-masing kelompok diberikan tanda yang berbeda untuk mencegah agar hewan uji tidak mendapatkan dosis ganda. Dosis yang digunakan pada uji toksisitas akut ini adalah 4 dosis yang berbeda dimana dosis maksimal digunakan dosis yang paling kental untuk melihat tingkat keamanan dari dosis tersebut. Setelah pemberian seluruh dosis, tingkah laku hewan uji diamati selama 3 jam dan ditunggu 24 jam untuk melihat jumlah kematian serta untuk menentukan nilai LD_{50} . Selama 3 jam pengamatan, tidak terlihat tanda-tanda toksik dari seluruh hewan uji dan setelah 24 jam, dari ke-4 dosis yang digunakan tidak terdapat hewan uji yang mati, sehingga campuran ekstrak biji jinten hitam dan ekstrak kelopak bunga rosella tidak memiliki nilai LD_{50} . Hal ini menunjukkan bahwa campuran tersebut tidak berbahaya (aman) untuk dikonsumsi.

Pada uji khasiat, digunakan tikus jantan sedangkan tikus betina tidak digunakan karena kehamilan pada tikus betina tidak dapat diprediksi. Bila terjadi kehamilan, hormon estrogen akan meningkat dan peningkatan estrogen itu dapat ikut meningkatkan kadar glukosa darah dalam tubuh hewan uji sehingga dikhawatirkan dapat mengganggu pada saat pengukuran.

Metode aloksan digunakan dalam penelitian ini karena aloksan merupakan zat penginduksi diabetes yang dapat merusak pankreas hewan uji hingga menyebabkan hipoglikemi tetapi tidak menyebabkan kematian sebelum hari ke-8. Sebelum digunakan, terlebih dahulu dilakukan uji pendahuluan untuk mencoba dosis aloksan karena hewan uji yang berbeda dengan kondisi yang berbeda akan membutuhkan dosis yang berbeda pula. Dosis aloksan yang digunakan diperoleh dari dosis penelitian sebelumnya yaitu sebanyak 18 mg/200 g bb yang diberikan melalui intravena.

Glibenklamid digunakan sebagai pembanding karena glibenklamid merupakan obat golongan sulfonilurea yang biasa digunakan sebagai obat antidiabetik oral. Glibenklamid dibuat dalam bentuk suspensi dengan CMC 0,5% karena glibenklamid tidak larut dalam air sehingga harus dibuat dalam bentuk suspensi. Pembuatan suspensi dengan CMC tidak mempengaruhi kadar glukosa darah tikus normal maupun tikus yang diinduksi dengan aloksan karena tikus tidak mempunyai enzim amilase yang dapat menguraikan polimer pati pada CMC.

Untuk pengukuran kadar glukosa darah, digunakan metode o-toluidin karena metode ini spesifik untuk pengukuran glukosa, dimana o-toluidin akan berkondensasi dengan gugus aldehid pada glukosa membentuk campuran seimbang dari glikosilamin dan basa Schiff. Kondensasi tersebut menghasilkan suatu campuran kromogen hijau-biru yang dapat diukur dengan spektrofotometer ultra violet dan sinar tampak dengan panjang gelombang 633 nm. Pada setiap pengukuran kadar glukosa darah, reagen o-

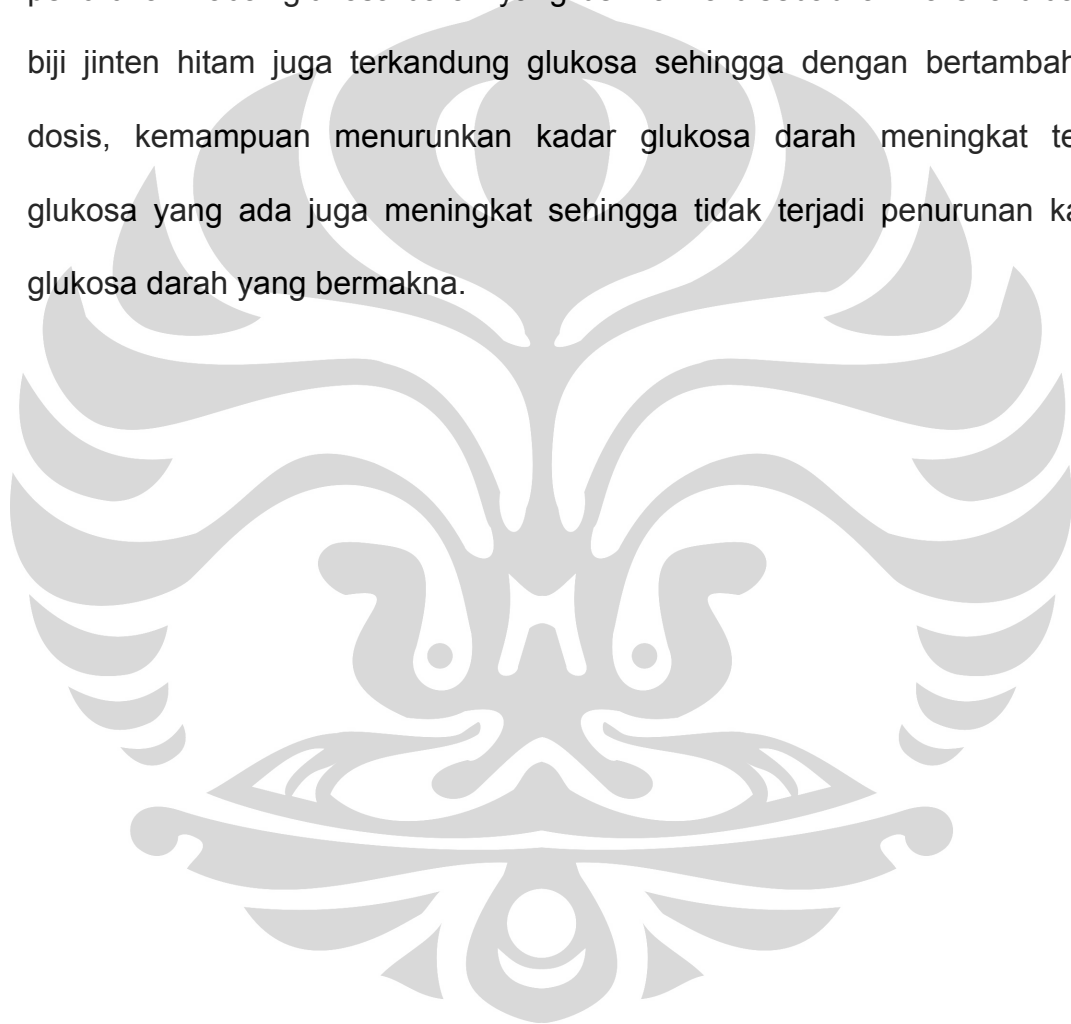
toluidin selalu dibuat baru dan pengukuran harus dilakukan dengan cepat karena o-toluidin bersifat tidak stabil (27,29).

Dari kurva yang diperoleh, terlihat bahwa minggu ke-2 setelah induksi aloksan, kadar glukosa darah hewan uji pada kelompok normal perlakuan (kelompok induksi aloksan + diberi CMC 0,5%), kelompok standar (kelompok induksi aloksan + diberi glibenklamid 0,3%) dan kelompok bahan uji (kelompok dosis 1 hingga dosis 3) menunjukkan peningkatan yang bermakna. Hal ini membuktikan bahwa aloksan yang diinduksi telah benar-benar merusak pankreas hewan uji hingga menimbulkan hiperglikemi. Gejala hiperglikemi pada hewan uji terlihat pada saat pengamatan, dimana hewan uji menjadi lebih banyak minum dan volume urin yang dikeluarkan juga menjadi lebih banyak daripada minggu pertama serta terjadi pengurangan berat badan walaupun nafsu makannya meningkat. Untuk kelompok normal, juga terlihat peningkatan kadar glukosa darah pada minggu ke-2 namun kembali normal pada minggu berikutnya. Hal ini mungkin disebabkan karena adanya kesalahan pada saat pengambilan darah ataupun pada saat pengukuran sehingga mempengaruhi hasil.

Untuk analisa menggunakan statistik, dapat terlihat adanya perbedaan yang bermakna antara T_0 minggu ke-1 dan T_0 minggu ke-2 serta antara T_0 minggu ke-1 dan T_2 minggu ke-1 dengan uji t (paired t test) pada Lampiran IV. Hal ini menunjukkan bahwa aloksan terbukti telah merusak pankreas hewan uji. Untuk uji ANOVA (Lampiran 8), terlihat bahwa nilai P dari T_0 dengan perlakuan dan dari T_2 dengan perlakuan adalah $< 0,05$. Nilai tersebut

menunjukkan bahwa ada perbedaan yang bermakna pada data, sehingga analisa dilanjutkan dengan uji Beda Nyata Terkecil (BNT) (35,36). Dari uji tersebut, terlihat bahwa dosis 2 juga merupakan dosis yang paling baik yang dapat menurunkan kadar glukosa darah. Dengan uji main effect plot (Lampiran 9), terlihat bahwa berdasarkan perlakuan, dosis 2 juga merupakan dosis yang paling baik karena memberikan penurunan efek yang paling besar dibandingkan dosis lain. Sedangkan berdasarkan waktu penggunaan, dapat terlihat bahwa kadar glukosa darah semakin menurun seiring pertambahan waktu dan minggu ke 5 merupakan waktu yang paling optimal dalam penurunan kadar glukosa darah. Uji interaction plot (Lampiran 9) memperlihatkan bahwa pada grafik semua perlakuan terjadi perpotongan pada minggu ke-2, sehingga minggu ke-2 pemberian bahan uji belum dapat dikatakan mampu menurunkan kadar glukosa darah yang cukup bermakna. Tetapi untuk minggu selanjutnya, yaitu minggu ke-3 hingga minggu ke-5, dapat dilihat bahwa dosis 2 adalah dosis yang paling menunjukkan penurunan yang bermakna. Hal ini juga dapat dilihat dari Gambar 12, dimana dosis 2 lebih menunjukkan penurunan kadar glukosa darah yang bermakna dibandingkan dosis 1 dan dosis 3 setelah minggu ke-2. Bila dibandingkan dengan standar (glibenklamid), dosis 2 juga menunjukkan penurunan yang lebih bermakna setelah minggu ke-2. Hal ini menunjukkan bahwa dosis 2 juga lebih baik dibandingkan dengan standar (glibenklamid) dalam menurunkan kadar glukosa darah. Pada penelitian ini, pemberian dosis 1 dan dosis 3 tidak lebih baik dari dosis 2 mungkin disebabkan karena kerusakan

pankreas yang disebabkan oleh aloksan lebih parah dan tidak sebanding dengan dosis yang diberikan, sehingga kemungkinan dosis 1 untuk menyembuhkan kerusakan atau merangsang sekresi insulin kurang bermakna. Sedangkan untuk dosis 3, kemungkinan tidak terjadinya penurunan kadar glukosa darah yang bermakna disebabkan karena didalam biji jinten hitam juga terkandung glukosa sehingga dengan bertambahnya dosis, kemampuan menurunkan kadar glukosa darah meningkat tetapi glukosa yang ada juga meningkat sehingga tidak terjadi penurunan kadar glukosa darah yang bermakna.



BAB V

KESIMPULAN DAN SARAN

A. KESIMPULAN

Berdasarkan hasil uji toksisitas akut, dapat disimpulkan bahwa campuran ekstrak biji jinten hitam dan ekstrak rosella tidak berbahaya (aman) untuk dikonsumsi, sedangkan berdasarkan hasil uji khasiat, dapat disimpulkan bahwa bahan uji dosis 2 adalah dosis yang paling baik dibandingkan dosis glibenklamid, dosis 1 dan dosis 3 setelah penggunaan diatas 2 minggu.

B. SARAN

Untuk menyempurnakan penelitian ini, penulis menyarankan agar penelitian ini dapat dilanjutkan dengan :

1. Melakukan pengujian toksisitas akut jangka panjang (subkronik dan kronik)
2. Melakukan uji khasiat dengan variasi dosis, yaitu dengan menaikkan salah satu dosis dari dosis tunggal masing–masing simplisia.
3. Menggunakan metode lain selain metode aloksan dan o-toluidin

DAFTAR ACUAN

1. Studiawan, H., Sentosa, MH. 2004. *Uji Aktivitas Penurunan Kadar Glukosa Darah Ekstrak Daun Eugenia Polyantha Pada Mencit Dengan Metode Aloksan*. Jurnal Penelitian Medika Eksakta 5(3) : 228-237.
2. Pratiwi Sam, AD. 2007. *Epidemiologi , Program Penanggulangan dan Isu Mutakhir Diabetes Mellitus*. Jurusan Epidemiologi Fakultas Kesehatan Masyarakat Universitas Hasanuddin Makasar.
3. Vadati, MN. Rakhshandeh, H. Omid, A. 2005. *An Investigation on LD50 and Subacute Hepatic Toxicity of Nigella sativa Seed Extracts in Mice*. Department of Pharmacology, Ghaem Hospital, Mashhad University of Medical Sciences, Mashhad, I.R. Iran. 60(7) : 544-7
4. Kamal, MS. 2006. *Effect of Oral Administration of Water Extract of Nigella sativa on The Hypothalamus Pituitary Adrenal Axis in Experimental Diabetes*. Department of Biological Sciences, Al al-Bayt University, Mafrq. Jordan. International Journal of Pharmacology. 2(1) : 104-9
5. Ali, B. Al Webel, N. Blunden, G. 2005. *Phytochemical, Pharmacological and Toxicological Aspect of Hibiscus sabdariffa L : a review*. Department of Veterinary Medicine. Al-Gaseem University, Buraydah, Al-Gaseem 8199, Saudi Arabia. (19) : 369-75
6. Jones, SB. Luchsinger, AE. 1987. *Plant Systematics, Second Edition*. Mc Graw-Hill Book Company
7. Hutapea, JR. 1994. *Inventaris Tanaman Obat Indonesia (III)*. Jakarta : Departemen Kesehatan Republik Indonesia. Badan Penelitian dan Pengembangan Kesehatan : 163
8. Departemen Kesehatan Republik Indonesia. 1979. *Materia Medika Indonesia, Jilid III*. Jakarta : Departemen Kesehatan Republik Indonesia : 113
9. Hawsawi, ZA., Ali, BA., Bamosa, AO. 2001. *Effect Of Nigella Sativa (Black Seed) and Thymoquinone On Blood Glucose In Albino Rats*. Annals of Saudi Medicine, 21, 3-4

10. Sastroamidjojo, S. 1997. *Obat Asli Indonesia*. Jakarta: Dian Rakyat : 101, 254 – 255
11. Syamsuhidayat, SS. Hutapea, JR. 1991. *Inventaris Tanaman Obat Indonesia (I)*. Jakarta : Departemen Kesehatan Republik Indonesia. Badan Penelitian dan Pengembangan Kesehatan : 163
12. Ganiswara, SG. 1995. *Farmakologi dan Terapi Edisi 4*. Bagian Farmakologi Fakultas Kedokteran Universitas Indonesia. Jakarta : 22
13. Mayes, PA., Murray, RK., Garner, DK., Rodwel VW. 1992. *Biokimia (Review of Biochemistry) Edisi 24*. EGC
14. Elaine, M. 2001. *Human Anatomy and Physiology, Fifth edition*. Benjamin Cummings Inc
15. Price, AS., Lorraine, MW. 1994. *Patofisiologi Konsep Klinis Proses – Proses Penyakit, Buku 2 Edisi 4*. EGC. Jakarta : 113 – 115
16. Murray, RK., Daryl, KG., Peter, AM., Victor, WR. 2003. *Biokimia Harper Edisi 25. Alih Bahasa oleh Andry Hartono*. EGC. Jakarta : 141 – 211
17. Raphael, SS. 1983. *Lynch's Medical Laboratory Technology, 4th edition*. WB. Saunders Company. Tokyo : 119-127
18. Waspadji, S., Darmono, TA. 1996. *Buku Ajar Ilmu Penyakit Dalam, Jilid I, Edisi ketiga*. Balai Penerbit FKUI. Jakarta : 590 – 625
19. Tjokroprawiro, A. 1994. *Diabetes Mellitus, Klasifikasi, Diagnosis dan Dasar – Dasar Terapi, Edisi kedua*. Gramedia. Jakarta : 1 – 7, 31 – 8, 58 – 9
20. Loomis, TA. 2001. *Toksikologi Dasar edisi ketiga*. Terjemahan dari Essential of Toxicology oleh Imono Argo Donatus Semarang : IKIP Semarang Press : 225-233
21. Direktorat Jendral Pengawasan Obat dan Makanan. 2000. *Pedoman Pelaksanaan Uji Klinik Obat Tradisional*. Jakarta : Departemen Kesehatan Republik Indonesia : 1-22
22. Lu, FC. 1995. *Toksikologi Dasar : Asas, Organ, Sasaran dan Penilaian Resiko, Edisi kedua*. Jakarta : UI Press : 88

23. Walum, E. 1998. *Acute Oral Toxicity*. Environmental Health Perspective Supplement 2. (106) : 497-503
24. Parman, NS., Parakash, S. 2006. *Screening Methods in Pharmacology*. New Delhi : Alpha Science International Ltd : 39-42
25. Nodine, JH. Siegler, PE. 1964. *Animal and Clinical Pharmacologic Techniques in Drug Evaluation*. Yearbook Medical Publisher. Chicago
26. Weil, CS. 1952. *Tables for Convenient of Median-Effective Dose (LD_{50} or ED_{50}) and Instructions in Their Use*. Biometrics. 3 (8) : 249-263
27. Anonim. 1979. *Farmakope Indonesia Edisi III*. Jakarta : Departemen Kesehatan Republik Indonesia : 910
28. Radji, M., Harmita. 2004. *Buku Ajar Analisis Hayati*. Depok : Departemen Farmasi FMIPA UI : 67 – 79
29. Barre, LJ. 1949. *Le Diabetique Alloanique*. 1st Edition. Actual Pharmacology. New York : 113 – 124
30. Burtis, CA., Ashwood, ER. 1994. *Tietz Textbook of Clinical Chemistry, 2nd Edition*. WB Saunders Company. Philladelphia : 99, 965 – 6
31. Parfitt, K. 1993. *Martindale The Extra Pharmacopoeia, 20th Edition*. The Pharmaceutical Press. London : 297
32. Burtis, CA., Ashwood, ER. 1986. *Tietz Textbook of Clinical Chemistry, 3rd Edition*. Saunders : 781-2
33. Kaplan, A. Szabo, LL. 1979. *Clinical Chemistry : Interpretation and Techniques*. Lea and Febiger. Philadelphia
34. Anonim. 1995. *Farmakope Indonesia Edisi IV*. Jakarta : Departemen Kesehatan Republik Indonesia : 9
35. Laurence, DR., Bacharach, AL. 1964. *Evaluation of Drug Activities Pharmacometrics*. (1). Academic Press. London : 161
36. Anonim. 1993. *Penapisan Farmakologi, Pengujian Fitokimia dan Pengujian Klinik*. Pengembangan dan Pemanfaatan Obat Bahan Alam. Jakarta : 15-7

37. Hoff, J. 2000. *Method of Mouse Laboratory Animal*. 16 (29). University of Michigan. Michigan : 51
38. Sudjana. 1992. *Metode Statistika*. Tarsito Bandung : 261, 466-67
39. Ansori, A. Sumertajaya, M. 2002. *Perancangan Percobaan dengan Aplikasi SPSS, Minitab dan SAS, Jilid I edisi 2*. IPB Press. Bogor : 207-14



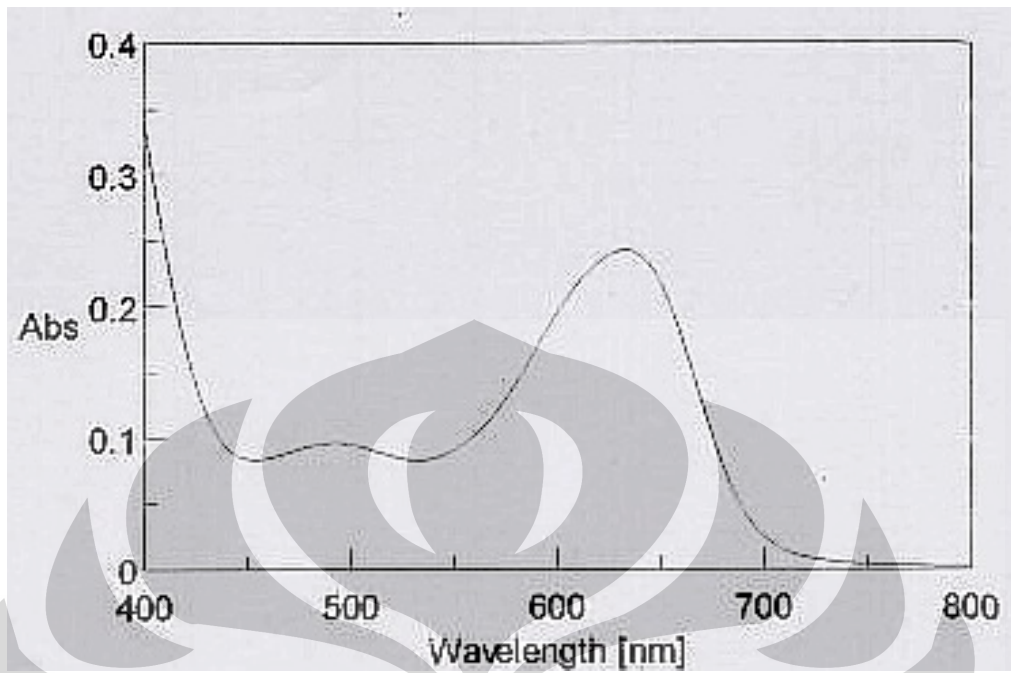




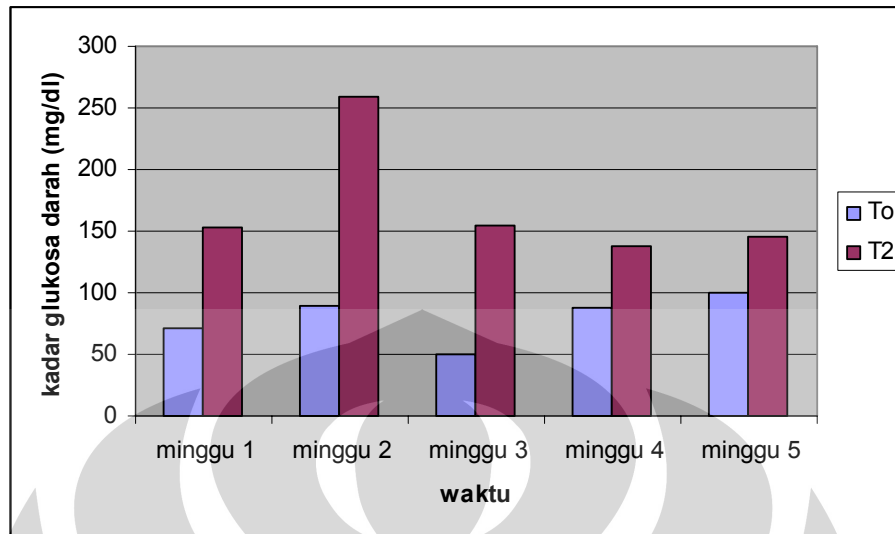
Gambar 2. Biji Jinten Hitam



Gambar 3. Kelopak Bunga Rosella

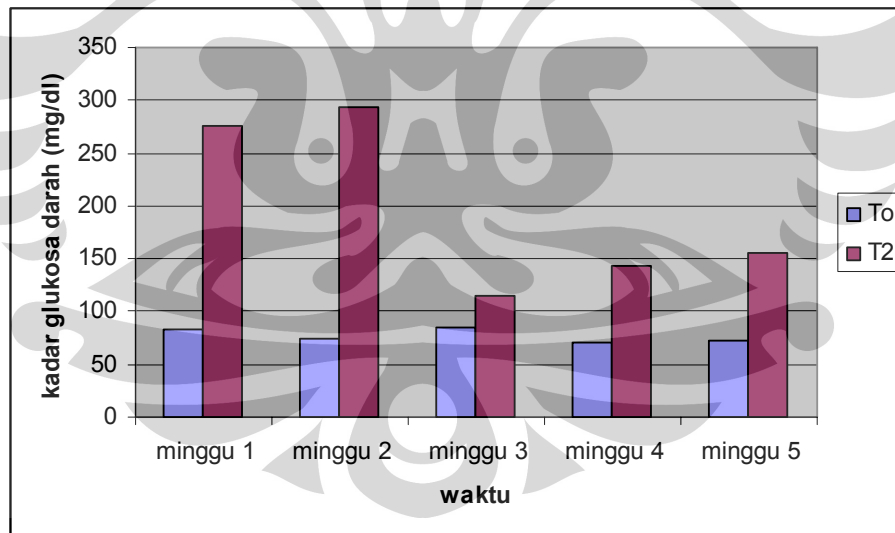


Gambar 4. Kurva Panjang Gelombang Maksimum Senyawa Hasil Reaksi O-Toluidin dan Glukosa ($\lambda=633$ nm)



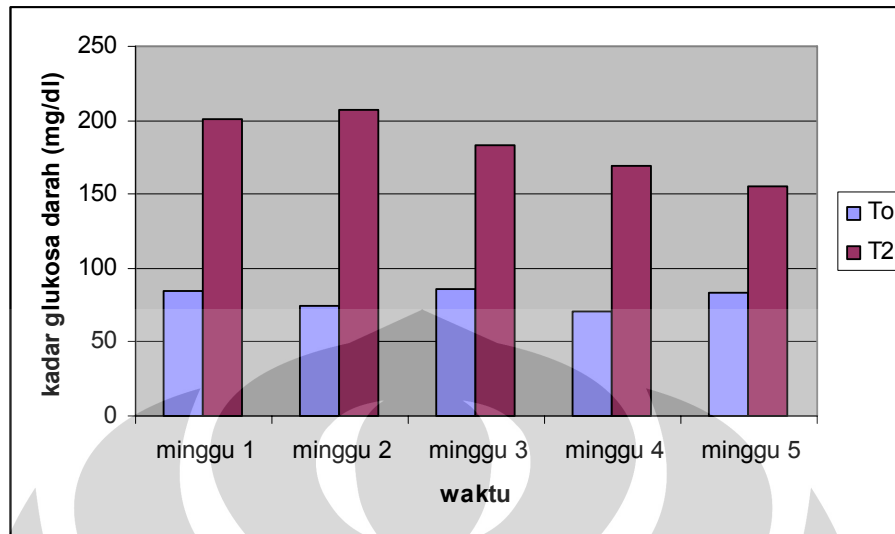
Gambar 5. Kurva Kadar Glukosa Darah Kelompok 1 (Kelompok normal, diberi CMC 0,5%)

Keterangan : To = Kadar glukosa puasa, T2 = Kadar glukosa post prandial



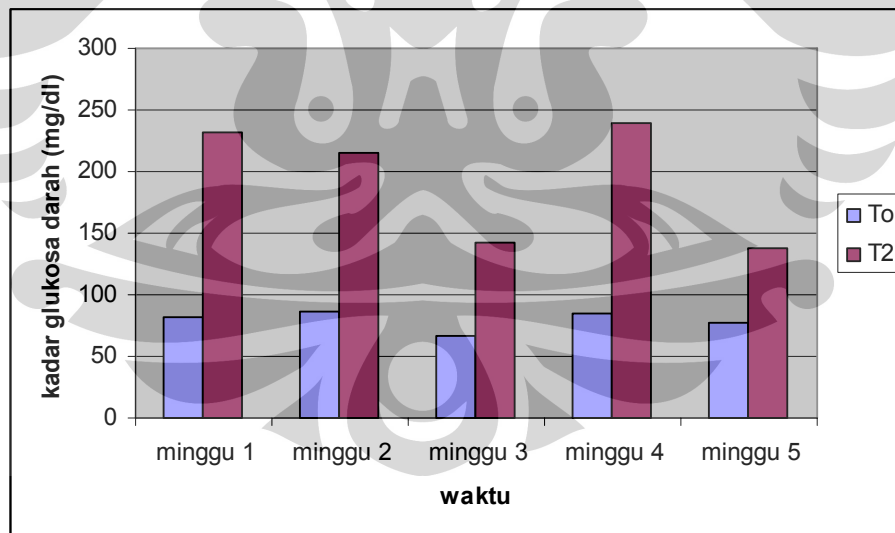
Gambar 6. Kurva Kadar Glukosa Darah Kelompok 2 (Kelompok normal perlakuan, diinduksi aloksan + diberi CMC 0,5%)

Keterangan : To = Kadar glukosa puasa, T2 = Kadar glukosa post prandial



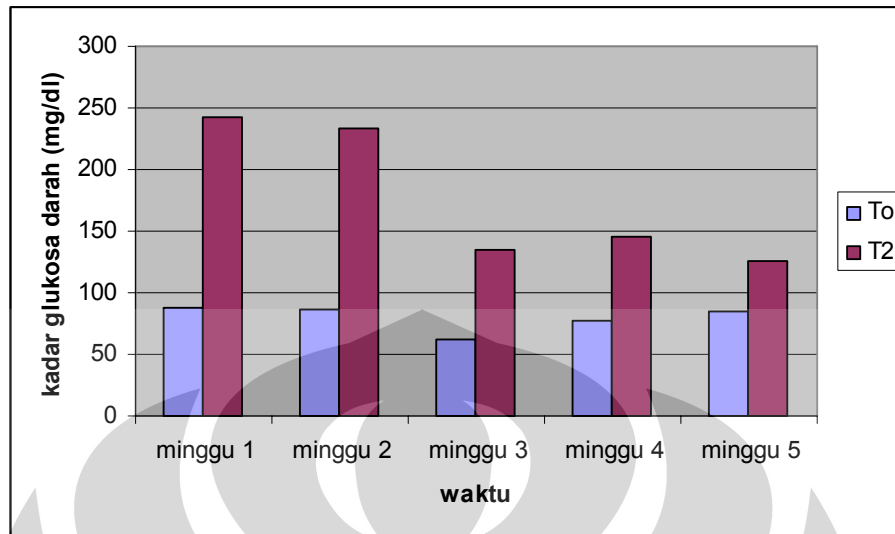
Gambar 7. Kurva Kadar Glukosa Darah Kelompok 3 (Kelompok induksi aloksan + diberi glibenklamid 0,3%)

Keterangan : To = Kadar glukosa puasa, T2 = Kadar glukosa post prandial



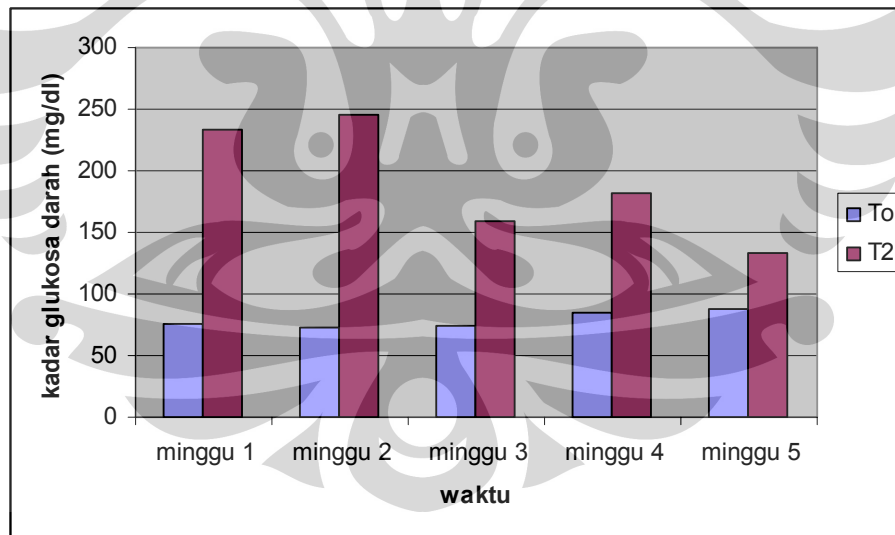
Gambar 8. Kurva Kadar Glukosa Darah Kelompok 4 (Kelompok induksi aloksan + diberi bahan uji dosis 1)

Keterangan : To = Kadar glukosa puasa, T2 = Kadar glukosa post prandial



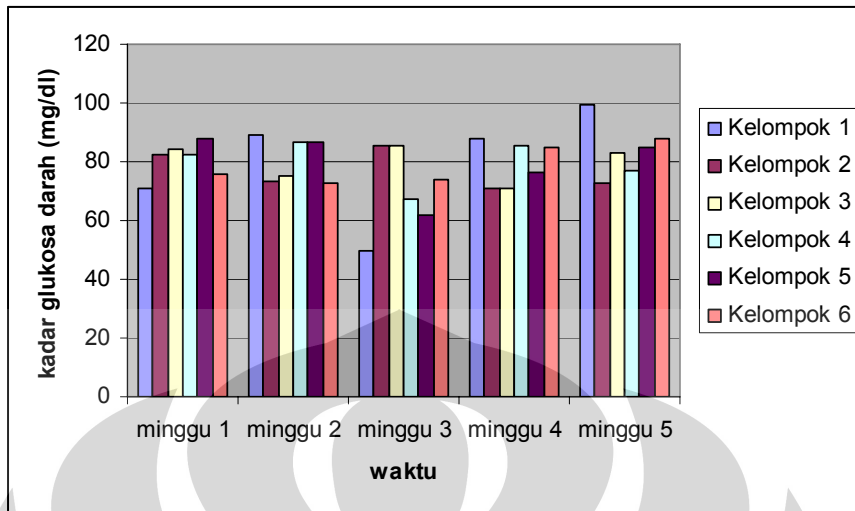
Gambar 9. Kurva Kadar Glukosa Darah Kelompok 5 (Kelompok induksi aloksan + diberi bahan uji dosis 2)

Keterangan : To = Kadar glukosa puasa, T2 = Kadar glukosa post prandial



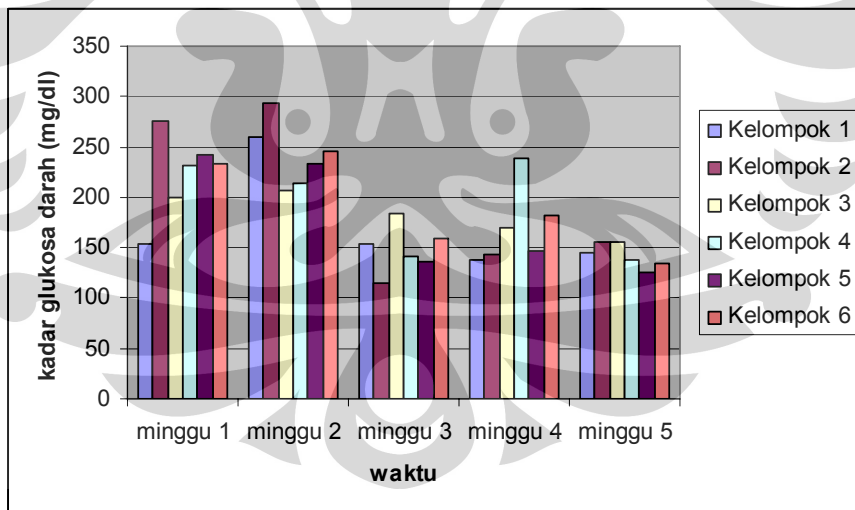
Gambar 10. Kurva Kadar Glukosa Darah Kelompok 6 (Kelompok induksi aloksan + diberi bahan uji dosis 3)

Keterangan : To = Kadar glukosa puasa, T2 = Kadar glukosa post prandial



Gambar 11. Kadar Glukosa Darah Puasa

Keterangan : Kelompok 1 = kelompok normal, kelompok 2 = kelompok induksi aloksan + CMC 0,5%, kelompok 3 = kelompok induksi aloksan + glibenklamid 0,3%, kelompok 4 = kelompok induksi aloksan + bahan uji dosis 1, kelompok 5 = kelompok induksi aloksan + bahan uji dosis 2 dan kelompok 6 = kelompok induksi aloksan + bahan uji dosis 3



Gambar 12. Kadar Glukosa Darah Post Prandial

Keterangan : Kelompok 1 = kelompok normal, kelompok 2 = kelompok induksi aloksan + CMC 0,5%, kelompok 3 = kelompok induksi aloksan + glibenklamid 0,3%, kelompok 4 = kelompok induksi aloksan + bahan uji dosis 1, kelompok 5 = kelompok induksi aloksan + bahan uji dosis 2 dan kelompok 6 = kelompok induksi aloksan + bahan uji dosis 3



Tabel 3
 Hasil Rendemen Ekstrak Biji Jinten Hitam

No.	Berat Simplisia Kering (gram)	Berat Cawan Kosong (gram)	Berat Cawan+Ekstrak (gram)	Berat Ekstrak (gram)	Rendemen Ekstrak (%)
1.	100,00	180,29	198,87	18,58	18,58
2.	100,00	184,13	202,77	18,64	18,64
3.	100,00	186,27	203,02	16,76	16,76
4.	100,00	177,38	199,18	21,80	21,80
5.	100,00	178,51	197,66	19,15	19,15
6.	100,00	179,44	195,28	15,84	15,84
7.	100,00	174,85	192,75	17,90	17,90
8.	100,00	176,60	196,03	19,44	19,44
9.	100,00	346,15	366,26	20,11	20,11
10.	100,00	341,12	357,04	15,93	15,93

Tabel 4
 Hasil Rendemen Ekstrak Kelopak Bunga Rosella

No.	Berat Simplisia Kering (gram)	Berat Cawan Kosong (gram)	Berat Cawan+Ekstrak (gram)	Berat Ekstrak (gram)	Rendemen Ekstrak (%)
1.	100,00	341,12	392,72	51,56	51,60
2.	100,00	354,03	414,14	60,11	60,11
3.	100,00	179,65	233,22	53,57	53,57
4.	100,00	184,13	242,28	58,15	58,15
5.	100,00	178,49	235,23	56,73	56,73
6.	100,00	189,32	239,22	49,90	49,90
7.	100,00	178,51	215,15	36,64	36,64
8.	100,00	167,79	218,45	50,65	50,65
9.	100,00	175,30	221,04	45,74	45,74
10.	100,00	173,84	231,97	58,14	58,14

Tabel 5
Hasil Uji Toksisitas Akut Mencit Jantan

Dosis	Mencit ke	Berat Badan (gram)	Volume yang disonde (mL)	Keterangan
I	1	16,8	0,4	Hidup
	2	16,5	0,4	Hidup
	3	18,2	0,5	Hidup
	4	23,9	0,6	Hidup
	5	18,8	0,5	Hidup
	6	19,9	0,5	Hidup
II	1	20,7	0,5	Hidup
	2	20,2	0,5	Hidup
	3	18,3	0,5	Hidup
	4	17,9	0,4	Hidup
	5	18,4	0,5	Hidup
	6	16,5	0,4	Hidup
III	1	17,8	0,4	Hidup
	2	18,2	0,5	Hidup
	3	19,0	0,5	Hidup
	4	18,0	0,5	Hidup
	5	18,4	0,5	Hidup
	6	17,9	0,4	Hidup
IV	1	16,8	0,4	Hidup
	2	16,6	0,4	Hidup
	3	18,9	0,5	Hidup
	4	19,9	0,5	Hidup
	5	20,0	0,5	Hidup
	6	21,5	0,5	Hidup

Tabel 6
Hasil Uji Toksisitas Akut Mencit Betina

Dosis	Mencit ke	Berat Badan (gram)	Volume yang disonde (mL)	Keterangan
I	1	18,0	0,5	Hidup
	2	21,2	0,5	Hidup
	3	21,5	0,5	Hidup
	4	22,4	0,6	Hidup
	5	17,4	0,4	Hidup
	6	17,6	0,4	Hidup
II	1	16,7	0,4	Hidup
	2	17,9	0,4	Hidup
	3	24,6	0,6	Hidup
	4	23,9	0,6	Hidup
	5	19,7	0,5	Hidup
	6	16,7	0,4	Hidup
III	1	16,8	0,4	Hidup
	2	16,8	0,4	Hidup
	3	17,6	0,4	Hidup
	4	21,1	0,5	Hidup
	5	20,0	0,5	Hidup
	6	19,7	0,5	Hidup
IV	1	22,6	0,6	Hidup
	2	21,7	0,5	Hidup
	3	23,8	0,6	Hidup
	4	22,5	0,6	Hidup
	5	22,3	0,6	Hidup
	6	21,5	0,5	Hidup

Tabel 7
 Hasil Pengukuran Kadar Glukosa Darah Kelompok 1
 (Kelompok normal, diberi CMC 0,5%)

minggu	sampel	Kadar glukosa darah (mg/dl)						S2	SD
		1	2	3	4	X			
I	To	57.82	48.97	69.38	107.48	70.91	664.13	25.77	
	T2	172.78	143.53	136.73	161.98	153.75	274.66	16.57	
II	To	95.68	87.06	79.31	93.96	89.00	55.62	7.45	
	T2	250.00	230.17	293.10	264.65	259.48	701.99	26.49	
III	To	54.16	36.90	63.09	45.83	49.99	125.88	11.21	
	T2	60.71	49.40	67.26	40.47	54.46	141.40	11.89	
IV	To	142.46	80.57	73.97	54.79	87.94	1440.27	37.95	
	T2	158.21	133.53	122.60	136.98	137.83	222.16	14.90	
V	To	86.84	112.50	103.28	96.05	99.66	118.45	10.88	
	T2	146.83	137.87	126.58	169.62	145.22	333.14	18.25	

Keterangan : To = Kadar glukosa darah puasa
 T2 = Kadar glukosa darah post prandial

Tabel 8
 Hasil Pengukuran Kadar Glukosa Darah Kelompok 2
 (Kelompok normal perlakuan, diinduksi aloksan + diberi CMC 0,5%)

minggu	sampel	Kadar glukosa darah (mg/dl)						S2	SD
		1	2	3	4	x			
I	To	51.02	125.17	86.39	66.67	82.31	1025.76	32.02	
	T2	216.38	406.12	246.93	232.65	275.52	7736.37	87.95	
II	To	73.27	62.20	94.82	63.79	73.52	225.52	15.01	
	T2	298.27	279.22	304.31	288.79	292.64	120.93	10.99	
III	To	82.97	96.39	81.19	81.54	85.52	53.08	7.28	
	T2	113.69	106.42	114.88	123.80	114.69	50.80	7.12	
IV	To	68.35	69.51	56.84	88.35	70.76	170.18	13.04	
	T2	132.19	130.13	139.72	169.17	142.80	325.98	18.05	
V	To	82.36	74.55	62.23	71.71	72.71	69.11	8.31	
	T2	151.26	141.60	144.93	182.27	155.01	346.20	18.60	

Keterangan : To = Kadar glukosa darah puasa
 T2 = Kadar glukosa darah post prandial

Tabel 9
 Hasil Pengukuran Kadar Glukosa Darah Kelompok 3
 (Kelompok induksi aloksan + diberi glibenklamid 0,3%)

minggu	sampel	Kadar glukosa darah (mg/dl)					x	S2	SD
		1	2	3	4				
I	To	90.57	91.15	84.89	71.42	84.50	84.10	9.17	
	T2	210.20	187.75	171.42	231.29	200.16	683.29	26.13	
II	To	73.27	70.17	68.10	87.93	74.86	80.34	8.96	
	T2	193.10	189.65	210.34	235.34	207.10	436.16	20.88	
III	To	87.50	88.33	95.83	71.30	85.74	106.70	10.33	
	T2	192.26	181.54	176.19	183.33	183.33	44.64	6.68	
IV	To	80.41	73.28	65.06	65.47	71.05	53.19	7.29	
	T2	181.50	193.15	114.38	189.04	169.51	1374.44	37.07	
V	To	76.84	92.36	98.68	64.60	83.12	236.64	15.38	
	T2	152.53	158.22	124.05	187.34	155.53	673.03	25.94	

Keterangan : To = Kadar glukosa darah puasa
 T2 = Kadar glukosa darah post prandial

Tabel 10
 Hasil Pengukuran Kadar Glukosa Darah Kelompok 4
 (Kelompok induksi aloksan + diberi bahan uji dosis 1)

minggu	sampel	Kadar glukosa darah (mg/dl)					X	S2	SD
		1	2	3	4				
I	To	90.47	79.59	84.35	74.82	82.30	44.74	6.68	
	T2	202.04	217.68	290.47	218.36	232.13	1569.12	39.61	
II	To	85.45	96.55	76.72	87.06	86.44	66.01	8.12	
	T2	229.28	163.79	231.03	233.63	214.43	1143.04	33.80	
III	To	69.51	61.78	66.67	70.83	67.19	16.05	4.00	
	T2	146.73	133.33	139.28	147.61	141.73	45.37	6.73	
IV	To	88.90	63.01	97.94	90.95	85.20	233.81	15.29	
	T2	178.65	410.41	186.98	180.13	239.04	13065.09	114.30	
V	To	68.11	78.28	82.50	79.21	77.02	38.60	6.21	
	T2	137.90	113.29	159.49	140.5	137.79	359.49	18.96	

Keterangan : To = Kadar glukosa darah puasa
 T2 = Kadar glukosa darah post prandial

Tabel 11
 Hasil Pengukuran Kadar Glukosa Darah Kelompok 5
 (Kelompok induksi aloksan + diberi bahan uji dosis 2)

minggu	sampel	Kadar glukosa darah (mg/dl)				X	S2	SD
		1	2	3	4			
I	To	96.59	90.00	82.31	82.85	87.93	45.55	6.74
	T2	174.14	209.52	278.91	304.37	241.73	3637.33	60.31
II	To	93.10	85.93	74.65	93.10	86.69	75.90	8.71
	T2	292.24	230.99	228.44	180.17	232.96	2108.40	45.91
III	To	63.33	62.50	62.14	60.35	62.08	1.57	1.25
	T2	158.33	128.88	128.57	126.19	135.49	233.24	15.27
IV	To	85.72	72.44	70.54	77.39	76.52	45.93	6.77
	T2	117.14	164.13	162.32	140.41	146.00	486.39	22.05
V	To	85.14	84.21	96.57	74.20	85.03	83.71	9.14
	T2	115.11	125.43	124.05	137.97	125.64	88.49	9.40

Keterangan : To = Kadar glukosa darah puasa
 T2 = Kadar glukosa darah post prandial

Tabel 12
 Hasil Pengukuran Kadar Glukosa Darah Kelompok 6
 (Kelompok induksi aloksan + diberi bahan uji dosis 3)


minggu	sampel	Kadar glukosa darah (mg/dl)				x	S2	SD
		1	2	3	4			
I	To	78.50	61.70	89.86	72.16	75.55	138.93	11.78
	T2	214.96	272.78	267.34	176.87	232.98	2079.23	45.59
II	To	71.55	78.44	77.24	63.97	72.80	43.68	6.60
	T2	339.65	218.96	244.82	178.56	245.49	4683.34	68.43
III	To	72.02	64.42	64.72	94.04	73.80	194.41	13.94
	T2	154.76	148.98	182.73	149.21	158.92	259.10	16.09
IV	To	91.29	81.50	91.70	74.44	84.73	69.31	8.32
	T2	193.15	183.32	167.12	183.70	181.82	116.74	10.80
V	To	75.78	98.85	99.12	77.99	87.93	163.62	12.79
	T2	123.41	110.40	110.90	190.03	133.68	1447.22	38.04

Keterangan : To = Kadar glukosa darah puasa
 T2 = Kadar glukosa darah post prandial



Lampiran 1

Hasil Determinasi Kelopak Bunga Rosella



LEMBAGA ILMU PENGETAHUAN INDONESIA
(Indonesian Institute of Sciences)
PUSAT PENELITIAN BIOLOGI
(Research Center for Biology)

Jl. Raya Jakarta - Bogor Km. 46 Cibinong 16911, Indonesia P.O Box 25 Cibinong
Telp. (021) 87907636 - 87907604 Fax. 87907612

Bogor, 31 Maret 2008

Nomor : 213 /IPH.1.02/If.8/2008
Lampiran : -
Perihal : Hasil identifikasi/determinasi Tumbuhan


Kepada Yth.
Bpk./Ibu/Sdr(i). Inggit Arti Sari
Mhs.Univ. Indonesia
Depok


Dengan hormat,

Bersama ini kami sampaikan hasil identifikasi/determinasi tumbuhan yang Saudara kirimkan ke "Herbarium Bogoriense", Bidang Botani Pusat Penelitian Biologi-LIPI Bogor, adalah sebagai berikut :

No.	No. Kol.	Jenis	Suku
1	Bunga Rosela	<i>Hibiscus sabdariffa</i> L.	Malvaceae

Demikian, semoga berguna bagi Saudara.

Kepala Bidang Botani
Pusat Penelitian Biologi-LIPI,

Dr. Eko Baroto Walujo, APU
NIP. 320001330




D:\Adent 2008\Inggit Arti sari.doc\JJA-NU-APK

Page 1 of 1

Lampiran 2

Hasil Determinasi Biji Jinten Hitam



LEMBAGA ILMU PENGETAHUAN INDONESIA
(Indonesian Institute of Sciences)
PUSAT PENELITIAN BIOLOGI
(Research Center for Biology)
Jl. Raya Jakarta - Bogor Km. 46 Cibinong 16911, Indonesia P.O Box 25 Cibinong
Telp. (021) 87907636 - 87907604 Fax. 87907612

Cibinong, 9 April 2008

Nomor : 271 /IPH.1.02/If.8/2008
Lampiran : -
Perihal : Hasil identifikasi/determinasi Tumbuhan


Kepada Yth.
Bpk./Ibu/Sdr(i). Inggit Arti Sari
Jl. Otista Gg. Taslim No.6A
Jakarta Timur


Dengan hormat,

Bersama ini kami sampaikan hasil identifikasi/determinasi tumbuhan yang Saudara kirimkan ke "Herbarium Bogoriense", Bidang Botani Pusat Penelitian Biologi-LIPI Bogor, adalah sebagai berikut :

No.	No. Kol.	Jenis	Suku
1	Biji Jinten Hitam	<i>Nigella sativa</i> L.	Ranunculaceae

Demikian, semoga berguna bagi Saudara.

Kepala Bidang Botani
Pusat Penelitian Biologi-LIPI,

Dr. Eko Baroto Walujo,APU
NIP. 320001330



D:\Ident 2008\Inggit Arti Sari.doc\JJA-alex-apk

Page 1 of 1

Lampiran 3

Sertifikat Analisis Glibenklamid

Cadila Healthcare Limited
 291, G.I.D.C. INDUSTRIAL ESTATE ANKLESH WAR - 393002 Gujarat (INDIA)
 Phone : +91 - 2646 110719/110711 Fax : 91-2646 150071

Zydus Cadila
 Healthcare Limited
 (API Division) 2/2

**QUALITY ASSURANCE DEPARTMENT
 CERTIFICATE OF ANALYSIS**

Product Name		GLIBENCLAMIDE BP	
Batch Number	GC/007/0051	Q.C.A.R. No.	QGC/0051
Batch Quantity	350 Kg	Sample Quantity	100 gm
Mfg. Date	NOV-2007	Exp. Date	OCT-2012
Release Date	26-11-2007		
Storage	Store in tightly closed container at 25°C ± 2°C		

TEST	SPECIFICATIONS	OBSERVATIONS
Description	A white or almost white crystalline powder,	White or crystalline powder
Solubility	Practically insoluble in water, sparingly soluble in methylene chloride, slightly soluble in alcohol and in methanol, practically insoluble in ether. It dissolve in dilute solution of alkali hydroxides.	Complies
Identification	Test A, B, C, D and E	Complies
Appearance of solution	1% w/v solution in alcohol is clear and colourless	Complies
Heavy metas	Not more than 20 ppm	Less than 20 ppm
Related substances by TLC	1) Impurity A : Not more than 0.40% 2) Secondary impurities : Not more than 0.20%	Less than 0.40% Less than 0.20%
Loss on drying	Not more than 1.0 % w/w	0.40 % w/w
Sulphated ash	Not more than 0.10 % w/w	0.05 % w/w
Assay on dried basis	Not more than 99.0 % w/w and not more than 101.0 % w/w	99.59% w/w
Residual solvents by HSGC	Methanol : Not more than 3000ppm Acetone : Not more than 5000ppm 2-Butanone : Not more than 2000ppm Dichloromethane : Not more than 600ppm	775 ppm 38 ppm BQL[LOQ-0.31ppm] BQL[LOQ-0.76ppm]
Particle size	95 % less than 10 micron	7.18micron
Report	Product complies with the above said specification	

[Signature]
Prepared by

[Signature]
Approved by

Lampiran 4

Uji t Untuk Dua Populasi (Paired t test)

Hipotesis : Ho : tidak ada perbedaan bermakna antara nilai – nilai dari
sejumlah kelompok uji

Ha : ada perbedaan secara bermakna antara nilai – nilai dari
sejumlah kelompok uji

Pengambilan keputusan :

Bila signifikansi $\geq 0,05$ maka Ho diterima

Bila signifikansi $< 0,05$ maka Ho ditolak

Cara 1

Paired T-Test and CI: T0-Minggu 1, T0-Minggu 2

Paired T for T0-Minggu 1 - T0-Minggu 2

	N	Mean	StDev	SE Mean
T0-Minggu 1	20	76.890	5.329	1.192
T0-Minggu 2	20	143.982	5.055	1.130
Difference	20	-67.0916	6.2151	1.3897

95% CI for mean difference: (-70.0003, -64.1828)

T-Test of mean difference = 0 (vs not = 0): T-Value = -48.28 P-Value = 0.000

Keputusan : Ada perbedaan yang bermakna antara To pada minggu 1 dan
To pada minggu ke 2

Cara 2

Paired T-Test and CI: T0-Minggu 1, T2- Minggu1

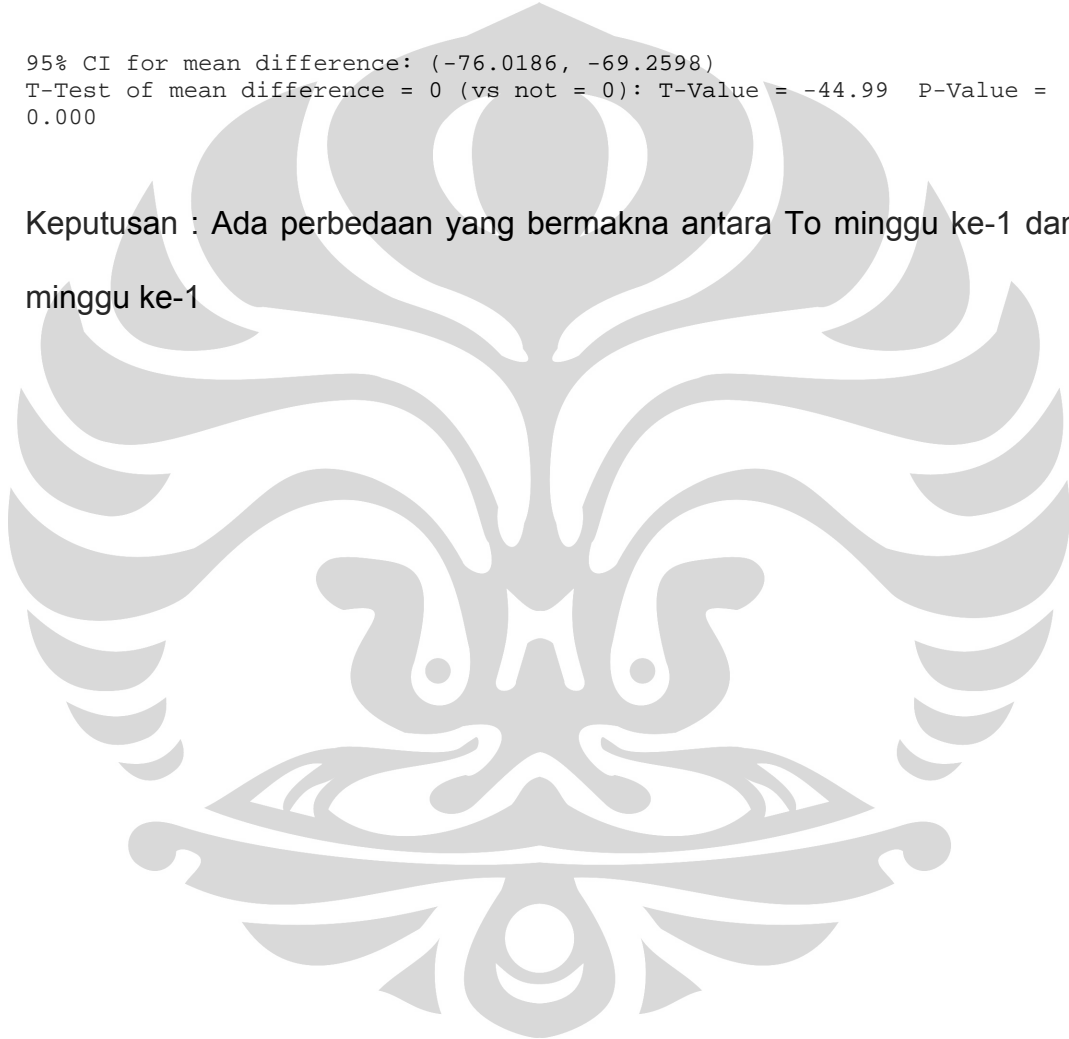
Paired T for T0-Minggu 1 - T2- Minggu1

	N	Mean	StDev	SE Mean
T0-Minggu 1	20	76.890	5.329	1.192
T2- Minggu1	20	149.529	4.634	1.036
Difference	20	-72.6392	7.2208	1.6146

95% CI for mean difference: (-76.0186, -69.2598)

T-Test of mean difference = 0 (vs not = 0): T-Value = -44.99 P-Value = 0.000

Keputusan : Ada perbedaan yang bermakna antara To minggu ke-1 dan T2 minggu ke-1



Lampiran 5

Uji Kebebasan Galat Terhadap Kadar Glukosa Darah Dengan Metode Tukey (Minitab 14.12)

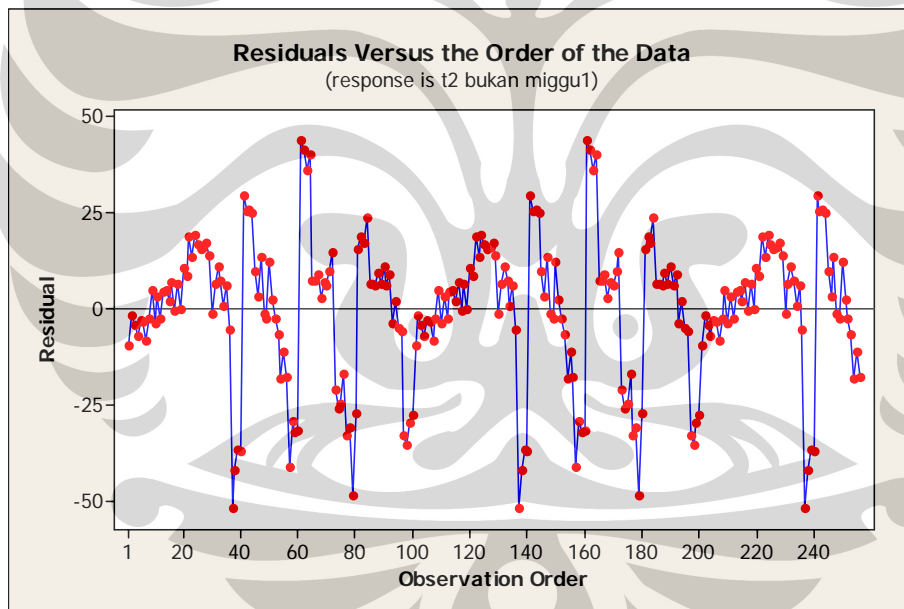
Hipotesis : H_0 : data tersebar secara merata

H_a : data tidak tersebar secara merata

Pengambilan keputusan :

Bila signifikansi $\geq 0,05$ maka H_0 diterima

Bila signifikansi $< 0,05$ maka H_0 ditolak



Keputusan : data tersebar secara merata

Lampiran 6

Uji Kehomogenan Ragam Terhadap Kadar Glukosa Darah Dengan Metode Levene

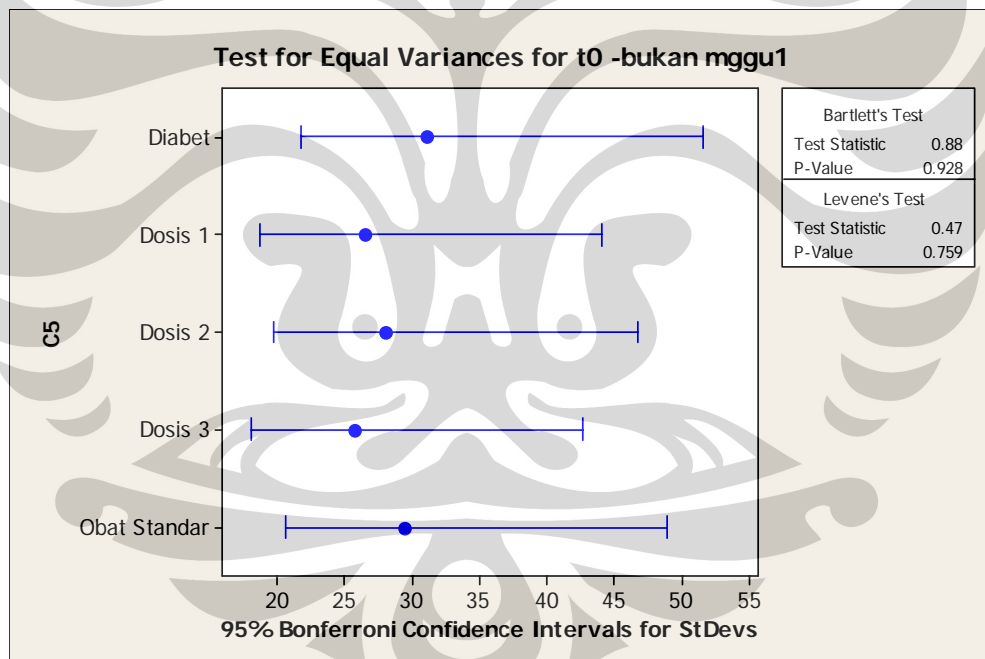
Hipotesis : Ho : data bervariasi homogen

Ha : variasi data tidak homogen

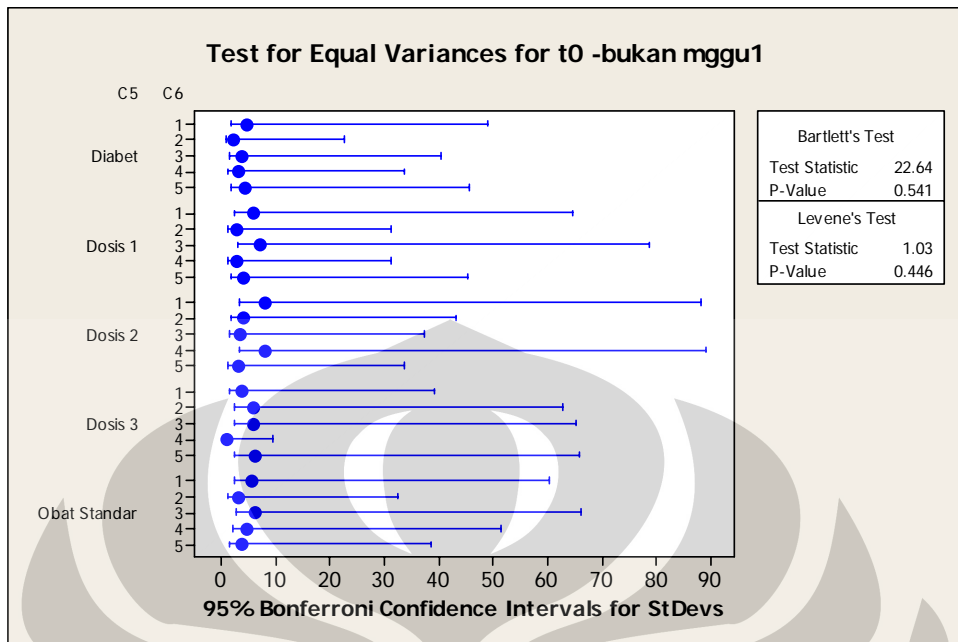
Pengambilan keputusan :

Bila signifikansi $\geq 0,05$ maka Ho diterima

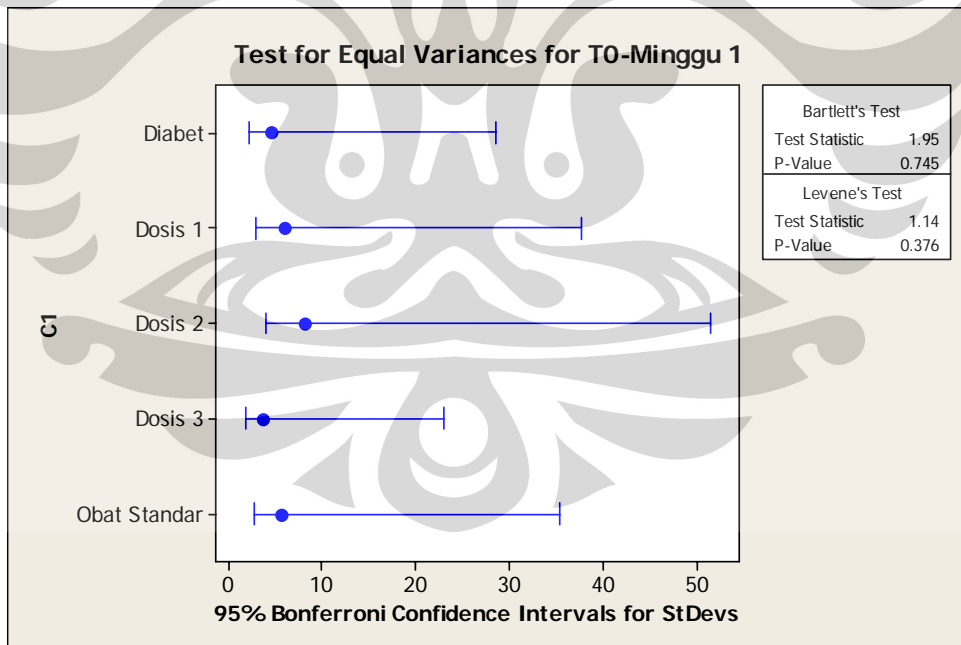
Bila signifikansi $< 0,05$ maka Ho ditolak



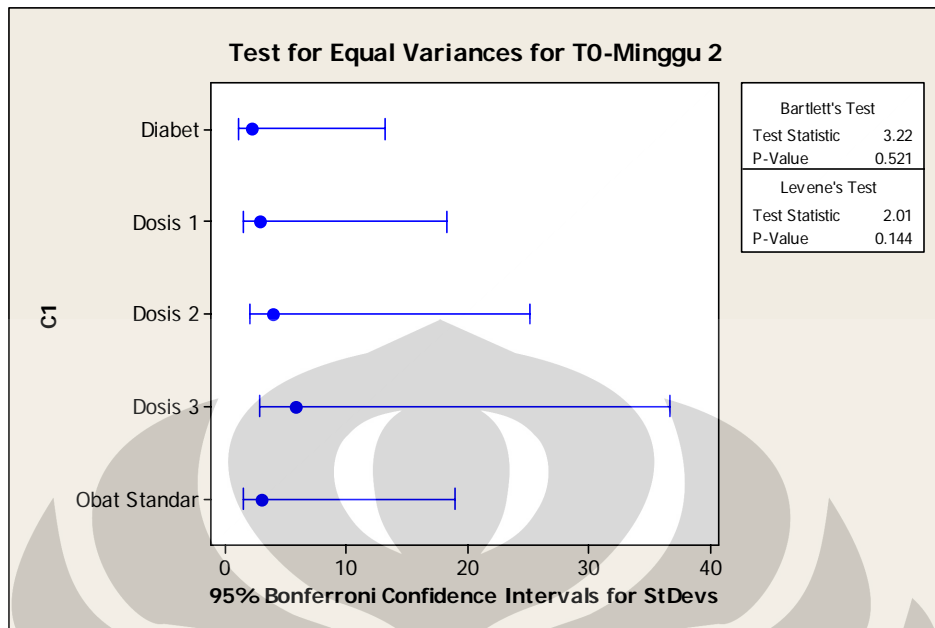
Keputusan : data bervariasi homogen



Keputusan : data bervariasi homogen



Keputusan : data bervariasi homogen



Keputusan : data bervariasi homogen

Lampiran 7

Uji Normalitas Terhadap Kadar Gukosa Darah Dengan Metode Saphiro Wilk

(Minitab 14.12)

Hipotesis : Ho : data terdistribusi normal

Ha : distribusi data tidak normal

Pengambilan keputusan :

Bila signifikansi $\geq 0,05$ maka Ho diterima

Bila signifikansi $< 0,05$ maka Ho ditolak

To minggu ke-1

Kelompok tikus menurut Dosis	Shapiro Wilk			
	Statistics	df	Sig	
Kadar Gula	Normal	0.925	4	>0.100
	Diabet	0.903	4	>0.085
	Obat Standar	0.940	4	>0.100
	Dosis 1	0.956	4	>0.100
	Dosis 2	0.956	4	>0.100
	Dosis 3	0.943	4	>0.100

Keputusan : data pada To minggu ke-1 terdistribusi normal

To minggu ke-2

Kelompok tikus menurut Dosis	Shapiro Wilk			
	Statistics	df	Sig	
Kadar Gula	Normal	0.968	4	>0.100
	Diabet	0.984	4	>0.100
	Obat Standar	0.974	4	>0.100
	Dosis 1	0.971	4	>0.100
	Dosis 2	0.991	4	>0.100
	Dosis 3	0.981	4	>0.100

Keputusan : data To pada minggu ke-2 terdistribusi normal

To minggu ke-3

Kelompok tikus menurut Dosis		Shapiro Wilk		
		Statistics	df	Sig
Kadar Gula	Normal	0.981	4	>0.100
	Diabet	0.943	4	>0.100
	Obat Standar	0.980	4	>0.100
	Dosis 1	0.945	4	>0.100
	Dosis 2	0.978	4	>0.100
	Dosis 3	0.943	4	>0.100

Keputusan : data To pada minggu ke-3 terdistribusi normal

To minggu ke-4

Kelompok tikus menurut Dosis		Shapiro Wilk		
		Statistics	df	Sig
Kadar Gula	Normal	0.986	4	>0.100
	Diabet	0.977	4	>0.100
	Obat Standar	0.947	4	>0.100
	Dosis 1	0.954	4	>0.100
	Dosis 2	0.989	4	>0.100
	Dosis 3	0.967	4	>0.100

Keputusan : data To pada minggu ke-4 terdistribusi normal

To minggu ke-5

Kelompok tikus menurut Dosis		Shapiro Wilk		
		Statistics	df	Sig
Kadar Gula	Normal	0.956	4	>0.100
	Diabet	0.944	4	>0.100
	Obat Standar	0.985	4	>0.100
	Dosis 1	0.968	4	>0.100
	Dosis 2	0.949	4	>0.100
	Dosis 3	0.978	4	>0.100

Keputusan : data To pada minggu ke-5 terdistribusi normal

Lampiran 8

Uji ANOVA (Analisis Variasi) satu arah dan BNT (Beda Nyata Terkecil) pada To dan T2

Hipotesis : Ho : tidak ada perbedaan bermakna antara nilai – nilai dari
 jumlah kelompok uji
 Ha : ada perbedaan secara bermakna antara nilai – nilai dari
 jumlah kelompok uji

Pengambilan keputusan :

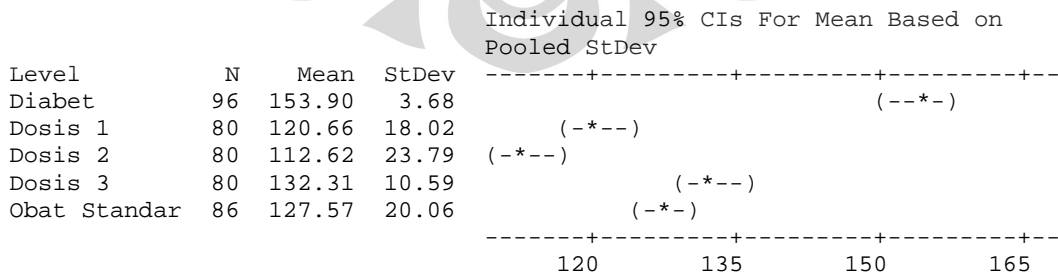
Bila signifikansi $\geq 0,05$ maka Ho diterima

Bila signifikansi $< 0,05$ maka Ho ditolak

One-way ANOVA: t0 -bukan mggu1 versus C6

Source	DF	SS	MS	F	P
C6	4	86866	21717	78.94	0.000
Error	417	114724	275		
Total	421	201590			

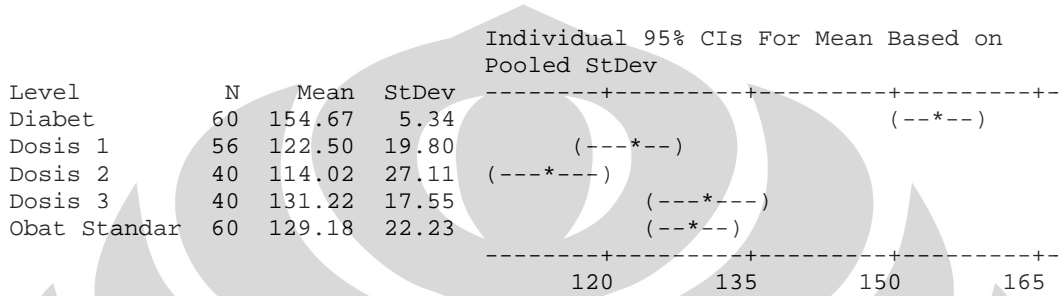
Keputusan : ada perbedaan yang bermakna antara To dengan perlakuan



One-way ANOVA: t2 bukan miggu1 versus C6

Source	DF	SS	MS	F	P
C6	4	49279	12320	33.22	0.000
Error	251	93087	371		
Total	255	142365			

Keputusan : ada perbedaan yang bermakna antara T2 dengan perlakuan



Lampiran 9

Uji Main Effect Plot dan Uji Interaction Plot

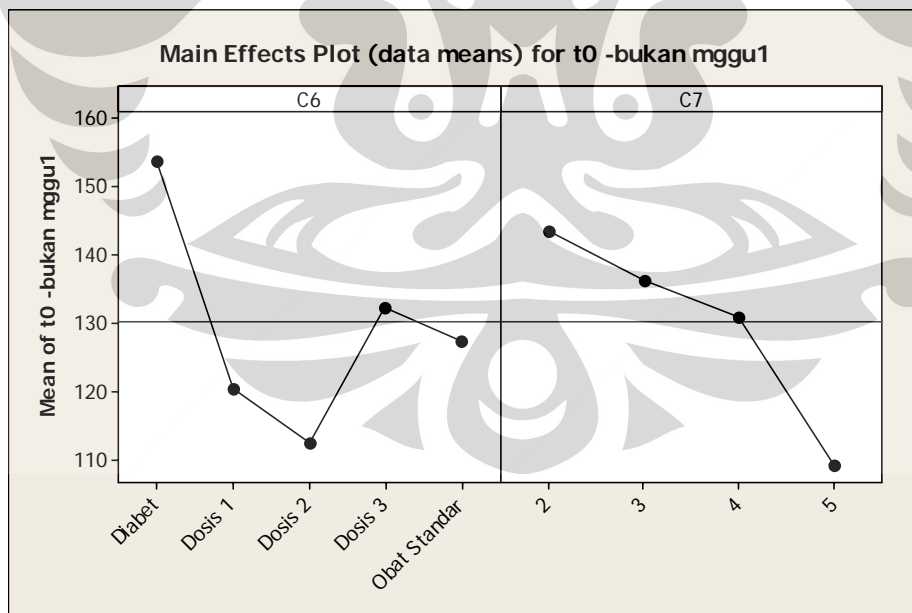
Hipotesis : Ho : tidak ada perbedaan bermakna antara nilai – nilai dari
jumlah kelompok uji

Ha : ada perbedaan secara bermakna antara nilai – nilai dari
jumlah kelompok uji

Pengambilan keputusan :

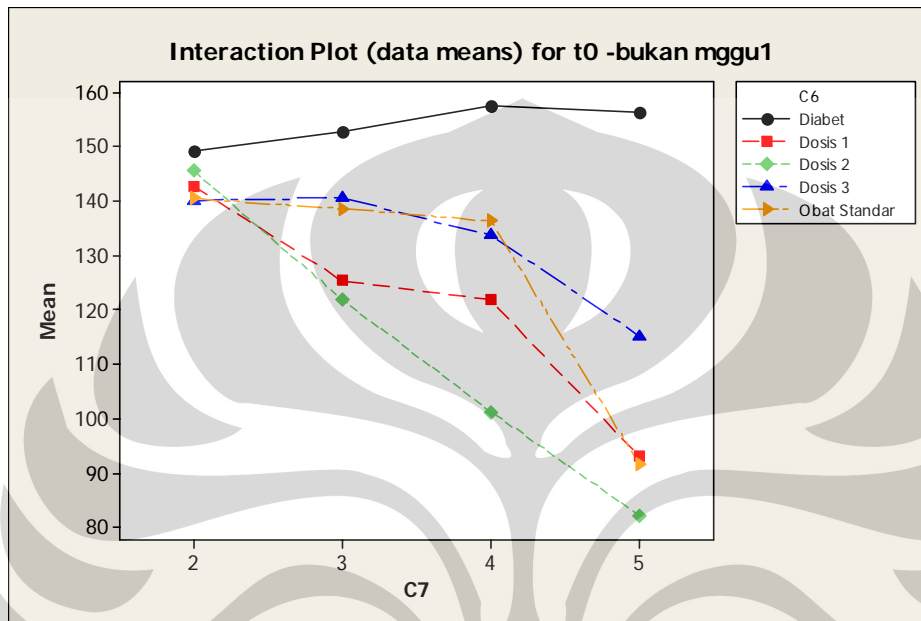
Bila signifikansi $\geq 0,05$ maka Ho diterima

Bila signifikansi $< 0,05$ maka Ho ditolak



Keputusan : berdasarkan perlakuan (C6), dosis 2 merupakan dosis yang paling baik diantara dosis 1 dan dosis 3. Sedangkan berdasarkan waktu

pemberian (C7), kadar glukosa darah semakin menurun seiring pertambahan waktu dan minggu ke 5 merupakan waktu yang paling optimal yang dapat menurunkan kadar glukosa darah.



Keputusan : semua perlakuan terjadi perpotongan pada minggu ke-2, sehingga minggu ke-2 pemberian bahan uji belum dapat dikatakan mampu menurunkan kadar glukosa darah yang cukup bermakna. Tetapi untuk minggu selanjutnya, yaitu minggu ke-3 hingga minggu ke-5, dapat dilihat bahwa dosis ke-2 adalah dosis yang paling menunjukkan penurunan yang bermakna.