

UJI KHASIAT ANTIDIABETES OBAT HERBAL “FAD” TERHADAP TIKUS
PUTIH JANTAN YANG DIINDUKSI DENGAN ALOKSAN

ELSA FERYANI

0606040665



UNIVERSITAS INDONESIA

FAKULTAS MATEMATIKA DAN ILMU PENGETAHUAN ALAM

DEPARTEMEN FARMASI

JURUSAN EKSTENSI

DEPOK

2008

UJI KHASIAT ANTIDIABETES OBAT HERBAL “FAD” TERHADAP TIKUS
PUTIH JANTAN YANG DIINDUKSI DENGAN ALOKSAN

Skripsi ini diajukan sebagai syarat untuk memperoleh gelar

Sarjana Farmasi

Oleh :

ELSA FERYANI

0606040665



DEPOK

2008

SKRIPSI : UJI KHASIAT ANTIDIABETES OBAT HERBAL "FAD"
TERHADAP TIKUS PUTIH JANTAN YANG
DIINDUKSI DENGAN ALOKSAN

NAMA : ELSA FERYANI

NPM : 0606040665

SKRIPSI INI TELAH DIPERIKSA DAN DISETUJUI

DEPOK, DESEMBER 2008

Dra. Azizahwati, MS

Prof. DR. Sumali Wiryowidagdo

PEMBIMBING I

PEMBIMBING II

Tanggal lulus Ujian Sidang Sarjana :

Penguji I :

Penguji II :

Penguji III :

KATA PENGANTAR

Segala puji dan syukur penulis panjatkan kehadirat Allah SWT atas segala rahmat dan karunia-Nya sehingga penulis dapat menyelesaikan penulisan skripsi ini.

Dalam penulisan skripsi ini penulis menerima banyak sekali bantuan. Pada kesempatan ini, penulis ingin menyampaikan ucapan terima kasih kepada :

1. Ibu Dra. Azizahwati, MS selaku Pembimbing I dan Bapak Prof. Dr. Sumali Wiryowidagdo selaku Pembimbing II, yang dengan sabar membimbing dan memberi saran selama penelitian berlangsung hingga tersusunnya skripsi ini.
2. Ibu Dr. Yahdiana Harahap, MS., Apt., selaku Ketua Departemen Farmasi FMIPA UI.
3. Bapak Dr. Abdul Mun'im selaku Ketua Program Ekstensi Departemen Farmasi.
4. Ibu Dr. Berna Elya, MS selaku Pembimbing Akademis yang telah memberikan banyak perhatian dan bimbingan selama perkuliahan di Departemen Farmasi FMIPA UI.
5. Ibu Dr. Retnosari Andrajati selaku Kepala Laboratorium Farmakologi atas tempat dan fasilitas yang telah diberikan selama penelitian berlangsung.

6. Seluruh staf pengajar, yang selalu tulus dalam memberi bekal ilmu dan wawasan, laboran dan karyawan Departemen Farmasi FMIPA UI yang telah membantu penyelesaian dan penyusunan skripsi ini.
7. Seluruh rekan Ekstensi Farmasi angkatan 2006 (terutama Netty, Eti, Rika, Rina, Pita, Asri, Agung) di Laboratorium Farmakologi. Begitu pula untuk seluruh rekan-rekanku yang berada di KBI lain, dan tak lupa skripsi ini saya persembahkan untuk teman kita tercinta "Nancy".
8. Ayah, bunda, Hanifa, ka Iwan dan mba Witri serta Raisya keponakanku yang baru saja lahir, terima kasih untuk do'a dan segala dukungannya.
9. Terima kasihku untuk Mba Inggit atas persahabatan yang selama ini terjalin.
10. Semua pihak yang telah memberikan bantuan baik secara moril dan materil selama penelitian dan penyusunan skripsi.

Penulis berharap semoga hasil penelitian ini dapat bermanfaat bagi masyarakat, dunia ilmu pengetahuan dan ilmu kefarmasian khususnya.

Penulis

2008

ABSTRAK

Kayu manis (*Cinnamomum zeylanicum* Nees), biji klabet (*Trigonella foenum-graecum* Linn), pare (*Momordica charantia* Linn) merupakan tanaman yang secara empiris digunakan untuk mengobati diabetes mellitus dan kromium (Cr) juga memiliki peranan dalam metabolisme glukosa sehingga bahan-bahan ini dikombinasikan dalam satu sediaan obat herbal untuk mencapai efek terapi yang optimal. Penelitian ini dilakukan untuk membuktikan khasiat antidiabetes obat herbal "FAD". Pengujian dilakukan dengan metode uji aloksan terhadap tikus putih jantan galur *Sprague Dawley* dengan berat 200 sampai 220 g yang dibagi dalam enam kelompok perlakuan, masing-masing kelompok berjumlah sepuluh ekor tikus. Lima kelompok perlakuan dibuat menjadi diabetes dengan memberikan aloksan 18 mg/ 200 g bb secara intravena, sedangkan satu kelompok perlakuan sebagai kontrol normal. Obat herbal "FAD" diberikan secara oral dengan variasi dosis 216,07 mg/200 g bb, 432,14 mg/200 g bb dan 864,28 mg/200 g bb. Sebagai standar pembandingan digunakan glibenklamid dengan dosis 1,8 mg/200 g bb, sedangkan kelompok normal dan kelompok induksi diberikan larutan CMC (*Carboxy Methyl Cellulosa*) 0,5%. Metode o-toluidin digunakan dalam pengukuran kadar glukosa darah dengan spektrofotometer UV-Vis pada panjang gelombang 633 nm. Hasil pengujian obat herbal "FAD" menunjukkan bahwa dosis 216,07 mg/200 g bb, 432,14 mg/200 g bb dan 864,28 mg/200 g

bb memberikan efek penurunan kadar glukosa darah. Obat herbal "FAD" dosis 432,14 mg/200 g bb memiliki efek yang lebih baik dalam penurunan kadar glukosa darah dibandingkan dengan dosis 216,07 mg/200 g bb, 864,28 mg/200 g bb maupun glibenklamid 1,8 mg/200 g bb.

Kata kunci: *Cinnamomum zeylanicum* Nees, *Trigonella foenum-graecum* Linn, *Momordica charantia* Linn, Kromium (Cr), aloksan, glibenklamid, o-toluidin

Xii + 94 halaman; gambar; tabel; lampiran

Bibliografi: 33 (1952-2008)



ABSTRACT

Cinnamon (*Cinnamomum zeylanicum* Nees), fenugreek seed (*Trigonella foenum-graecum* Linn), bitter melon (*Momordica charantia* Linn) were traditional herbal medicines that have been used empirically to cure diabetes mellitus and chromium (Cr) has a function in glucose metabolism so these component were combined in one herbal medicine formula called "FAD" to get an optimal therapeutic effect. This reasearch was carried out to prove the antidiabetic effect of "FAD". The experiment was conducted with alloxan induced method using albino rats of *Sprague Dawley* 200 until 220 g weight, which were divided into six groups, every group consisted of ten rats. Alloxan induced method was used by giving alloxan 18 mg/ 200 g bw intravenously to five groups, while one group as a normal group. "FAD" was given by orally with dose variation 216,07 mg/200 g bw, 432,14 mg/200 g bw dan 864,28 mg/200 g bw. Glybenclamide was used as standard with dose 1,8 mg/200 g bw, whereas a normal group and an induced group were given by CMC solution (Carboxy Methyl Cellulosa) 0,5%. O-toluidin method was used to measure glucose blood level using spectrophotometer UV-Vis with wavelength 633 nm. The result showed that "FAD" with dose 216,07 mg/200 g bw, 432,14 mg/200 g bw and 864,28 mg/200 g bw could decrease glucose blood level. "FAD" herbal medicine with dose 432,14 mg/200 g bw has a

better effect in decreasing glucose blood level than 216,07 mg/200 g bw, 864,28 mg/200 g bw and also than glybenclamide 1,8 mg/ 200 g bw.

Key words: *Cinnamomum zeylanicum* Nees, *Trigonella foenum-graecum* Linn, *Momordica charantia* Linn, chromium (Cr), alloxan, glybenclamide, o-toluidin

Xii + 94 pages; pictures; tables; enclosures

Bibliography: 33 (1952-2008)



DAFTAR ISI

	Halaman
KATA PENGANTAR.....	i
ABSTRAK.....	iii
DAFTAR ISI.....	vii
DAFTAR GAMBAR.....	ix
DAFTAR TABEL.....	xi
DAFTAR LAMPIRAN.....	xii
BAB I PENDAHULUAN.....	1
A. LATAR BELAKANG.....	1
B. TUJUAN PENELITIAN.....	3
C. HIPOTESIS.....	4
BAB II TINJAUAN PUSTAKA.....	5
A. <i>CINNAMON EXTRACT</i> (EKSTRAK KAYU MANIS).....	5
B. <i>FENUGREEK EXTRACT</i> (EKSTRAK KLABET).....	8
C. <i>BITTER MELLON EXTRACT</i> (EKSTRAK PARE).....	10
D. KROMIUM (Cr).....	12
E. DIABETES MELLITUS.....	13
F. PENGATURAN KADAR GLUKOSA DARAH.....	26

	G. METODE PENGUJIAN.....	29
BAB III	BAHAN, ALAT DAN CARA KERJA.....	38
	A. BAHAN.....	38
	A. ALAT.....	39
	B. CARA KERJA.....	39
BAB IV	HASIL DAN PEMBAHASAN.....	49
	A. HASIL PERCOBAAN.....	49
	B. PEMBAHASAN.....	50
BAB V	KESIMPULAN DAN SARAN.....	56
	A. KESIMPULAN.....	56
	B. SARAN.....	56
	DAFTAR ACUAN.....	57

DAFTAR GAMBAR

Gambar	Halaman
1. Reaksi kromium.....	61
2. Struktur aloksan.....	62
3. Reaksi kondensasi o-toluidin dengan glukosa dalam larutan asam panas.....	37
4. Pengambilan darah pada tikus.....	63
5. Kurva Serapan Senyawa Hasil Reaksi Glukosa dengan O-Toluidin pada $\lambda=633$ nm.....	64
6. Grafik kadar glukosa darah To rata-rata kelompok 1.....	65
7. Grafik kadar glukosa darah T2 rata-rata kelompok 1.....	65
8. Grafik kadar glukosa darah To rata-rata kelompok 2.....	66
9. Grafik kadar glukosa darah T2 rata-rata kelompok 2.....	66
10. Grafik kadar glukosa darah To rata-rata kelompok 3.....	67
11. Grafik kadar glukosa darah T2 rata-rata kelompok 3.....	67
12. Grafik kadar glukosa darah To rata-rata kelompok 4.....	68
13. Grafik kadar glukosa darah T2 rata-rata kelompok 4.....	68
14. Grafik kadar glukosa darah To rata-rata kelompok 5.....	69
15. Grafik kadar glukosa darah T2 rata-rata kelompok 5.....	69
16. Grafik kadar glukosa darah To rata-rata kelompok 6.....	70
17. Grafik kadar glukosa darah T2 rata-rata kelompok 6.....	70

18. Diagram Efektivitas Penurunan Kadar Glukosa Darah Rata-Rata To
Kelompok Standar Pembanding dan Kelompok Bahan Uji Terhadap
Kelompok Induksi..... 71
19. Diagram Efektivitas Penurunan Kadar Glukosa Darah Rata-Rata T2
Kelompok Standar Pembanding dan Kelompok Bahan Uji Terhadap
Kelompok Induksi..... 72



DAFTAR TABEL

Tabel	Halaman
1. Pembagian kelompok hewan uji.....	40
2. Hasil Pengukuran Kadar Glukosa Darah Kelompok 1.....	73
3. Hasil Pengukuran Kadar Glukosa Darah Kelompok 2.....	73
4. Hasil Pengukuran Kadar Glukosa Darah Kelompok 3.....	74
5. Hasil Pengukuran Kadar Glukosa Darah Kelompok 4.....	74
6. Hasil Pengukuran Kadar Glukosa Darah Kelompok 5.....	75
7. Hasil Pengukuran Kadar Glukosa Darah Kelompok 6.....	75
8. Efektivitas Penurunan Kadar Glukosa Darah Rata-Rata Kelompok Standar Pembanding dan Kelompok Bahan Uji Terhadap Kelompok Induksi.....	76

DAFTAR LAMPIRAN

Lampiran	Halaman
1. Perhitungan Kadar Glukosa Darah.....	77
2. Uji T untuk dua populasi atau <i>Paired T Test</i> (Minitab 14.12).....	78
3. Uji kebebasan galat terhadap kadar glukosa darah kelompok hewan uji dengan Metode Tukey (Minitab 14.12).....	80
4. Uji kehomogenan ragam terhadap kadar glukosa darah kelompok hewan uji dengan Metode Levene (Minitab 14.12).....	82
5. Uji normalitas terhadap kadar glukosa darah kelompok hewan uji dengan Metode Saphiro Wilk (Minitab 14.12).....	85
6. Uji Analisis Varians (ANOVA) Satu Arah dan BNT (Beda Nyata Terkecil terhadap kadar glukosa darah kelompok hewan uji pada To dan T2 (Minitab 14.12).....	87
7. Uji <i>Main Effect Plot</i> dan <i>Interaction Plot</i> terhadap kadar glukosa darah kelompok hewan uji pada To dan T2 (Minitab 14.12).....	90
8. Sertifikat Analisis Glibenklamid.....	94

BAB I

PENDAHULUAN

A. LATAR BELAKANG

Diabetes Mellitus merupakan penyakit yang disertai hiperglikemia kronik dengan adanya gangguan metabolisme karbohidrat, lemak dan protein sebagai akibat adanya kerusakan dalam sekresi insulin, kerja insulin, atau kombinasi keduanya (1). Diabetes merupakan salah satu ancaman bagi kehidupan manusia pada abad 21. *World Health Organization* (WHO) memperkirakan pada tahun 2000 jumlah pengidap diabetes di atas usia 20 tahun berjumlah seratus lima puluh juta orang dan dalam kurun waktu dua puluh lima tahun kemudian, yaitu pada tahun 2025 jumlah itu akan membengkak menjadi tiga ratus juta orang. Berdasarkan data 2002 di Amerika Serikat sekitar 6,2% penduduk atau 18,2 juta orang mengidap diabetes (2).

Masalah Diabetes Mellitus di negara-negara berkembang tidak pernah mendapat perhatian para ahli diabetes di negara-negara maju sampai adanya kongres *International Diabetes Federation* (IDF) ke IX di 1973 di Brussel. Pada tahun 1976, ketika kongres IDF di New Delhi

(India) diadakan acara khusus yang membahas tentang Diabetes Mellitus di daerah tropis. Setelah itu banyak sekali penelitian yang dilakukan di Negara berkembang dan data terakhir dari WHO menunjukkan justru peningkatan tertinggi jumlah pasien diabetes terjadi di Asia Tenggara termasuk Indonesia (2). Oleh karena itu, perkembangan pengobatan terhadap penyakit ini gencar dilakukan baik dengan pengobatan modern maupun pengobatan tradisional.

Pengobatan dengan menggunakan bahan alam sudah menjadi kebiasaan turun-temurun bagi masyarakat di Indonesia, terbukti dengan banyaknya ramuan tradisional yang masih banyak digunakan oleh masyarakat hingga saat ini. Namun masih perlu dilakukan penelitian untuk membuktikan khasiat dari obat tradisional tersebut secara ilmiah agar penggunaan obat tradisional lebih efektif dan lebih rasional. Begitu pula dengan obat tradisional antidiabetes, saat ini salah satu obat tradisional yang sedang dikembangkan adalah obat herbal "FAD" yang mengandung Cinnamon (kayu manis), Fenugreek (klabet), Bitter melon (pare) dan *Chromium* (Cr) . Ketiga bahan alam ini dipercaya dapat menurunkan kadar glukosa darah sehingga dengan melakukan kombinasi tersebut efek terhadap penurunan kadar glukosa darah diharapkan menjadi lebih optimal. Berdasarkan empat uji klinis yang dilakukan terhadap cinnamon, diperoleh hasil bahwa cinnamon dapat menurunkan kadar glukosa darah puasa secara

signifikan (3). Menurut uji praklinik fenugreek yang dilakukan terhadap tikus galur *Wistar*, diperoleh hasil bahwa fenugreek dapat menurunkan kadar glukosa darah dengan meningkatkan aktivitas enzim glikolisis dan menurunkan aktivitas enzim glukoneogenesis (4). Begitu pula dengan *bitter melon* (pare), menurut uji klinik diperoleh hasil bahwa pare memiliki khasiat dalam menurunkan kadar glukosa darah karena kandungan p-insulin yang dimilikinya (5).

Metode uji khasiat antidiabetes yang digunakan dalam penelitian ini adalah metode aloksan karena metode ini merupakan uji praklinik yang lebih mendekati pada keadaan penderita diabetes yang sebenarnya. Pada pemberian aloksan, pankreas hewan uji akan mengalami kerusakan sebagian sehingga pankreas hanya dapat mengeluarkan sedikit insulin. Obat herbal antidiabetes ini diuji kemampuannya untuk merangsang sekresi insulin dari pankreas yang telah mengalami kerusakan sebagian.

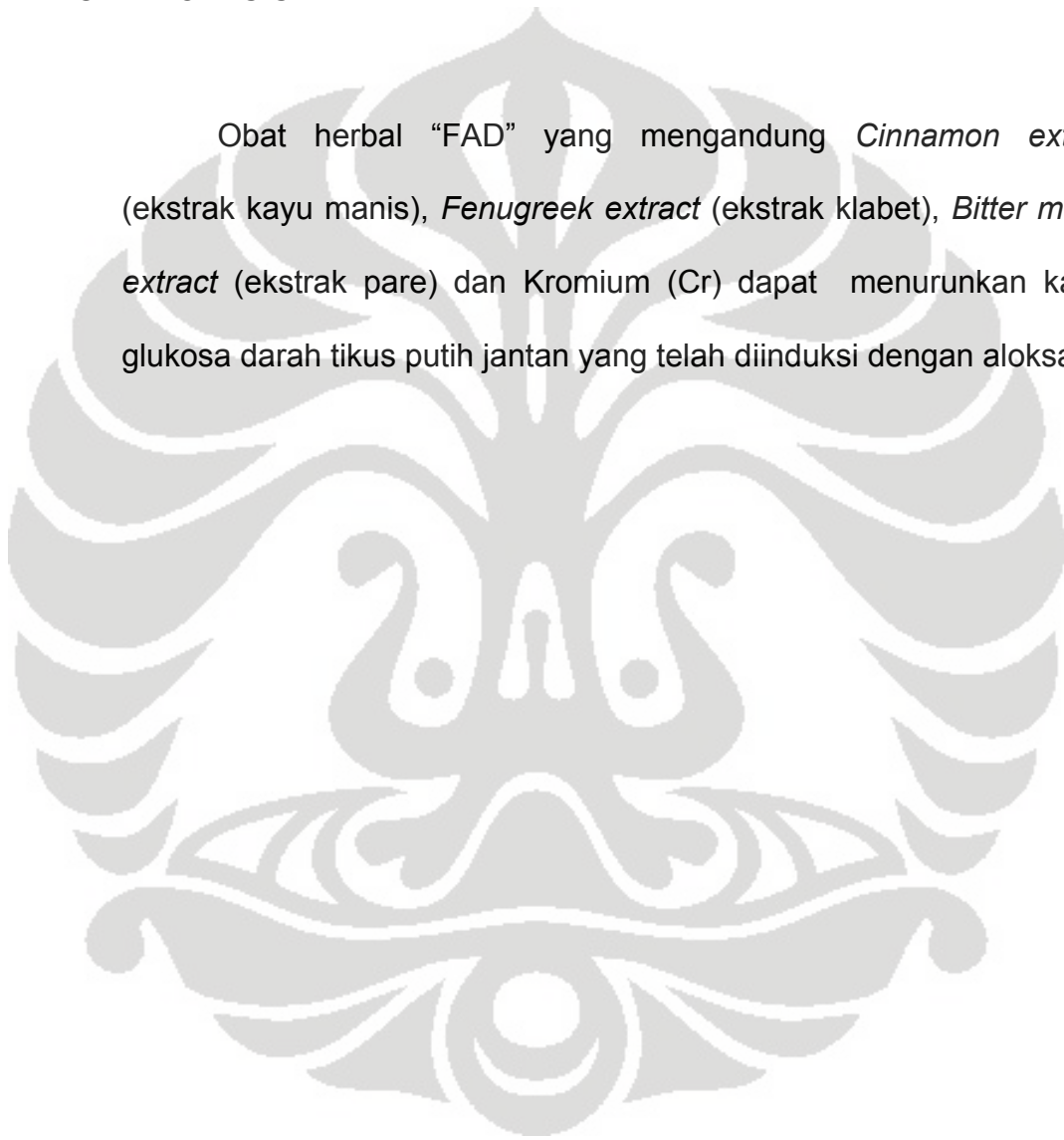
B. TUJUAN PENELITIAN

Tujuan penelitian adalah untuk mengetahui pengaruh pemberian obat herbal "FAD" yang mengandung *Cinnamon extract* (ekstrak kayu manis), *Fenugreek extract* (ekstrak klabet), *Bitter melon*

extract (ekstrak pare) dan Kromium (Cr) terhadap penurunan kadar glukosa darah tikus putih jantan yang telah diinduksi dengan aloksan.

C. HIPOTESIS

Obat herbal “FAD” yang mengandung *Cinnamon extract* (ekstrak kayu manis), *Fenugreek extract* (ekstrak klabet), *Bitter melon extract* (ekstrak pare) dan Kromium (Cr) dapat menurunkan kadar glukosa darah tikus putih jantan yang telah diinduksi dengan aloksan.



BAB II

TINJAUAN PUSTAKA

A. CINNAMON EXTRACT (EKSTRAK KAYU MANIS)

Ekstrak kayu manis berasal dari tanaman *Cinnamomum zeylanicum* Nees.

1. Klasifikasi tanaman (6,7)

Kerajaan : Plantae

Divisi : Magnoliophyta

Kelas : Magnoliopsida

Bangsa : Laurales

Suku : Lauraceae

Marga : *Cinnamomum*

Jenis : *Cinnamomum zeylanicum* Nees

Kayu manis adalah kulit batang (setelah dibebaskan dari gabus terluar dan parenkim dibawahnya) yang dikeringkan dari tanaman *Cinnamomum zeylanicum* Nees dari suku Lauraceae. Sinonim nama tanaman ini adalah *Cinnamomum verum* J.S. Presl yang mempunyai dua varietas, yaitu varietas *subcordata* Nees dengan daun bulat telur dan varietas *vulgare* Nees atau dikenal dengan varietas *verum*, dengan daun memanjang seperti elips dan ujung

meruncing. Tanaman kayu manis tumbuh secara liar di hutan Malaysia, Cina dan Indonesia (8).

2. Morfologi

Cinnamon (*Cinnamomum zeylanicum* Nees) merupakan pohon dengan tinggi 5 m sampai 15 m dan kulitnya berbau khas. Helai daun berbentuk lonjong dengan panjang 4 cm sampai 14 cm, lebar 1,5 cm sampai 6 cm, permukaan atas licin dan permukaan bawah warna abu-abu. Daun yang muda berwarna merah pucat, panjang tangkai daun 0,5 cm sampai 1,5 cm. Bunganya berbulu halus kelabu yang tertekan pada permukaan, panjang gagang bunga 4 mm sampai 12 mm juga berbulu halus. Benang sari lingkaran ketiga mempunyai kelenjar ditengah-tengah tangkai sari. Buah adalah buah buni dengan panjang lebih kurang 1 cm (8).

3. Kandungan kimia

Kayu manis mengandung minyak atsiri hingga 4% yang terdiri atas sinamilaldehyd (60-75%), sinamil asetat dan eugenol (keduanya kurang lebih 1-5%). Kandungan lainnya seperti sinamtanin B1, MHCP (*Methyl Hydroxy Chalcone Polymer*), prosianidin, kalsium oksalat, lendir dan pati (3,8).

4. Khasiat

Selain berguna sebagai bumbu masak, tanaman ini juga berkhasiat untuk menurunkan kadar glukosa darah. Kayu manis memiliki efek farmakologi pada pengobatan diabetes mellitus tipe 2 dalam meningkatkan sensitifitas insulin. Menurut perkembangan terbaru, efek ini dihasilkan oleh kandungan MHCP dan sinamtanin B1 melalui aktivasi terhadap glikogen sintase. Selain itu, kayu manis juga dipercaya berkhasiat pada tekanan darah tinggi, maag, sakit kepala, masuk angin, diare, perut kembung, muntah-muntah, susah buang air besar, asma, sariawan, dan lain-lain. Selain itu, kayu manis memiliki efek farmakologis yang dibutuhkan dalam obat-obatan. Kulit batang, daun, dan akarnya dapat dimanfaatkan sebagai obat antirematik, peluruh keringat, peluruh buang angin, meningkatkan nafsu makan, dan menghilangkan rasa sakit (3,8). Khasiat kayu manis yang disetujui oleh Komisi Eropa antara lain untuk keluhan dispepsia seperti spasme gastrointestinal, kembung dan flatulen (8).

B. FENUGREEK EXTRACT (EKSTRAK KLABET)

Ekstrak klabet berasal dari tanaman *Trigonella foenum-graecum* Linn.

1. Klasifikasi tanaman (6,7)

Kerajaan : Plantae

Divisi : Magnoliophyta

Kelas : Magnoliopsida

Bangsa : Fabales

Suku : Fabaceae

Marga : *Trigonella*

Jenis : *Trigonella foenum-graecum* Linn

Fenugreek seed atau Trigonellae semen adalah biji yang telah dikeringkan dari tanaman *Trigonella foenum-graecum* Linn. Fenugreek merupakan tanaman yang berasal dari Eropa Tenggara dan Asia Barat. Di Indonesia, biji fenugreek sering disebut biji kelabat, kelabet atau klabet (8).

2. Morfologi

Tanaman ini berupa ternak tahunan yang tumbuh tegak dengan tinggi 30 cm sampai 60 cm, daunnya berbentuk bulat telur sampai bentuk baji dengan panjang 20 cm sampai 25 cm. Bunganya merupakan bunga tunggal atau sepasang dan keluar di ketiak

daun. Panjang kelopak bunga 8 cm sampai 10 cm, bergigi dan mahkota bunga berwarna kuning terang. Buahnya merupakan buah polong gundul dan memanjang dengan panjang 5 sampai 10 cm, berisi 10 biji sampai 20 biji. Bijinya mempunyai bau aromatik yang khas, rasanya agak pahit dan tidak enak. Secara makroskopik, bijinya keras dan berbentuk belah ketupat, permukaan luar berwarna kuning kecokelatan sampai cokelat kekuningan. Panjangnya 3 mm sampai 5 mm, lebarnya 2 mm sampai 3 mm dan tebalnya lebih kurang 2 mm. Pada salah satu bidang yang datar, terdapat alur dalam yang terentang hampir sudut menyudut dan membagi biji menjadi 2 bagian yang tidak sama besar. Pada bagian yang besar terdapat keping biji dan pada bagian yang kecil terdapat akar. Bagian dalam berwarna kekuningan sampai coklat kekuningan dan endosperm berwarna coklat kekuningan jernih (8).

3. Kandungan kimia

Tanaman ini mengandung minyak lemak 20-30%, lendir 28%, alkaloid trigonelin, glikosida furostanol yang diberi nama trigofoenosid A-G, kolin, nikotinamida dan saponin (10).

4. Khasiat

Terapi tambahan pada diabetes melitus, diet rendah lemak pada pengobatan hiperkolesterolemia ringan-sedang. Selain itu, kandungan serat dan saponinnya yang tinggi juga dapat mengatasi sembelit. Untuk mengkonsumsinya, *European Society Commission of Publication* (ESCOP), lembaga penelitian dan publikasi di Eropa menyarankan penggunaan biji fenugreek maksimal 6 gram per hari (10).

C. BITTER MELON EXTRACT (EKSTRAK PARE)

Ekstrak pare berasal dari tanaman *Momordica charantia* Linn.

1. Klasifikasi tanaman (6,7)

Kerajaan : Plantae
 Divisi : Magnoliophyta
 Kelas : Magnoliopsida
 Bangsa : Violales
 Suku : Cucurbitaceae
 Marga : Momordica
 Jenis : *Momordica charantia* Linn

Ekstrak buah pare adalah ekstrak air buah pare dari tanaman *Momordica charantia* Linn dari suku Cucurbitaceae. Tanaman ini berasal dari India (8).

2. Morfologi

Tanaman ini merambat dengan sulur berbentuk spiral. Daunnya berbulu, berlekuk-lekuk dan bertangkai sepanjang kira-kira 10 cm. Bunganya berwarna kuning muda, batangnya berbulu agak kasar. Buah pare berbentuk bulat panjang berwarna hijau muda dan rasanya pahit (8).

3. Kandungan Kimia

Buah pare mengandung momordisin, momordisinin, kukurbitasin, kukurbitin, karantin (glikosida steroid), diosgenin, kolesterol, lanosterol dan β -sitosterol. Kandungan steroid saponin yang dikenal sebagai charantin dan peptida menyerupai (p-insulin) memiliki peranan-peranan yang berhubungan dengan efek hipoglikemik (11).

4. Khasiat

Pare sejak dahulu telah digunakan sebagai obat tradisional Asia, seperti memperlancar saluran cerna, dispepsia, konstipasi, diabetes, tukak dan inflamasi ringan (11).

D. KROMIUM (Cr)

Kromium adalah mineral mikro yang esensial bagi tubuh. Esensial dalam hal ini berarti tidak dapat diproduksi oleh tubuh dan harus didapatkan dari sumber luar (seperti makanan dan suplemen). Fungsinya menjaga agar metabolisme glukosa, lemak dan kolesterol berjalan normal. Manfaatnya sangat penting untuk metabolisme glukosa karena hampir seluruh fungsi otak manusia bergantung pada glukosa sebagai sumber energi, sehingga yang terjadi akibat defisiensi kromium adalah lemah daya konsentrasi, lemah daya ingat, perasaan tak menentu dan timbul rasa letih. Selain itu, *chromium* mempunyai fungsi yang hampir sama dengan insulin yang diproduksi oleh tubuh yaitu untuk mendorong glukosa (karbohidrat) ke dalam sel untuk dijadikan energi. Reaksi kromium dapat dilihat pada Gambar 1.

Dalam tubuh manusia dewasa, pada umumnya mengandung 0,4 mg hingga 6 mg *chromium*. Dengan kadar yang lebih rendah, umumnya dimiliki oleh individu yang berusia lanjut. Dalam beberapa studi kesehatan berdasarkan variasi geografis (tempat tinggal), ditemukan adanya hubungan yang kuat antara asupan gizi *chromium* dengan penyakit diabetes dan jantung. Di tempat yang masyarakatnya mengkonsumsi cukup *chromium*, jumlah penderita diabetes dan jantung jauh lebih sedikit daripada tempat yang masyarakatnya tidak mengkonsumsi cukup *chromium*. Sumber alami *chromium* adalah

gandum, kuning telur, bayam, daging sapi, susu, kacang hijau dan beras. Salah satu komposisi *chromium* dalam beras tersebut diduga merupakan bahan aktif yang berguna bagi perbaikan fungsi insulin dalam tubuh.

Konsumsi *chromium* sebesar 50-200 mcg perhari sangat berguna bagi kesehatan dan bagi penderita diabetes. *Chromium* dan serat makanan merupakan kombinasi yang cukup baik bagi penderita diabetes. Oligosakarida (serat makanan) dan *chromium* merupakan kombinasi yang dapat mengaktifkan reseptor insulin sebesar 7 kali, sehingga mengaktifkan fungsi insulin. Mekanisme tersebut menyebabkan peningkatan gula darah dapat ditekan (12).

E. DIABETES MELLITUS

Diabetes Mellitus didefinisikan sebagai gangguan kronik metabolik yang dikarakterisasi oleh terjadinya hiperglikemia yang jika terjadi dalam kurun waktu yang panjang dapat mengakibatkan komplikasi, baik makrovaskular maupun mikrovaskular (13). Adanya kelainan tersebut menyebabkan ketidakmampuan tubuh untuk menggunakan glukosa sebagai energi.

1. Klasifikasi (13,14)

Organisasi Kesehatan Dunia (WHO) mengakui tiga bentuk diabetes mellitus, yaitu tipe 1, tipe 2, dan diabetes gestasional (terjadi selama kehamilan).

a. Diabetes mellitus tipe 1

Diabetes mellitus tipe 1 disebut *insulin-dependent diabetes* (IDDM, "diabetes yang bergantung pada insulin"), dicirikan dengan hilangnya kemampuan sel beta penghasil insulin pada pulau-pulau Langerhans pankreas sehingga terjadi kekurangan insulin pada tubuh. Diabetes tipe ini dapat diderita oleh anak-anak maupun orang dewasa. Bentuk diabetes ini merupakan diabetes tergantung insulin, biasanya disebut sebagai *juvenile onset diabetes*. Hal ini disebabkan karena adanya destruksi sel beta pankreas karena autoimun. Kerusakan sel beta pankreas pada pasien diabetes tipe ini sekitar 90 %. Kecepatan destruksi sel beta pankreas bervariasi pada setiap individu.

Manifestasi klinik dari penyakit ini adalah ketoasidosis. Pada diabetes tipe ini terdapat sedikit atau tidak ada sama sekali sekresi insulin dapat ditentukan dengan level protein C-peptida yang jumlahnya sedikit atau tidak terdeteksi sama sekali. Marker terjadinya destruksi sel beta pankreas adalah

autoantibodi sel pulau langerhans dan autoantibodi insulin sekitar 85-90 % terdeteksi pada diabetes tipe ini.

b. Diabetes mellitus tipe 2

Diabetes mellitus tipe 2 disebut *non-insulin-dependent diabetes mellitus* (NIDDM, "diabetes yang tidak bergantung pada insulin") terjadi karena "resistensi terhadap insulin" atau "berkurangnya sensitifitas terhadap insulin" (adanya defek respon jaringan terhadap insulin) yang melibatkan reseptor insulin di membran sel. Pada tahap awal abnormalitas yang paling utama adalah berkurangnya sensitifitas terhadap insulin, yang ditandai dengan meningkatnya kadar insulin di dalam darah. Pada tahap ini terjadi hiperinsulinemia tetapi insulin itu tidak bisa membawa glukosa masuk ke dalam jaringan karena terjadi resistensi insulin yang merupakan turunnya kemampuan insulin untuk merangsang pengambilan glukosa oleh jaringan perifer dan untuk menghambat produksi glukosa oleh hati.

Oleh karena terjadinya resistensi insulin (reseptor insulin sudah tidak aktif karena dianggap kadarnya masih tinggi dalam darah) akan mengakibatkan defisiensi relatif insulin. Hal tersebut dapat mengakibatkan berkurangnya sekresi insulin pada rangsangan glukosa bersama bahan perangsang sekresi

insulin lain sehingga sel beta pankreas akan mengalami desensitisasi terhadap adanya glukosa. Onset diabetes mellitus tipe ini perlahan-lahan karena itu gejalanya asimtomatik. Oleh karena itu diabetes tipe 2 ini sering terdiagnosis setelah terjadi komplikasi.

c. Diabetes mellitus gestasional

Diabetes gestasional merupakan intoleransi karbohidrat akibat terjadinya hiperglikemia dengan berbagai keparahan dengan serangan atau pengenalan awal selama masa kehamilan. Hal ini terjadi di sekitar 2%–5% dari semua kehamilan. Hormon estrogen pastinya dibutuhkan selama masa kehamilan. Hormon estrogen dikeluarkan di korteks adrenal, ovarium, testosteron, dan plasenta. Adanya plasenta yang membedakan antara wanita hamil dengan yang tidak akan mengeluarkan estrogen yang akan mempengaruhi kadar glukosa darah.

2. Kelainan Fisiologis Pada Diabetes (15)

Manifestasi utama diabetes mellitus oleh hiperglikemia terjadi akibat berkurangnya jumlah glukosa yang masuk ke dalam sel. Berkurangnya penggunaan glukosa oleh berbagai jaringan dan peningkatan produksi glukosa karena proses glukoneogenesis oleh hati. Poliuri, polidipsi, polifagi, dan penurunan berat badan merupakan gejala utama penyakit ini. Dalam keadaan hiperglikemia yang berlangsung lama, akan terjadi glikosuria dimana batas maksimal reabsorpsi glukosa pada tubulus renalis dilampaui dan glukosa akan di ekskresikan ke dalam urin. Volume urin meningkat (poliuri) akibat terjadinya diuresis osmotik. Akibat volume urin meningkat dan keluarnya air akan menyebabkan dehidrasi ekstrasel. Dehidrasi intrasel mengikuti dehidrasi ekstrasel karena air dari intrasel akan berdifusi keluar sel mengikuti penurunan gradien konsentrasi ke plasma yang hipertonik (sangat pekat/terjadi hiperosmolaritas). Dehidrasi intrasel ini akan merangsang pengeluaran ADH dan menimbulkan rasa haus (polidipsi).

Akibat hiperglikemia, viskositas darah menjadi meningkat sehingga mengakibatkan aliran darah menuju otak sangat lambat, maka hipotalamus akan merangsang pengeluaran perintah lapar sehingga terjadi peningkatan selera makan (polifagia). Akibat

katabolisme protein di otot dan ketidakmampuan sebagian besar sel untuk menggunakan glukosa sebagai energi menyebabkan rasa lemas dan kelelahan. Glikosuria menyebabkan kehilangan kalori yang cukup besar (4,1 kkal untuk setiap gram karbohidrat yang dieksresikan keluar). Kehilangan ini akan mengakibatkan penurunan berat badan yang hebat. Dalam keadaan defisiensi insulin, sintesis protein akan menurun. Pengangkutan asam amino sebagai substrat glukoneogenik ke dalam otot berkurang. Defisiensi insulin juga menyebabkan tidak adanya kerja anti lipolisis maupun lipogenik sehingga kadar asam lemak plasma akan meninggi. Jika kemampuan hati untuk mengoksidasi asam lemak terlampaui, maka senyawa asam β hidroksi butirat dan asam aseto asetat akan bertumpuk sehingga terjadi ketosis. Mula-mula penderita dapat mengimbangi penumpukan asam organik ini dengan meningkatkan pengeluaran CO_2 lewat sistem respirasi, namun bila keadaan ini tidak dikendalikan, maka akan terjadi asidosis metabolik, pernapasan menjadi cepat dan pasien dapat meninggal dalam keadaan koma diabetik.

Selain ketoasidosis, komplikasi yang sering timbul adalah komplikasi vaskular jangka panjang berupa mikroangiopati dan makroangiopati. Mikroangiopati mencakup retinopati diabetik, nefropati diabetik, maupun neuropati diabetik. Makroangiopati

mempunyai gambaran histopatologis berupa aterosklerosis, hiperlipoproteinemia maupun kelainan pembeku darah, sehingga diabetes mellitus dapat menjadi salah satu penyebab penyakit angina pectoris, infark miokard, gagal ginjal.

3. Diagnosis Diabetes Mellitus (13,16)

Pemeriksaan Diabetes Mellitus (DM) terbagi dalam dua tahap, yaitu uji penyaring dan diagnosis. Ada perbedaan antara uji diagnostik DM dan pemeriksaan penyaring. Uji diagnostik DM dilakukan pada mereka yang menunjukkan gejala atau tanda DM, sedangkan pemeriksaan penyaring bertujuan untuk mengidentifikasi mereka yang tidak bergejala, tetapi mempunyai resiko DM.

Pemeriksaan penyaring dikerjakan pada kelompok dengan salah satu resiko DM sebagai berikut:

- a. Usia > 45 tahun.
- b. Berat badan lebih : Berat Badan Rata-rata > 110 % atau *Body Mass Index* > 23 kg/m².
- c. Hipertensi (≥ 140/90 mmHg).
- d. Riwayat DM dalam garis keturunan.
- e. Riwayat abortus berulang, melahirkan bayi cacat atau berat badan bayi saat lahir > 4000 gram.

f. Kolesterol HDL \leq 35 mg/dl atau trigliserida \geq 250 mg/dl.

Untuk kelompok resiko tinggi yang hasil pemeriksaan penyaringnya negatif, maka pemeriksaan penyaring diulang setiap tahun, sedangkan yang berusia $>$ 45 tahun tanpa faktor resiko, pemeriksaan penyaring dapat dilakukan setiap 3 tahun.

Sedangkan diagnosis DM terbagi dalam 4 tahap, yaitu:

a. Urinalisis : berat jenis (BJ) urin meningkat (1040), benda keton

b. Gula darah :

Puasa (8-10 jam), pada diabetes mellitus (DM) kadar gula puasa $>$ 130 mg %

Post prandial (1,5-2 jam setelah makan)

1) Normal : setelah makan kadar gula darah meningkat tetapi \leq 180 mg % 1,5-2 jam setelah makan kadar gula darah kembali normal.

2) Pada diabetes mellitus (DM) : 1,5 – 2 jam setelah makan belum kembali ke normal.

c. Test toleransi glukosa (TTG) dilakukan bila pemeriksaan darah dan urin meragukan dan TTG tidak dilakukan bila glukosa darah puasa meningkat, dapat dilakukan 2 cara yaitu :

1) Oral (TTGO) : Mula-mula ditetapkan kadar glukosa darah puasa, lalu diberikan 50 gram glukosa kemudian diukur

kadar glukosa darah 0,5; 1; 1,5; 2; 2,5;3 jam dan dibuat kurva GTT

2) Intravena (TTGIV) : dilakukan bila terdapat gangguan dalam usus, sehingga glukosa diberikan secara intravena.

d. Pemeriksaan HbA1c

Pemeriksaan terhadap sebagian kecil fraksi Hb terglukosilasi melalui proses enzimatik dan bersifat reversibel.

DM : Hb terglukosilasi meningkat secara proporsional dengan kadar glukosa darah selama 2-3 bulan sebelumnya.

4. Pengobatan Diabetes Mellitus (13)

Tujuan pengobatan diabetes mellitus adalah menurunkan resiko komplikasi mikrovaskuler dan makrovaskuler jangka panjang, mencegah komplikasi akut, meminimalkan kejadian hipoglikemik, dan secara keseluruhan menjaga kualitas hidup pasien. Untuk mencapai tujuan ini sangat penting dalam pengaturan kadar glukosa darah supaya mendekati normal. Hal tersebut dapat dicapai dengan memberikan edukasi kepada pasien. Penanganan yang tepat terhadap diabetes mellitus membutuhkan manajemen pengobatan dan penilaian terhadap kontrol kadar glukosa darah, pemantauan langsung dari pasien terhadap kadar glukosa darah, pemantauan kadar lipid dan

tekanan darah, pemantauan secara teratur terhadap perkembangan komplikasi, diet, olahraga dan modifikasi gaya hidup serta penggunaan agen hipoglikemik yang tepat. Penggunaan agen hipoglikemik dipertimbangkan berdasarkan klasifikasi diabetes mellitus, yaitu:

a. Diabetes mellitus tipe 1 (17)

Pengobatan diabetes mellitus tipe 1 membutuhkan pengganti insulin endogen dengan insulin eksogen seumur hidup.

- 1) Insulin kerja pendek dengan mula kerja 30 menit sampai 1 jam setelah pemberian, memberikan efek maksimum dalam 2 sampai 4 jam dan lama kerja hingga 12 jam, contoh: insulin regular.
- 2) Insulin kerja sedang dengan mula kerja 2 jam setelah pemberian dan dengan lama kerja 24 jam, contoh: insulin lente dan insulin isophan.
- 3) Insulin kerja panjang dengan mula kerja 7 jam setelah pemberian dan dengan lama kerja 36 jam, contoh: insulin ultralente.

b. Diabetes mellitus tipe 2

Diabetes mellitus tipe 2 dapat diobati dengan menggunakan antidiabetik oral. Antidiabetik oral dibagi menjadi 5 golongan, yaitu:

1) *Insulin secretagogues* (13)

Mekanisme aksi obat golongan ini antara lain merangsang sekresi insulin dengan menghambat kanal ATP sensitif kalsium pada membran sel β -pankreas kemudian terjadi depolarisasi membran mengakibatkan kanal kalsium terbuka diikuti masuknya kalsium ke dalam membran sehingga terjadi sekresi insulin. Obat yang termasuk golongan *insulin secretagogueus* adalah:

- a) Sulfonilurea dibagi atas 2 generasi, yaitu generasi pertama terdiri dari asetohexamid, klorpropamid, tolazamid, dan tolbutamid dan generasi kedua terdiri dari glibenklamid, glipizid, gliburid dan glimepirid.

Glibenkamid. 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 5 mg dua kali sehari (18).

b) *Non-sulfonilurea secretagogues* terdiri dari nateglinid dan repaglinid.

2) Biguanid (13)

Mekanisme aksi obat ini belum diketahui dengan jelas tetapi beberapa teori dikemukakan antara lain, menghambat proses glukoneogenesis dihati, menurunkan absorpsi glukosa disaluran pencernaan, dan meningkatkan proses glikolisis di jaringan. Obat ini dapat menurunkan kadar glukosa darah dengan meningkatkan sensitivitas insulin baik pada jaringan hepatic maupun perifer dengan mekanisme yang juga belum jelas.

3) Tiazolidindion (13)

Golongan obat ini dapat meningkatkan sensitivitas insulin dengan merangsang *peroxisome proliferator-activated receptor-gamma* (PPAR- γ). Reseptor ini dapat ditemukan diotot, hati dan jaringan lemak. Yang termasuk golongan ini adalah pioglitazon dan rosiglitazon.

4) Inhibitor α -glukosidase (13)

Obat ini bekerja secara kompetitif menghambat kerja enzim α -glukosidase di saluran pencernaan sehingga akan menghambat perubahan karbohidrat kompleks menjadi gula sederhana. Hal tersebut akan menyebabkan penundaan penyerapan karbohidrat di saluran pencernaan, sehingga dapat menurunkan hiperglikemia postprandial. Acarbose dan miglitol termasuk golongan obat ini.

5) Inhibitor dipeptidil peptidase-4 (13)

Inhibitor dipeptidil peptidase-4 merupakan golongan obat baru untuk terapi diabetes mellitus. Sitagliptin adalah satu-satunya obat yang disetujui oleh FDA sedangkan vildagliptin dan saxagliptin masih dalam pengujian. Obat ini bekerja dengan memperlambat inaktivasi hormon incretin di saluran pencernaan. Hormon incretin dilepaskan sepanjang hari oleh usus dan meningkat produksinya sebagai respon setelah makan. Hormon ini dapat meningkatkan produksi insulin dan pengeluarannya oleh sel β -pankreas.

Selain itu, terdapat juga tanaman yang dipercaya berguna untuk menurunkan kadar glukosa darah. Tanaman yang memiliki sifat hipoglikemik antara lain (19):

- 1) Buah mengkudu (*Morinda citrifolia* Linn)
- 2) Daun mimba (*Azadirachta indica* A. Juss)
- 3) Daun lidah buaya (*Aloe ferrox* Mill)
- 4) Daun dan bunga tapak dara (*Catharanthus roseus*)
- 5) Biji mahoni (*Swietenia macrophylla* King)
- 6) Biji alpukat (*Parsea gratissima* Gaertn)
- 7) Batang brotowali (*Tinospora crispa* Miers)
- 8) Daun dan buah jambu biji (*Psidium guajava*)
- 9) Buah, biji dan bunga jamblang (*Shzygium cumini*)
- 10) Daun kumis kucing (*Orthosiphon aristatus* Miq)

F. PENGATURAN KADAR GLUKOSA DARAH

Proses mempertahankan kadar glukosa yang stabil di dalam darah merupakan salah satu mekanisme homeostasis dan juga menjadi salah satu mekanisme dimana hepar dan jaringan ekstrahepatik serta beberapa hormon turut mengambil bagian (20). Pengaturan kadar glukosa darah sebagian besar tergantung dari sintesis glukosa, sintesis glikogen dan glikogenolisis dalam hati. Selain itu, jaringan ekstrahepatik seperti jaringan adiposa dan otot

memerlukan glukosa sebagai energi sehingga juga ikut mempertahankan kadar glukosa darah walaupun tidak sebesar hati (21). Banyaknya glukosa yang diambil dan dilepaskan oleh hati dan digunakan oleh jaringan-jaringan dipengaruhi oleh beberapa hormon. Adapun hormon-hormon yang mempengaruhi kadar glukosa darah, antara lain (20):

1. Insulin

Insulin disintesis oleh sel β pulau Langerhans pankreas. Insulin dapat meningkatkan pengambilan glukosa dan penyimpanan glukosa di dalam hati dan meningkatkan pengambilan glukosa di jaringan perifer sehingga dapat menurunkan kadar glukosa darah.

2. Glukagon

Glukagon merupakan hormon yang dihasilkan oleh sel-sel α pulau Langerhans pankreas. Sekresi hormon ini dirangsang oleh keadaan hipoglikemia. Glukagon dapat menyebabkan glikogenolisis dan meningkatkan glukoneogenesis sehingga menimbulkan efek hiperglikemia yang kerjanya berlawanan dengan kerja insulin.

3. Hormon Pertumbuhan (GH) dan Adenokortikotropin (ACTH)

Hormon ini disekresi oleh kelenjar hipofisis anterior yang cenderung menaikkan kadar glukosa darah. Hormon pertumbuhan

dapat menurunkan pengambilan glukosa oleh jaringan. Sebagian efek ini tidak langsung, karena hormon pertumbuhan memobilisasi asam lemak bebas dari jaringan adiposa dan asam lemak itu sendiri menghambat penggunaan glukosa.

4. Glukokortikoid

Hormon ini disekresi oleh korteks adrenal. Glukokortikoid dapat meningkatkan glukoneogenesis melalui peningkatan katabolisme protein di dalam jaringan, peningkatan ambilan asam amino oleh hepar dan peningkatan enzim transaminase.

5. Epinefrin

Epinefrin disekresikan oleh medula adrenal sebagai akibat rangsangan yang menimbulkan stres dan menimbulkan glikogenolisis di dalam hepar serta otot karena menstimulasi enzim fosforilase.

6. Hormon Tiroid

Hormon ini dapat menurunkan kadar glukosa darah dengan meningkatkan absorpsi glukosa dari saluran gastrointestinal. Tetapi hormon tiroid juga dapat meningkatkan glukoneogenesis dan glikogenolisis di hati.

G. METODE PENGUJIAN

1. Metode Uji Efek Anti Diabetes

Pengujian efek antidiabetes dapat dilakukan dengan dua metode, yaitu:

a. Metode uji toleransi glukosa oral

Toleransi glukosa adalah kemampuan tubuh untuk menggunakan glukosa. Pengujian dilakukan dengan memberi beban glukosa untuk melihat pengaruh terhadap toleransi glukosa. Pada pengujian ini, hiperglikemia hanya berlangsung beberapa jam setelah pemberian glukosa sebagai diabetogen. Prinsip metode ini adalah hewan coba yang digunakan dipuasakan selama lebih kurang 20-24 jam tetapi tetap diberikan minum, kemudian diambil cuplikan darah vena lalu diberikan sediaan obat yang diuji secara oral. Setengah hingga satu jam setelah pemberian sediaan obat, hewan uji diberikan larutan glukosa secara oral. Pengambilan cuplikan darah vena diulangi setelah perlakuan pada waktu-waktu tertentu (22).

b. Metode uji aloksan

Keadaan diabetes dapat diinduksi pada hewan coba dengan cara pankreatektomi dan juga secara kimia. Zat-zat kimia yang dapat digunakan sebagai penginduksi diabetes pada

hewan coba antara lain, aloksan, streptozotosin, diakzosida, adrenalin, glukagon, dan EDTA yang diberikan secara parenteral. Zat-zat tersebut dapat menginduksi diabetes secara permanen dengan gejala hiperglikemia. Metode yang lazim digunakan adalah aloksan karena obat ini cepat menimbulkan hiperglikemia permanen dalam waktu dua sampai tiga hari (22).

Prinsip metode (23)

Keadaan diabetes pada hewan uji dilakukan dengan memberikan aloksan monohidrat secara intravena dengan dosis 140 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 7 hari setelah pemberian aloksan. Pemberian obat antidiabetik secara oral dapat menurunkan kadar glukosa darah.

Aloksan dengan rumus molekul $C_4H_2N_2O_4$ (18) adalah 1,3-diazinan-2,4,5,6-tetron atau *mesoxalylurea 5-oxobarbituric acid* (18). 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 (24). Hewan yang mengalami diabetik aloksan sama sekali tidak kehilangan insulin. 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 jambu/kuning akan berkurang kelarutannya dalam air. Struktur kimia dari aloksan dapat dilihat pada Gambar 2.

Keadaan diabetes yang permanen pada hewan uji dapat dicapai dengan pemberian dosis aloksan yang optimal. Sebelum mencapai keadaan tersebut, hewan akan mengalami beberapa tahapan fluktuatif dimana akan terjadi fase hiperglikemia, fase hipoglikemia, dan kadang-kadang secara spontan akan kembali normal bahkan dapat menyebabkan kematian. Adapun fase-fase yang terjadi adalah:

- 1) Fase pertama: Setelah 5-19 menit pemberian aloksan secara intravena, akan terjadi fase hipoglikemia awal dimana saraf otonom akan mempengaruhi sel β pankreas akan melepaskan insulin yang tersimpan sehingga insulin masuk ke peredaran darah dan menyebabkan hipoglikemia.

Fase ini berlangsung singkat namun dapat berakibat fatal pada hewan.

- 2) 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 aloksan. Dalam fase ini, kadang-kadang kadar glukosa mencapai 6 g/ L.
- 3) 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 ketiga atau jam kesepuluh setelah pemberian aloksan secara intravena sangat berbahaya dan dapat menyebabkan kematian. Untuk keadaan fatal, dianjurkan pemberian glukosa.
- 4) 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 tersebut atau hari ke 3. Sindrom diabetes permanen terjadi akibat rusaknya sebagian sel-sel β pulau langerhans, tetapi ada pula yang menyatakan bahwa hanya fungsi sel β langerhans saja yang ambang rangsangannya menurun.

2. Metode Pemeriksaan Kadar Glukosa Darah

Penentuan kadar glukosa darah dapat dilakukan dengan empat metode, yaitu:

a. Metode oksidasi-reduksi (23,25)

Penentuan kadar glukosa didasarkan pada sifat glukosa sebagai zat pereduksi dalam larutan alkali panas, dimana (Cu^{2+}) akan direduksi oleh glukosa membentuk (Cu^+) (ion tembaga). Cu^+ yang terbentuk setara dengan glukosa yang dibutuhkan untuk mereduksi. Metode ini tidak spesifik karena adanya zat-zat non glukosa yang juga bersifat mereduksi. Metode yang termasuk dalam metode ini antara lain:

1) Metode Folin-Wu

Metode ini menggunakan fosfomolibdat yang akan direduksi oleh ion *cuprous* (Cu^+) membentuk molibdenum,

suatu kompleks berwarna biru yang dapat diukur secara fotometri.

2) Metode Somogyi-Nelson

Pada metode ini, ion *cuprous* (Cu^+) yang terbentuk akan mereduksi arsenomolibdat membentuk molibdenum. Arsenomolibdat menghasilkan kompleks warna yang lebih stabil dibandingkan fosfomolibdat.

3) Metode Neocuproin

Ion cuprous (Cu^+) akan membentuk kompleks berwarna jingga dengan *neocuproin*. Kompleks warna yang terbentuk lebih stabil dan intensif daripada kompleks warna biru molibdenum.

4) Metode Ferrisianida

Ion ferrisianida akan direduksi oleh glukosa menjadi ion ferrosianida yang berwarna dalam larutan alkali panas. Kelebihan garan ferri dititrasi dengan titrasi iodometri atau spektrofotometri.

b. Metode enzimatik (23)

Glukosa dapat ditentukan secara enzimatik. Metode ini menggunakan enzim-enzim yang bekerja secara spesifik pada

glukosa. Adapun metode-metode yang menggunakan enzim antara lain:

1) Metode glukosa oksidase

Enzim glukosa oksidase dapat mengkatalisis oksidasi glukosa menjadi asam glukonat disertai pembentukan H_2O_2 . Dengan adanya enzim peroksidase, H_2O_2 akan membebaskan O_2 yang akan mengoksidasi akseptor kromogen yang sesuai dan membentuk produk warna. Produk warna yang terbentuk sebanding dengan glukosa yang ada dan dapat diukur dengan spektrofotometri.

2) Metode heksokinase

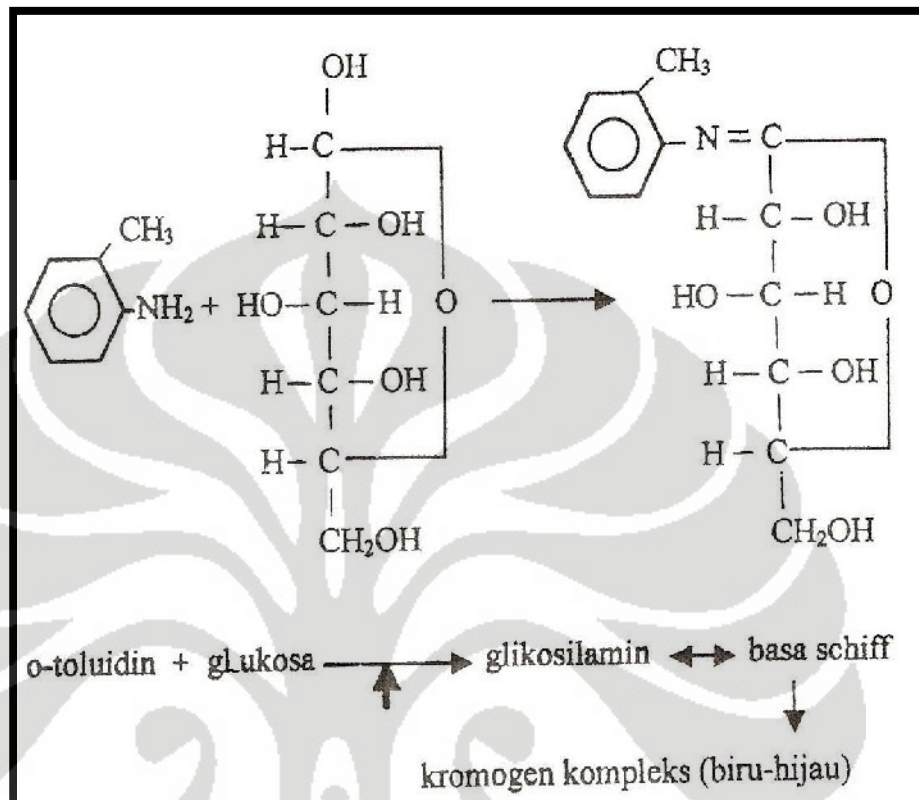
Glukosa akan difosforilasi oleh ATP dengan adanya enzim heksokinase dan Mg^{2+} . Glukosa-6-fosfat yang terbentuk akan dioksidasi oleh glukosa-6-fosfat dehidrogenase dengan adanya nikotinamid adenin dinukleotida fosfat ($NADP^+$) membentuk asam 6-fosfoglukonat dan NADPH. Banyaknya NADPH yang terbentuk sebanding dengan banyaknya glukosa yang dapat diukur pada panjang gelombang 340 nm.

3) Metode glukosa dehidrogenase

Enzim glukosa dehidrogenase dapat mengkatalisis oksidasi glukosa dengan adanya NAD^+ membentuk glukonolakton dan NADH. Banyaknya NADH sebanding dengan banyaknya glukosa.

c. Metode kondensasi (23)

Senyawa amin aromatik seperti o-toluidin, asam p-aminobenzoat, asam p-aminosalisilat, dan m-aminofenol dapat bereaksi dengan glukosa dalam larutan asam panas membentuk produk berwarna. Senyawa amin aromatik yang banyak digunakan untuk penentuan kadar glukosa adalah o-toluidin. Reaksi kondensasi antara glukosa dengan o-toluidin akan membentuk glikosilamin yang selanjutnya membentuk produk berwarna hijau biru yang dapat diukur dengan spektrofotometer pada panjang gelombang maksimum ± 630 nm. Reaksi ini berlangsung cepat dan memiliki sensitifitas yang tinggi. Reaksi dengan o-toluidin lebih cepat dan spesifik dibandingkan senyawa amin aromatik lainnya.



Gambar 3. Reaksi kondensasi o-toluidin dengan glukosa dalam larutan asam panas (23)

BAB III

BAHAN, ALAT DAN CARA KERJA

A. BAHAN

1. Hewan Uji

Hewan uji yang digunakan dalam penelitian ini adalah tikus putih jantan galur *Sprague Dawley* dengan berat 180 sampai 200 gram yang diperoleh dari Fakultas Peternakan Institut Pertanian Bogor.

2. Bahan Uji

Bahan uji yang digunakan adalah obat herbal "FAD" yang mengandung *cinnamon extract* (ekstrak kayu manis) 112 mg, *fenugreek extract* (ekstrak klabet) 50 mg, *bitter melon extract* (ekstrak pare) 150 mg dan kromium (Cr) 0,3 mg yang diperoleh dari PT. Darya Varia dan glibenklamid (Indofarma) sebagai obat standar pembandingan.

3. Bahan kimia

Bahan-bahan kimia yang digunakan dalam penelitian ini adalah aquadestilata, alkohol 70%, eter (Merck), heparin (Leo Pharmaceutical), aloksan monohidrat (Sigma), natrium klorida (Merck), asam trikloro asetat (Merck), asam asetat glasial (Merck), tiourea (Merck), o-toluidin (Merck), glukosa anhidrat (Merck) dan CMC (Merck).

B. ALAT

Alat yang digunakan dalam penelitian ini adalah sebagai berikut: Timbangan hewan (Ohaus), jarum dan alat suntik, sonde, sentrifugator (Gemmy Industrial corp.), tabung sentrifus mikro (*microtube*), spektrofotometer UV-Vis *double beam* (Spektrofotometer Shimadzu 265), *thermospectronic single beam*, timbangan analitik (Ohaus), pipet Eppendorf, *hot plate*, mikrohematokrit, mortir dan alu, serta alat-alat gelas.

C. CARA KERJA

1. Penyiapan Hewan Uji

Tikus putih jantan galur *Sprague Dawley* dengan berat 150 gram diaklimatisasi selama dua minggu agar dapat menyesuaikan diri dengan lingkungan. Selama proses adaptasi, dilakukan pengamatan kondisi umum dan penimbangan berat badan setiap minggu. Hewan yang sakit tidak dipergunakan dalam percobaan.

2. Rancangan Percobaan

Hewan uji sebanyak 60 ekor tikus putih jantan dipilih dengan menggunakan metode RAL (Rancang Acak Lengkap) untuk selanjutnya dibagi menjadi enam kelompok. Setiap kelompok terdiri dari 10 tikus putih jantan (Tabel 1).

Tabel 1
Pembagian Kelompok Hewan Uji

Kelompok	Jumlah Tikus	Perlakuan
1	10	Kontrol normal, diberikan larutan CMC 0,5% 1 mL/200 g bb
2	10	Kontrol perlakuan, dibuat diabetes dengan aloksan dosis 18 mg/200 g bb dan diberikan larutan CMC 0,5% 1 mL/ 200 g bb
3	10	Kontrol pembanding, dibuat diabetes dengan aloksan dosis 18 mg/200 g bb dan diberikan suspensi glibenklamid 1,8 mg/200 g bb dengan CMC 0,5% sebagai zat pensuspensi
4	10	Dibuat diabetes dengan aloksan dosis 18 mg/200 g bb dan diberikan sediaan Obat herbal "FAD" dosis I (216,07 mg/200 g bb tikus) dengan CMC 0,5% sebagai zat pensuspensi
5	10	Dibuat diabetes dengan aloksan dosis 18 mg/200 g bb dan diberikan sediaan Obat herbal "FAD" dosis II (432,14 mg/200 g bb tikus) dengan CMC 0,5% sebagai zat pensuspensi
6	10	Dibuat diabetes dengan aloksan dosis 18 mg/200 g bb dan diberikan sediaan Obat herbal "FAD" dosis III (864,28 mg/200 g bb tikus) dengan CMC 0,5% sebagai zat pensuspensi

3. Penentuan Dosis

a. Dosis sediaan obat herbal "FAD"

Dosis obat herbal "FAD" yang digunakan pada manusia adalah 1200,38 mg sehari. Berdasarkan konversi Lawrence dan Bacharach (26), dosis obat herbal "FAD" yang digunakan pada setiap 200 g bb tikus dalam sehari diperoleh dari $0,018 \times$ dosis

manusia (sehari), lalu dikalikan lagi dengan faktor farmakokinetik tikus terhadap manusia, yaitu 10 (27).

Dosis obat herbal "FAD" adalah:

$$0,018 \times 1200,38 \text{ mg/manusia} = 21,607 \text{ mg/200 g bb tikus}$$

$$21,607 \text{ mg/200 g bb tikus} \times 10 = 216,07 \text{ mg/200 g bb tikus}$$

Dosis I pada setiap 200 g bb tikus menggunakan dosis yang telah dikonversi. Untuk dosis II dan III menggunakan kelipatan 2 dan 4 dari dosis I.

Dosis I : 216,07 mg/200 g bb tikus

Dosis II : 432,14 mg/200 g bb tikus

Dosis III : 864,28 mg/200 g bb tikus

Volume larutan uji yang diberikan pada setiap kelompok uji dan kontrol pembanding sama dengan volume larutan CMC 0,5% yang diberikan pada kontrol normal dan kontrol perlakuan, yaitu sebanyak 1 mL/ 200 g bb.

b. Dosis glibenklamid sebagai kontrol pembanding

Glibenklamid diberikan dalam bentuk suspensi dengan CMC sesuai dosis oral efektif pada manusia, yaitu 10 mg dalam sehari yang dikonversikan berdasarkan konversi Lawrence dan Bacharach (26) yaitu dosis untuk setiap 200 gram bb tikus

setara dengan $0,018 \times$ dosis manusia lalu dikalikan lagi dengan faktor farmakokinetik tikus terhadap manusia, yaitu 10 (27).

Dosis glibenklamid adalah:

$$0,018 \times 10 \text{ mg/manusia} = 0,18 \text{ mg/200 g bb tikus}$$

$$0,18 \text{ mg/200 g bb tikus} \times 10 = 1,8 \text{ mg/200 g bb tikus}$$

c. Dosis aloksan

Dosis aloksan ditetapkan berdasarkan orientasi pada uji pendahuluan dengan pemberian aloksan dosis 18 mg/ 200 g bb. Pemilihan dosis penginduksian didasarkan kepada penelitian yang pernah dilakukan sebelumnya (28). Kadar glukosa dikontrol pada hari ke-3 dan ke-8 untuk meyakinkan bahwa aloksan dengan dosis tersebut dapat menyebabkan kerusakan pankreas tetapi tidak menyebabkan kematian.

4. Penyiapan Larutan Uji

a. Pembuatan sediaan obat herbal "FAD"

Obat herbal "FAD" ditimbang sesuai dosis yang telah ditentukan, kemudian disuspensikan ke dalam larutan CMC 0,5%.

b. Pembuatan suspensi glibenklamid

Dibuat suspensi glibenklamid 0,18% b/v dengan zat pensuspensi larutan CMC 0,5%.

c. Pembuatan larutan aloksan

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

d. Larutan CMC 0,5 %

Ditimbang CMC sebanyak 0,5 gram, lalu dikembangkan dengan 20 mL air panas dan dicukupkan volumenya hingga 100 mL.

5. Penyiapan Pereaksi Untuk Analisis Glukosa (29)

a. Larutan glukosa standar

Glukosa anhidrat seberat 100,0 mg dilarutkan dalam aquadestilata hingga volume 100 mL.

b. Larutan o-toluidin

Larutkan tiourea 3,0 gram dalam 1920 mL asam asetat glasial dan campur dengan baik sambil ditambahkan 80 mL o-toluidin kemudian simpan dalam botol berwarna gelap.

c. Larutan asam trikloro asetat 3%

Asam trikloro asetat kurang lebih 3,0 gram dilarutkan dalam aquadestilata hingga volume 100 mL.

6. Cara Pengambilan Darah (30)

Sebelum pengambilan sampel darah, tabung penampung darah (*microtube*) dioleskan terlebih dahulu dengan heparin lalu keringkan. Tikus dimasukkan kedalam wadah tertutup yang berisi kapas yang telah dibasahi dengan eter (1-2 mL) sampai pingsan selama kurang lebih 2 menit (dianastesi dengan eter), lalu tikus dikeluarkan dari wadah tersebut, kemudian darah diambil melalui mata (orbital sinus) dengan cara menusukkan pipet mikrohematokrit searah 45° . Darah yang keluar ditampung di dalam *microtube* sebanyak $\pm 0,2-0,3$ mL. Pengambilan darah pada tikus dapat dilihat pada Gambar 4.

7. Penetapan Kadar Glukosa darah

a. Penetapan panjang gelombang maksimum

Sebanyak 0,1 mL larutan glukosa standar 100,0 mg/dL ditambahkan dalam tabung sentrifus yang berisi 0,9 mL larutan asam trikloro asetat 3% lalu dikocok sampai homogen dan

disentrifus selama 5 menit dengan kecepatan 4000 rpm. Lalu dari larutan ini diambil 0,5 mL supernatan kemudian ditambahkan 3,5 mL o-toluidin dalam tabung reaksi. Kemudian lakukan pemanasan dengan *hot plate* 100°C selama 10 menit lalu dinginkan 2-3 menit (25). Serapan diukur dengan spektrofotometer dan dari spektrum akan diketahui panjang gelombang yang menunjukkan serapan maksimum.

b. Penetapan waktu kestabilan senyawa yang dibentuk

Pengamatan dilakukan dengan panjang gelombang maksimum menggunakan larutan glukosa standar sesuai dengan prosedur a. Pengamatan terhadap kestabilan serapan senyawa yang dibentuk dilakukan setiap 5 menit selama 1 jam.

c. Penetapan kadar glukosa sampel

Protein darah diendapkan dengan cara memasukkan 0,1 mL sampel darah ke dalam tabung sentrifus yang berisi 0,9 mL larutan asam trikloro asetat 3% b/v, kemudian disentrifus selama 5 menit. Supernatan diambil sebanyak 0,5 mL lalu ditambahkan pada 3,5 mL larutan o-toluidin. Sebagai standar digunakan 0,1 mL glukosa standar 100 mg/dL, sedangkan untuk blangko digunakan 0,1 mL larutan aquadestilata. Seluruh tabung dimasukkan ke dalam *beaker glass* berisi air lalu letakkan diatas *hot plate* 100°C selama 10 menit lalu dinginkan

2-3 menit. Serapan diukur pada panjang gelombang maksimum. Perhitungan kadar glukosa darah tertera pada Lampiran 1.

8. Percobaan (22,31)

Pada uji pendahuluan, dilakukan dengan menginduksi tikus dengan aloksan dosis 18 mg/200 gram bb tikus. Setelah penginduksian tersebut, kadar glukosa darah tikus dikontrol pada hari ke-3 dan ke-8 untuk meyakinkan bahwa aloksan dengan dosis tersebut dapat menyebabkan kerusakan pankreas tetapi tidak menyebabkan kematian.

Pada hari ke-1 percobaan dimulai, dilakukan penentuan kadar glukosa puasa seluruh hewan uji secara kuantitatif. Setiap kali sebelum pengambilan darah, semua hewan uji dipuasakan selama 16 jam. Kadar glukosa yang diperoleh merupakan kadar glukosa darah minggu pertama awal. Kemudian larutan aloksan disuntikkan di bagian ekor tikus secara intra vena pada lima kelompok tikus. Setelah penyuntikkan, tikus diberi makan dan minum seperti biasa, kemudian setelah 2 jam dilakukan lagi pengambilan sampel darah sebagai kadar glukosa darah post prandial minggu pertama.

Pada hari ke-3, diamati keadaan tikus meliputi berat badan, polidipsi dan poliuri. Kadar glukosa darah diukur secara kuantitatif

kemudian ditunggu selama 5 hari untuk menstabilkan hiperglikemia pada tikus.

Pada hari ke-8, dilakukan pengambilan darah dan hasil pengukuran kadar glukosa darah ditetapkan sebagai kadar glukosa darah minggu kedua atau hiperglikemia awal. Kemudian tikus diberi bahan uji sesuai dengan rancangan percobaan. Lalu 2 jam setelah pemberian bahan uji, sampel darah diambil kembali dan diukur sebagai kadar glukosa darah post prandial minggu kedua.

Setelah selesai perlakuan, semua tikus di istirahatkan di dalam kandang masing-masing dan diberi makan dan minum seperti biasanya. Pemberian larutan bahan uji, pembanding dan aquadest dilakukan setiap hari selama 4 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 (T_0), sedangkan kadar glukosa darah post prandial ditetapkan sebagai (T_2).

9. Uji Statistik Terhadap Kadar Glukosa Darah (32,33)

Hasil percobaan dihitung secara statistik. Perlakuan minggu pertama hingga awal minggu kedua diuji kebermaknaannya dalam proses membuat hewan coba menjadi diabetes dengan Uji T untuk 2 populasi (*Paired T Test*). Sedangkan untuk untuk melihat

pengaruh pemberian bahan uji terhadap hewan coba dilakukan uji dengan metode Tukey (kebebasan galat), metode Levene (kehomogenan ragam), metode Saphiro Wilk (distribusi normal), lalu dilanjutkan dengan uji analisis varians satu arah (ANOVA) untuk melihat adanya perbedaan kadar glukosa awal dan hiperglikemia awal antar kelompok. Jika terdapat perbedaan secara bermakna antar kelompok perlakuan, maka dilanjutkan dengan uji beda nyata terkecil (BNT) untuk mengetahui hasil yang lebih baik antar kelompok perlakuan. Selain itu juga dilakukan uji *Main Effect Plot* dan *Interaction Plot* untuk mengetahui ada atau tidaknya interaksi antara jenis perlakuan dengan waktu.

BAB IV

HASIL DAN PEMBAHASAN

A. HASIL PERCOBAAN

1. Panjang Gelombang Maksimum

Panjang gelombang maksimum yang diperoleh dari hasil pengukuran terhadap larutan glukosa standar yang telah direaksikan dengan pereaksi o-toluidin secara spektrofotometri UV-Vis adalah 633 nm. Hasil pengukuran ini dapat dilihat pada Gambar 5.

2. Data Kestabilan Senyawa Hasil Reaksi Glukosa dengan O-Toluidin

Kromogen kompleks berwarna hijau-biru yang terbentuk sebagai hasil reaksi kondensasi antara glukosa dengan o-toluidin bersifat tidak stabil (23). Oleh karena itu, pengukuran harus segera dilakukan setelah direaksikan atau paling lambat setelah 5 sampai 10 menit setelah direaksikan. Untuk meningkatkan ketelitian dan meminimalisasi penyimpangan pada saat pengukuran kadar glukosa darah, ditetapkan satu standar waktu yaitu 5 menit setelah glukosa direaksikan dengan o-toluidin.

3. Hasil Pengukuran Kadar Glukosa Darah

Hasil pengukuran kadar glukosa darah hewan uji saat puasa (T₀) dan post prandial (T₂) dapat dilihat pada Tabel 2 sampai 7,

sedangkan untuk grafik kadar glukosa darah To dan T2 pada masing-masing kelompok dapat dilihat pada Gambar 6 sampai 17.

B. PEMBAHASAN

Pada uji pembuktian khasiat obat herbal "FAD" ini digunakan tikus sebagai hewan uji karena mudah didapat dan lebih murah jika dibandingkan dengan hewan uji coba lain yang umum digunakan untuk metode ini, seperti kelinci. Tikus betina tidak diikutsertakan karena kemungkinan terjadinya kehamilan. Jika hal ini terjadi dapat mempengaruhi variasi data kadar glukosa darah yang diperoleh selama penelitian. Hal ini disebabkan karena pada keadaan kehamilan terdapat adanya plasenta yang mengeluarkan estrogen, estrogen ini dapat merangsang terjadinya proses glikogenolisis sehingga kadar glukosa darah meningkat. Sebelum penelitian dilakukan, tikus diaklimatisasi selama 2 minggu agar dapat menyesuaikan diri dengan lingkungan selama penelitian berlangsung.

Tikus putih untuk penelitian ini adalah tikus yang sehat dengan ciri-ciri bulu bersih, mata jernih bersinar, dan tingkah laku normal. Selama penelitian, semua tikus diberi makan dan minum yang sama untuk setiap kelompok. Sebelum diberi perlakuan, tikus dipuasakan terlebih dahulu untuk meniadakan pengaruh zat-zat lain pada pengukuran kadar glukosa darah puasa sebagai kadar glukosa darah awal.

Metode o-toluidin digunakan untuk mengukur kadar glukosa darah karena spesifik, hasil yang diperoleh mendekati kadar sebenarnya, pereaksi mudah diperoleh jika dibandingkan dengan pereaksi lainnya. O-toluidin merupakan senyawa amin aromatis yang dapat bereaksi dengan glukosa dalam larutan asam asetat glasial panas yang akan membentuk kromogen kompleks. Kestabilan intensitas warna harus diperhatikan dalam pengukuran ini karena dapat mempengaruhi serapan yang diperoleh. Intensitas warna dipengaruhi oleh temperatur dan lama pemanasan, keadaan optimal yang diperoleh pada pemanasan adalah pada temperatur 100°C selama 10 menit. Warna yang terbentuk lama kelamaan akan menjadi muda. Berdasarkan data kestabilan senyawa o-toluidin terlihat bahwa konsentrasi hanya stabil dalam 5 menit pertama setelah reaksi (23). Oleh karena itu, pengukuran harus dilakukan secepatnya, paling tidak kurang dari 5 menit untuk memperkecil kemungkinan terjadinya kesalahan pengukuran. Warna kromogen ini diukur serapannya dengan menggunakan spektrofotometer pada panjang gelombang *visible*, yaitu 633 nm. Dalam pelaksanaannya, pereaksi o-toluidin tidak stabil sehingga harus selalu dibuat baru sebelum pengukuran dan harus terlindung dari cahaya, dalam hal ini peneliti menggunakan *aluminium foil* untuk melapisi wadah o-toluidin.

Penelitian ini menggunakan metode uji aloksan yang merupakan uji praklinik yang lebih mendekati keadaan penderita diabetes yang sebenarnya. Pada metode ini, pankreas hewan uji dirusak dengan aloksan sehingga hanya dapat menghasilkan sedikit insulin dan terjadi hiperglikemia. Obat herbal "FAD" diuji kemampuannya untuk merangsang sekresi insulin.

Pada penelitian ini digunakan 4 jenis kelompok perlakuan, yaitu kelompok normal, kelompok induksi, kelompok standar pembanding dan kelompok bahan uji. Kelompok normal diperlukan untuk melihat kebermaknaan secara klinis dalam proses penginduksian dan untuk mengetahui kadar normal glukosa darah selama percobaan. Kelompok induksi dibutuhkan untuk memantau kestabilan terjadinya penyakit selama percobaan berlangsung. Kelompok standar pembanding dalam penelitian ini adalah glibenklamid, dibutuhkan untuk melihat pengaruh obat antidiabetik oral yang telah terbukti khasiatnya dalam menurunkan kadar glukosa darah. Glibenklamid merupakan obat golongan sulfonilurea generasi kedua yang sering digunakan pada pasien diabetes mellitus. Glibenklamid dipilih sebagai standar pembanding karena mekanisme kerjanya merangsang sekresi insulin dengan menghambat kanal ATP sensitif kalsium pada membran sel β -pankreas kemudian terjadi depolarisasi membran mengakibatkan kanal kalsium terbuka diikuti masuknya kalsium ke dalam membran

sehingga terjadi sekresi insulin. Glibenklamid tidak larut dalam air, sehingga dalam pembuatan sediaan harus disuspensikan dengan CMC (*Carboxy Methyl cellulosa*) 0,5%. Penggunaan CMC ini tidak mempengaruhi kadar glukosa darah karena hewan uji tidak memiliki enzim selulase yang dapat menguraikan polimer selulosa.

Berdasarkan orientasi pada uji pendahuluan, dosis aloksan yang digunakan adalah 18/200 gram bb yang merupakan dosis optimal untuk induksi diabetes. Dosis obat herbal "FAD" yang digunakan dalam penelitian ini adalah 216,07 mg/200 g bb tikus, 432,14 mg/200 g bb tikus, 864,28 mg/200 g bb tikus. Dosis ini setara dengan 1,2 dan 4 kali dosis lazim yang digunakan manusia dan telah dikonversikan kepada tikus. Sebelum menetapkan dosis lazim untuk manusia dalam sehari, dilakukan penimbangan terhadap 20 kaplet untuk selanjutnya dirata-ratakan sehingga memperoleh berat per kaplet. Bahan uji diberikan secara peroral karena disesuaikan dengan penggunaannya pada manusia.

Pada hari pertama percobaan, sebelum diinduksi dengan aloksan kadar glukosa darah tikus menunjukkan hasil yang normal, lalu setelah 2 jam diinduksi terlihat peningkatan kadar glukosa darah. Pada hari ke-8, peningkatan kadar glukosa darah terhadap hewan uji yang diinduksi telah menunjukkan kestabilan. Dalam pengamatan gejala fisik pada tikus yang mengalami hiperglikemia terjadi penurunan berat

badan, polidipsi dan poliuri yang sangat jelas. Pengamatan terhadap polidipsi dan poliuri hanya dilakukan secara visual.

Pada hari ke-15, ke-22 dan ke-29, kadar glukosa darah kelompok normal masih tetap dalam rentang normal, sedangkan kelompok induksi terus mengalami hiperglikemia. Sedangkan untuk kelompok standar pembanding dan kelompok bahan uji terlihat penurunan kadar glukosa darah secara bertahap setiap minggunya, terjadi pula perbaikan tanda fisik seperti menurunnya gejala polidipsi dan poliuri. Efektivitas penurunan kadar glukosa darah yang dihasilkan oleh masing-masing kelompok bahan uji (Tabel 8) dosis 1, 2 dan 3 pada T₀ secara berturut-turut adalah 21,61%; 26,21%; dan 13,50%, sedangkan pada T₂ adalah 27,04%; 32,64%; dan 18,43%, prosentase efektivitas ini juga dapat dilihat pada diagram efektivitas penurunan kadar glukosa darah pada Gambar 18 dan 19. Jika dilihat hasil penurunan kadar glukosa darah pada setiap kelompok bahan uji, terlihat bahwa kelompok bahan uji dosis 1, 2 dan 3 memiliki efek terhadap penurunan kadar glukosa darah, tetapi berdasarkan hasil yang diperoleh selama penelitian terlihat bahwa efek penurunan kadar glukosa darah yang ditimbulkan oleh pemberian bahan uji dosis 3 tidak sebaik bahan uji dosis 1 dan 2. Hal ini dapat disebabkan oleh adanya kandungan polisakarida galaktomannan di dalam komponen bahan uji yang digunakan, terutama fenugreek (klabet).

Berdasarkan hasil analisis varians (ANOVA) satu arah yang dilakukan terhadap setiap kelompok perlakuan, dapat terlihat bahwa terdapat perbedaan secara bermakna antar kelompok perlakuan. Berdasarkan uji BNT (Beda Nyata Terkecil) terlihat bahwa kelompok bahan uji dosis 2 memiliki hasil yang paling baik dalam menurunkan kadar glukosa darah jika dibandingkan dengan kelompok bahan uji dosis 1 dan 3. Setelah itu, analisis dilanjutkan dengan menggunakan uji *Main Effect Plot* untuk melihat gambaran kurva penurunan kadar glukosa darah berdasarkan jenis perlakuan dan waktu penggunaan, lalu uji *Interaction Plot* yang merupakan uji lanjutan untuk melihat apakah terdapat interaksi antara kurva jenis perlakuan dan waktu perlakuan. Berdasarkan analisis ini dapat terlihat bahwa obat herbal yang memiliki efek signifikan dalam penurunan kadar glukosa darah adalah kelompok bahan uji dosis 2 (432,14 mg/200 g bb tikus) terutama sesudah 2 minggu penggunaan untuk memperoleh penurunan kadar glukosa darah yang signifikan.

BAB V

KESIMPULAN DAN SARAN

A. KESIMPULAN

Berdasarkan uji khasiat obat herbal "FAD" terhadap tikus putih jantan yang diinduksi dengan aloksan, diperoleh kesimpulan bahwa obat herbal "FAD" dengan dosis 216,07 mg/200 g bb tikus, 432,14 mg/200 g bb tikus, 864,28 mg/200 g bb tikus memberikan efek penurunan kadar glukosa darah yang bermakna. Obat herbal dengan dosis 432,14 mg/200 g bb tikus memiliki potensi yang paling baik untuk menurunkan kadar glukosa darah dibandingkan dengan dosis yang lain terutama setelah minggu kedua.

B. SARAN

Untuk mendapatkan hasil penelitian yang lebih baik mengenai uji khasiat antidiabetes obat herbal "FAD" disarankan agar menggunakan metode pengukuran kadar glukosa darah yang memiliki akurasi lebih tinggi dibandingkan dengan metode kondensasi, seperti pengukuran menggunakan *reflectance test*.

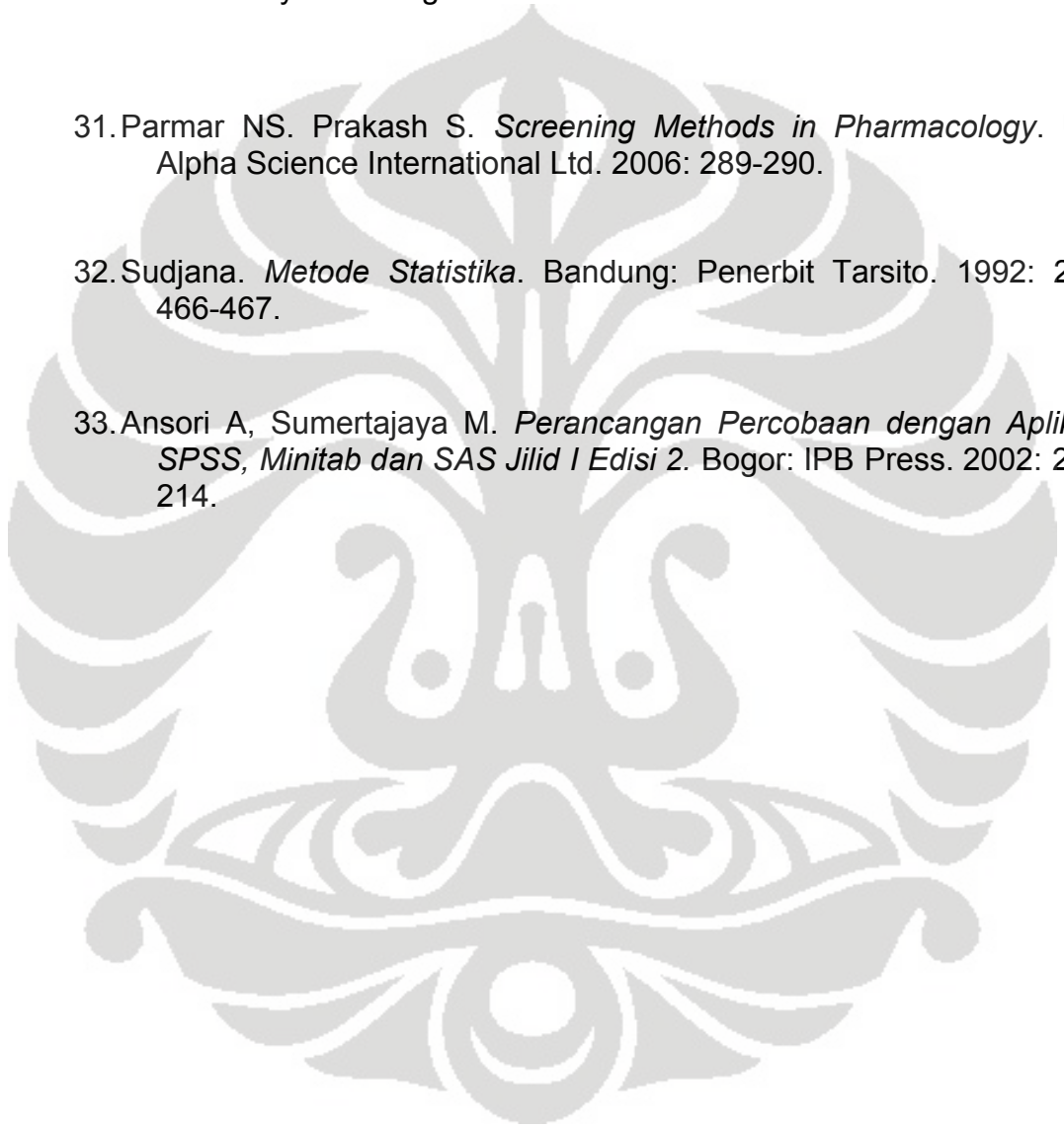
DAFTAR ACUAN

1. American Diabetes Association. *Screening for tipe-2 Diabetes Care*. USA. 1999: 22.
2. Sudoyo AW, Setiyohadi B, Alwi I, Simadibrata M, Setiati S. *Buku Ajar Ilmu Penyakit Dalam Jilid III Edisi 4*. Jakarta: Departemen Ilmu Penyakit Dalam FK UI. 2007: 1852.
3. http://jn.pubs.nrc.gc.ca/ppv/RPViewDoc_handler=HandleInitialGet&articleFile=y07-080.pdf&journal=cjpp, diakses pada 7 September 2008 pukul 18.51 WIB.
4. <http://www.springerlinkjn.com/content/u26k04v3177487g1>, diakses pada 8 September 2008 pukul 13.51 WIB.
5. http://jn.pubs.nrc.gc.ca/ppv/RPViewDoc_handler=HandleInitialGet&articleFile=y09-103.pdf&journal=cjpp, diakses pada 7 September 2008 pukul 18.55 WIB.
6. Jones SB, Luchsinger AE. *Plant Systematics 2nd Ed*. Singapore: Mcgraw Hill Book Company. 1987: 477-479.
7. Pulle AA. *Compendium Van De Terminologie Nomenclature En Systematiek De Zoodplanten*. Utrecht: N.V.A Oosthoek's Uitgeversmaatschappij . 1952: 208, 293.
8. Wiryowidagdo S. *Kimia Dan Farmakologi Bahan Alam Edisi 2*. Jakarta: EGC. 2007: 158-159.

9. Gruenwald J, Brendler T, Jaenicke C. *PDR for Herbal Medicine*. New York: Medical Economics Company. 2000: 191, 306.
10. Anonim. *E/S/C/O/P Monograph The Scientific Foundation for Herbal Medicinal Product 2nd edition*. New York: Thieme Stuttgart. 2000: 92, 511-512.
11. Joy PP, Thomas J. *Medicinal Plant*. Kerala: Kerala Agricultural University. 1998: 132.
12. <http://jn.nutrition.org/cgi/content/full/130/4/715>, *The Biochemistry of Chromium*, diakses pada 19 September 2008 pukul 12.39 WIB.
13. Chisholm B, Marie A, Barbara GW. *Pharmacotherapy Principles & Practice*. San Fransisco: McGraw Hill Medical. 2008: 684-702.
14. [World Health Organization](http://www.who.int), 1999, [Definition, Diagnosis and Classification of Diabetes Mellitus and its Complication](http://www.who.int), Department of Noncommunicable Disease Surveillance. http://id.wikipedia.org/wiki/Diabetes_mellitus, diakses pada 3 September 2008, pukul 16.00 WIB.
15. Ronald KC, Gordon CW, et al. *Joslin's Diabetes Mellitus, 14th Ed.* Boston: Lippincott Williams & Wilkins. 2005: 331,336.
16. Adam, Fabiola, Adam J. *Klasifikasi dan Kriteria Diagnosis Diabetes Mellitus*. Dexa Medica. 2002: 3-15.
17. Neal MJ. *Medical Pharmacology at a Glance*. Oxford: Blackwell Scientific Publication. 1987: 71.
18. Reynold, James EF. *Martindale The Extra Pharmacopeia 28th Ed.* London: The Pharmaceutical Press. 1982: 854.

19. Widowati L, Dzulkarnain B, Sa'roni. *Tanaman Obat untuk Diabetes Mellitus*, Cermin Dunia Kedokteran, No. 116. 1997: 53-54.
20. Murray, Robert K, Daryl K. Granner. *Biokimia Harper Edisi 24*. Jakarta: Penerbit Buku Kedokteran EGC. 1999: 141,163,173,181,199, 205-208, 211.
21. Price AS, Lorraine MW. *Patofisiologi dan Konsep Klinis Proses-Proses Penyakit Buku 2, Edisi 4*. Jakarta: Penerbit Buku Kedokteran EGC. 1994: 113-115.
22. Anonim. *Penapisan Farmakologi, Pengujian Fitokomia dan Pengujian Klinik*. Jakarta: Pengembangan dan Pemanfaatan Obat Bahan Alam. 1993: 15-17.
23. Burtis, Carl A, Ashwood ER. *Tietz Textbook of Clinical Chemistry 3rd Ed*. Philadelphia: W.B. Saunders Company. 1999: 613-635.
24. <http://toiUSD.multiply.com/journal/item/220/Alloxan>, diakses pada 3 September 2008, pukul 17.03 WIB.
25. Sonnenwirth, Alex C, Jarett L. *Gradwohl's Clinical Laboratory Method and Diagnosis 8th Ed*. 2000: 223-225, 255.
26. Harmita, Radji M. *Buku Ajar Analisis Hayati*. Depok: Departemen Farmasi FMIPA UI. 2004: 67-69.
27. Ladu BN, Mandel HG, Way EL. *Fundamentals of Drug Metabolism and Drug Disposition*. USA: The Williams and Wilkins Company. 1972: 187-203.
28. Maria F. *Pengaruh Sari Buah Mengkudu Terhadap Kadar Glukosa Darah Tikus Putih Yang Diinduksi Dengan Aloksan*. Depok: Departemen Farmasi FMIPA UI. 2001.

29. Soewoto H, Sadikin M. *Biokimia Eksperimen Laboratorium*. Jakarta: Widya Medika. 2001: 183, 185.
30. Hoff J. *Methods of Mouse Laboratory Animal Vol.29 No. 16*. Michigan: University of Michigan. 2000: 51.
31. Parmar NS, Prakash S. *Screening Methods in Pharmacology*. UK: Alpha Science International Ltd. 2006: 289-290.
32. Sudjana. *Metode Statistika*. Bandung: Penerbit Tarsito. 1992: 261, 466-467.
33. Ansori A, Sumertajaya M. *Perancangan Percobaan dengan Aplikasi SPSS, Minitab dan SAS Jilid I Edisi 2*. Bogor: IPB Press. 2002: 207-214.



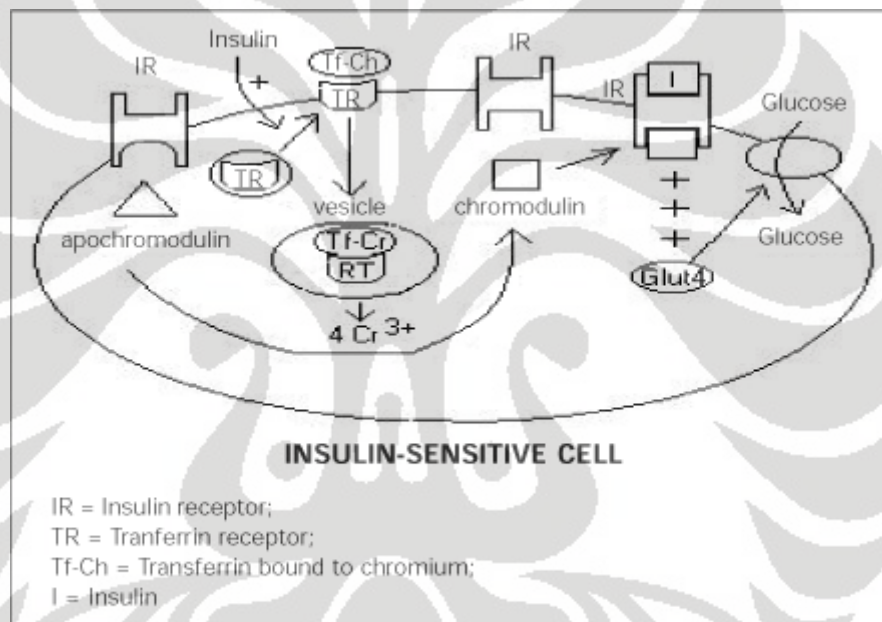
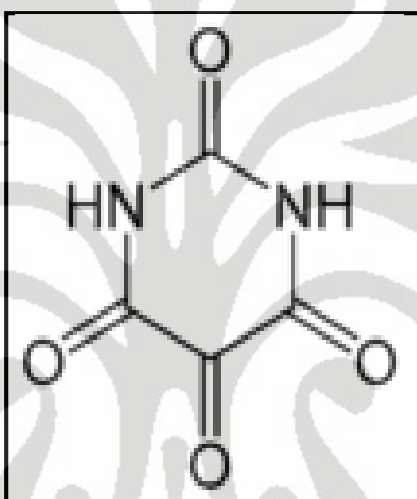


Fig. 1 – Mechanism proposed for the chromium participation in the insulin action

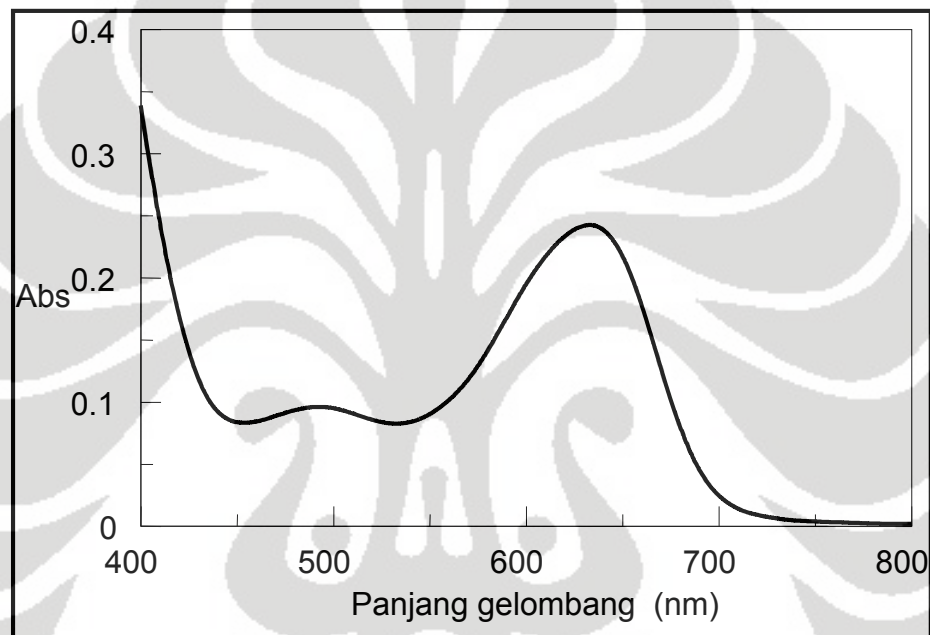
Gambar 1. Reaksi kromium (12)



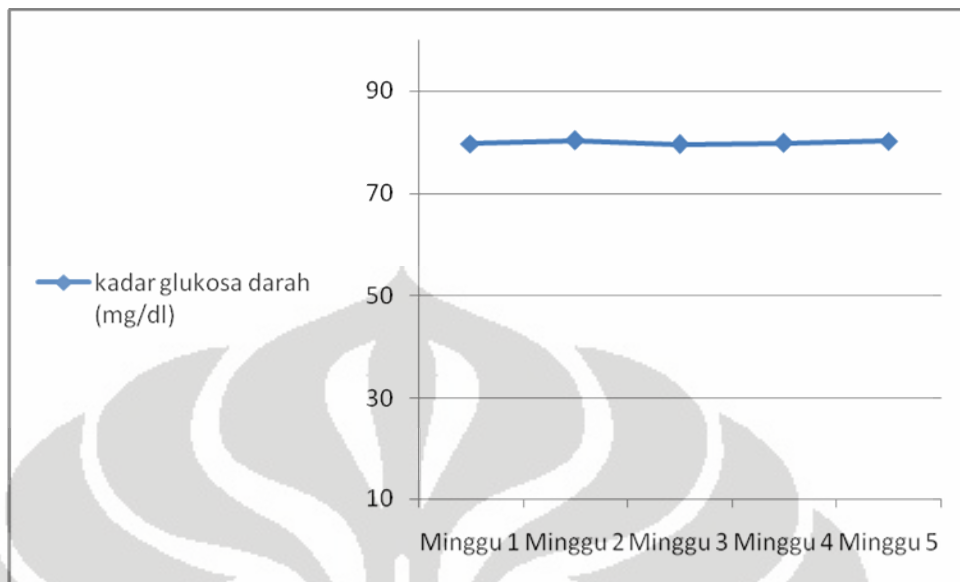
Gambar 2. Struktur aloksan



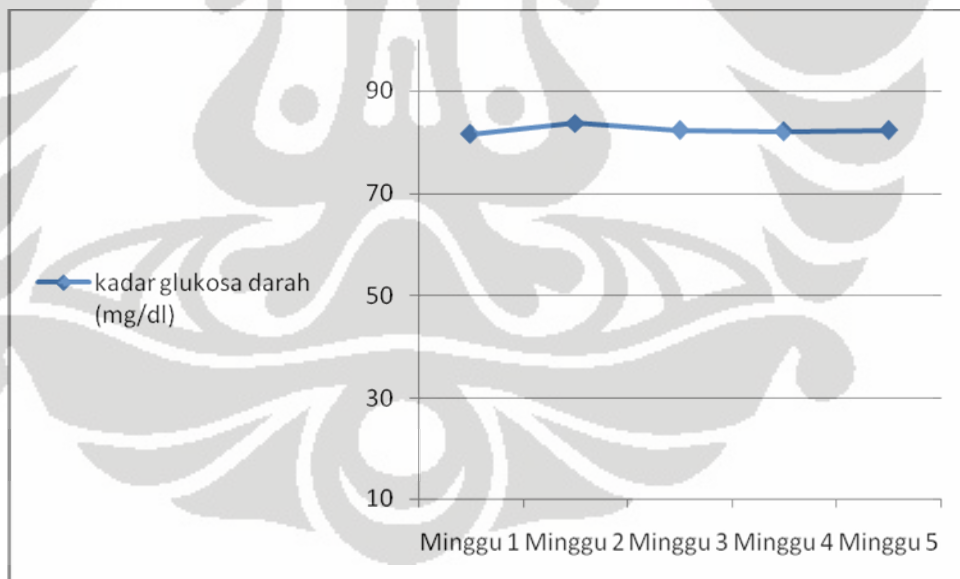
Gambar 4. Pengambilan darah pada tikus



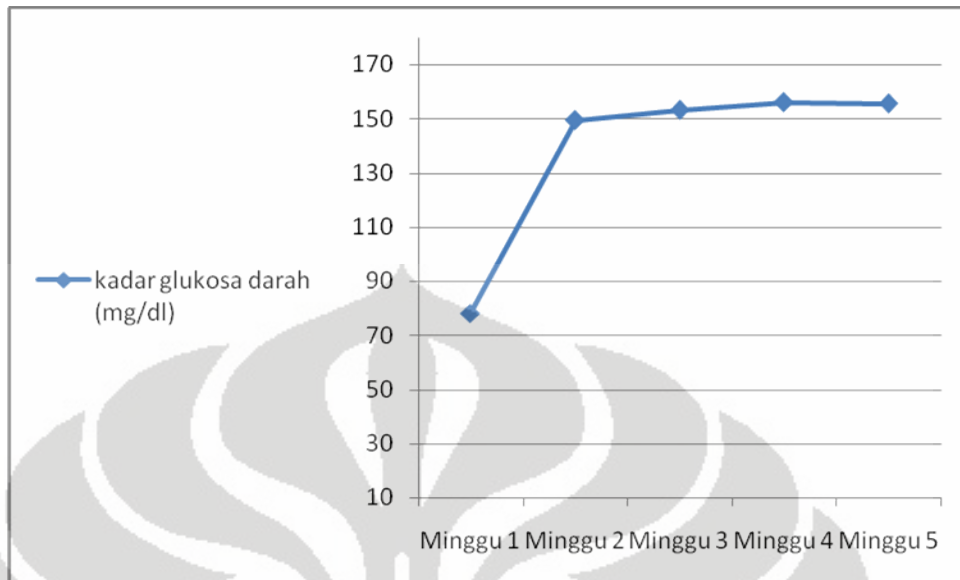
Gambar 5. Kurva Serapan Senyawa Hasil Reaksi Glukosa dengan O-Toluidin pada $\lambda=633$ nm



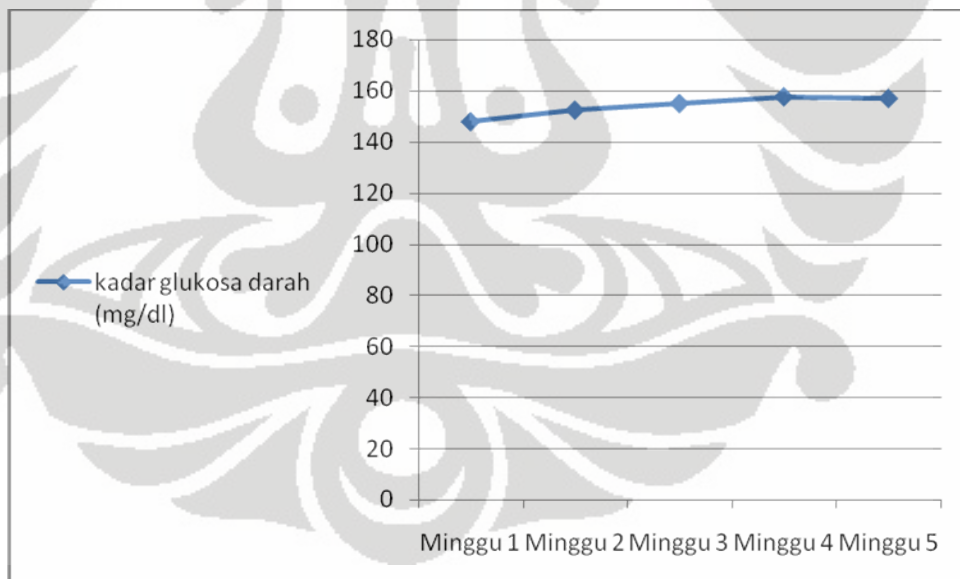
Gambar 6. Grafik kadar glukosa darah T0 rata-rata kelompok 1 Ket: T0 adalah glukosa darah puasa



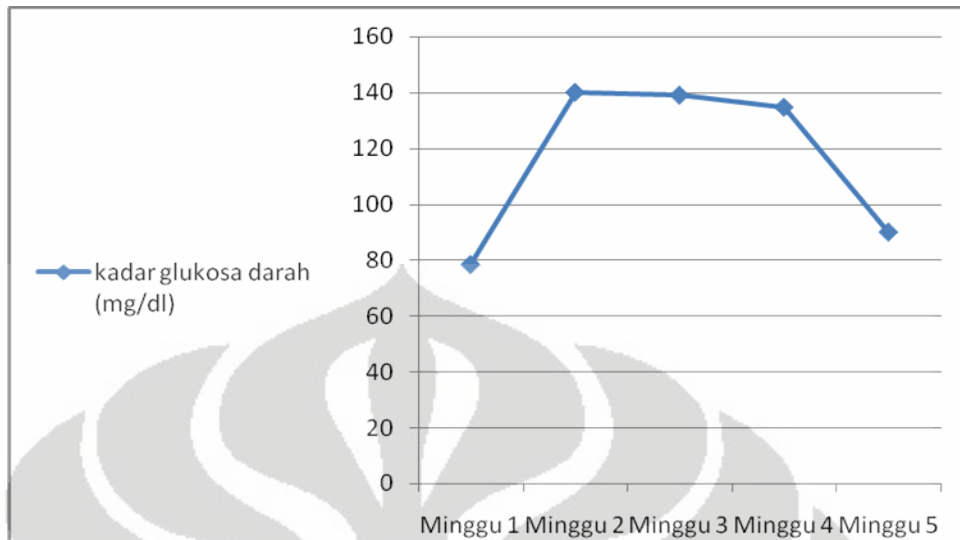
Gambar 7. Grafik kadar glukosa darah T2 rata-rata kelompok 1 Ket : T2 adalah glukosa darah post prandial



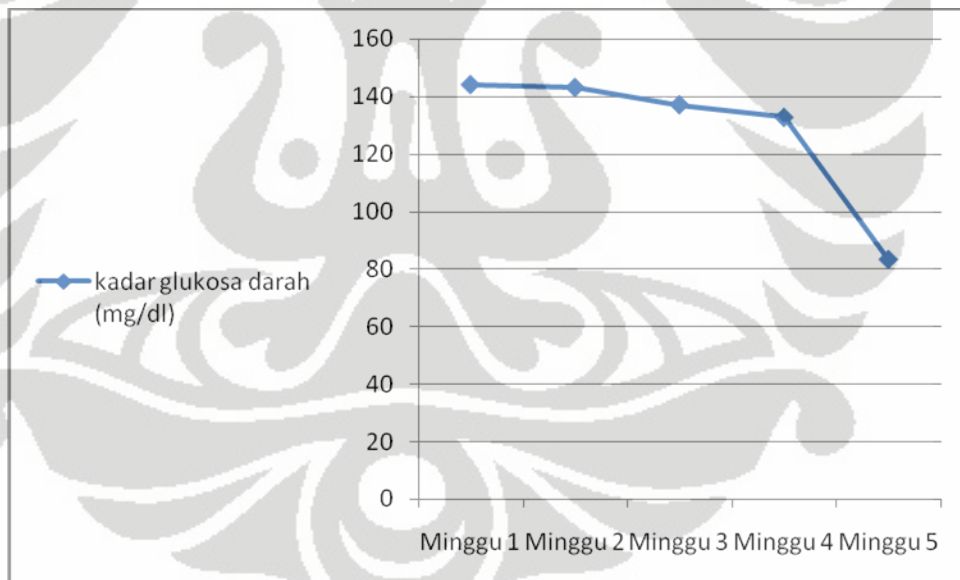
Gambar 8. Grafik kadar glukosa darah T0 rata-rata kelompok 2
Ket: T0 adalah glukosa darah puasa



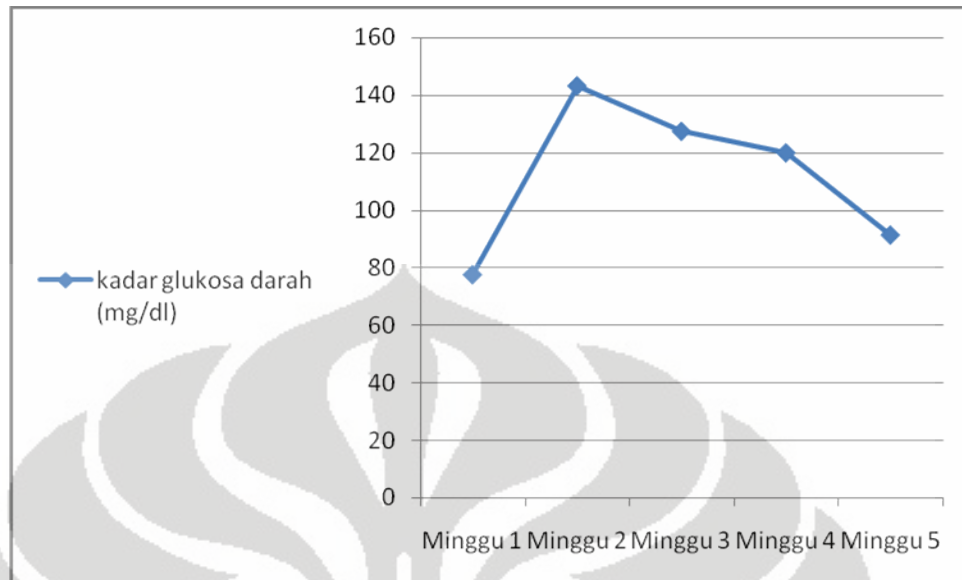
Gambar 9. Grafik kadar glukosa darah T2 rata-rata kelompok 2
Ket : T2 adalah glukosa darah post prandial



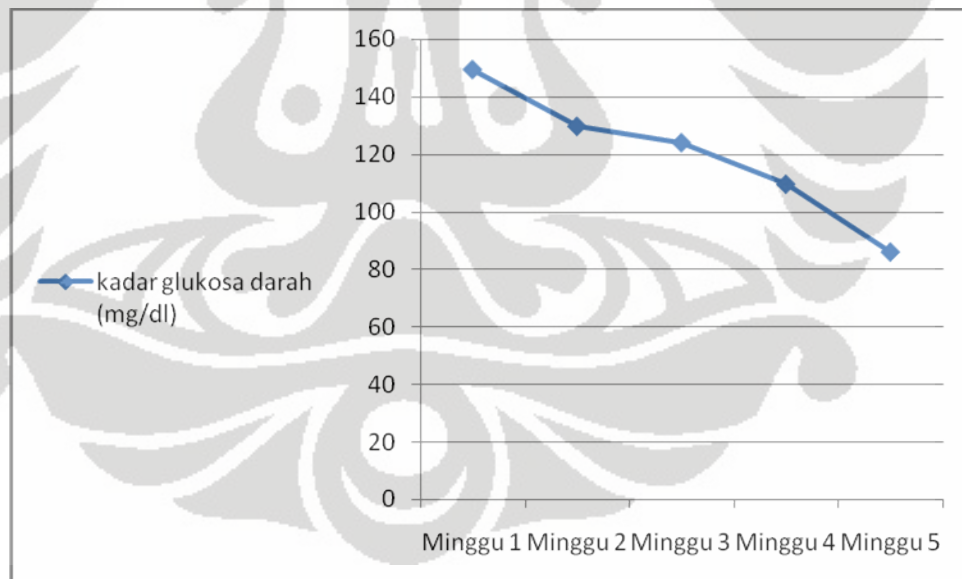
Gambar 10. Grafik kadar glukosa darah T0 rata-rata kelompok 3 Ket: T0 adalah glukosa darah puasa



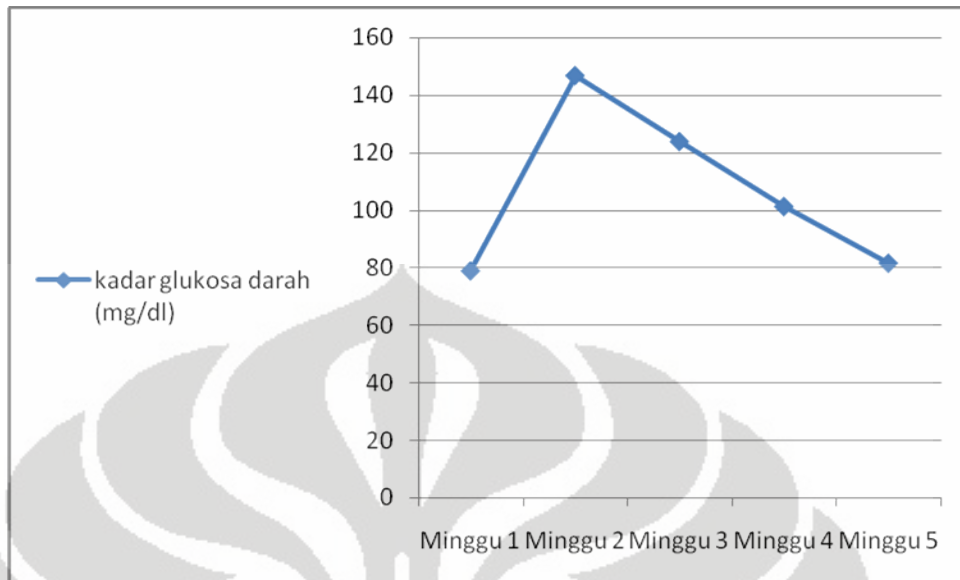
Gambar 11. Grafik kadar glukosa darah T2 rata-rata kelompok 3 Ket : T2 adalah glukosa darah post prandial



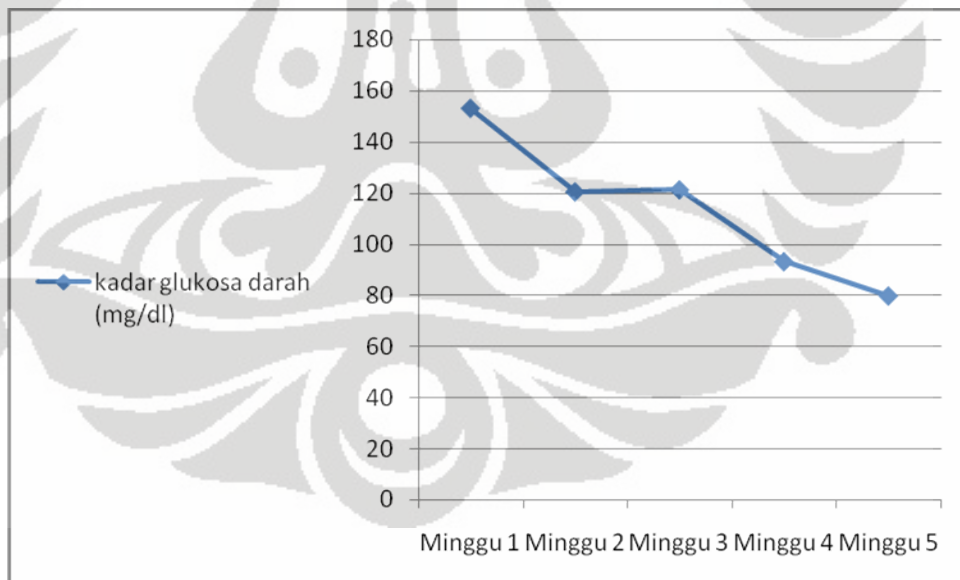
Gambar 12. Grafik kadar glukosa darah T0 rata-rata kelompok 4 Ket: T0 adalah glukosa darah puasa



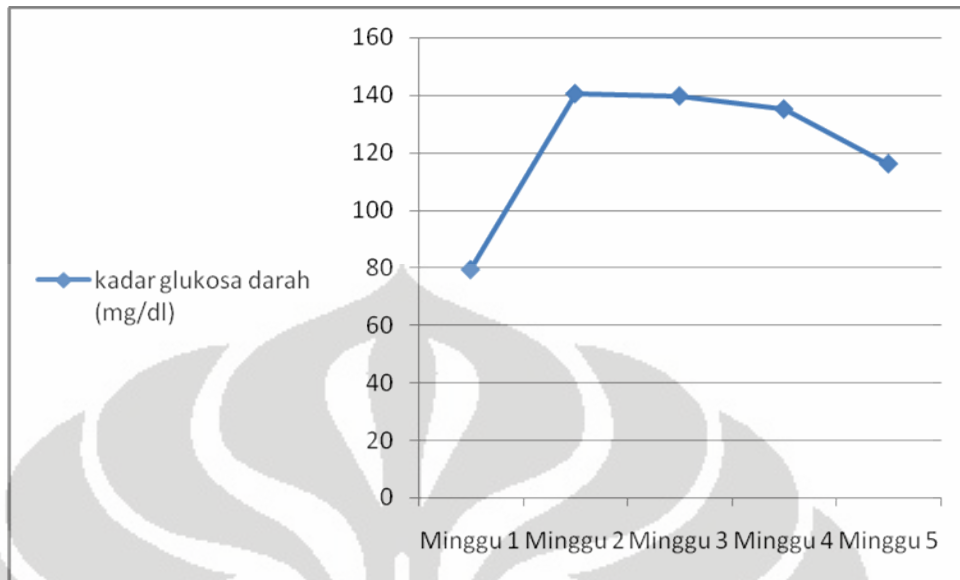
Gambar 13. Grafik kadar glukosa darah T2 rata-rata kelompok 4 Ket : T2 adalah glukosa darah post prandial



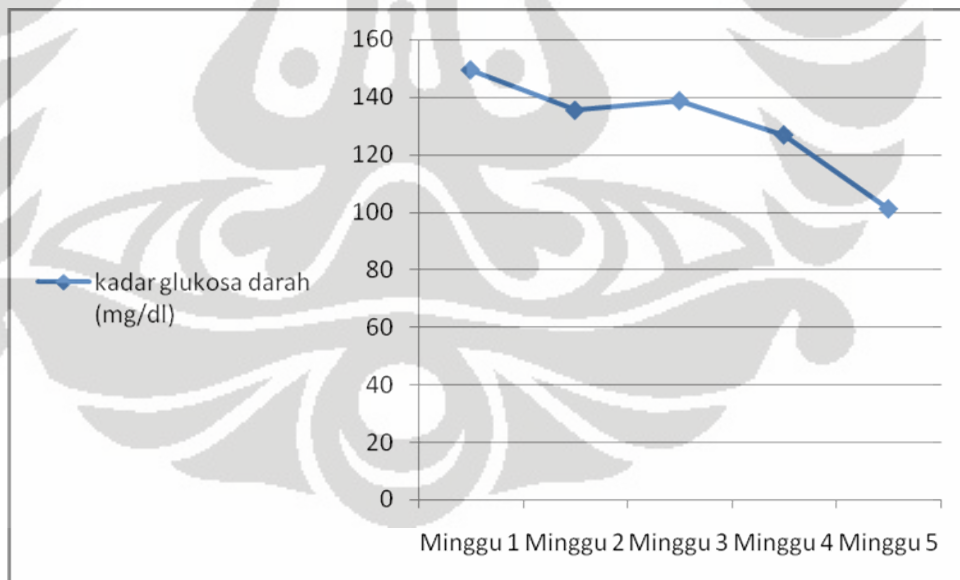
Gambar 14. Grafik kadar glukosa darah T0 rata-rata kelompok 5
Ket: T0 adalah glukosa darah puasa



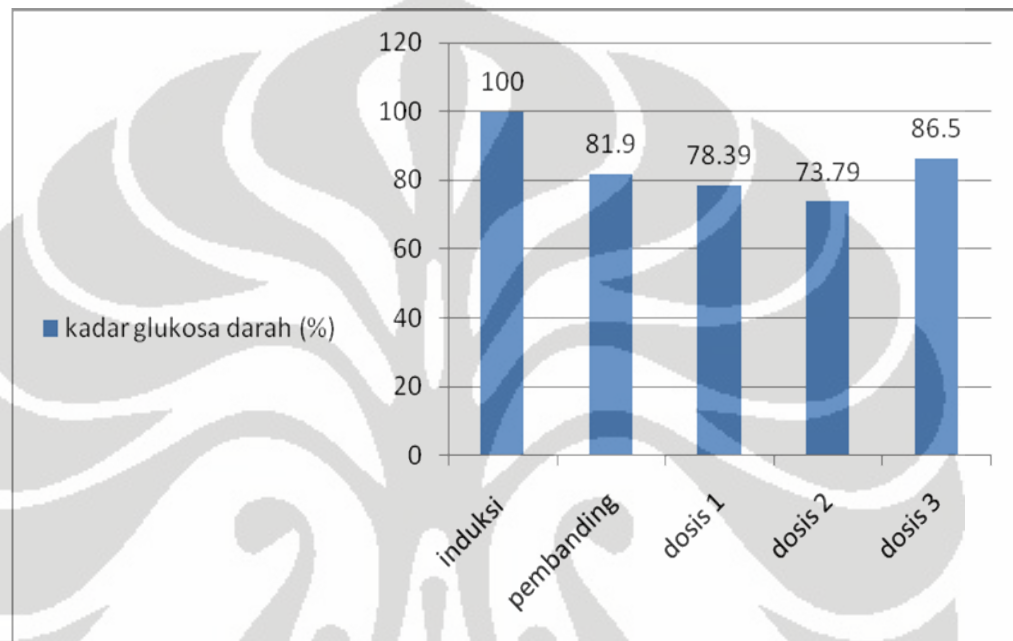
Gambar 15. Grafik kadar glukosa darah T2 rata-rata kelompok 5
Ket : T2 adalah glukosa darah post prandial



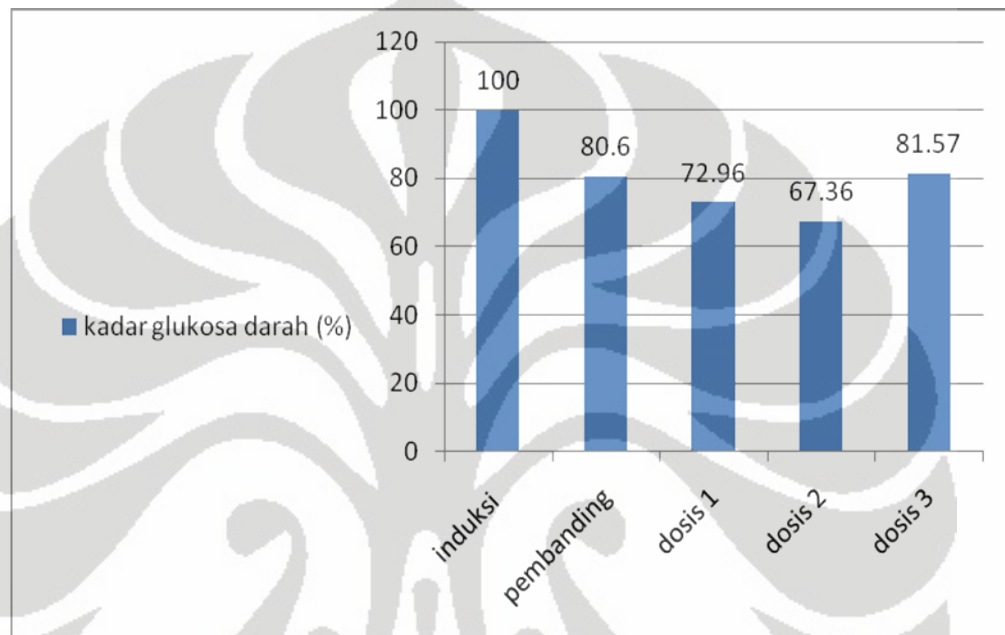
**Gambar 16. Grafik kadar glukosa darah T0 rata-rata kelompok 6
Ket: T0 adalah glukosa darah puasa**



**Gambar 17. Grafik kadar glukosa darah T2 rata-rata kelompok 7
Ket : T2 adalah glukosa darah post prandial**



Gambar 18. Diagram Efektivitas Penurunan Kadar Glukosa Darah Rata-Rata To Kelompok Standar Pembanding dan Kelompok Bahan Uji Terhadap Kelompok Induksi
Ket: To adalah glukosa darah puasa



**Gambar 19. Diagram Efektivitas Penurunan Kadar Glukosa Darah Rata-Rata T2 Kelompok Standar Pembanding dan Kelompok Bahan Uji Terhadap Kelompok Induksi
Ket : T2 adalah glukosa darah post prandial**

Tabel 2
Hasil Pengukuran Kadar Glukosa Darah Kelompok 1

minggu	sampel	kadar glukosa darah (mg/dl)										x	S2	SD
		1	2	3	4	5	6	7	8	9	10			
I	To	76.95	76.87	78.43	80.74	79.59	81.63	80.95	81.45	82.67	77.55	79.683	4.452	2.11
	T2	79.87	79.43	80.95	81.9	80.28	82.33	83.05	82.54	83.9	81.47	81.572	2.0861	1.4443
II	To	80.52	81.23	78.87	80.43	80.06	79.34	81.79	80.02	80.55	80.43	80.324	0.7029	0.8384
	T2	84.13	83.24	82.68	85.17	82.75	81.79	84.52	85.13	83.82	83.96	83.719	1.216	1.1027
III	To	79.31	78.44	77.58	80.17	79.72	79.24	79.31	81.89	80.17	80.03	79.586	1.3128	1.1458
	T2	83.51	82.7	81.16	82.47	81.4	81.05	81.81	82.8	83.1	82.62	82.262	0.727	0.8527
IV	To	79.96	79.07	78.51	80.04	80.01	79.96	79.9	80.1	80.41	80.02	79.798	0.3189	0.5647
	T2	82.11	81.98	81.71	83.21	82.19	81.4	80.97	82.15	82.63	82.26	82.061	0.3853	0.6207
V	To	80	79.98	79.73	80.99	80.45	80.71	79.64	80.05	80.13	80.01	80.169	0.1804	0.4247
	T2	82.43	81.17	81.73	82.69	83.2	82.81	81.84	81.98	82.9	82.63	82.338	0.401	0.6333

Ket: To adalah glukosa darah puasa

T2 adalah glukosa darah post prandial

Tabel 3
Hasil Pengukuran Kadar Glukosa Darah Kelompok 2

minggu	sampel	kadar glukosa darah (mg/dl)										x	S2	SD
		1	2	3	4	5	6	7	8	9	10			
I	To	82.31	82.39	77.34	74.65	71.74	73.49	82.75	82.07	72.79	81.63	78.116	20.928	4.5747
	T2	136.05	147.14	140.07	158.5	138.09	158.91	165.71	141.49	134.01	158.7	147.87	133.33	11.547
II	To	148.67	144.22	149.93	157.14	155.1	154.89	162.99	140.16	136.75	144.89	149.47	66.729	8.1688
	T2	149.38	150.13	151.58	159.72	156.51	155.7	163.26	148.37	139.48	149.96	152.41	44.819	6.6947
III	To	150.13	149.68	150.51	159.07	158.22	157.35	158.71	150.6	145.98	150.74	153.1	22.348	4.7273
	T2	152.01	150.72	152.6	159.68	159.7	158.84	159.99	153.81	150.07	152.88	155.03	16.318	4.0396
IV	To	154.68	152.81	153.75	160.52	160.07	159.33	160	154.24	152.7	151.63	155.97	12.682	3.5612
	T2	155.99	154.32	155.67	161.73	161.28	161.02	162.41	156.27	154.08	153.79	157.66	12.35	3.5143
V	To	154.07	153.01	153.8	159.6	160.28	159.07	159.58	154.01	152.36	151.08	155.69	12.384	3.5191
	T2	155.72	155.91	155.62	160.02	161.73	160.22	160.43	155.07	153.4	152.1	157.02	11.005	3.3174

Ket: To adalah glukosa darah puasa

T2 adalah glukosa darah post prandial

Tabel 4
Hasil Pengukuran Kadar Glukosa Darah Kelompok 3

minggu	sampel	kadar glukosa darah (mg/dl)										SD		
		1	2	3	4	5	6	7	8	9	10		x	S2
I	To	78.06	75.14	80.95	82.39	73.18	81.56	76.87	79.63	75.38	81.63	78.479	10.416	3.2274
	T2	142.67	138.62	151.98	149.79	143.87	146.15	140.48	139.55	138.65	149.13	144.09	24.401	4.9398
II	To	136.47	133.29	146.62	141.48	139.65	136.73	139.91	137.84	137.81	149.08	139.89	22.901	4.7855
	T2	138.75	137.91	148.8	145.63	142.43	143.31	142.52	140.06	141.28	150.09	143.08	16.332	4.0413
III	To	134.62	132.78	145.6	139.8	137.98	138.51	139.8	137.41	137.37	145.03	138.89	16.158	4.0196
	T2	133.47	131.05	143.92	137.6	136.54	136.05	137.82	135.57	136.01	143.08	137.11	15.307	3.9124
IV	To	131.22	130.75	135.72	134.58	134.03	135.81	135.75	134.08	133.71	139.83	134.55	6.5557	2.5604
	T2	129.97	129.8	133.08	133.1	132.98	133.61	134.02	132.87	131.96	135.65	132.7	3.1217	1.7668
V	To	88.52	88.7	90.9	89.97	89.63	90.1	90.32	90.07	90.4	91.85	90.046	0.9452	0.9722
	T2	86.46	85.2	85.6	85.72	82.4	83.08	80.66	81.73	80.43	81.85	83.313	5.0414	2.2453

Ket: To adalah glukosa darah puasa
T2 adalah glukosa darah post prandial

Tabel 5
Hasil Pengukuran Kadar Glukosa Darah Kelompok 4

minggu	sampel	kadar glukosa darah (mg/dl)										SD		
		1	2	3	4	5	6	7	8	9	10		x	S2
I	To	81.62	76.19	77.55	82.79	75.98	77.35	72.79	73.47	76.42	80.27	77.443	10.694	3.2701
	T2	142.31	148.03	152.59	153.51	157.34	140.81	156.67	147.61	143.14	152.01	149.4	35.345	5.9451
II	To	137.01	141.97	140.36	146.94	154.42	138.41	147.49	141.47	140.46	142.85	143.14	26.634	5.1608
	T2	129.48	120.34	131.21	128.34	137.41	123.79	134.65	132.84	131.69	127.24	129.7	25.615	5.0611
III	To	125.29	125.21	126.04	126.32	130	123.88	131.01	130	129.22	126.23	127.32	6.2027	2.4905
	T2	121.96	122.64	122.99	124.07	125.66	122.03	125.78	125.82	125.02	124.24	124.02	2.3608	1.5365
IV	To	118.07	117.85	118.44	118.21	119.05	118.91	120	123.71	122.68	121.35	119.83	4.2828	2.0695
	T2	110.23	109.07	109.33	109.01	109.24	108.35	109.39	110.82	110.54	110.03	109.6	0.5991	0.774
V	To	90.01	90.22	91.34	90.56	90.13	91.21	91.26	93.2	92.81	92.09	91.283	1.2522	1.119
	T2	85.08	86.1	85.22	85.47	86.01	86.23	86.18	87.33	86.77	86.25	86.064	0.4683	0.6843

Ket: To adalah glukosa darah puasa
T2 adalah glukosa darah post prandial

Tabel 6
Hasil Pengukuran Kadar Glukosa Darah Kelompok 5

minggu	sampel	kadar glukosa darah (mg/dl)										x	S2	SD
		1	2	3	4	5	6	7	8	9	10			
I	To	74.15	80.48	80.27	82.69	81.56	77.55	73.11	80.95	76.19	80.72	78.767	10.934	3.3066
	T2	148.03	164.35	159.86	161.63	156.87	148.09	139.46	160.35	143.74	149.41	153.18	72.202	8.4972
II	To	141.49	153.06	154.18	151.22	155.96	142.87	135.37	149.18	141.87	142.71	146.79	46.453	6.8156
	T2	119.37	127.41	128.1	125.17	121.06	119.31	117.75	120.68	109.84	116.37	120.51	29.846	5.4631
III	To	123.44	124.77	125.68	124.03	124.22	122.37	120.68	124.55	124.47	123.89	123.81	1.9591	1.3997
	T2	120.33	121.25	122.01	121.08	122.04	120.02	119.8	122.67	122.55	121.32	121.31	1.0412	1.0204
IV	To	100.28	101.05	100.23	102.02	101.33	100.71	100.55	102.34	101.77	101.53	101.18	0.5435	0.7372
	T2	93.8	93.85	92.74	93.03	94.01	92.79	92.55	93.42	93.28	92.92	93.239	0.2653	0.5151
V	To	81.04	81.22	80.79	81.56	82.14	81.7	81.05	82.03	81.76	81.32	81.461	0.2017	0.4491
	T2	79.84	79.52	79.02	79.18	80.31	79.91	80.05	80.78	80.04	80.01	79.866	0.2696	0.5192

Ket: To adalah glukosa darah puasa
T2 adalah glukosa darah post prandial

Tabel 7
Hasil Pengukuran Kadar Glukosa Darah Kelompok 6

minggu	sampel	kadar glukosa darah (mg/dl)										x	S2	SD
		1	2	3	4	5	6	7	8	9	10			
I	To	80.47	80.26	82.09	81.15	77.55	74.49	78.92	76.19	81.07	82.67	79.486	7.0729	2.6595
	T2	157.82	149.65	150.07	153.67	145.8	145.48	139.55	143.32	154.65	153.84	149.39	33.248	5.7661
II	To	142.57	142.86	136.54	144.01	131.97	141.49	134.69	137.41	149.65	142.87	140.41	27.128	5.2085
	T2	138.41	137.06	132.13	139.72	129.79	135.64	131.07	130.88	140.03	139.51	135.42	16.689	4.0852
III	To	141.09	142.54	136.01	143.98	131.52	140.78	134	137.12	147.43	141.35	139.58	23.499	4.8476
	T2	140.53	141.27	135.88	142.51	130.63	139.99	133.5	136.72	146.03	140.21	138.73	20.686	4.5482
IV	To	128.61	159.79	130.62	139.7	129.61	130.01	131.28	130.15	135.07	135.61	135.05	87.591	9.359
	T2	124.5	125.09	126.75	130.81	125.67	126.43	125.89	124.68	129.3	130.1	126.92	5.336	2.31
V	To	115.7	115.91	117.8	120.01	116.42	115.7	116.85	117.04	113.66	112.04	116.11	4.7242	2.1735
	T2	100.21	100.7	101.03	102.39	101.19	103.95	103.21	100.92	100.05	100.02	101.37	1.8658	1.3659

Ket: To adalah glukosa darah puasa
T2 adalah glukosa darah post prandial

Tabel 9
Efektivitas Penurunan Kadar Glukosa Darah Rata-Rata
Kelompok Standar Perbandingan dan Kelompok Bahan Uji Terhadap Kelompok Induksi

Kelompok	Sampel	Kadar Glukosa Darah Rata-Rata	Penurunan Kadar Glukosa Darah (%)	Efektivitas (%)
Induksi	To	153.56	100	0
	T2	153.99	100	0
Standar Perbandingan	To	125.84	81.9	18.1
	T2	124.05	80.6	19.4
Bahan uji dosis 1	To	120.39	78.39	21.61
	T2	112.35	72.96	27.04
Bahan uji dosis 2	To	113.31	73.79	26.21
	T2	103.73	67.36	32.64
Bahan uji dosis 3	To	132.79	86.5	13.5
	T2	125.61	81.57	18.43

**Ket: To adalah glukosa darah puasa
T2 adalah glukosa darah post prandial**

Lampiran 1

Perhitungan Kadar Glukosa Darah

Kadar glukosa darah diukur dengan menggunakan rumus:

$$\text{Kadar glukosa darah (mg/dl)} = \frac{A_u}{A_s} \times \text{kadar glukosa standar (mg/dl)}$$

Keterangan : A u= serapan sampel

A s= serapan standar

Lampiran 2

Uji T untuk dua populasi atau *Paired T Test* (Minitab 14.12)

Tujuan : untuk melihat kebermaknaan secara klinis proses penginduksian tikus sehingga mengakibatkan terjadinya penyakit.

Hipotesis:

H_0 : penginduksian tidak bermakna secara klinis menyebabkan terjadinya penyakit.

H_a : penginduksian bermakna secara klinis menyebabkan terjadinya penyakit.

Pengambilan keputusan:

Jika nilai signifikansi $\geq 0,05$, maka H_0 diterima

Jika nilai signifikansi $< 0,05$, maka H_0 ditolak

Paired T-Test and CI: 1To, 2To

Paired T for 1To - 2To

	N	Mean	StDev	SE Mean
1To	5	78.458	0.758	0.339
2To	5	143.939	4.132	1.848
Difference	5	-65.4812	4.4282	1.9803

95% upper bound for mean difference: -61.2594

T-Test of mean difference = 0 (vs < 0): T-Value = -33.07 P-Value = 0.000

Paired T-Test and CI: To, t2

Paired T for To - t2

	N	Mean	StDev	SE Mean
To	5	78.458	0.758	0.339
t2	5	148.784	3.277	1.465
Difference	5	-70.3262	3.2448	1.4511

95% upper bound for mean difference: -67.2326

T-Test of mean difference = 0 (vs < 0): T-Value = -48.46 P-Value = 0.000

Keterangan : keputusannya adalah penginduksian bermakna secara klinis menyebabkan terjadinya penyakit.

Lampiran 3

Uji kebebasan galat terhadap kadar glukosa darah kelompok hewan uji dengan Metode Tukey (Minitab 14.12)

Tujuan : untuk mengetahui apakah data yang diperoleh tersebar secara merata (tidak membentuk suatu pola khusus)

Hipotesis:

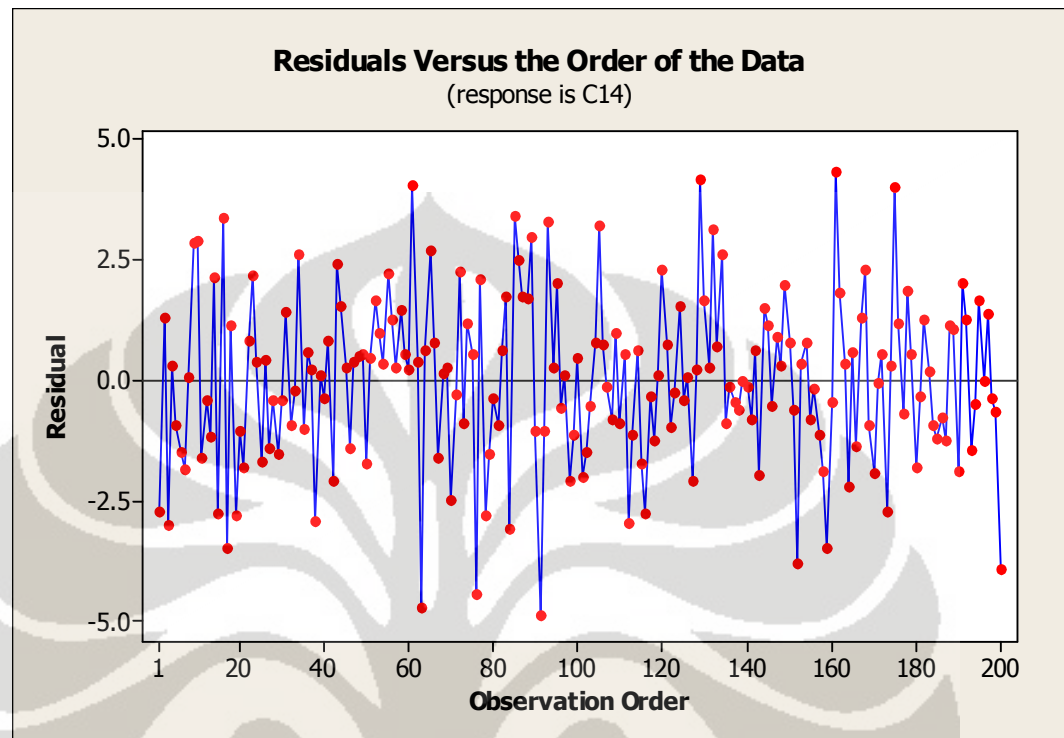
Ho : data kadar glukosa darah tersebar secara merata.

Ha : data kadar glukosa darah tidak tersebar secara merata.

Pengambilan keputusan:

Jika nilai signifikansi $\geq 0,05$, maka Ho diterima

Jika nilai signifikansi $< 0,05$, maka Ho ditolak



Keterangan : keputusannya adalah data kadar glukosa darah seluruh kelompok hewan uji tersebar secara merata.

Lampiran 4

Uji kehomogenan ragam terhadap kadar glukosa darah kelompok
hewan uji dengan Metode Levene (Minitab 14.12)

Tujuan : untuk mengetahui apakah data kadar glukosa darah
tikus homogen atau tidak.

Hipotesis:

H_0 : data kadar glukosa darah bervariasi homogen.

H_a : data kadar glukosa darah tidak bervariasi homogen.

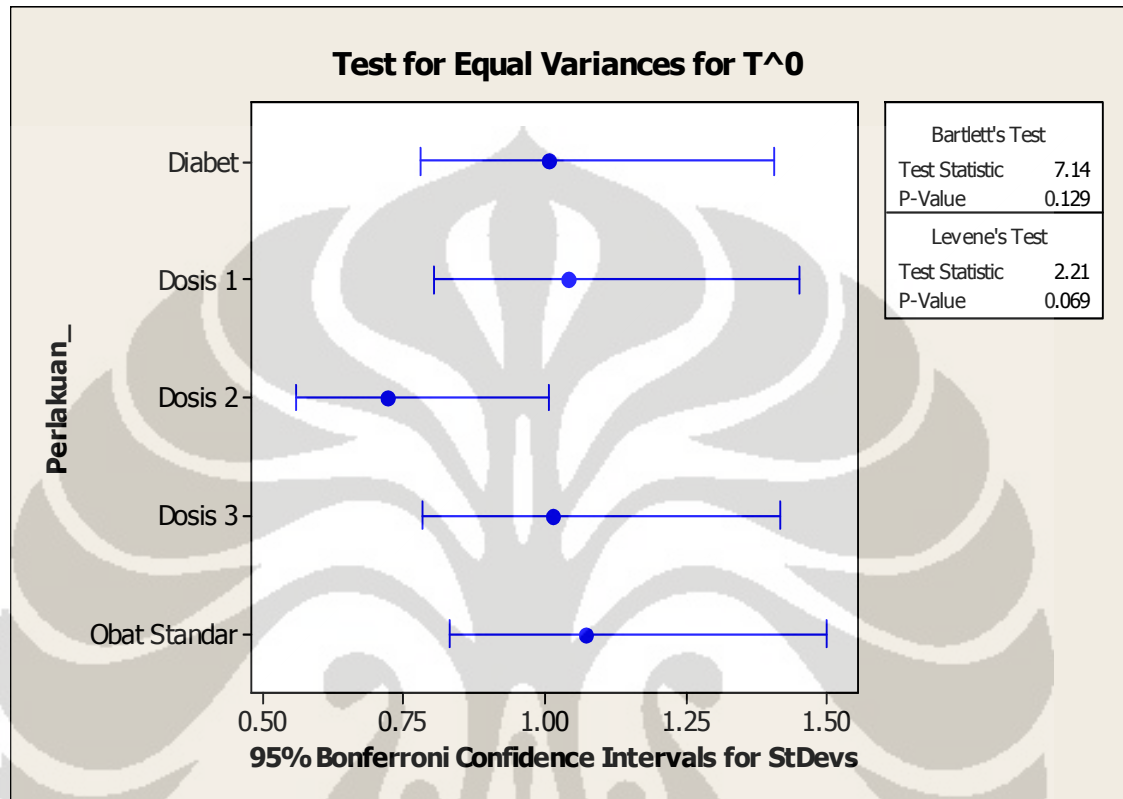
Pengambilan keputusan:

Jika nilai signifikansi $\geq 0,05$, maka H_0 diterima

Jika nilai signifikansi $< 0,05$, maka H_0 ditolak

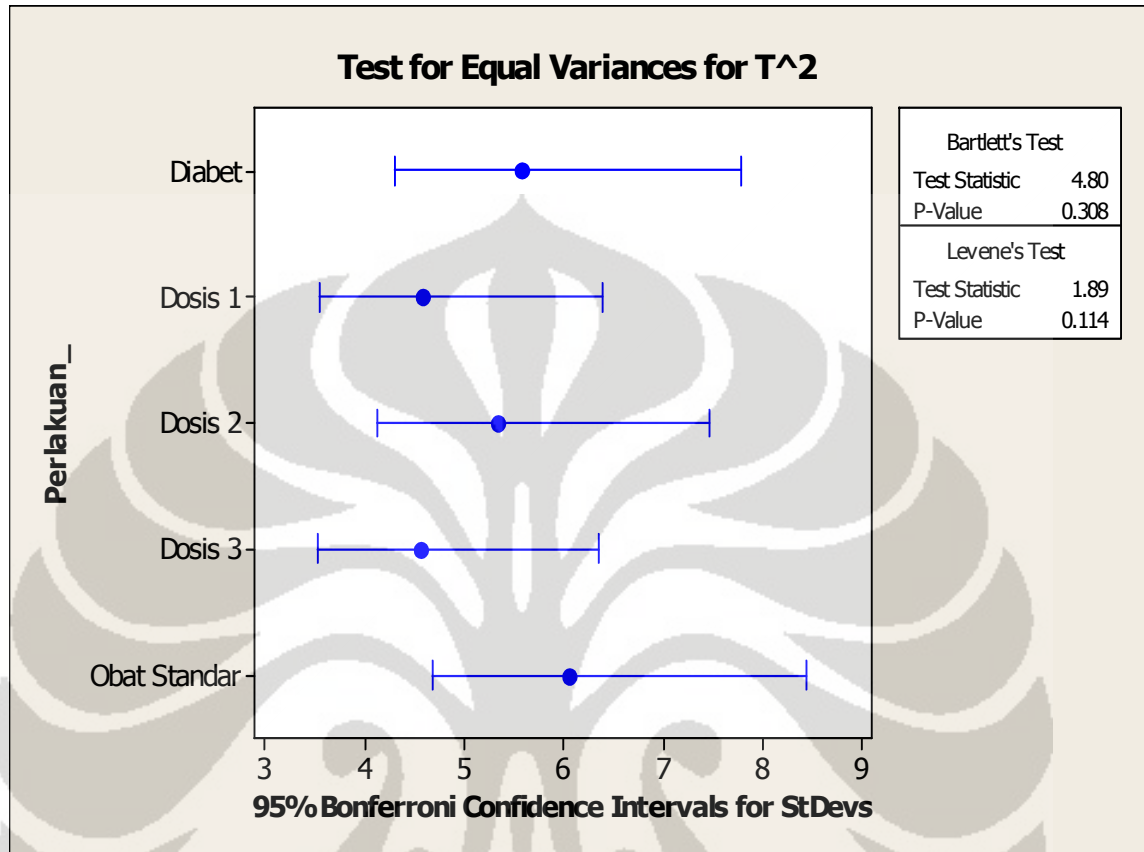
Asumsi Khomogenan Ragam

T0 secara keseluruhan



Keterangan : keputusannya adalah kadar glukosa darah seluruh kelompok hewan uji pada T₀ (puasa) bervariasi homogen

T2 secara keseluruhan



Keterangan : keputusannya adalah kadar glukosa darah seluruh kelompok hewan uji pada T2 (post prandial) bervariasi homogen.

Lampiran 5

Uji normalitas terhadap kadar glukosa darah kelompok hewan uji
dengan Metode Saphiro Wilk (Minitab 14.12)

Tujuan : untuk mengetahui apakah data kadar glukosa darah
tikus terdistribusi normal atau tidak.

Hipotesis:

H_0 : data kadar glukosa darah terdistribusi normal.

H_a : data kadar glukosa darah tidak terdistribusi normal.

Pengambilan keputusan:

Jika nilai signifikansi $\geq 0,05$, maka H_0 diterima

Jika nilai signifikansi $< 0,05$, maka H_0 ditolak

Lampiran 6

Uji Analisis Varians (ANOVA) Satu Arah dan BNT (Beda Nyata Terkecil terhadap kadar glukosa darah kelompok hewan uji pada To dan T2 (Minitab 14.12)

Tujuan : untuk mengetahui apakah terdapat perbedaan hasil secara bermakna antar setiap perlakuan atau tidak.

Hipotesis:

Ho : hasil antar setiap perlakuan tidak berbeda secara bermakna.

Ha : hasil antar setiap perlakuan berbeda secara bermakna.

Pengambilan keputusan:

Jika nilai signifikansi $\geq 0,05$, maka Ho diterima

Jika nilai signifikansi $< 0,05$, maka Ho ditolak

Setelah itu dilanjutkan dengan uji BNT untuk mengetahui kelompok perlakuan yang memberikan hasil terbaik dalam hal ini untuk penurunan kadar glukosa darah.

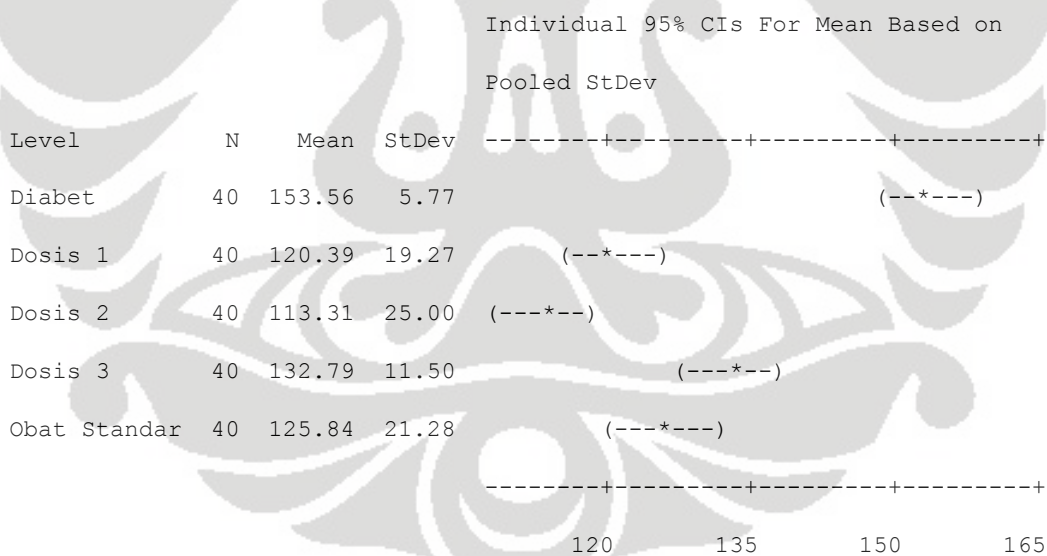
Untuk kadar glukosa darah pada To

One-way ANOVA: T⁰ versus Perlakuan

Source	DF	SS	MS	F	P
Perlakuan_	4	37900	9475	29.34	0.000
Error	195	62971	323		
Total	199	100870			

Keterangan : keputusannya adalah kadar glukosa darah seluruh kelompok hewan uji pada To berbeda secara bermakna antar setiap kelompok perlakuan.

Uji BNT pada To



Keterangan: kelompok perlakuan bahan uji dosis 2 memberikan hasil yang paling baik dalam proses penurunan kadar glukosa darah jika dibandingkan dengan kelompok bahan uji 1 dan 3.

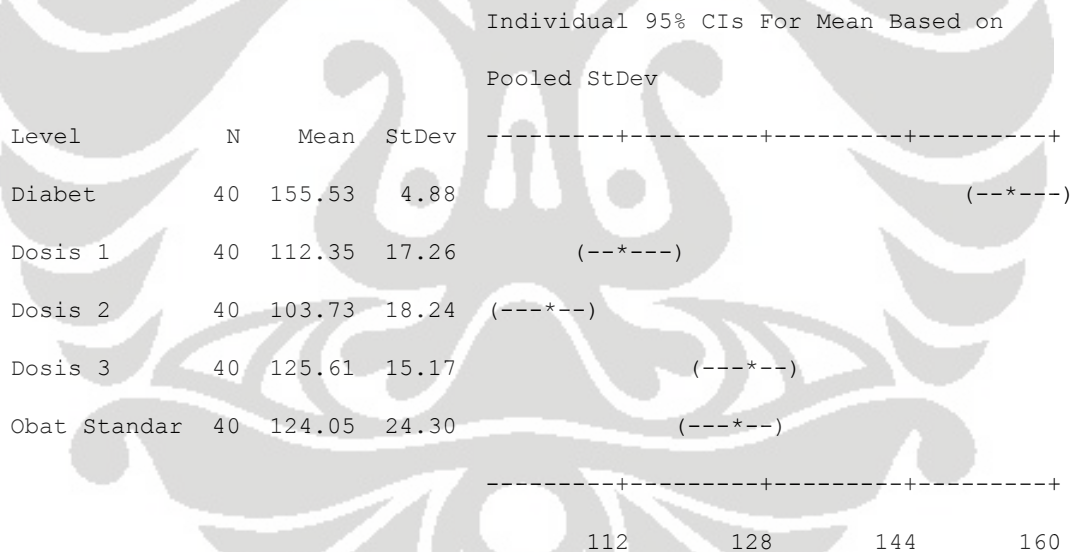
Untuk kadar glukosa darah pada T2

One-way ANOVA: T² versus Perlakuan_

Source	DF	SS	MS	F	P
Perlakuan_	4	61723	15431	52.30	0.000
Error	195	57537	295		
Total	199	119259			

Keterangan : keputusannya adalah kadar glukosa darah seluruh kelompok hewan uji pada T2 berbeda secara bermakna antar setiap kelompok perlakuan.

Uji BNT pada T2



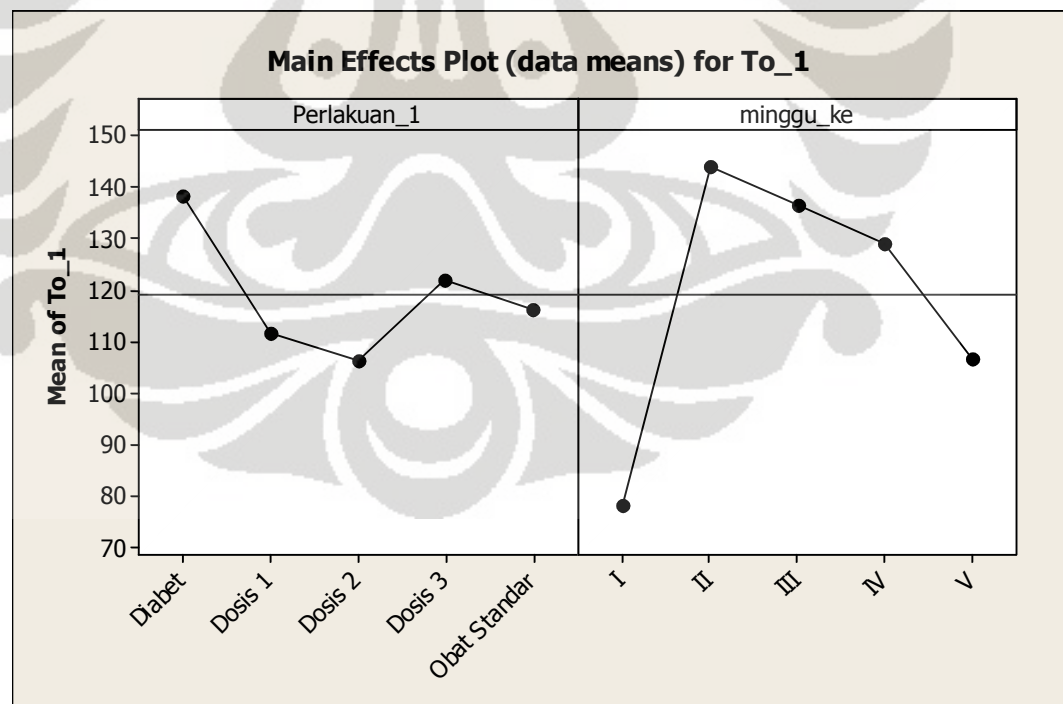
Keterangan: kelompok perlakuan bahan uji dosis 2 memberikan hasil yang paling baik dalam proses penurunan kadar glukosa darah jika dibandingkan dengan kelompok bahan uji 1 dan 3.

Lampiran 7

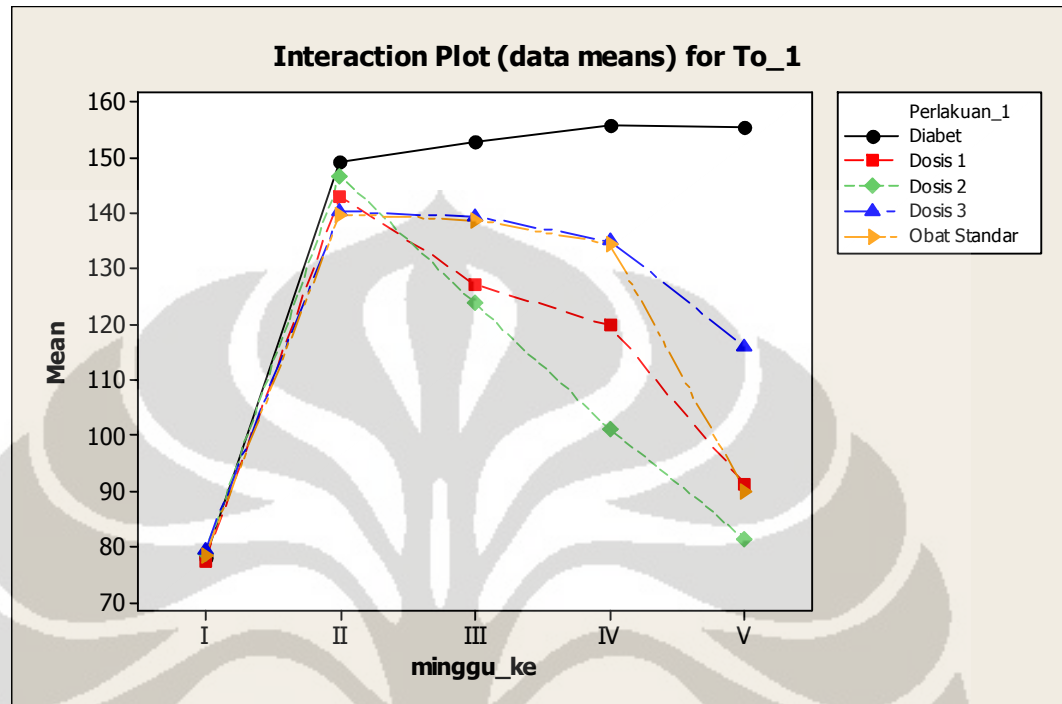
Uji *Main Effect Plot* dan *Interaction Plot* terhadap kadar glukosa darah kelompok hewan uji pada T_0 dan T_2 (Minitab 14.12)

Uji *Main Effect Plot* dilakukan untuk melihat gambaran kurva penurunan kadar glukosa darah berdasarkan jenis perlakuan dan waktu penggunaan. Sedangkan uji *Interaction Plot* merupakan uji lanjutan yang dilakukan untuk melihat apakah terdapat interaksi antara kurva jenis perlakuan dan waktu perlakuan atau tidak.

Uji *Main Effect Plot* pada T_0

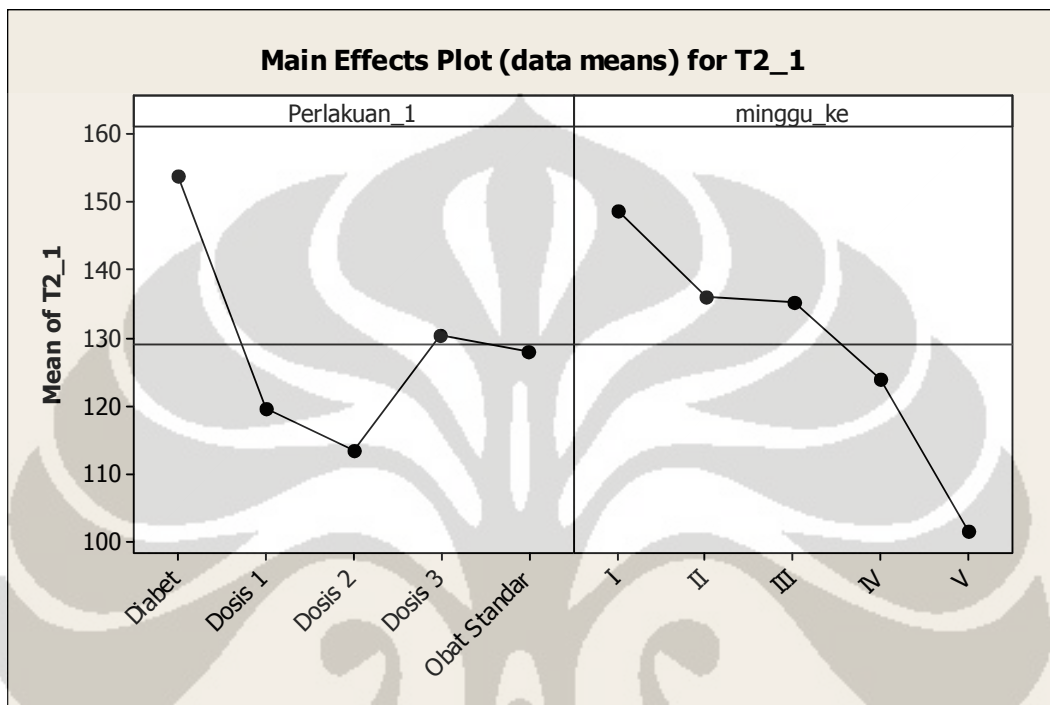


Uji *Interaction Plot* pada To

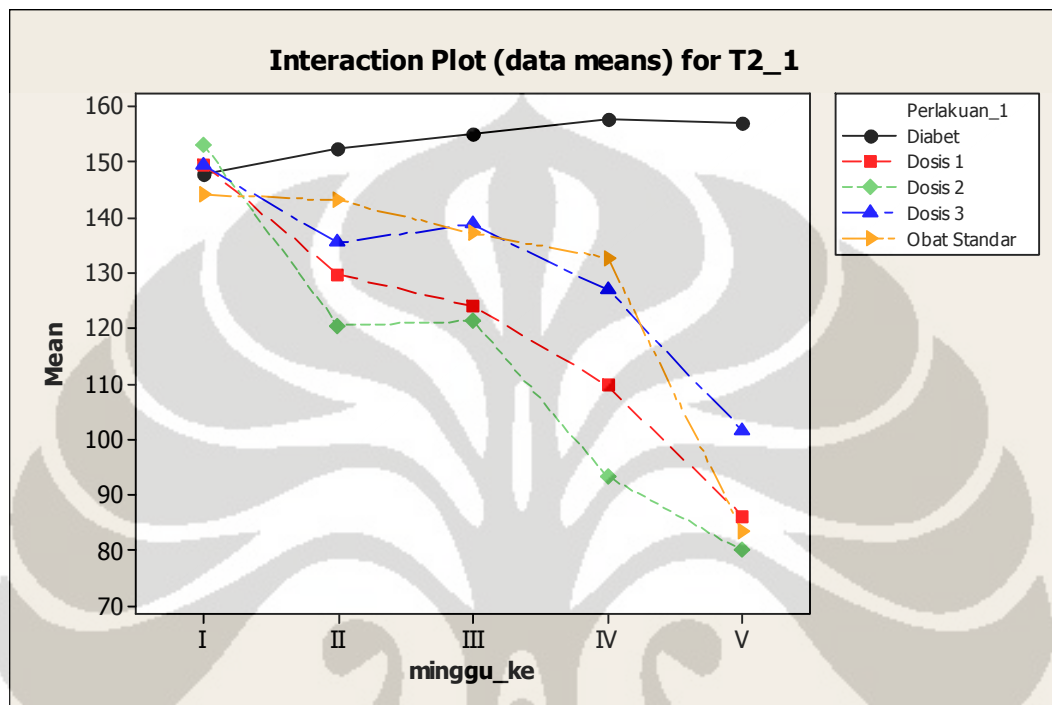


Keterangan: perlakuan dosis 2 merupakan perlakuan yang terbaik dalam proses penurunan kadar glukosa darah, tetapi hal ini hanya terlihat secara signifikan pada minggu ke-3 hingga minggu ke-5 bukan pada minggu ke-1 dan minggu ke-2.

Uji Main Effect Plot pada T2



Uji *Interaction Plot* pada T2



Keterangan: perlakuan dosis 2 merupakan perlakuan yang terbaik dalam proses penurunan kadar glukosa darah, tetapi hal ini hanya terlihat secara signifikan pada minggu ke-3 hingga minggu ke-5 bukan pada minggu ke-1 dan minggu ke-2.

Lampiran 8

Sertifikat Analisis Glibenklamid

Cadila Healthcare Limited291, 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)**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**

Prepared by

Approved by