



UNIVERSITAS INDONESIA

**PENGARUH PEMBERIAN INFUSA HERBA SAMBILOTO
(*Andrographis paniculata* Nees) TERHADAP GLIBENKLAMID
DALAM MENURUNKAN KADAR GLUKOSA DARAH TIKUS
PUTIH JANTAN YANG DIBUAT DIABETES**

SKRIPSI

**DIANDRA ANDINA RATIMANJARI
0706264583**

**FAKULTAS MATEMATIKA DAN ILMU PENGETAHUAN ALAM
PROGRAM STUDI FARMASI
DEPOK
JULI 2011**



UNIVERSITAS INDONESIA

**PENGARUH PEMBERIAN INFUSA HERBA SAMBILOTO
(*Andrographis paniculata* Nees) TERHADAP GLIBENKLAMID
DALAM MENURUNKAN KADAR GLUKOSA DARAH TIKUS
PUTIH JANTAN YANG DIBUAT DIABETES**

SKRIPSI

Diajukan sebagai salah satu syarat untuk memperoleh gelar sarjana farmasi

**DIANDRA ANDINA RATIMANJARI
0706264583**

**FAKULTAS MATEMATIKA DAN ILMU PENGETAHUAN ALAM
PROGRAM STUDI FARMASI
DEPOK
JULI 2011**

ii

HALAMAN PERNYATAAN ORISINALITAS

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

Nama : Diandra Andina Ratimanjari
NPM : 0706264583
Tanda Tangan : 
Tanggal : 14 Juli 2011

HALAMAN PENGESAHAN

Skripsi ini diajukan oleh

Nama : Diandra Andina Ratimanjari
NPM : 0706264583
Program Studi : Farmasi
Judul Skripsi : Pengaruh Pemberian Infusa Herba Sambiloto (*Andrographis paniculata* Nees) terhadap Glibenklamid dalam Menurunkan Kadar Glukosa Darah Tikus Putih Jantan yang Dibuat Diabetes

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

DEWAN PENGUJI

Pembimbing I : Santi Purna Sari, M.Si., Apt. (.....)

Pembimbing II : Dra. Azizahwati, M.S., Apt. (.....)

Penguji I : Dr. Anton Bahtiar, M.Biomed., Apt. (.....)

Penguji II : Dr. Berna Elya, M.Si., Apt. (.....)

Penguji III : Dr. Nelly D. Leswara, M.Sc., Apt. (.....)

Ditetapkan di : Depok
Tanggal : 14 Juli 2011

KATA PENGANTAR

Segala puji dan syukur ke hadirat Allah SWT atas segala limpahan rahmat dan karuniaNya sehingga penulis mampu menyelesaikan penelitian dan penyusunan skripsi ini. Penulisan skripsi ini dilakukan dalam rangka memenuhi salah satu syarat untuk mencapai gelar Sarjana Farmasi di Departemen Farmasi, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Indonesia.

Penulis menyadari bahwa tanpa bantuan dan bimbingan dari berbagai pihak, dari masa perkuliahan sampai pada penyusunan skripsi, sulit rasanya untuk menyelesaikan skripsi ini. Oleh sebab itu, penulis mengucapkan terima kasih kepada:

- 1) Ibu Santi Purna Sari, M.Si., Apt, selaku dosen pembimbing skripsi yang telah menyediakan waktu, bantuan, tenaga, pikiran, dan kesabarannya untuk mengarahkan penulis dalam penyusunan skripsi ini;
- 2) Ibu Dra. Azizahwati, M.S., Apt, selaku dosen pembimbing skripsi yang telah menyediakan waktu, bantuan, tenaga, dan pikiran untuk mengarahkan penulis dalam penyusunan skripsi;
- 3) Ibu Prof. Dr. Yahdiana Harahap, M.S, selaku ketua Departemen Farmasi FMIPA UI;
- 4) Ibu Pharm. Dr. Joshita Djajadisastra, M.S., Ph.D, selaku pembimbing akademik yang telah memberikan bimbingan dan bantuan selama penulis menempuh pendidikan di Departemen Farmasi FMIPA UI;
- 5) Bapak dan Ibu staf pengajar Departemen Farmasi FMIPA UI atas ilmu pengetahuan dan bantuan yang telah diberikan selama menempuh pendidikan di Departemen Farmasi FMIPA UI;
- 6) Ayah, ibu, kakak, dan adik-adik yang senantiasa memberikan kasih sayang, semangat, dan doa demi kelancaran studi penulis;
- 7) Sri Wulandah Fitriani, rekan senasib seperjuangan dalam penelitian.
- 8) Johan Saeful Anwar yang selalu memberikan semangat dan waktu untuk menemani saat penelitian.

9) Semua pihak yang tidak dapat disebutkan namanya satu persatu yang telah membantu proses penelitian dan penyusunan skripsi ini.

Penulis berharap Tuhan yang Maha Esa berkenan membalas segala kebaikan semua pihak yang telah membantu. Semoga skripsi yang masih membutuhkan banyak masukan dan saran yang bersifat membangun ini dapat berguna bagi para pembaca.



Penulis

2011

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

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

ini:

Nama : Diandra Andina Ratimanjari
NPM : 0706264583
Program Studi : S1 Reguler
Departemen : Farmasi
Fakultas : Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam
Jenis karya : Skripsi

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

*Pengaruh Pemberian Infusa Herba Sambiloto (*Andrographis paniculata* Nees) terhadap Glibeklamid dalam Menurunkan Kadar Glukosa Darah Tikus Putih Jantan yang Diberi Diabetes*

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

Demikian pernyataan ini saya buat dengan sebenarnya.

Dibuat di : Depok

Pada tanggal : Juli 2011

Yang menyatakan



(Diandra Andina Ratimanjari)

ABSTRAK

Nama : Diandra Andina Ratimanjari
Program studi : Farmasi
Judul : Pengaruh Pemberian Infusa Herba Sambiloto (*Andrographis paniculata* Nees) terhadap Glibenklamid dalam Menurunkan Kadar Glukosa Darah Tikus Putih Jantan yang Dibuat Diabetes

Penderita diabetes banyak mengkombinasi antidiabetes herbal dan sintetis untuk mendapatkan efek sinergis atau aditif tanpa menginformasikan terlebih dahulu kepada praktisi kesehatan, seperti penggunaan sambiloto dan glibenklamid. Tujuan penelitian ini untuk mengetahui pengaruh pemberian infusa herba sambiloto terhadap glibenklamid dalam menurunkan kadar glukosa darah tikus putih jantan yang dibuat diabetes. Penelitian ini menggunakan 24 ekor tikus putih jantan *Sparague-Dawley* yang dibagi menjadi 6 kelompok, yaitu kontrol normal dan kontrol diabetes diberi larutan CMC 0,5% 1 ml/200 g bb tikus, kontrol glibenklamid diberikan suspensi glibenklamid 0,9 mg/200 g bb tikus, kontrol sambiloto diberikan infusa herba sambiloto 50 mg/200 g bb tikus, dan 2 kelompok interaksi diberikan infusa herba sambiloto dengan 2 variasi dosis (50 mg dan 100 mg/200 g bb tikus) dan suspensi glibenklamid 0,9 mg/200 g bb tikus, masing - masing diberikan secara per oral. Semua kelompok diinduksi aloksan 32 mg/200 g bb tikus, kecuali kontrol normal. Pengukuran kadar glukosa darah dilakukan 2 jam dan 4 jam setelah pemberian dengan metode *o*-toluidin. Hasil penelitian menunjukkan bahwa infusa herba sambiloto 100 mg/200 g bb tikus memberikan pengaruh signifikan terhadap glibenklamid dalam menurunkan kadar glukosa darah setelah satu minggu pemberian.

Kata kunci : aloksan, *Andrographis paniculata* Nees, diabetes melitus, glibenklamid, glukosa darah, infusa herba sambiloto, *o*-toluidin
xv + 68 halaman; 10 gambar; 11 tabel; 13 lampiran
Daftar Pustaka : 38 (1979-2010)

ABSTRACT

Name : Diandra Andina Ratimanjari
Program study: Pharmacy
Title : The Impact of Creat Herb Infusion on Glibenclamide in Lowering Blood Glucose Levels on Diabetic Male Albino Rats

Many diabetics perform self-medication with antidiabetic herbs and synthetic drugs with the aim to obtain a synergistic or additive effects without informing their primary physician, such as the use of creat and glibenclamide. This research was carried out to know the impact of creat herb infusion on glibenclamide in lowering blood glucose levels on diabetic male albino rats. This study used 24 male *Sparague-Dawley* rats, which are divided into 6 groups, normal control and diabetic control were given 0,5% CMC solution 1 ml/200 g bw of rat, glibenclamide control were given glibenclamide suspension 0,9 mg/200 g bw of rat, creat control were given creat herb infusion 50 mg/200 g bw of rat, and 2 interaction groups were given creat herb infusion in 2 variant doses (50 and 100 mg/200 g bw of rat) and glibenclamide suspension 0,9 mg/200 g bw of rat, each of them were administrated orally. All of groups were induced with alloxan 32 mg/200 g bw of rat except normal control. Blood glucose was measured by *o*-toluidine method at 2 hours and 4 hours after administration. The result showed that the creat herb infusion at 100 mg/200 g bw gave significant impact on glibenclamide in lowering blood glucose levels a week after administration.

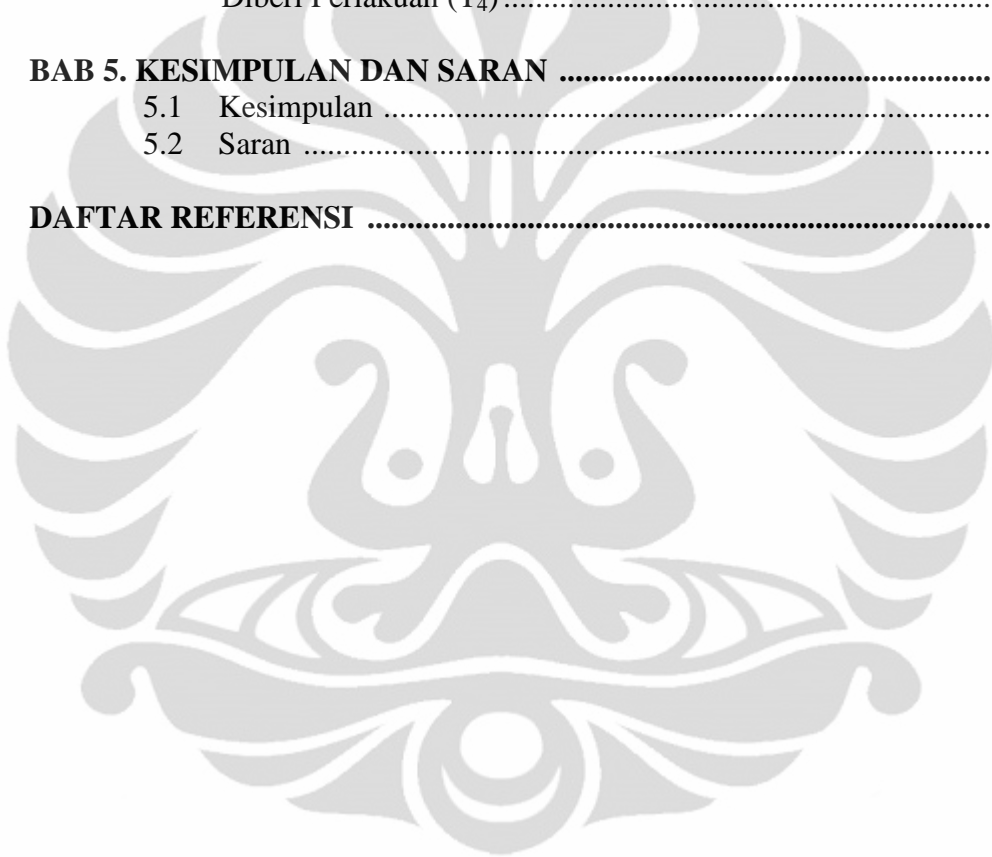
Keywords : alloxan, *Andrographis paniculata* Nees, blood glucose, creat herb infusion, diabetes mellitus, glibenclamide, *o*-toluidine
xv + 68 pages ; 10 pictures; 11 tables; 13 appendices
Bibliography : 38 (1979-2010)

DAFTAR ISI

	Halaman
HALAMAN JUDUL	ii
HALAMAN PERNYATAAN ORISINALITAS	iii
HALAMAN PENGESAHAN	iv
KATA PENGANTAR	v
HALAMAN PERSETUJUAN PUBLIKASI KARYA ILMIAH	vii
ABSTRAK	viii
ABSTRACT	ix
DAFTAR ISI	x
DAFTAR GAMBAR	xiii
DAFTAR TABEL	xiv
DAFTAR LAMPIRAN	xv
BAB 1. PENDAHULUAN	1
1.1 Latar Belakang	1
1.2 Tujuan Penelitian	2
1.3 Hipotesis	3
BAB 2. TINJAUAN PUSTAKA	4
2.1 Sambiloto	4
2.1.1 Klasifikasi	4
2.1.2 Nama Daerah dan Nama Asing	4
2.1.3 Morfologi	4
2.1.4 Kandungan Kimia	5
2.1.5 Khasiat dan Kegunaan	6
2.2 Diabetes Melitus	6
2.2.1 Definisi	6
2.2.2 Klasifikasi	6
2.2.3 Manifestasi Klinis	7
2.2.4 Diagnosis	8
2.2.5 Terapi Nonfarmakologis	8
2.2.5.1 Diet	8
2.2.5.2 Olahraga	8
2.2.6 Terapi Farmakologis	9
2.2.6.1 Insulin	9
2.2.6.2 Antidiabetik Oral	9
2.3 Interaksi Obat	12
2.4 Metode Uji Efek Antidiabetes	13
2.4.1 Metode Tes Toleransi Glukosa Peroral (TTGO)	14

2.4.2	Metode Uji Diabetes Aloksan.....	14
2.5	Metode Pemeriksaan Kadar Glukosa Darah	16
2.5.1	Metode Reduksi-oksidasi	16
2.5.2	Metode Enzimatik	16
2.5.3	Metode Kondensasi (Metode <i>o</i> -Toluidin)	17
BAB 3. METODE PENELITIAN		18
3.1	Lokasi dan Waktu	18
3.2	Bahan	18
3.2.1	Hewan Uji	18
3.2.2	Bahan Uji	18
3.2.3	Bahan Kimia	18
3.3	Alat	19
3.4	Prosedur Kerja	19
3.4.1	Penyiapan Hewan Uji	19
3.4.2	Penetapan Dosis	19
3.4.2.1	Aloksan	19
3.4.2.2	Infusa Herba Sambiloto	19
3.4.2.3	Glibenklamid	20
3.4.3	Penyiapan Bahan Uji	20
3.4.3.1	Pembuatan Larutan Aloksan	20
3.4.3.2	Pembuatan Infusa Herba Sambiloto	20
3.4.3.3	Pembuatan Larutan CMC 0,5%	21
3.4.3.4	Pembuatan Suspensi Glibenklamid	21
3.4.4	Penyiapan Pereaksi Untuk Analisis Glukosa.....	21
3.4.4.1	Larutan Asam Benzoat 0,15% b/v	21
3.4.4.2	Larutan Glukosa Standar	21
3.4.4.3	Pereaksi <i>o</i> -Toluidin	22
3.4.4.4	Larutan Trikloroasetat 10% b/v	22
3.4.5	Penetapan Kadar Glukosa Darah	22
3.4.5.1	Penetapan Panjang Gelombang Maksimum... ..	22
3.4.5.2	Penetapan Kestabilan Senyawa Hasil Reaksi	22
3.4.5.3	Penetapan Kadar Glukosa Sampel	22
3.4.6	Pelaksanaan Percobaan.....	23
3.4.6.1	Uji Pendahuluan Dosis Aloksan	23
3.4.6.2	Uji Pengaruh Infusa Herba Sambiloto terhadap Glibenklamid dalam Menurunkan Kadar Glukosa Darah	24
3.4.7	Pengambilan Sampel Darah Melalui Ekor	27
3.4.8	Uji Statistik Kadar Glukosa Darah	27

BAB 4. HASIL DAN PEMBAHASAN	28
4.1 Tinjauan Umum.....	28
4.2 Uji Pendahuluan Dosis Aloksan.....	30
4.3 Penentuan Waktu Pemberian Bahan Uji	31
4.4 Pengukuran Kadar Glukosa Darah Puasa Sebelum Diberi Perlakuan (T_0).....	32
4.5 Pengukuran Kadar Glukosa Darah 2 Jam Setelah Diberi Perlakuan (T_2).....	34
4.6 Pengukuran Kadar Glukosa Darah 4 Jam Setelah Diberi Perlakuan (T_4).....	36
BAB 5. KESIMPULAN DAN SARAN	40
5.1 Kesimpulan	40
5.2 Saran	40
DAFTAR REFERENSI	41



DAFTAR GAMBAR

	Halaman
Gambar 2.1. Sambiloto (<i>Andrographis paniculata</i> Nees)	5
Gambar 2.2. Reaksi Kondensasi Glukosa dengan <i>o</i> -Toluidin.....	17
Gambar 4.1.a. Warna Larutan Blanko Setelah Direaksikan dengan <i>o</i> -Toluidin	28
Gambar 4.1.b. Warna Larutan Glukosa Standar Setelah Direaksikan dengan <i>o</i> -Toluidin	28
Gambar 4.2. Panjang Gelombang Maksimum Larutan Glukosa Standar Setelah Direaksikan dengan <i>o</i> -Toluidin	29
Gambar 4.3. Spektrum Serapan Larutan Hasil Kondensasi Glukosa dengan <i>o</i> -Toluidin Menggunakan Spektrofotometer <i>Double-Beam</i> UV 1601	29
Gambar 4.4. Grafik Kestabilan <i>o</i> -Toluidin	30
Gambar 4.5. Kadar Glukosa Darah Puasa Masing-masing Kelompok Uji Sebelum Perlakuan (T_0)	33
Gambar 4.6. Kadar Glukosa Darah Masing-masing Kelompok Uji 2 Jam Setelah Perlakuan (T_2)	35
Gambar 4.7. Kadar Glukosa Darah Masing-masing Kelompok Uji 4 Jam Setelah Perlakuan (T_4)	37

DAFTAR TABEL

	Halaman
Tabel 2.1. Klasifikasi Diabetes Melitus	7
Tabel 2.2. Kadar Glukosa Darah pada Pasien Normal, Pradiabetes, dan Diabetes Melitus	8
Tabel 3.1. Pembagian Kelompok Hewan Uji Pendahuluan Dosis Aloksan.....	23
Tabel 3.2. Pembagian Kelompok Hewan Uji Pengaruh Infusa Herba Sambiloto terhadap Glibenklamid dalam Menurunkan Kadar Glukosa Darah	25
Tabel 3.3. Perlakuan Tiap Waktu Seluruh Kelompok Uji.....	26
Tabel 4.1. Data Serapan Campuran Kromogen Hasil Kondensasi Glukosa dengan <i>o</i> -Toluidin.....	30
Tabel 4.2. Kadar Glukosa Darah Hasil Hewan Uji Pendahuluan Aloksan.....	31
Tabel 4.3. Kadar Glukosa Darah Puasa Rata-rata Masing-masing Kelompok Uji Sebelum Perlakuan (T_0).....	32
Tabel 4.4. Kadar Glukosa Darah Rata-rata Masing-masing Kelompok Uji 2 Jam Setelah Perlakuan (T_2).....	35
Tabel 4.5. Kadar Glukosa Darah Rata-rata Masing-masing Kelompok Uji 4 Jam Setelah Perlakuan (T_4).....	37
Tabel 4.6. Kadar Glukosa Darah Seluruh Tikus Sejak Induksi Hingga Akhir Perlakuan	45

DAFTAR LAMPIRAN

	Halaman
Lampiran 1. Perhitungan Dosis dan Pembuatan Infusa Herba Sambiloto	47
Lampiran 2. Perhitungan Dosis dan Pembuatan Suspensi Glibenklamid	48
Lampiran 3. Skema kerja Uji Pengaruh Infusa Herba Sambiloto terhadap Glibenklamid dalam Menurunkan Kadar Glukosa Darah	49
Lampiran 4. Uji Normalitas (Uji <i>Saphiro-Wilk</i>) terhadap Kadar Glukosa Darah Seluruh Kelompok Hewan Uji (SPSS 17.0)....	50
Lampiran 5. Uji Homogenitas (Uji <i>Levene</i>) terhadap Kadar Glukosa Darah Seluruh Kelompok Hewan Uji (SPSS 17.0)....	53
Lampiran 6. Uji Analisis Variansi (ANAVA) Satu Arah terhadap Kadar Glukosa Darah Kelompok Hewan Uji (SPSS 17.0).....	54
Lampiran 7. Uji Beda Nyata Terkecil (BNT) terhadap Kadar Glukosa Darah Kelompok Hewan Uji (SPSS 17.0)	55
Lampiran 8. Uji <i>Kruskal-Wallis</i> terhadap Kadar Glukosa Darah Kelompok Hewan Uji (SPSS 17.0).....	62
Lampiran 9. Uji <i>Mann-Whitney</i> terhadap Kadar Glukosa Darah Kelompok Hewan Uji (SPSS 17.0).....	63
Lampiran 10. Surat Keterangan Hewan Uji.....	65
Lampiran 11. Sertifikat Analisis Alokasan Monohidrat	66
Lampiran 12. Surat Determinasi Herba Sambiloto	67
Lampiran 13. Sertifikat Analisis Glibenklamid	68

BAB 1 PENDAHULUAN

1.1 Latar belakang

Diabetes melitus menjadi masalah kesehatan masyarakat, tidak hanya di Indonesia, tetapi juga dunia. Hal ini dapat dilihat dengan meningkatnya jumlah kasus DM di Indonesia yang berada di urutan ke-4 setelah negara India, Cina, dan Amerika dengan jumlah penderita sebanyak 8,4 juta jiwa dan diperkirakan akan terus meningkat sampai 21,3 juta orang pada tahun 2030 (Kementrian Kesehatan Republik Indonesia, 2010). Secara umum, hampir 80% prevalensi diabetes melitus adalah DM tipe 2 (Kementrian Kesehatan Republik Indonesia, 2009).

Penderita diabetes banyak menggunakan kombinasi herbal berkhasiat antidiabetes dengan obat sintetis yang diresepkan tanpa menginformasikan terlebih dahulu kepada praktisi kesehatan. Mereka mempercayai bahwa kombinasi tersebut aman, dapat mengurangi efek samping atau toksisitas, dan mendapatkan efek sinergis atau aditif (Pekthong et al., 2007; Pekthong et al., 2009). Kombinasi ini bertujuan untuk mencapai kadar glukosa darah yang lebih baik (Wibudi, Kiranadi, Manalu, Winarto, & Suyono, 2008).

Salah satu herbal antidiabetes yang banyak dikonsumsi masyarakat adalah sambiloto (*Andrographis paniculata* Nees). Beberapa penelitian menunjukkan khasiat antidiabetes sambiloto, baik secara *in vitro* maupun *in vivo*. Secara *in vitro*, sambiloto dapat meningkatkan sekresi insulin dan menghambat α -glukosidase dan α -amilase (Subramanian, Asmawi, & Sadikun, 2008; Wibudi, Kiranadi, Manalu, Winarto, & Suyono, 2008). Secara *in vivo* telah diuji efek hipoglikemik ekstrak air dan etanol dari herba sambiloto pada tikus jantan menggunakan metode TTGO dan dengan induksi aloksan (Soetarno, Sukandar, Sukrasno, & Yuwono, 1999; Yulinah, Sukrasno, & Fitri, 2001). Penelitian lain menunjukkan aktivitas antidiabetes pada air rebusan daun sambiloto pada tikus jantan dengan dosis 40% b/v 20 ml/kg bb (Sentra Informasi IPTEK). Simplisia herba sambiloto dalam bentuk infusa dosis 250 mg/kg bb telah diteliti dapat menurunkan kadar glukosa darah tikus putih diabetes dengan induksi streptozotosin (Haryanto, 1999). Kandungan laktone pada sambiloto, yaitu

andrografolida, merupakan konstituen aktif dari sambiloto yang memiliki efek antidiabetes (Ulbricht & Seamon, 2010).

Salah satu obat antidiabetes oral sintetis yang paling banyak dikenal adalah glibenklamid dari golongan sulfonilurea yang bekerja menurunkan kadar glukosa darah dengan merangsang sel β Langerhans pankreas untuk memproduksi insulin. Oleh sebab itu, syarat pemakaian obat ini adalah jika pankreas masih dapat memproduksi insulin (Katzung, 2006). Glibenklamid memiliki waktu paruh sekitar 4 jam (Suherman, 2007). Meskipun waktu paruhnya pendek, namun efek hipoglikemiknya berlangsung 12-24 jam, sehingga cukup diberikan satu kali sehari (Suherman, 2007).

Kombinasi dari herbal dan obat sintetis tidak menutup kemungkinan terjadinya interaksi. Senyawa yang terkandung dalam herbal dapat menyebabkan interaksi farmakokinetika saat diberikan dengan obat sintetis secara bersamaan (Pekthong, 2007). Telah diteliti bahwa sambiloto merupakan inhibitor kompetitif enzim CYP3A4 pada manusia, dimana glibenklamid merupakan substrat enzim tersebut (Pekthong et al, 2009; Zhou et al., 2010). Oleh sebab itu, terdapat kemungkinan terjadi interaksi farmakokinetika pada tahap metabolisme. Interaksi ini dapat menyebabkan terhambatnya metabolisme glibenklamid sehingga kerja dari glibenklamid lebih panjang dan meningkatkan efek antidiabetes. Peningkatan efek antidiabetes ini dapat berbahaya karena dapat menimbulkan hipoglikemia. Selain itu, mekanisme kerja yang sama dari glibenklamid dan sambiloto, yaitu meningkatkan sekresi insulin, memungkinkan adanya interaksi sinergis yang dapat meningkatkan risiko terjadinya hipoglikemia.

Berdasarkan uraian diatas, perlu dilakukan penelitian tentang pengaruh pemberian infusa herba sambiloto terhadap glibenklamid dalam menurunkan kadar glukosa darah. Sebagai model diabetes, digunakan tikus yang mengalami keadaan hiperglikemia akibat induksi dari senyawa aloksan.

1.2 Tujuan penelitian

Mengetahui pengaruh pemberian infusa herba sambiloto terhadap glibenklamid dalam menurunkan kadar glukosa darah tikus putih jantan yang dibuat diabetes dengan aloksan.

1.3 Hipotesis

Pemberian infusa herba sambiloto memberikan pengaruh terhadap glibenklamid dalam menurunkan kadar glukosa darah tikus putih jantan yang dibuat diabetes dengan aloksan.



BAB 2 TINJAUAN PUSTAKA

2.1 Sambiloto

2.1.1 Klasifikasi (Badan Penelitian dan Pengembangan Kesehatan Departemen Kesehatan RI, 1991)

Divisi	:	Spermathophyta
Sub divisi	:	Angiospermae
Kelas	:	Dicotyledonae
Bangsa	:	Solanales
Suku	:	Acanthaceae
Marga	:	Andrographis
Spesies	:	<i>Andrographis paniculata</i> Nees.

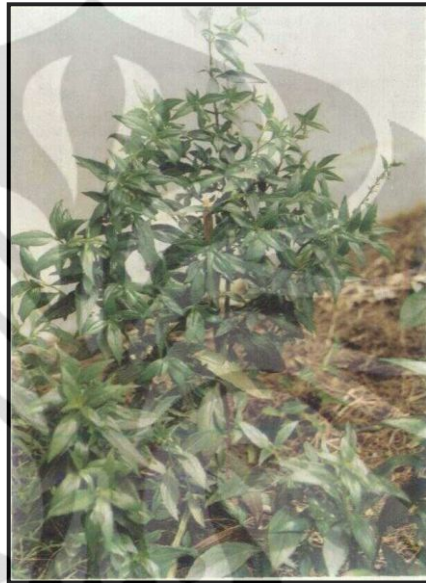
2.1.2 Nama daerah dan nama asing

Sambilata (Melayu), sambiloto (Jawa Tengah), ki oray (Sunda), pepaitan (Maluku), chuan xin lian, yi jian xi, lan he lian (China), xuyen tam lien, cong cong (Vietnam), kirata, mahatitka (India), creat, green chiretta, halviva, kariyat (Inggris) (Badan Penelitian dan Pengembangan Kesehatan Departemen Kesehatan RI, 1991; Sentra informasi IPTEK).

2.1.3 Morfologi

Sambiloto tergolong tanaman terna (perdu) yang tumbuh tegak dengan tinggi 40–90 cm, memiliki batang berkayu dan memiliki banyak cabang yang terletak berlawanan. Bentuk daun lanset, ujung daun dan pangkal daun tajam atau agak tajam. Tepi daun rata, permukaan halus, dan berwarna hijau. Panjang daun 3–12 cm, lebar 1–3 cm. Panjang tangkai daun 5–25 mm, daun bagian atas bentuknya seperti daun pelindung. Perbungaan tegak bercabang, panjang gagang bunga 3–7 mm dan panjang kelopak bunga 3–4 mm. Bunga berbibir dan berbentuk tabung dengan panjang 6 mm. Bibir bunga bagian atas berwarna putih dan warna kuning pada bagian ujung atasnya dengan ukuran 7–8 mm, bibir bunga

bawah lebar berbentuk biji berwarna ungu dengan panjang 6 mm. Tangkai sari agak sempit dan melebar pada bagian pangkal, memiliki panjang 6 mm. Bentuk buah jorong dengan ujung tajam, panjang kurang lebih 2 cm, apabila sudah tua akan pecah terbagi menjadi 4 keping (Departemen Kesehatan RI, 1979; Yusron, Januwati, & Pribadi, 2005).



[sumber: Badan Penelitian dan Pengembangan Kesehatan Departemen Kesehatan RI, 1991]

Gambar 2.1 Sambiloto (*Andrographis paniculata* Nees)

2.1.4 Kandungan kimia (Widyawati, 2007)

Sambiloto mengandung flavonoid dan lakton. Komponen utama bentuk lakton adalah andrografolida yang merupakan zat aktif utama dari tanaman ini. Andrografolida sudah diisolasi dalam bentuk murni dan menunjukkan berbagai aktivitas farmakologi.

Berdasarkan penelitian lain yang telah dilakukan, kandungan yang dijumpai pada tanaman sambiloto antara lain diterpen lakton dan glikosidanya, seperti deoksiandrografolida, 11,12-didehidro-14-deoksiandrografolida, dan neoandrografolida.

Daun dan cabangnya lebih banyak mengandung lakton, sedangkan komponen flavonoid dapat diisolasi dari akarnya, yaitu polimetoksiflavin,

andrografen, panikulin, dan apigenin-7,4' dimetileter. Selain komponen lakton dan flavonoid, tanaman sambiloto juga mengandung kalsium, natrium, dan kalium.

2.1.5 Khasiat dan kegunaan

Kegunaan dari sambiloto yang didukung oleh data klinis antara lain sebagai profilaksis dan pengobatan gejala infeksi pernafasan atas, seperti flu dan sinusitis, bronkitis dan faringotonsilitis, infeksi saluran kemih, dan diare akut. Sedangkan, penggunaan sambiloto untuk pengobatan tradisional meliputi pengobatan disentri basiler, kolitis, batuk, dispepsia, demam, hepatitis, malaria, ulser pada mulut, luka, tuberkulosis, gigitan ular berbisa, otitis media, vaginitis, penyakit radang panggul, cacar air, eksim, dan luka bakar (World Health Organization, 2002).

Aktivitas biologis lain dari sambiloto antara lain sebagai antimikroba, antifungi, antihipertensi, antiinflamasi, antitrombin, analgesik, antipiretik, hipoglikemik, antispasmodik, antifertilitas, teratogenik, antitumor, hepatoprotektif, sitotoksik, antileishmaniasis, stimulan pertumbuhan rambut, anti HIV, pengobatan sindrom nefrotik, koleretik, perlindungan membran eritrosit, aktivitas kardiovaskular, antialergi, antiplatelet, antiflu, dan induksi fagositosis (Kardono, Artanti, Dewiyanti, & Basuki, 2003).

2.2 Diabetes melitus

2.2.1 Definisi

Diabetes melitus (DM) adalah gangguan metabolisme yang ditandai dengan hiperglikemia yang berhubungan dengan abnormalitas metabolisme karbohidrat, lemak, dan protein yang disebabkan oleh penurunan sekresi insulin atau penurunan sensitivitas insulin, atau keduanya dan menyebabkan komplikasi kronis mikrovaskular dan makrovaskular (Sukandar et al., 2008).

2.2.2 Klasifikasi

Berdasarkan etiologinya, DM dapat dibedakan menjadi: (1) DM tipe 1, adanya gangguan produksi insulin akibat penyakit autoimun atau idiopatik. Tipe ini sering disebut *insulin dependent diabetes mellitus* atau IDDM karena pasien

Universitas Indonesia

mutlak membutuhkan insulin. (2) DM tipe 2, akibat resistensi insulin. Pada tipe 2 ini, tidak selalu dibutuhkan insulin, cukup ditangani dengan diet dan antidiabetik oral. Oleh sebab itu, tipe ini juga disebut *non insulin dependent diabetes mellitus* atau NIDDM. Jenis yang lain, misalnya (3) DM gestasional, dan (4) DM pada penyakit endokrin, pankreas, atau akibat penggunaan obat, dan lain – lain (Suherman, 2007). Keterangan lebih lengkap dapat dilihat pada Tabel 2.1.

Tabel 2.1 Klasifikasi diabetes melitus

No	Diabetes Melitus	Keterangan
1	Tipe 1	Destruksi sel β , umumnya mengarah ke defisiensi insulin absolut akibat autoimun atau idiopatik
2	Tipe 2	Bervariasi, mulai yang predominan resistensi insulin disertai defisiensi insulin relatif, sampai yang predominan gangguan sekresi insulin bersama resistensi insulin.
3	Tipe lain	Defek genetik fungsi sel β , defek genetik kerja insulin, penyakit eksokrin pankreas, endokrinopati, diabetes karena obat atau zat kimia, diabetes karena infeksi.
4	Gestasional	Diabetes melitus yang muncul pada masa kehamilan, umumnya bersifat sementara, tetapi merupakan faktor risiko untuk DM tipe 2
5	Pra-Diabetes	IFG (<i>Impaired Fasting Glucose</i>) = GPT (Glukosa Puasa Terganggu), atau IGT (<i>Impaired Glucose Tolerance</i>) = TGT (Toleransi Glukosa Terganggu)

[sumber: Departemen Kesehatan RI, 2005]

2.2.3 Manifestasi klinis

Diabetes melitus merupakan suatu sindroma klinik yang ditandai oleh poliuria, polidipsia, dan polifagia. Dalam keadaan hiperglikemia yang berlangsung lama dan melewati ambang ginjal, akan terjadi glukosuria, dimana batas maksimal reabsorpsi glukosa pada tubulus ginjal terlampaui dan glukosa akan diekskresikan ke dalam urin. Volume urin meningkat (poliuria) akibat terjadinya diuresis osmotik yang menyebabkan dehidrasi pada penderita DM, maka tubuh berusaha mengatasinya dengan banyak minum (polidipsia). Polifagia yang merupakan peningkatan rasa terjadi karena katabolisme protein dan lemak. Keadaan ini selain menyebabkan polifagia, juga dapat menyebabkan kelemahan otot dan rasa lelah (Corwin, 2008).

2.2.4 Diagnosis (Departemen Kesehatan RI, 2005; Price, 2000).

Apabila penderita telah menunjukkan gejala DM yang khas, hasil pemeriksaan kadar glukosa darah sewaktu > 200 mg/dl telah cukup untuk menegakkan diagnosis DM. Hasil pemeriksaan kadar glukosa darah puasa > 126 mg/dl juga dapat digunakan sebagai patokan diagnosis DM (lihat Tabel 2.2).

Tabel 2.2 Kadar glukosa darah pada pasien normal, pradiabetes, dan diabetes melitus

Kelompok	Glukosa darah puasa		Glukosa darah postprandial	
	(mg/dl)	(mmol/l)	(mg/dl)	(mmol/l)
Normal	< 100	$< 5,6$	< 140	$< 7,8$
Pradiabetes	100–125	5,6–6,9	140–199	7,8–11,1
Diabetes Melitus	≥ 126	$\geq 7,0$	≥ 200	$\geq 11,1$

[Sumber: DiPiro, Talbert, Yeas, Matzke, Wells, & Posey, 2005, telah diolah kembali]

Pemeriksaan lain yang dapat dilakukan untuk mendiagnosis diabetes melitus antara lain pemeriksaan urin untuk mendeteksi adanya glukosuria, tes toleransi glukosa oral (TTGO), dan tes glikohemoglobin.

2.2.5 Terapi Nonfarmakologis

2.2.5.1 Diet

Diet yang dianjurkan adalah makanan dengan komposisi yang seimbang. Asupan serat sangat penting bagi penderita diabetes, disamping akan menolong menghambat penyerapan lemak, makanan berserat yang tidak dapat dicerna oleh tubuh juga dapat membantu mengatasi rasa lapar yang sering dirasakan penderita DM (Departemen Kesehatan RI, 2005).

2.2.5.2 Olahraga

Olahraga secara teratur dapat menurunkan dan menjaga kadar glukosa darah tetap normal karena dapat memperbanyak jumlah dan meningkatkan aktivitas reseptor insulin dalam tubuh, serta meningkatkan penggunaan glukosa (Departemen Kesehatan RI, 2005).

2.2.6 Terapi Farmakologis

2.2.6.1 Insulin

Mekanisme kerja insulin dalam menurunkan kadar glukosa darah dengan menstimulasi pengambilan glukosa perifer dan menghambat produksi glukosa hepatic (Sukandar et al., 2008). Terapi insulin mutlak bagi penderita DM Tipe 1 karena sel β Langerhans pankreas penderita rusak, sehingga tidak lagi dapat memproduksi insulin. Sebagai penggantinya, maka penderita DM Tipe 1 harus mendapat insulin eksogen untuk membantu agar metabolisme karbohidrat di dalam tubuhnya dapat berjalan normal. Insulin juga diberikan pada penderita DM Tipe 2 yang kadar glukosa darahnya tidak dapat dikendalikan dengan diet dan antidiabetik oral, DM pascapankreatektomi, dan DM gestasional (Departemen Kesehatan RI, 2005; Suherman, 2007).

Insulin tersedia dalam bentuk injeksi melalui rute intravena, intramuskular, dan subkutan. Rute subkutan paling banyak digunakan untuk jangka panjang. Pemberian insulin tidak dapat diberikan melalui oral karena dapat dipecah oleh enzim pencernaan. Kebutuhan insulin pada pasien DM umumnya berkisar antara 5-150 U sehari bergantung pada keadaan pasien (Suherman, 2007). Respon individual terhadap terapi insulin cukup beragam, oleh sebab itu penentuan jenis dan frekuensi penyuntikkan dilakukan secara individual (Departemen Kesehatan RI, 2005). Terdapat berbagai jenis sediaan insulin yang berbeda dalam hal mula kerja (onset) dan masa kerjanya (durasi). Sediaan insulin untuk terapi dapat digolongkan menjadi 4 kelompok, yaitu:

- a) Insulin masa kerja singkat (*Short-acting Insulin*).
- b) Insulin masa kerja sedang (*Intermediate-acting*).
- c) Insulin masa kerja sedang dengan mula kerja cepat.
- d) Insulin masa kerja panjang (*Long-acting insulin*).

2.2.6.2 Antidiabetik oral

a. Sulfonilurea

Dikenal dua generasi sulfonilurea, generasi pertama terdiri dari tolbutamid, asetoheximid, dan klorpropamid. Generasi berikutnya memiliki

potensi hipoglikemik lebih besar, antara lain gliburid atau glibenklamid, glipizid, glikazid, dan glimepirid.

Mekanisme kerja glibenklamid yaitu dengan merangsang sekresi hormon insulin dari granul sel-sel β Langerhans pankreas. Interaksinya dengan *ATP-sensitive K channel* pada membran sel-sel β menimbulkan depolarisasi membran dan keadaan ini akan membuka kanal Ca. Dengan terbukanya kanal Ca, maka ion Ca^{2+} akan masuk ke dalam sel β kemudian merangsang granula yang berisi insulin dan akan terjadi sekresi insulin. Pada penggunaan jangka panjang atau dosis yang besar dapat menyebabkan hipoglikemia (Suherman, 2007).

Glibenklamid memiliki potensi 200 kali lebih kuat dari tolbutamid. Untuk mencapai kadar optimal di plasma, glibenklamid akan lebih efektif bila diminum 30 menit sebelum makan. Obat ini cepat diserap dalam saluran pencernaan, memiliki waktu paruh sekitar 4 jam (Suherman, 2007). Dalam plasma, sekitar 90-99% terikat pada protein plasma, terutama albumin. Meskipun waktu paruhnya pendek, namun efek hipoglikemiknya berlangsung selama 12–24 jam, sehingga cukup diberikan satu kali sehari. Sekitar 50% dari dosis diekskresikan dalam urin dan 50% melalui empedu ke tinja. Dosis awal untuk DM tipe 2 adalah 2,5–5 mg setiap hari, disesuaikan setiap 7 hari dengan penambahan sebesar 2,5 atau 5 mg sehari sampai 15 mg per hari (Suherman, 2007).

b. Biguanid

Obat golongan ini bekerja meningkatkan sensitivitas reseptor insulin pada jaringan otot dan hepatik, sehingga terjadi peningkatan ambilan glukosa ke dalam sel. Biguanid tidak merangsang sekresi insulin dan umumnya tidak menyebabkan hipoglikemia. Obat golongan ini hanya satu yang beredar, yaitu metformin (Suherman, 2007).

c. Tiazolidindion

Mekanisme kerja dari tiazolidindion adalah mengurangi resistensi insulin. Mekanismenya terkait dengan regulasi dari gen yang terlibat dalam metabolisme glukosa dan lemak. Selain itu, obat ini juga menurunkan glukoneogenesis di hati.

Contoh obat golongan ini misalnya rosiglitazon dan pioglitazon (Suherman, 2007).

d. Penghambat α -glukosidase

Senyawa-senyawa penghambat α -glukosidase bekerja menghambat α -glukosidase yang terdapat pada dinding usus halus yang berfungsi untuk menghidrolisis oligosakarida pada dinding usus halus. Penghambatan kerja enzim ini secara efektif dapat mengurangi pencernaan karbohidrat kompleks, sehingga absorpsi glukosa dapat dikurangi. Contoh golongan obat ini adalah akarbose dan miglitol (Suherman, 2007).

e. Meglitinid

Mekanisme kerja sama seperti sulfonilurea tetapi struktur kimianya sangat berbeda. Contoh obat golongan ini adalah repaglinid dan netaglinid (Suherman, 2007). Karena tidak mengandung sulfur, meglitinid dapat digunakan untuk pasien DM tipe 2 yang alergi terhadap sulfur atau sulfonilurea.

f. Terapi berbasis inkretin

Hormon inkretin adalah hormon yang dihasilkan epitel usus yang berfungsi dalam glukoregulator. Inkretin terdiri atas dua macam, yaitu GLP-1 (*glucagone like peptide-1*) dan GIP (*glucose-dependent isulinotropic polypeptide*). GLP-1 berikatan dengan reseptor sel β di pankreas sehingga memiliki efek meningkatkan sekresi insulin, menekan sekresi glukagon, meningkatkan proliferasi sel β , dan menjaga sel β agar resisten terhadap apoptosis. Namun, GLP-1 sangat cepat didegradasi oleh enzim DPP IV sehingga mempunyai waktu paruh yang sangat singkat, yaitu 1-2 menit. Terdapat 2 kategori senyawa yang dikembangkan dalam terapi berbasis inkretin, yaitu GLP-1 mimetik, contohnya exenatide dan liraglutide, serta penghambat DPP IV, contohnya sitagliptin dan vildagliptin (Nicolucci & Rossi, 2008).

g. Tanaman obat sebagai antidiabetes

Meskipun telah tersedia berbagai macam obat antidiabetik, penelitian terhadap tanaman yang diduga memiliki efek hipoglikemia masih terus dilakukan. Umumnya, penelitian ini tidak mendalam dan hanya terbatas pada penelitian pendahuluan dengan menggunakan ekstrak kasar yang diperoleh dengan cara membuat seduhan atau rebusan bagian tanaman dalam air.

Beberapa tanaman yang telah terbukti memiliki efek hipoglikemik diantaranya buah mengkudu (*Morinda citrifolia* Linn), daun mimba (*Azadirachta indica* A. Juss), kulit batang pulai (*Alstonia scholaris* R. Br), buah pare (*Momordica charantia*), daun lidah buaya (*Aloe ferrox* Mill), daun dan bunga tapak dara (*Catharanthus roseus*), biji mahoni (*Swietenia macrophylla* King), biji alpukat (*Parsea gratissima* Gaertn), batang brotowali (*Tinospora crispa* Miers), daun dan buah jambu biji (*Psidium guajava*), bunga kembang pukul empat (*Mirabilis jalapa* L), daun iler (*Coleus scutellarioides* Benth), buah, biji, dan bunga jamblang (*Syzygium cumini*), daun kumis kucing (*Orthosiphon aristatus* Miq), daun dan herba sambiloto (*Andrographis paniculata* Nees) (Utami, 2003; Wardhani, 2004; Wibudi, Kiranadi, Manalu, Winarto, & Suyono, 2008).

2.3 Interaksi Obat (Setiawati, 2007)

Diantara berbagai faktor yang mempengaruhi respon tubuh terhadap pengobatan, terdapat faktor interaksi obat. Obat dapat berinteraksi dengan makanan, zat kimia, atau dengan obat lain. Interaksi ini dapat menguntungkan atau merugikan, namun interaksi dianggap penting secara klinik apabila berakibat meningkatkan toksisitas dan/atau mengurangi efektivitas obat yang berinteraksi, terutama jika menyangkut obat dengan batas keamanan yang sempit. Semakin banyak jenis obat yang dikonsumsi, maka kemungkinan terjadinya interaksi akan meningkat. Namun adanya interaksi ini sulit diperkirakan karena sering dianggap sebagai reaksi idiosinkrasi atau bertambahnya keparahan penyakit dan karena adanya faktor variasi individu. Selain itu, interaksi obat juga sulit diperkirakan karena tidak selalu terjadi pada semua dosis namun hanya terjadi pada dosis tertentu.

Mekanisme terjadinya interaksi obat terdiri dari berbagai proses dan suatu interaksi belum tentu hanya dihasilkan dari satu mekanisme saja. Interaksi obat yang terjadi bisa saja merupakan gabungan dari berbagai mekanisme. Secara garis besar, mekanisme terjadinya interaksi obat dapat dibedakan atas 3 mekanisme, yaitu interaksi farmasetika, farmakokinetika, dan farmakodinamika.

Interaksi farmasetika terjadi antara obat yang tidak dapat dicampur (inkompatibel). Pencampuran obat yang inkompatibel menyebabkan terjadinya interaksi langsung secara fisik atau kimiawi.

Interaksi farmakokinetika melibatkan proses absorpsi, distribusi, metabolisme, dan ekskresi. Adanya gangguan pada proses tersebut dapat mengakibatkan perubahan kadar obat dalam darah. Pada proses absorpsi, hal yang dapat menyebabkan interaksi adalah interaksi secara langsung antar obat dalam lumen saluran cerna, pH saluran cerna, waktu pengosongan lambung, waktu transit di usus, kompetisi pada proses absorpsi aktif, perubahan flora usus, dan efek toksik pada saluran cerna. Pada proses distribusi, hal yang dapat menyebabkan interaksi adalah ikatan protein plasma dan ikatan jaringan. Perubahan pada ikatan protein dan jaringan akan merubah kadar obat bebas dalam darah. Pada proses metabolisme, hal yang dapat menyebabkan interaksi adalah adanya induksi atau inhibisi enzim metabolisme, adanya polimorfisme sitokrom P450, dan perubahan aliran darah ke hati. Pada proses ekskresi, hal yang dapat menyebabkan interaksi adalah perubahan pH urin, gangguan empedu dan siklus enterohepatik, gangguan sekresi pada tubuli ginjal, dan perubahan aliran darah ke ginjal.

Interaksi farmakodinamika adalah interaksi antara obat yang bekerja pada sistem reseptor, tempat kerja, atau sistem fisiologis yang sama sehingga terjadi efek aditif, sinergis, atau antagonis. Selain itu, interaksi ini juga dapat terjadi akibat adanya perubahan kesetimbangan elektrolit dan transport obat.

2.4 Metode uji efek antidiabetes

Keadaan diabetes dapat diinduksi pada hewan percobaan dengan cara pankreatektomi dan secara kimia. Zat-zat kimia yang dapat digunakan misalnya aloksan, streptozotosin, diaksosida, adrenalin, glukagon, etilendiamin tetraasetat,

Universitas Indonesia

dan sebagainya. Zat-zat tersebut (diabetogen) biasanya diberikan secara parenteral. Beberapa diabetogen dapat menyebabkan keadaan hiperglikemia permanen dalam dosis tinggi, misalnya aloksan dan streptozotosin. Keduanya merupakan analog sitotoksik glukosa (Lenzen, 2008).

Uji efek antidiabetes dapat dilakukan dengan dua metode, yakni metode uji toleransi glukosa dan metode uji diabetes aloksan (Yayasan Pengembangan Obat Bahan Alam Phyto Medica, 1993).

2.4.1 Metode tes toleransi glukosa peroral (TTGO)

Prinsip dari uji toleransi glukosa yaitu pada hewan uji yang telah dipuaskan selama lebih kurang 20-24 jam diberikan larutan glukosa per oral setengah jam sesudah pemberian sediaan obat yang diuji. Pada awal percobaan sebelum pemberian obat, dilakukan pengambilan cuplikan darah vena dari masing-masing hewan uji sebagai kadar glukosa darah awal. Pengambilan cuplikan darah vena diulangi setelah perlakuan pada waktu tertentu.

2.4.2 Metode uji diabetes aloksan

Prinsip metode ini yaitu pemberian aloksan secara parenteral. Hewan uji yang berbeda dengan kondisi yang berbeda akan menghasilkan dosis yang berbeda, sehingga uji pendahuluan tetap dilakukan untuk menetapkan dosis aloksan. Dosis tunggal 140–180 mg/kg dapat digunakan untuk semua jenis hewan uji. Aloksan diberikan dalam larutan konsentrasi 5% b/v dan diinjeksikan secara intravena melalui vena telinga kelinci atau secara intraperitoneal untuk tikus dan mencit (Etuk, 2010) Setelah induksi, perkembangan hiperglikemia diperiksa setiap hari. Pemberian tanaman obat yang akan diuji dilakukan delapan hari setelah pemberian aloksan. Pemberian obat antidiabetik oral dapat menurunkan kadar glukosa darah dibandingkan terhadap hewan uji normal.

Aloksan memiliki rumus molekul $C_4H_2N_2O_4$, nama lainnya adalah mesoxalylcarbamida, merupakan senyawa hasil kondensasi yang berasal dari satu molekul urea dengan satu molekul asam mesooksalat. Aloksan memiliki efek diabetogenik ketika diberikan secara intravena, intraperitoneal, atau subkutan. Dosis yang diperlukan untuk menginduksi diabetes bergantung pada spesies, rute

Universitas Indonesia

pemberian, dan status nutrisi. Hewan yang dipuasakan akan lebih rentan terhadap aloksan (Szkudelski, 2001).

Aloksan memiliki dua mekanisme yang berbeda. Mekanisme pertama yaitu aloksan secara selektif menghambat sekresi insulin yang diinduksi oleh glukosa melalui penghambatan spesifik pada glukokinase yang merupakan sensor glukosa dari sel β pankreas. Mekanisme kedua, yaitu melalui kemampuan aloksan untuk menginduksi pembentukan *Reactive Oxygen Species* (ROS) yang menghasilkan nekrosis selektif dari sel β pankreas (Lenzen, 2008).

Aloksan merupakan senyawa kimia yang amat tidak stabil dengan bentuk molekul menyerupai glukosa. Akibat kesamaan tersebut, transporter glukosa GLUT2 yang terdapat pada membran sel β menerima senyawa glukomimetik ini dan mentransportnya ke dalam sitosol. Karena hal tersebut, maka aloksan bersifat tidak toksik terhadap sel yang memproduksi insulin yang tidak mengekspresikan transporter ini (Lenzen, 2008).

Waktu paruh aloksan amat singkat. Pada larutan dalam air, aloksan akan terdekomposisi menjadi senyawa asam aloksanat yang tidak bersifat diabetogenik dalam hitungan menit. Oleh sebab itu, aloksan harus dapat terakumulasi dengan cepat di sel β , dan menjadi tidak efektif jika aliran darah menuju pankreas terganggu selama beberapa menit pertama setelah injeksi aloksan (Lenzen, 2008). Akan tetapi, saat dosis diabetogenik digunakan, waktu dekomposisi dari aloksan tersebut cukup untuk mencapai pankreas dalam jumlah yang merusak (Szkudelski, 2001).

Setelah pemberian aloksan, akan terlihat 4 fase dari fluktuasi kadar glukosa darah sebagai berikut (Lenzen, 2008) :

- a. Fase hipoglikemia yang terjadi dalam waktu 30 menit setelah injeksi aloksan. Hal ini terjadi karena penghambatan glukokinase yang menyebabkan penghambatan fosforilasi glukosa. Penghambatan ini akan menyebabkan penurunan konsumsi dan peningkatan ketersediaan ATP yang kemudian akan menyebabkan stimulasi sekresi insulin.
- b. Fase kedua dimulai dengan peningkatan dari kadar glukosa darah dan penurunan dari kadar insulin plasma. Fase hiperglikemia pertama ini terjadi

sekitar satu jam setelah pemberian diabetogen dan bertahan kurang lebih 2–4 jam.

- c. Terjadi fase hipoglikemia kembali. Biasanya terjadi 4–8 jam setelah pemberian dan akan bertahan selama beberapa jam. Keadaan hipoglikemia ini terkadang sangat parah sampai menyebabkan kejang dan bahkan fatal tanpa pemberian glukosa. Keadaan hipoglikemia transisi ini dihasilkan akibat dari keluarnya insulin dari dalam sel β Langerhans pankreas akibat kerusakan sel-sel tersebut.
- d. Fase ini merupakan fase hiperglikemia diabetik. Secara morfologis, telah terjadi degranulasi yang sempurna dan hilangnya integritas dari sel β Langerhans pankreas. Fase ini dapat terlihat pada 12–48 jam setelah pemberian.

2.5 Metode pemeriksaan kadar glukosa darah

Pemeriksaan kadar glukosa darah dapat ditentukan dengan tiga macam metode, yaitu: metode oksidasi reduksi, metode kondensasi, dan metode enzimatik.

2.5.1 Metode reduksi-oksidasi

Pengukuran glukosa berdasarkan pada sifatnya sebagai zat pereduksi dalam larutan alkali panas. Metode ini tidak spesifik karena adanya zat – zat non glukosa lain juga bersifat mereduksi.

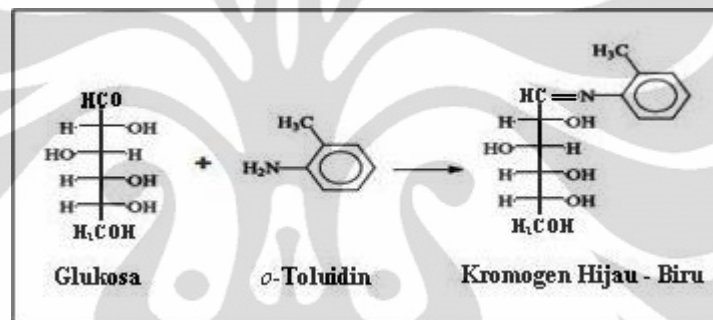
2.5.2 Metode enzimatik

Metode ini menggunakan enzim – enzim yang bekerja secara spesifik pada glukosa. Penggunaan alat glukometer merupakan salah satu contoh aplikasi pemeriksaan kadar glukosa darah menggunakan metode ini, dimana strip uji mengandung enzim pengoksidasi glukosa yang akan bereaksi dengan glukosa darah (Roche, 2009).

2.5.3 Metode kondensasi (metode *o*-toluidin) (World Health Organization, 2003; Dubowsky, 2008)

Prinsip dari metode ini, yaitu protein yang terdapat dalam darah diendapkan terlebih dahulu dengan asam trikloroasetat. Kemudian dilakukan sentrifugasi untuk memisahkan supernatan dan endapan. Glukosa yang terdapat dalam supernatan yang jernih kemudian akan direaksikan dengan *o*-toluidin yang merupakan amin aromatis primer dalam pelarut asam asetat glasial panas.

O-toluidin berkondensasi dengan gugus aldehida pada glukosa membentuk suatu campuran kromogen hijau - biru dengan panjang gelombang maksimum sekitar 630 nm (lihat Gambar 2.2). Pengukuran serapan dilakukan menggunakan spektrofotometer UV-vis.



[sumber: Dubowsky, 2008, telah diolah kembali]

Gambar 2.2 Reaksi kondensasi glukosa dengan *o*-toluidin

BAB 3 METODE PENELITIAN

3.1 Lokasi dan waktu

Penelitian dilaksanakan di Laboratorium Farmakologi dan Laboratorium Kimia Analisis Kuantitatif Departemen Farmasi FMIPA Universitas Indonesia selama empat bulan, sejak Februari hingga Mei 2011.

3.2 Bahan

3.2.1 Hewan uji

Hewan uji yang digunakan pada penelitian ini adalah tikus putih jantan galur *Sprague Dawley* berumur kurang lebih 3 bulan dengan berat badan 180–250 gram sebanyak 24 ekor. Hewan uji diperoleh dari Bagian Non Ruminansia dan Satwa Harapan Fakultas Peternakan Institut Pertanian Bogor.

3.2.2 Bahan uji

Tanaman segar sambiloto berumur kurang lebih 3 bulan diperoleh dari Balai Penelitian Tanaman Obat dan Aromatika, Bogor. Determinasi herba sambiloto dilakukan di Pusat Penelitian Biologi Lembaga Ilmu Pengetahuan Indonesia (LIPI) Bogor, kemudian dilakukan penyiapan bahan uji dari tanaman segar menjadi serbuk simplisia herba sambiloto (*Andrographidis Herba*). Bahan uji lainnya yaitu glibenklamid (PT. Mersi Farma Tirmaku Mercusuaana).

3.2.3 Bahan kimia

Bahan kimia yang digunakan antara lain aloksan monohidrat (Sigma), natrium klorida (Otsuka), CMC (diperoleh dari Brataco Chemical, Indonesia), heparin (PT. Pratapa Nirmala) asam trikloroasetat (Merck), *o*-toluidin (Merck), asam asetat glasial (Mallinckrodt), tiourea (Merck), glukosa anhidrat (Biochem), asam benzoat (Merck), dan alkohol 70% (PT. Jakarta).

3.3 Alat

Sonde lambung, timbangan analitik (Ohaus), timbangan tikus (And), spuit (Terumo), spektrofotometer UV-Vis *Double Beam* Shimadzu 1601, *mikrotube*, mikropipet (Socorex), vortex, pisau bedah (Braun), pemanas air, panci infusa, dan alat-alat gelas.

3.4 Prosedur kerja

3.4.1 Penyiapan hewan uji

Tikus diaklimatisasi selama 2 minggu di kandang hewan FMIPA UI. Aklimatisasi bertujuan agar tikus beradaptasi dengan lingkungan baru dan meminimalisasi efek stres pada tikus yang dapat berpengaruh pada metabolismenya dan dapat mengganggu penelitian. Setiap tikus diberi makan dan minum serta ditimbang berat badannya secara rutin. Tikus yang digunakan dalam penelitian harus sehat dengan tanda-tanda bulu tidak berdiri, warna putih bersih, mata jernih, tingkah laku normal, dan mengalami peningkatan berat badan dalam batas tertentu yang diukur secara rutin. Tikus betina tidak diikutsertakan dalam penelitian ini karena dikhawatirkan siklus hormonalnya dapat berpengaruh pada kadar glukosa yang akan diukur. Hormon estrogen dan progesterin yang terdapat pada tikus betina diketahui bersifat antagonis terhadap hormon insulin (Suherman, 2007).

3.4.2 Penetapan dosis

3.4.2.1 Aloksan

Dosis aloksan ditetapkan berdasarkan hasil uji pendahuluan. Dosis yang pada hari ke-8 menyebabkan hiperglikemia tetapi belum menyebabkan kematian pada tikus adalah 32 mg/200 g bb melalui rute intraperitoneal.

3.4.2.2 Infusa Herba Sambiloto

Berdasarkan penelitian sebelumnya, dosis efektif infusa herba sambiloto yang berkhasiat untuk menurunkan kadar glukosa darah tikus diabetes adalah 50 mg/200 g bb tikus (Haryanto, 1999). Dosis berikutnya adalah kelipatan 2 dari dosis pertama, yaitu 100 mg/200 g bb tikus (lihat Lampiran 1).

3.4.2.3 Glibenklamid

Glibenklamid diberikan dalam bentuk suspensi dengan CMC sesuai dosis efektif pada manusia, yaitu 5 mg, yang dikonversikan berdasarkan konversi Paget dan Barnes, yaitu dosis untuk setiap 200 g bb tikus setara dengan 0,018 kali dosis manusia dan dikalikan faktor farmakokinetika 10, sehingga dosis yang digunakan adalah 0,9 mg/200 g bb tikus (lihat Lampiran 2).

3.4.3 Penyiapan bahan uji

3.4.3.1 Pembuatan larutan aloksan

Aloksan monohidrat dilarutkan dalam larutan fisiologis (NaCl 0,9% b/v). larutan yang dibuat memiliki konsentrasi 32 mg/ml

3.4.3.2 Pembuatan Infusa Herba Sambiloto

a. Pengumpulan bahan baku

Tanaman yang digunakan diambil dari tempat tumbuhnya.

b. Sortasi basah

Kotoran, bahan asing, dan bagian tanaman yang rusak dipisahkan dari bahan simplisia.

c. Pencucian

Tanah dan pengotor lainnya yang melekat pada bahan simplisia dihilangkan dengan air bersih kemudian diangin-anginkan.

d. Perajangan

Perajangan atau pemotongan bagian tanaman dilakukan untuk mempermudah proses pengeringan dan penyerbukan.

e. Pengeringan

Pengeringan simplisia dilakukan menggunakan lemari pengering pada suhu 30-35⁰C.

f. Sortasi kering

Benda-benda asing seperti bagian-bagian tanaman yang tidak diinginkan dan pengotor-pengotor lain yang masih ada dan tertinggal dipisahkan dari simplisia kering.

g. Penyerbukan

Simplisia kering dihaluskan dengan menggunakan *blender* hingga menjadi serbuk.

h. Penyimpanan

Serbuk simplisia disimpan dalam wadah

i. Pembuatan infusa

Serbuk simplisia ditambahkan air sebanyak sepuluh bagian simplisia ditambah dua kali berat simplisia yang digunakan lalu dipanaskan menggunakan panci infusa selama 15 menit pada suhu 90⁰C sambil sesekali diaduk. Infusa diserukai sewaktu masih panas dengan kain flanel.

3.4.3.3 Pembuatan Larutan CMC 0,5%

CMC ditimbang sejumlah 350 mg lalu dikembangkan dalam akuades sebanyak 7 ml (20 kali berat CMC) selama kurang lebih 15 menit lalu dihomogenkan. Volume larutan dicukupkan hingga 70 ml kemudian dihomogenkan kembali.

3.4.3.4 Pembuatan suspensi glibenklamid

Glibenklamid disuspensikan dengan konsentrasi 0,09% b/v dalam larutan CMC 0,5%. Tiap 1 ml suspensi glibenklamid, mengandung 0,9 mg glibenklamid.

3.4.4 Penyiapan pereaksi untuk analisis glukosa

3.4.4.1 Larutan asam benzoat 0,15% b/v

Akuades sebanyak 100 ml dipanaskan sampai suhu mendekati 100⁰C, kemudian ditambahkan asam benzoat seberat 150 mg lalu diaduk hingga homogen dan dinginkan.

3.4.4.2 Larutan glukosa standar

Glukosa anhidrat seberat 100,0 mg dilarutkan dalam larutan asam benzoat 0,15% hingga volume 100,0 ml.

3.4.4.3 Pereaksi *o*-toluidin

Tiourea seberat 75 mg dilarutkan dalam 47 ml asam asetat glasial, lalu ditambahkan 3 ml *o*-toluidin, kemudian dihomogenkan. Pereaksi dijaga agar tetap pada suhu kamar dan dibiarkan selama 24 jam sebelum digunakan.

3.4.4.4 Larutan trikloroasetat 10% b/v

Asam trikloroasetat ditimbang seberat 5 g ke dalam *beaker glass* dengan cepat karena sifatnya higroskopis. Akuades ditambahkan secukupnya untuk melarutkan. Larutan tersebut dipindahkan ke dalam wadah 50 ml dan volumenya dicukupkan hingga 50 ml.

3.4.5 Penetapan kadar glukosa darah

3.4.5.1 Penetapan panjang gelombang maksimum

Sejumlah 0,1 ml larutan glukosa standar 100 mg/100 ml dimasukkan ke dalam tabung reaksi yang berisi 1 ml larutan trikloroasetat 10% b/v lalu dihomogenkan dengan vortex dan disentrifugasi pada putaran 7000 rpm selama 5 menit. Sejumlah 1,0 ml supernatan yang jernih dipipet dan ditambahkan 4,0 ml pereaksi *o*-toluidin dalam tabung reaksi. Tabung reaksi dimasukkan dalam *beaker glass* berisi air dengan suhu 100°C selama 10 menit di atas pemanas air, lalu didinginkan dalam *beaker glass* berisi air dingin selama 5 menit. Serapan dari produk berwarna yang terbentuk diukur secara spektrofotometri dan ditentukan panjang gelombang maksimumnya.

3.4.5.2 Penetapan kestabilan senyawa hasil reaksi

Pengamatan terhadap kestabilan senyawa yang terbentuk dilakukan dengan mengukur serapan larutan standar setiap 5 menit selama 1 jam pada panjang gelombang maksimum yang diperoleh.

3.4.5.3 Penetapan kadar glukosa sampel

Protein darah diendapkan dengan cara memasukkan 0,1 ml sampel plasma darah ke dalam tabung reaksi lalu ditambahkan 1 ml larutan asam trikloroasetat 10% kemudian disentrifus dengan kecepatan 7000 rpm selama 5 menit. Sejumlah

1,0 ml supernatan yang jernih ditambahkan pada 4 ml larutan *o*-toluidin, kemudian tabung reaksi dimasukkan ke dalam *beaker glass* berisi air dengan suhu 100°C selama 10 menit di atas pemanas air, lalu didinginkan dalam *beaker glass* berisi air dingin selama 5 menit. Ukur serapan pada panjang gelombang maksimum. Sebagai standar, digunakan 0,1 ml glukosa standar 100 mg/100 ml, sedangkan untuk blanko digunakan 0,1 ml akuades, masing – masing direaksikan sama seperti pada sampel. Hitung kadar glukosa darah dengan rumus (Yayasan Pengembangan Obat Bahan Alam Phyto Medica, 1993) :

$$\frac{A_U}{A_S} \times C_S$$

dimana, A_U = serapan sampel
 A_S = serapan standar
 C_S = kadar glukosa standar (100 mg/100 ml)

3.4.6 Pelaksanaan percobaan

3.4.6.1 Uji pendahuluan dosis aloksan

Uji pendahuluan dilakukan untuk menetapkan dosis efektif aloksan dalam menginduksi diabetes pada hewan uji. Tikus secara acak dibagi menjadi 4 kelompok dengan masing - masing perlakuan seperti tertera pada Tabel 3.1.

Tabel 3.1. Pembagian kelompok hewan uji pendahuluan dosis aloksan.

No	Kelompok	Jumlah Tikus (ekor)	Perlakuan
1	Kontrol normal	3	Injeksi NaCl 1 ml/200 g bb IP
2	Aloksan dosis 1	3	Injeksi aloksan 32 mg/200 g bb IP
3	Aloksan dosis 2	3	Injeksi aloksan 36 mg/200 g bb IP
4	Aloksan dosis 3	3	Injeksi aloksan 40 mg/200 g bb IP

Hewan uji dipuaskan selama 16 jam lalu dilakukan pengambilan sampel darah untuk penentuan kadar glukosa darah puasa seluruh hewan uji secara kuantitatif kemudian hewan uji diberi perlakuan sesuai yang tertera pada Tabel 3.1. Setelah perlakuan, tikus diberi makan dan minum seperti biasa. Pada

hari ke-3, diamati keadaan tikus meliputi berat badan, polidipsia, dan poliuria. Kadar glukosa darah diukur secara kuantitatif. Kemudian ditunggu selama lima hari untuk menstabilkan hiperglikemia pada tikus. Dosis efektif yang diambil adalah dosis yang menyebabkan hiperglikemia tetapi belum menyebabkan kematian pada tikus.

3.4.6.2 Uji pengaruh infusa herba sambiloto terhadap glibenklamid dalam menurunkan kadar glukosa darah

Pada uji ini digunakan empat kelompok kontrol, yaitu kontrol normal, kontrol perlakuan, dan dua kelompok kontrol pembanding. Kontrol normal diperlukan untuk mengetahui kadar glukosa darah tikus yang tidak mengalami diabetes. Kontrol perlakuan diperlukan untuk mengetahui kadar glukosa darah tikus yang mengalami diabetes namun tidak diberi bahan uji. Sedangkan kontrol pembanding diperlukan untuk melihat perbandingan pengaruh antara pemberian bahan uji secara tunggal dengan pemberian bahan uji yang dikombinasikan. Kelompok variasi dosis uji diperlukan untuk mengetahui dosis yang berpengaruh secara bermakna terhadap glibenklamid dalam menurunkan kadar glukosa darah. Masing-masing kelompok terdiri dari 4 ekor tikus putih jantan. Penentuan jumlah tikus pada setiap kelompok dihitung berdasarkan rumus Federer : $(n - 1)(t - 1) \geq 15$, dimana n menunjukkan jumlah ulangan minimal dari tiap perlakuan dan t menunjukkan jumlah perlakuan (Jusman & Halim, 2009). Penentuan jumlah hewan uji dan pembagian kelompok adalah sebagai berikut (Yayasan Pengembangan Obat Bahan Alam Phyto Medica, 1993) :

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

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

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

$$5n - 5 \geq 15$$

$$5n \geq 20$$

$$n \geq 4$$

Tabel 3.2 Pembagian kelompok hewan uji pengaruh infusa herba sambiloto terhadap glibenklamid dalam menurunkan kadar glukosa darah

No	Kelompok	Jumlah Tikus (ekor)	Perlakuan
1	Kontrol normal	4	Diberi larutan CMC 0,5% 1 ml/200 g BB
2	Kontrol diabetes	4	Dibuat diabetes, diberi larutan CMC 0,5% 1 ml/200 g BB
3	Kontrol glibenklamid	4	Dibuat diabetes, diberi suspensi glibenklamid 0,9 mg/200 g bb
4	Kontrol sambiloto	4	Dibuat diabetes, diberi infusa herba sambiloto dosis 50 mg/200 g bb
5	Interaksi dosis 1	4	Dibuat diabetes, diberi infusa herba sambiloto dosis 50 mg/200 g bb dan suspensi glibenklamid 0,9 mg/200 g bb
6	Interaksi dosis 2	4	Dibuat diabetes, diberi infusa herba sambiloto dosis 100 mg/200 g bb dan suspensi glibenklamid 0,9 mg/200 g bb

Hewan uji dipuaskan selama 16 jam dengan tetap diberi minum, kemudian darah diambil melalui vena ekor tikus dan diukur kadar glukosa darahnya sebagai kadar glukosa darah puasa awal (T_0) di hari ke-0, kemudian hewan uji kelompok 2, 3, 4, 5, dan 6 dibuat diabetes dengan induksi aloksan. Pada hari ke-1 (satu minggu setelah induksi), diukur kembali kadar glukosa darah puasa (T_0) hewan uji, lalu masing – masing hewan uji diberi perlakuan. Untuk kelompok 5 dan 6, pemberian pertama adalah infusa herba sambiloto dengan dosis masing – masing 50 mg/200 g bb dan 100 mg/200 g bb lalu satu jam kemudian diberi suspensi glibenklamid dosis 0,9 mg/200 g bb. Setelah diberi perlakuan, sampel darah diambil kembali untuk pengukuran kadar glukosa darah setelah dua jam (T_2) dan empat jam (T_4) pemberian bahan uji, selengkapnya dapat dilihat dalam Tabel 3.3.

Tabel 3.3. Perlakuan setiap kelompok hewan uji tiap waktu

Kelompok	Perlakuan				
	Setelah dipuasakan 16 jam	Waktu (jam)			
		0	1	3	5
KN	Pengukuran kadar glukosa darah puasa (T_0)	---	Pemberian CMC 0,5%	Pengukuran kadar glukosa darah (T_2)	Pengukuran kadar glukosa darah (T_4)
KD		---	Pemberian CMC 0,5%		
KG		---	Pemberian glibenklamid		
KS		Pemberian infusa herba sambiloto	---		
ID1		Pemberian infusa herba sambiloto	Pemberian glibenklamid		
ID2		Pemberian infusa herba sambiloto	Pemberian glibenklamid		

Keterangan: KN = kontrol normal (larutan cmc 0,5% 1 ml/200 g bb), KD = kontrol diabetes (larutan cmc 0,5% 1 ml/200 g bb), KG = kontrol glibenklamid (suspensi glibenklamid 0,9 mg/200 g bb), KS = kontrol sambiloto (infusa herba sambiloto 50 mg/200 g bb), ID1 = kelompok interaksi dosis 1 (infusa herba sambiloto 50 mg/200 g bb dan suspensi glibenklamid 0,9 mg/200 g bb), ID2 = kelompok interaksi dosis 2 (infusa herba sambiloto 100 mg/200 g bb dan suspensi glibenklamid 0,9 mg/200 g bb).

Pemberian seluruh bahan uji dilakukan setiap hari selama tiga minggu, dimulai hari ke-1 sampai hari ke-22. Pengukuran kadar glukosa darah selanjutnya dilakukan setiap minggu, yaitu pada hari ke-8 (minggu 2), ke-15 (minggu 3), dan ke-22 (minggu 4). Setiap akan dilakukan pengambilan sampel darah untuk pengukuran kadar glukosa darah puasa, tikus dipuasakan terlebih dahulu selama 16 jam. Untuk lebih jelasnya, dapat dilihat Lampiran 3.

3.4.7 Pengambilan sampel darah melalui ekor

Sebelum pengambilan sampel darah, *mikrotube* dioleskan heparin 5000 UI/ml secukupnya. Hewan uji kemudian dimasukkan ke dalam kandang tikus khusus yang sudah dipersiapkan sehingga tikus tidak dapat bergerak. Bagian dari ekor tikus kemudian dicukur sedemikian rupa dengan pisau bedah hingga pembuluh darah vena dapat terlihat jelas. Ekor kemudian dibersihkan dengan kapas beralkohol 70%, kemudian ditoreh secara melintang dengan pisau bedah hingga terbentuk luka kecil. Darah ditampung dalam *mikrotube* yang telah diberi heparin, kemudian disentrifugasi selama lima menit dengan kecepatan putaran 7000 rpm.

Pengambilan darah dilakukan melalui vena ekor tikus karena cara ini lebih mudah dan cepat dibandingkan melalui sinus orbital dan tidak perlu menganestesi tikus terlebih dahulu. Selain itu, sampel darah yang dibutuhkan untuk pengukuran kadar glukosa darah menggunakan metode *o*-toluidin kurang dari 1 ml, sehingga sampel darah dari vena ekor sudah cukup.

3.4.8 Uji statistik kadar glukosa darah

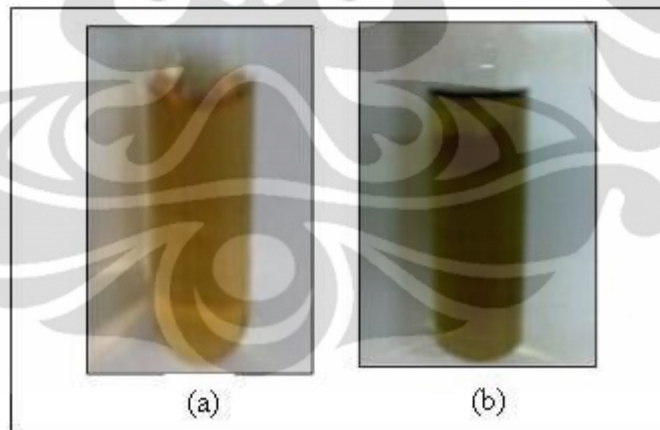
Data kadar glukosa darah yang diperoleh diolah secara statistik menggunakan uji normalitas (Uji *Saphiro-Wilk*) dan uji homogenitas (Uji *Levene*). Apabila data terdistribusi normal dan homogen, maka dilanjutkan dengan analisis ANAVA satu arah untuk melihat ada atau tidaknya perbedaan antar kelompok. Jika terdapat perbedaan secara bermakna, maka dilanjutkan dengan uji beda nyata terkecil (BNT). Apabila data yang diperoleh tidak terdistribusi normal atau homogen, analisis data dilanjutkan dengan metode uji nonparametrik. Metode uji nonparametrik yang digunakan adalah uji *Kruskal-Wallis* untuk melihat ada atau tidaknya perbedaan antar kelompok dan jika terdapat perbedaan bermakna, maka dilanjutkan dengan uji *Mann-Whitney*.

BAB 4 HASIL DAN PEMBAHASAN

4.1 Tinjauan umum

Sebelum membuat infusa herba sambiloto, terlebih dahulu dilakukan perhitungan susut pengeringan simplisia. Diperoleh 205 gram serbuk simplisia kering berwarna hijau tua dari 1000 gram tanaman segar, maka susut pengeringan simplisia herba sambiloto adalah 79,5%.

Pada uji pengaruh pemberian infusa herba sambiloto terhadap glibenklamid dalam menurunkan kadar glukosa darah digunakan metode *o*-toluidin untuk mengukur kadar glukosa darah karena valid, spesifik, murah, dan hasil yang diperoleh mendekati kadar sebenarnya. Pereaksi yang digunakan mudah diperoleh dan kurang karsinogenik dibandingkan pereaksi amin aromatis lainnya. *O*-toluidin merupakan senyawa amin aromatis yang dapat bereaksi dengan glukosa dalam asam asetat glasial panas membentuk kromogen kompleks yang berwarna hijau-biru seperti Gambar 4.1.



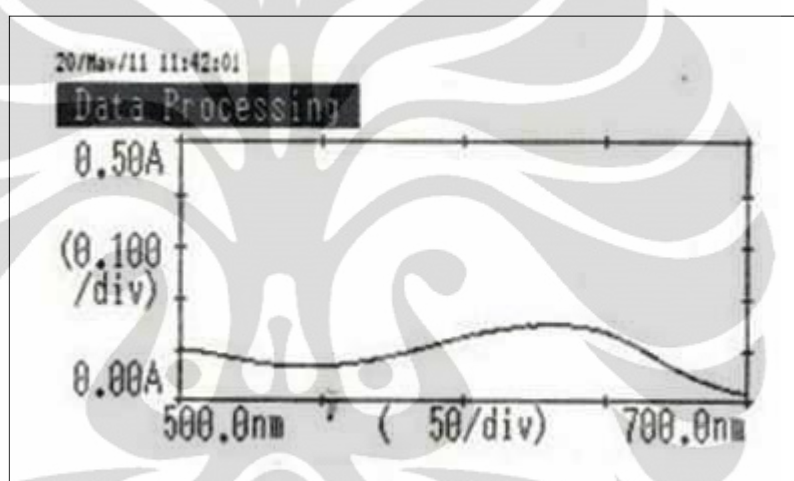
Gambar 4.1 Warna larutan blanko (a) dan larutan glukosa standar (b) setelah direaksikan dengan *o*-toluidin

Kestabilan intensitas warna harus diperhatikan dalam metode ini. Intensitas warna dipengaruhi oleh temperatur dan lama pemanasan. Panjang gelombang maksimum yang diperoleh dari hasil pengukuran larutan glukosa

standar yang telah direaksikan dengan pereaksi *o*-toluidin adalah 632,5 nm. (lihat Gambar 4.2). Spektrum serapan hasil kondensasi glukosa dengan *o*-toluidin dapat dilihat dalam Gambar 4.3.

20/May/11 11:42:39	
Peak detection	
Abscis.	ABS
632.5	0.1490

Gambar 4.2 Panjang gelombang maksimum larutan glukosa standar setelah direaksikan dengan *o*-toluidin

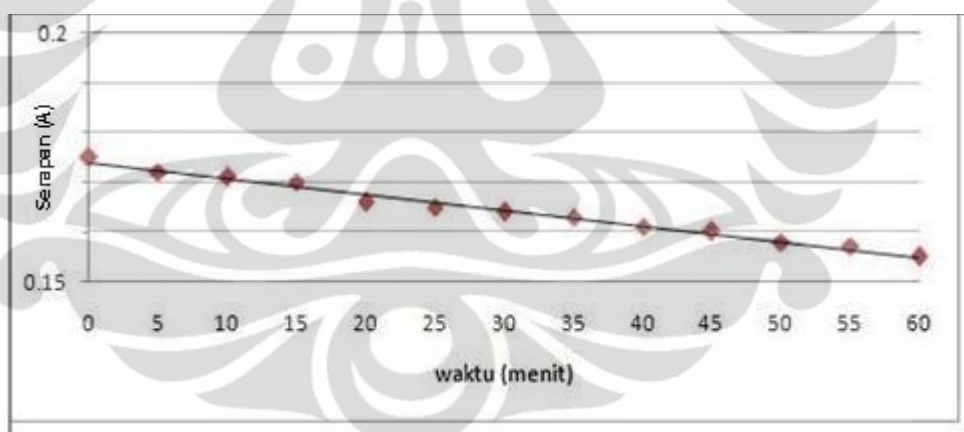


Gambar 4.3 Spektrum serapan larutan hasil kondensasi glukosa dengan *o*-toluidin menggunakan Spektrofotometer *Double-Beam* UV 1601

Kromogen kompleks berwarna hijau-biru yang terbentuk sebagai hasil reaksi antara glukosa dengan *o*-toluidin bersifat tidak stabil. Berdasarkan data serapan glukosa standar pada Tabel 4.1, terlihat bahwa serapan stabil selama kurang dari 15 menit dan akan berkurang 11,43 % setelah 1 jam (lihat Gambar 4.3). Oleh sebab itu, pengukuran kadar glukosa darah dilakukan kurang dari 15 menit setelah larutan direaksikan.

Tabel 4.1 Data serapan campuran kromogen hasil kondensasi glukosa dengan *o*-toluidin

Waktu (menit)	Serapan (A)
0	0,175
5	0,172
10	0,171
15	0,170
20	0,166
25	0,165
30	0,164
35	0,163
40	0,161
45	0,160
50	0,158
55	0,157
60	0,155



Gambar 4.4 Grafik kestabilan *o*-toluidin

4.2 Uji pendahuluan dosis aloksan

Sebelum dilakukan uji pengaruh infusa herba sambiloto terhadap glibenklamid dalam menurunkan kadar glukosa darah, terlebih dahulu dilakukan induksi diabetes oleh senyawa aloksan agar hewan uji menyerupai keadaan diabetes yang sebenarnya. Untuk mengetahui dosis efektif aloksan, dilakukan uji

pendahuluan. Hasil pengukuran kadar glukosa darah pada uji pendahuluan dapat dilihat pada Tabel 4.2.

Tabel 4.2 Kadar glukosa darah hewan uji pendahuluan aloksan

No	Kelompok	Kadar rata-rata glukosa puasa pra-induksi (mg/dl)	Kadar rata-rata glukosa puasa hari ke-3 pasca-induksi (mg/dl)
1	Kontrol Normal (NaCl 1 ml/200 g bb)	97,3	100
2	Aloksan dosis 1 (32 mg/200 g bb)	88,7	248
3	Aloksan dosis 2 (36 mg/200 g bb)	85,3	416
4	Aloksan dosis 3 (40 mg/200 g bb)	81,3	352

Dari hasil uji pendahuluan terlihat bahwa seluruh dosis dapat menyebabkan diabetes, namun pada dosis 2 dan 3 terdapat kematian pada beberapa tikus setelah hari ke-3 pasca induksi, maka dosis aloksan yang dapat menyebabkan hiperglikemia namun belum menyebabkan kematian pada tikus adalah dosis 1, yaitu 32 mg/200 g bb tikus.

Setelah didapatkan dosis efektif aloksan, dilakukan induksi diabetes. Sebelum induksi diabetes, terlebih dahulu dilakukan pengukuran glukosa darah puasa pada seluruh hewan uji, kemudian perlakuan diberikan pada hari ke-8 setelah induksi aloksan (H_1).

4.3 Penentuan waktu pemberian bahan uji

Pada kelompok kombinasi infusa herba sambiloto dan glibenklamid, pemberian pertama adalah infusa herba sambiloto diikuti pemberian glibenklamid satu jam setelahnya. Infusa herba sambiloto diberikan terlebih dahulu karena waktu paruh dari andrografolida 6,6 jam (Ulbricth *and* Seamon, 2010), lebih panjang dibandingkan glibenklamid. Pemberian selanjutnya berselang satu jam agar pada saat glibenklamid diberikan, kadar andrografolida dalam plasma mendekati puncak, yaitu sekitar 1,5-2 jam (Ulbricth & Seamon, 2010), sehingga interaksi dari sambiloto dan glibenklamid lebih terlihat. Pengambilan darah

dilakukan 2 jam dan 4 jam setelah pemberian glibenklamid karena mengikuti waktu paruh dari glibenklamid, yaitu 4 jam (Suherman, 2007).

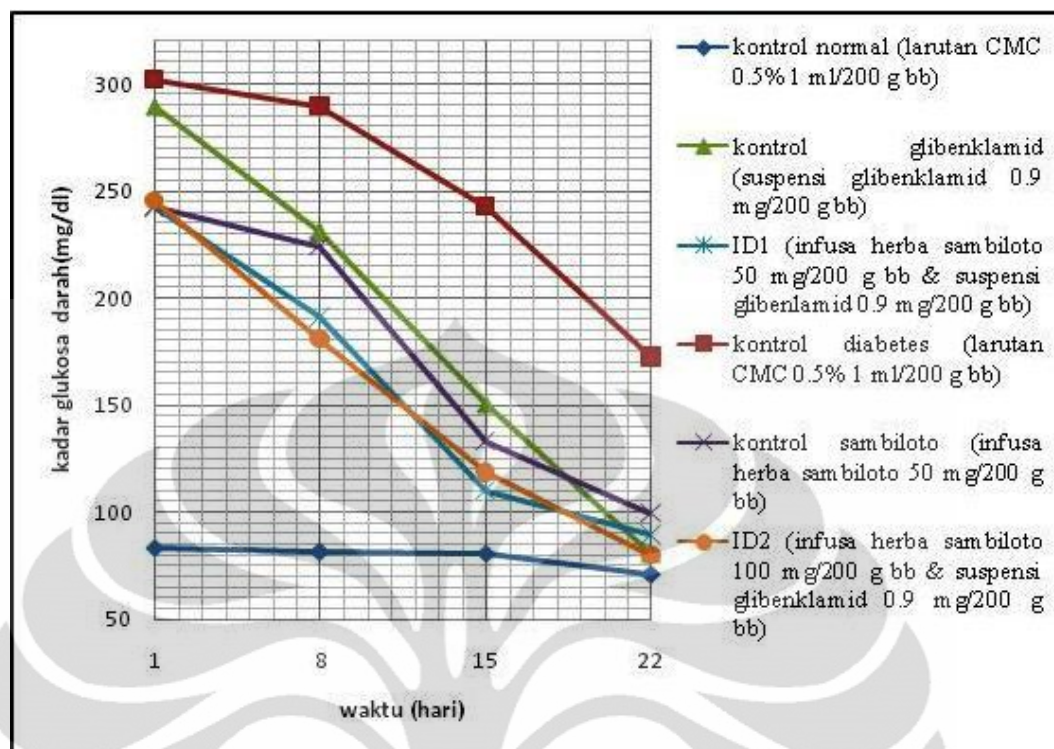
4.4 Pengukuran kadar glukosa darah puasa sebelum diberi perlakuan (T_0)

Setelah dipuasakan selama 16 jam, dilakukan pengukuran kadar glukosa darah puasa. Berikut adalah hasil pengukuran kadar glukosa darah puasa rata-rata sebelum perlakuan.

Tabel 4.3 Kadar glukosa darah puasa rata-rata masing-masing kelompok uji sebelum perlakuan (T_0)

Kelompok	Hari				
	0	1	8	15	22
KN	87,67 ± 12,29	83,215 ± 7,08	81,77 ± 9,36	80,87 ± 6,34	71,14 ± 4,98
KD	88,98 ± 21,65	301,74 ± 23,52	289,69 ± 41,08	200,62 ± 57,49	172,36 ± 26,52
KG	80,50 ± 18,16	289,61 ± 77,21	230,62 ± 24,60	150,50 ± 28,42	80,90 ± 7,79
KS	74,25 ± 8,79	242,02 ± 34,25	223,90 ± 23,36	133,15 ± 24,94	99,66 ± 4,92
ID1	88,14 ± 7,85	242,56 ± 34,02	191,02 ± 22,22	110,08 ± 2,90	89,31 ± 8,15
ID2	81,55 ± 6,63	245,27 ± 33,94	180,81 ± 23,70	118,44 ± 13,34	80,09 ± 17,72

Keterangan: KN = kontrol normal (larutan cmc 0,5% 1 ml/200 g bb), KD = kontrol diabetes (larutan cmc 0,5% 1 ml/200 g bb), KG = kontrol glibenklamid (suspensi glibenklamid 0,9 mg/200 g bb), KS = kontrol sambiloto (infusa herba sambiloto 50 mg/200 g bb), ID1 = kelompok interaksi dosis 1 (infusa herba sambiloto 50 mg/200 g bb dan suspensi glibenklamid 0,9 mg/200 g bb), ID2 = kelompok interaksi dosis 2 (infusa herba sambiloto 100 mg/200 g bb dan suspensi glibenklamid 0,9 mg/200 g bb).



Gambar 4.5 Kadar glukosa darah puasa rata-rata masing-masing kelompok uji sebelum perlakuan (T_0)

Hasil pemeriksaan kadar glukosa darah puasa sebelum induksi (T_0), diperoleh kadar glukosa darah yang cukup beragam. Hal ini diakibatkan oleh adanya variasi biologis, sehingga tidak mungkin didapatkan kadar yang tepat sama antar tikus yang berbeda. Hasil statistik menunjukkan data terdistribusi normal dan bervariasi homogen. Selain itu, tidak terdapat perbedaan yang bermakna antar kelompok perlakuan, sehingga walaupun terlihat beragam, tetapi masih termasuk homogen, sehingga layak untuk digunakan sebagai kadar glukosa darah awal dalam penelitian ini.

Kadar glukosa darah puasa hari ke-1 memperlihatkan hasil induksi diabetes oleh aloksan. Hasil statistik yang diperoleh menunjukkan perbedaan secara bermakna yang antara kelompok normal dengan seluruh kelompok lain. Sedangkan, seluruh kelompok pemberian bahan uji tidak memiliki perbedaan bermakna dengan kontrol diabetes yang menunjukkan bahwa seluruh kelompok yang akan diberi perlakuan telah mengalami diabetes. Perbedaan kenaikan kadar

glukosa darah setelah induksi aloksan disebabkan oleh variasi biologis dalam hewan uji.

Hasil statistik hari ke-8, pemberian bahan uji selama satu minggu sudah memberikan efek menurunkan kadar glukosa darah secara bermakna. Kelompok interaksi dosis 2 memberikan efek paling signifikan karena berbeda bermakna dengan kontrol glibenklamid, kontrol sambiloto, dan kelompok interaksi dosis 1. Hal ini menunjukkan terjadinya interaksi sinergis antara glibenklamid dan sambiloto, dimana keduanya bekerja meningkatkan sekresi insulin. Sambiloto juga menghambat metabolisme glibenklamid, sehingga penurunan glukosa darah menjadi lebih signifikan.

Kadar glukosa darah kelompok interaksi dosis 1 pada hari ke-15 menunjukkan perbedaan bermakna dengan kontrol glibenklamid. Penurunan kadar glukosa darah oleh kelompok interaksi dosis 1 tidak signifikan karena tidak berbeda bermakna dengan kontrol sambiloto dan kelompok interaksi dosis 2.

Data statistik pada hari ke-22 menunjukkan kadar glukosa darah kontrol normal tidak memiliki perbedaan bermakna dengan kontrol glibenklamid dan kelompok interaksi dosis 2, berarti glibenklamid interaksi dosis 2 telah menurunkan kadar glukosa darah ke kadar normal.

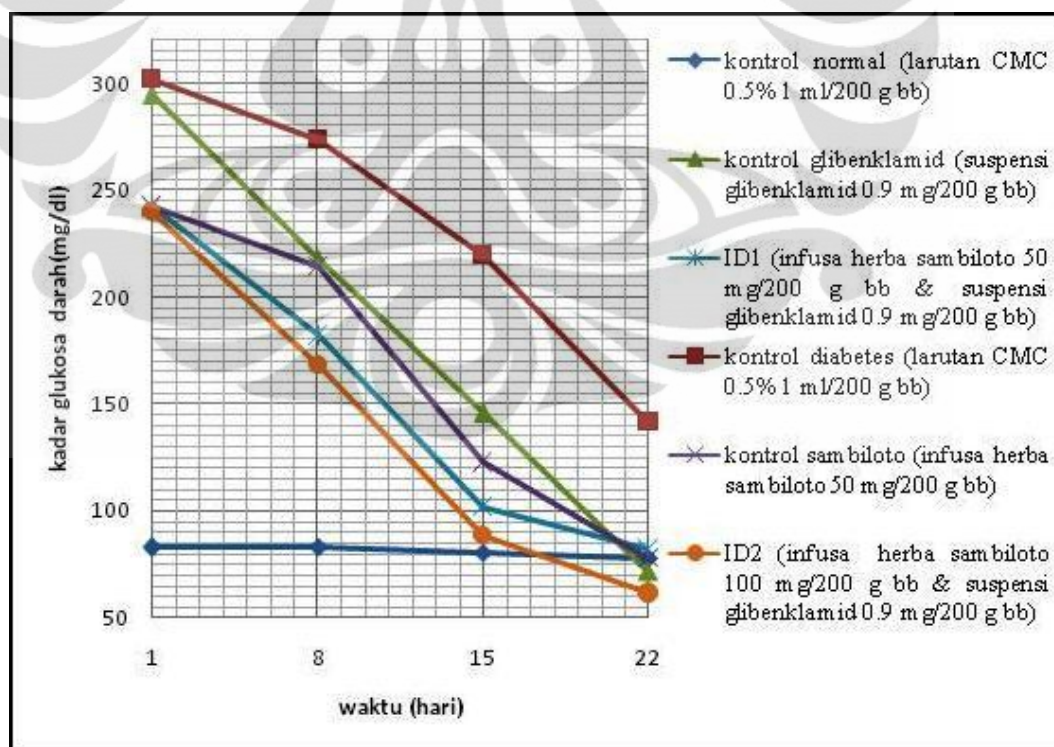
4.5 Pengukuran kadar glukosa darah 2 jam setelah diberi perlakuan (T_2)

Pengukuran kadar glukosa darah dilakukan 2 jam setelah pemberian bahan uji. Hasil pengukuran kadar glukosa darah rata-rata setelah 2 jam pemberian (T_2) dapat dilihat dalam Tabel 4.4.

Tabel 4.4 Kadar glukosa darah rata-rata masing-masing kelompok uji 2 jam setelah perlakuan (T_2)

Kelompok	Hari			
	1	8	15	22
KN	82,76 ± 7,35	83,02 ± 4,87	80,42 ± 8,30	78,02 ± 12,25
KD	301,94 ± 30,27	273,44 ± 47,17	219,61 ± 62,52	141,54 ± 18,71
KG	294,29 ± 96,49	217,46 ± 19,55	145,52 ± 27,95	71,63 ± 8,33
KS	242,02 ± 31,82	214,32 ± 19,99	122,62 ± 17,66	78,11 ± 12,08
ID1	242,24 ± 35,83	181,94 ± 20,21	101,68 ± 8,90	81,84 ± 9,52
ID2	239,79 ± 32,32	168,20 ± 24,51	88,58 ± 10,14	64,46 ± 16,63

Keterangan: KN = kontrol normal (larutan cmc 0,5% 1 ml/200 g bb), KD = kontrol diabetes (larutan cmc 0,5% 1 ml/200 g bb), KG = kontrol glibenklamid (suspensi glibenklamid 0,9 mg/200 g bb), KS = kontrol sambiloto (infusa herba sambiloto 50 mg/200 g bb), ID1 = kelompok interaksi dosis 1 (infusa herba sambiloto 50 mg/200 g bb dan suspensi glibenklamid 0,9 mg/200 g bb), ID2 = kelompok interaksi dosis 2 (infusa herba sambiloto 100 mg/200 g bb dan suspensi glibenklamid 0,9 mg/200 g bb).



Gambar 4.6 Kadar glukosa darah rata-rata masing-masing kelompok uji 2 jam setelah perlakuan (T_2).

Pemberian bahan uji hari ke-1, kontrol glibenklamid belum dapat menurunkan kadar glukosa darah setelah 2 jam pemberian, begitu pula dengan kontrol sambiloto, kelompok interaksi dosis 1 dan 2 karena tidak berbeda bermakna secara statistik dengan kontrol diabetes. Hal ini mungkin disebabkan perlakuan yang diberikan baru pertama kali.

Pada hari ke-8, yaitu satu minggu setelah pemberian, kontrol glibenklamid memberikan efek yang tidak berbeda bermakna dengan kontrol sambiloto dan kelompok interaksi dosis 1, namun bermakna berbeda dengan penurunan kadar glukosa darah oleh kelompok interaksi dosis 2, sama seperti pada pengukuran glukosa darah puasa (T_0) pada hari ke-8, dimana interaksi signifikan masih terjadi saat jam ke-2 pemberian.

Pada hari ke-15, kadar glukosa darah kontrol glibenklamid berbeda bermakna dengan kelompok interaksi dosis 2, berarti penurunan kadar glukosa darah pada kelompok interaksi dosis 2 lebih baik dibandingkan pemberian tunggal glibenklamid.

Hasil statistik hari ke-22 menunjukkan tidak adanya perbedaan bermakna antara kelompok normal dengan kontrol glibenklamid, kontrol sambiloto, dan kedua kelompok interaksi. Semua pemberian bahan uji telah mengembalikan kadar glukosa darah ke kadar normal. Walaupun tidak terdapat perbedaan bermakna dengan kelompok lain, kelompok interaksi dosis 2 menunjukkan kadar glukosa darah rata-rata terendah dibandingkan semua kelompok, dan didapatkan keadaan hipoglikemia akibat dari interaksi antara glibenklamid dan sambiloto.

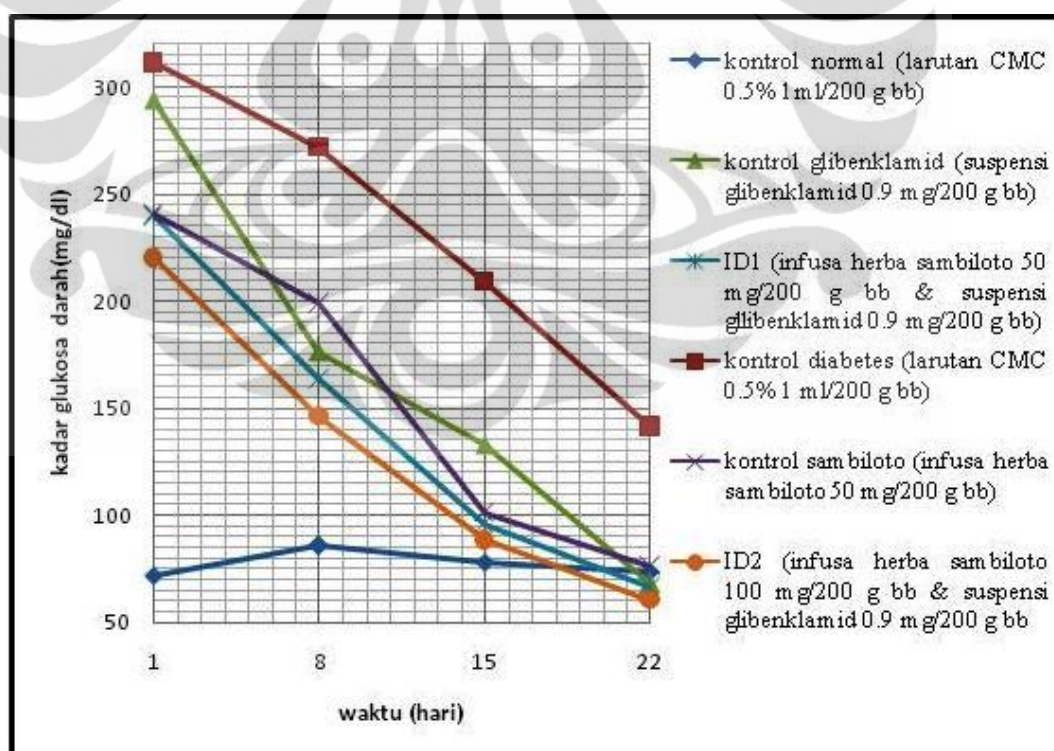
4.5 Pengukuran kadar glukosa darah 4 jam setelah diberi perlakuan (T_4)

Setelah dilakukan pengukuran kadar glukosa darah 2 jam setelah pemberian (T_2), dilakukan kembali pengukuran kadar glukosa darah 2 jam kemudian (T_4). Hasil pengukuran kadar glukosa darah rata-rata setelah 4 jam pemberian dapat dilihat dalam Tabel 4.5.

Tabel 4.5 Kadar glukosa darah rata-rata masing-masing kelompok uji 4 jam setelah perlakuan (T_4)

Kelompok	Hari			
	1	8	15	22
KN	71,82 ± 6,80	85,55 ± 6,72	78,31 ± 10,27	78,32 ± 3,35
KD	311,24 ± 29,96	271,63 ± 55,39	208,81 ± 80,62	141,27 ± 31,79
KG	294,08 ± 68,98	176,23 ± 35,83	132,71 ± 16,85	68,00 ± 21,43
KS	240,38 ± 31,91	198,84 ± 21,35	100,81 ± 12,38	76,46 ± 14,31
ID1	239,43 ± 34,11	163,50 ± 13,34	95,51 ± 10,74	66,02 ± 14,19
ID2	220,01 ± 22,86	146,21 ± 18,70	88,10 ± 5,21	60,26 ± 17,11

Keterangan: KN = kontrol normal (larutan cmc 0,5% 1 ml/200 g bb), KD = kontrol diabetes (larutan cmc 0,5% 1 ml/200 g bb), KG = kontrol glibenklamid (suspensi glibenklamid 0,9 mg/200 g bb), KS = kontrol sambiloto (infusa herba sambiloto 50 mg/200 g bb), ID1 = kelompok interaksi dosis 1 (infusa herba sambiloto 50 mg/200 g bb dan suspensi glibenklamid 0,9 mg/200 g bb), ID2 = kelompok interaksi dosis 2 (infusa herba sambiloto 100 mg/200 g bb dan suspensi glibenklamid 0,9 mg/200 g bb).

Gambar 4.7 Kadar glukosa darah rata-rata masing-masing kelompok uji 4 jam setelah perlakuan (T_4)

Pada hari ke-1 perbedaan terjadi pada kelompok diabetes dengan kontrol sambiloto, kelompok interaksi dosis 1, dan kelompok interaksi dosis 2. Hal ini menunjukkan bahwa sambiloto, interaksi dosis 1, dan interaksi dosis 2 telah dapat menurunkan kadar glukosa darah secara bermakna setelah 4 jam pemberian, namun tidak seperti kontrol glibenklamid yang belum menunjukkan efek. Hal ini mungkin terjadi karena glibenklamid terikat kuat pada protein plasma, terutama albumin (Suherman, 2007). Akibatnya, belum terlihat penurunan kadar glukosa darah yang bermakna oleh glibenklamid. Kedua kelompok interaksi dosis sudah terjadi penurunan kadar glukosa darah, tetapi tidak berbeda bermakna dengan kontrol sambiloto.

Pada hari ke-15, kadar glukosa darah kontrol normal tidak memiliki perbedaan bermakna dengan kelompok interaksi dosis 1 dan 2, kedua kelompok interaksi telah dapat menurunkan kadar glukosa darah ke kadar normal. Kontrol sambiloto dan kontrol glibenklamid belum dapat menurunkan kadar glukosa darah ke kadar normal.

Hasil statistik hari ke-22 menunjukkan perbedaan bermakna antara kadar glukosa darah kontrol normal dengan kontrol glibenklamid, kontrol sambiloto, kelompok interaksi dosis 1 dan 2. Dari hasil rata-rata kadar glukosa darah, terdapat keadaan hipoglikemia pada kontrol glibenklamid, kelompok interaksi dosis 1 dan 2.

Berdasarkan pembahasan di atas, interaksi paling signifikan antara infusa herba sambiloto dengan glibenklamid terdapat pada kelompok interaksi dosis 2 di hari ke-8 (setelah satu minggu pemberian). Interaksi bermakna mungkin saja tepat terjadi sebelum hari ke-8, tetapi karena pengukuran kadar glukosa darah dengan metode *o*-toluidin ini tidak dilakukan setiap hari, melainkan tiap minggu, maka tidak diketahui waktu tepat terjadinya interaksi. Pemberian infusa herba sambiloto dan glibenklamid menunjukkan interaksi yang dapat terjadi secara farmakodinamika, yaitu interaksi sinergis karena keduanya bekerja meningkatkan sekresi insulin melalui interaksinya dengan *ATP-sensitive K channel* pada membran sel-sel β menimbulkan depolarisasi membran dan keadaan ini akan membuka kanal Ca. Dengan terbukanya kanal Ca, maka ion Ca^{2+} akan masuk ke dalam sel β kemudian merangsang granula yang berisi insulin dan akan terjadi

Universitas Indonesia

sekresi insulin (Wibudi, Kiranadi, Manalu, Winarto, & Suyono, 2008). Selain itu, juga terdapat kemungkinan terjadi interaksi farmakokinetika pada tahap metabolisme, yaitu penghambatan pada CYP3A4, sehingga kerja dari glibenklamid akan bertambah panjang (Pekthong et al, 2009). Penurunan kadar glukosa darah juga didukung oleh regenerasi sel β Langerhans pankreas. Hal ini dapat dilihat pada kontrol diabetes yang mengalami penurunan kadar glukosa darah karena induksi dari aloksan tidak merusak seluruh sel β Langerhans pankreas sehingga insulin masih dapat disekresi (Dor, 2004). Walaupun mengalami penurunan, kadar glukosa darah kontrol diabetes pada hari terakhir perlakuan masih termasuk dalam kategori diabetes.

Penggunaan kombinasi ini dapat bermanfaat karena penurunan kadar glukosa darah menjadi lebih signifikan dibandingkan dengan pemberian tunggal glibenklamid ataupun sambiloto, interaksi bermakna terjadi setelah satu minggu pemberian. Oleh sebab itu, penggunaan kombinasi ini harus diawasi oleh praktisi kesehatan guna menghindari efek hipoglikemia, terutama jika menggunakan kombinasi tersebut lebih dari satu minggu.

BAB 5

KESIMPULAN DAN SARAN

5.1 Kesimpulan

Pemberian infusa herba sambiloto 100 mg/200 g bb berpengaruh secara signifikan terhadap glibenklamid dalam menurunkan kadar glukosa darah tikus putih jantan diabetes setelah satu minggu pemberian.

5.2 Saran

- a. Perlu dilakukan penelitian lebih lanjut untuk mengetahui mekanisme interaksi antara infusa herba sambiloto dengan glibenklamid dalam menurunkan kadar glukosa darah dengan mengukur kadar glibenklamid atau kadar insulin dalam darah.
- b. Jumlah hewan uji yang digunakan untuk penelitian selanjutnya disarankan sebanyak lima sampai enam ekor untuk meminimalkan variasi biologis pada hewan uji.

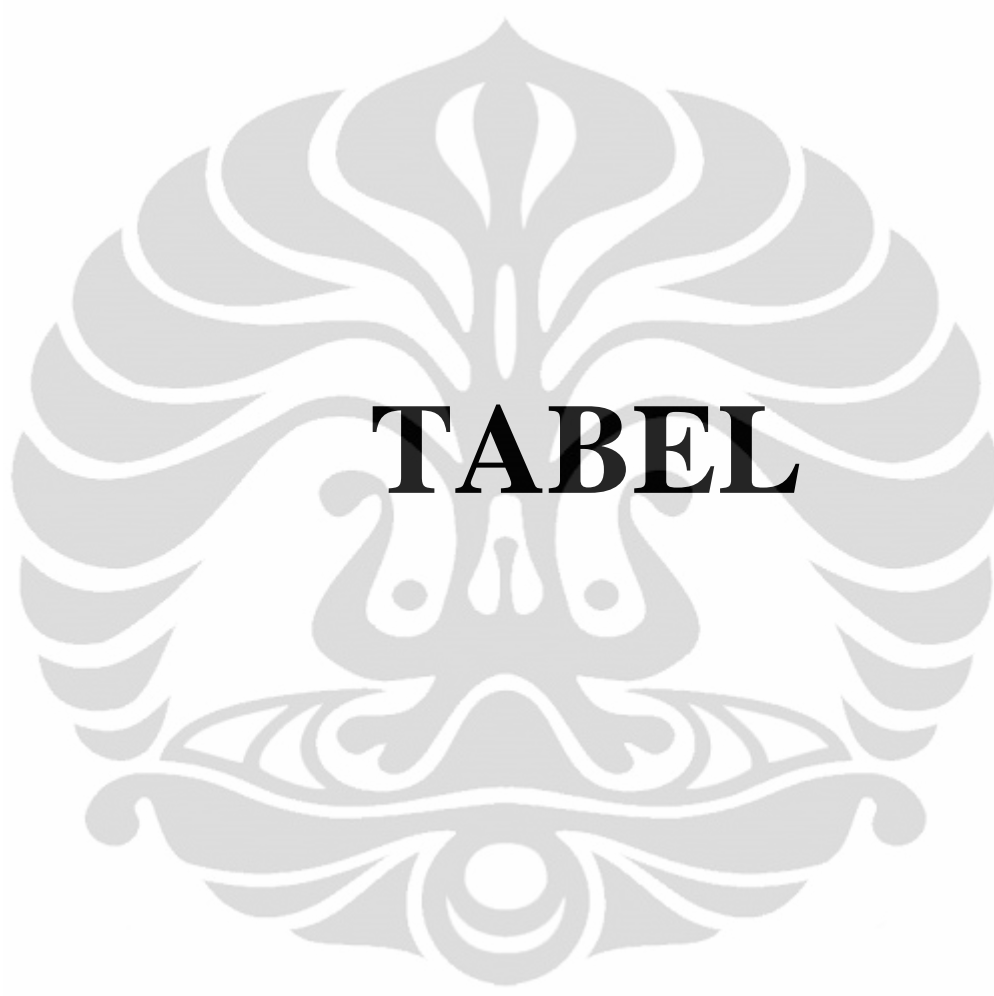
DAFTAR REFERENSI

- Badan Penelitian dan Pengembangan Kesehatan Departemen Kesehatan RI. (1991). *Inventaris tanaman obat Indonesia I*. Jakarta: Badan Penelitian dan Pengembangan Kesehatan Departemen Kesehatan RI.
- Corwin, E. T. (2008). *Handbook of pathophysiology*. Philadelphia: Lippincott Williams & Wilkins.
- Departemen Kesehatan RI. (1979). *Materia Medika Indonesia*. (jilid ke-3). Jakarta: Departemen Kesehatan RI, 20-5.
- Departemen Kesehatan RI. (2005). *Pharmaceutical Care untuk Penyakit Diabetes Mellitus*. Jakarta: Departemen Kesehatan RI, 85 hlm.
- DiPiro, J.T., Talbert, L. R., Yees, C. G., Matzke, R. G., Wells, G. B., Posey, M. L. (2005). *Pharmacotherapy: A Patophysiological Approach*. (6th Ed.). New York: Mc Graw Hill, 1334-7.
- Dor. (2005). Adult Pancreatic β are Performed by Cell Duplication Rather Than Stem Cell Differentiation. *Nature*, 429, 41-6.
- Dubowsky, K. M. (2008). An *O*-toluidine Method for Body-Fluid Glucose Determination. *Clin Chem*, 54 (11), 1919-20.
- Etuk. (2010). Animals Models for Studying Diabetes Mellitus. *Agriculture and Biology Journal of North America*.
- Haryanto. (1999). *Uji Efek Hipoglikemik Infusa Herba Sambiloto (Andrographis paniculata Nees.) Pada Tikus Putih Jantan Diabetes Pemberian Streptozotocin*. Surabaya : Fakultas Farmasi UBAYA.
- Jusman, S. W., & Halim, A. (2009). Oxidative Stress in Liver Tissue of Rat Induced by Chronic Systemic Hypoxia. *Makara kesehatan*, 13 (1), 34-38.
- Kardono, L. B. S., Artanti, N., Dewiyanti, I. D., Basuki,T. (2003). *Selected Indonesian Medicinal Plants Monographs and Descriptions*. Vol. 1. Jakarta: PT Gramedia Widiasarana Indonesia, 121-152.
- Katzung, Bertram G. (2006). *Basic and Clinical Pharmacology*. (10th Ed.). New York: McGraw-Hill.

- Kementrian Kesehatan Republik Indonesia. (2010). Januari 24, 2011. Tahun 2030 Prevalensi Diabetes Melitus Di Indonesia Mencapai 21,3 Juta Orang. <http://depkes.go.id/index.php/berita/press-release/414-tahun-2030-prevalensi-diabetes-melitus-di-indonesia-mencapai-213-juta-orang.html>.
- Kementrian Kesehatan Republik Indonesia. (2009). Januari 24, 2011. *Diabetes Dapat Dicegah*. <http://depkes.go.id/index.php/berita/press-release/1314-diabetes-melitus-dapat-dicegah.html>.
- Lenzen, S. (2008). *The Mechanisms of Alloxan and Streptozotocin-Induced Diabetes*. *Diabetologia*, 51, 216-226.
- Nicolucci, Antonio., Rossi, Maria Chiara. (2008). Incretin-based therapies: a new potential treatment approach to overcome clinical inertia in type 2 diabetes. *Acta Biomed*, 79, 184-191.
- Pekthong, D., Martin, H., Abadie, C., Bonet, A., Heyd, E., Manton, G., Richert, L. (2007). Differential inhibition of rat and human hepatic cytochrome P450 by *Andrographis paniculata* extract and andrographolide. *Journal of Ethnopharmacology*. Missouri: Elsevier inc., 155, 4332-40.
- Pekthong, Dumrongsak., Blanchard, Nadege., Abadie, Catherine., Bonet, Alexandre., Heyd, Bruno., Manton, Georges., Barthelot, Alain., Richert, Lysiane., Martin, Helene. (2009). Effects of *Andrographis paniculata* extract and Andrographolide on hepatic cytochrome P450 mRNA expression and monooxygenase activities after in vivo administration to rats and in vitro in rat and human hepatocyte cultures. *Chemico-Biological Interactions*. Missouri: Elsevier inc., 179, 247-55.
- Price, S. A., Wilson, L.M. (2000). *Patofisiologi Konsep Klinis Proses-Proses Penyakit*. Vol 2. Jakarta : Penerbit buku kedokteran EGC.
- Roche Diagnostics. (2009). *Accu-Chek Active; Test Strips*. Germany : Mannheim.
- Sentra Informasi IPTEK. *Tanaman Obat Indonesia, Sambiloto*. Januari 17, 2011. http://www.iptek.net.id/ind/pd_tanobat/view.php?id=152.
- Setiawati, Arini. Farmakokinetik Klinik. *Dalam* : Gunawan, S.G., R.Setiabudy, Nafrialdy, Elysabeth. (2007). *Farmakologi dan terapi*. Jakarta: Departemen Farmakologi dan Terapeutik Fakultas Kedokteran Universitas Indonesia.

- Soetarno, Soediro., Sukandar, Yulinah, Elin., Sukrasno., Yuwono, Agung. (1999). *Aktivitas Hipoglisemik Ekstrak Herba Sambiloto (Andrographis paniculata Nees, Acanthaceae)*. Bandung: JMS, 62-9.
- Subramanian, Rammohan., Asmawi. Zaini M., Sadikun, Amirin. (2008). *In vitro α -glucosidase and α -amylase enzyme inhibitory effects of Andrographis paniculata extract and andrographolide*. Penang: Acta Biochimia Polonica.
- Suherman, Suharti K. Insulin dan antidiabetik oral. *Dalam: Gunawan,S.G., R.Setiabudy, Nafrialdi, Elysabeth. (2007). Farmakologi dan Terapi*. Jakarta: Departemen Farmakologi dan Terapeutik Fakultas Kedokteran Universitas Indonesia.
- Sukandar, Yulinah, Elin., Andrajati, Retnosari., Sigit, I, Joseph., Adnyana, Ketut, I., Setiadi, Prayitno, Adji, A., Kusnandar. (2008). *ISO Farmakoterapi*. Jakarta: PT. ISFI Penerbitan, 26-8.
- Szkudelski, T. (2001). The Mechanism of Alloxan and Streptozotocin Action in B Cells of the Rat Pancreas. *Physiol Res* 50 (1), 536-546.
- Ulbricht, Catherine., Seamon, Erica. (2010). *Natural Standard Herbal Pharmacotherapy*. Missouri: Elsevier inc., 488-489.
- Utami, Prapti. (2003). *Tanaman Obat Untuk Mengatasi Diabetes Melitus*. Jakarta: Agromedia Pustaka.
- Wardhani, Sarah. (2004). *Uji Khasiat Antidiabetes Sediaan Jadi Ekstrak Kering Buah Mengkudu (Morinda citrifolia Linn) Terhadap Tikus Jantan yang Diinduksi Aloksan*. Depok: Skripsi Sarjana Farmasi FMIPA UI.
- Wibudi, Aris., Kiranadi, Bambang., Manalu, Wasmen., Winarto, Adi., Suyono, Slamet. (2008). *The Traditional Plant, Andrographis paniculata (Sambiloto), Exhibits Insulin-Releasing Actions in Vitro*. Januari 13, 2011. <http://jurnal.pdii.lipi.go.id/admin/jurnal/402086368.pdf>.
- Widyawati, Tri. (2007). Aspek Farmakologi Sambiloto (*Andrographis paniculata* Nees). Universitas Sumatra Utara: *Majalah Kedokteran Nusantara* 40 (3), 216-20.
- World Health Organization (2002). *WHO Monographs on Selected Medicinal Plants*. Vol 2. Geneva: World Health Organization, 15-20.

- World Health Organization. (2003). *Manual of basic techniques for a health laboratory*. (Ed. Ke-2). Genewa: World Health Organization.
- Yayasan Pengembangan Obat Bahan Alam. (1993). *Penapisan Farmakologi, Pengujian Fitokimia dan Pengujian Klinik*. Jakarta: Yayasan Pengembangan Obat Bahan Alam.
- Yulinah, Elin., Sukrasno., Fitri, Anom, Muna. (2001). *Aktivitas Antidiabetika Ekstrak Etanol Herba Sambiloto (Andrographis paniculata Nees (Acanthaceae))*. Bandung: JMS, 13-20.
- Yusron, M., Januwati, & Rini, E. P. (2005). *Budidaya Tanaman Sambiloto*. Badan Penelitian dan Pengembangan Pertanian. Bogor: Balai Penelitian Tanaman Obat dan Aromatika.
- Zhou, Lin., Narahariseti B, Suresh., Liu, Li., Wang, Honggang., Lin S, Yvonne, Isoherranen, Nina., Unadkat D, Jshvant., Hebert F, Mary., Mao, Qingcheng. (2010). *Contributions of human cytochrome P450 enzymes to glyburide metabolism*. Seattle: Wiley InterScience.



Tabel 4.6. Kadar glukosa darah seluruh tikus sejak induksi hingga akhir perlakuan

Hari	Kelompok	T (jam)	Batch 1	Batch 2	Batch 3	Batch 4	Rata-rata	SD	
0	KN	0	80,07	100,58	74,66	95,37	87,67	12,29	
		2	63,51	115,97	91,94	84,51	88,98	21,65	
		4	98,17	77,36	90,00	56,48	80,50	18,16	
		0	85,34	73,46	74,36	63,85	74,25	8,79	
		2	78,31	85,96	96,52	91,79	88,14	7,85	
		4	76,83	82,87	90,40	76,11	81,55	6,63	
1	KN	0	88,60	86,75	84,63	72,88	83,22	7,08	
		2	87,65	86,04	85,53	71,82	82,76	7,35	
		4	73,53	80,02	63,75	69,96	71,82	6,80	
	KD	0	295,15	310,48	328,40	272,94	301,74	23,52	
		2	310,96	288,94	339,21	268,63	301,94	30,27	
		4	341,32	299,71	329,19	274,73	311,24	29,96	
	KG	0	297,57	389,01	202,94	268,90	289,61	77,21	
		2	312,06	413,18	180,44	271,48	294,29	96,49	
		4	294,60	388,17	225,00	268,57	294,08	68,98	
	KS	0	226,54	258,87	280,04	202,65	242,02	34,25	
		2	232,50	243,05	284,40	208,11	242,02	31,82	
		4	225,44	250,23	279,81	206,04	240,38	31,91	
	ID1	0	228,16	248,23	286,89	206,96	242,56	34,02	
		2	230,35	254,11	284,48	200,00	242,24	35,83	
		4	225,60	250,33	280,74	201,04	239,43	34,11	
	ID2	0	232,43	254,78	286,89	206,96	245,26	33,94	
		2	230,35	248,08	278,92	201,79	239,78	32,32	
		4	224,64	235,88	233,05	186,47	220,01	22,86	
	8	KN	0	79,52	71,61	94,20	81,76	81,77	9,36
			2	78,98	82,00	81,01	90,07	83,02	4,87
			4	80,96	94,90	85,97	80,37	85,55	6,72
		KD	0	341,09	277,18	297,70	242,79	289,69	41,08
			2	335,56	261,54	274,90	221,74	273,44	47,17
			4	350,81	252,17	261,44	222,11	271,63	55,39
KG		0	232,03	260,96	200,81	228,68	230,62	24,60	
		2	211,26	217,78	197,04	243,74	217,46	19,55	
		4	191,50	174,32	127,57	211,54	176,23	35,83	
KS		0	207,73	238,05	249,13	200,67	223,90	23,37	
		2	191,32	224,56	236,25	205,14	214,32	19,99	
		4	180,74	220,13	214,31	180,19	198,84	21,35	
ID1		0	191,10	200,96	233,33	182,50	191,02	22,22	
		2	167,70	197,58	200,96	161,54	181,94	20,22	
		4	153,89	162,32	182,71	155,09	163,50	13,34	

(lanjutan)

	ID2	0	166,56	200,67	201,16	154,85	180,81	23,70
		2	154,77	181,28	195,30	141,44	168,20	24,51
		4	147,61	152,38	164,55	120,28	146,21	18,70
15	KN	0	82,44	80,76	72,49	87,78	80,87	6,34
		2	84,92	76,44	70,92	89,39	80,42	8,30
		4	72,60	77,95	69,83	92,86	78,31	10,27
	KD	0	327,72	224,48	218,54	200,62	242,84	57,49
		2	305,53	216,58	199,38	156,96	219,61	62,52
		4	319,36	217,73	154,59	143,56	208,81	80,62
	KG	0	148,78	165,52	111,41	176,30	150,50	28,42
		2	152,69	135,05	114,18	180,16	145,52	27,95
		4	140,44	128,29	111,47	150,63	132,71	16,85
	KS	0	108,55	115,56	148,68	159,81	133,15	24,94
		2	106,88	120,26	115,56	147,78	122,62	17,66
		4	83,84	112,48	100,16	106,76	100,81	12,38
	ID1	0	108,81	114,23	109,71	107,59	110,08	2,90
		2	93,44	112,32	105,64	95,30	101,67	8,90
		4	86,37	109,71	97,89	88,06	95,51	10,74
ID2	0	118,39	114,73	136,33	104,30	118,44	13,34	
	2	93,38	90,36	73,88	96,72	88,58	10,14	
	4	94,47	84,12	83,58	90,21	88,10	5,21	
22	KN	0	77,29	71,85	70,20	65,21	71,14	4,98
		2	80,75	94,11	70,46	66,75	78,02	12,25
		4	72,12	78,68	73,25	71,22	73,82	3,35
	KD	0	197,69	162,52	139,60	189,65	172,36	26,52
		2	142,12	132,91	123,84	167,27	141,54	18,71
		4	124,48	121,85	130,07	188,68	141,27	31,79
	KG	0	90,89	71,85	80,53	80,32	80,90	7,79
		2	81,32	68,61	61,85	74,73	71,63	8,33
		4	78,65	53,24	47,28	92,85	68,01	21,43
	KS	0	97,57	106,56	99,40	95,11	99,66	4,92
		2	61,37	87,88	85,96	77,23	78,11	12,08
		4	56,64	80,00	90,79	78,39	76,46	14,31
	ID1	0	79,38	98,64	92,18	87,02	89,31	8,15
		2	68,91	86,72	90,79	80,92	81,84	9,52
		4	56,57	78,67	51,19	77,64	66,02	14,19
ID2	0	97,57	82,54	84,81	55,43	80,09	17,72	
	2	76,16	71,92	69,93	39,81	64,46	16,63	
	4	79,97	61,52	61,34	38,20	60,26	17,11	



Lampiran 1. Perhitungan dosis dan Pembuatan Infusa Herba Sambiloto

Infusa herba sambiloto konsentrasi 10% dibuat sebanyak 6 kali. Tiap satu kali pembuatan infusa, dipakai untuk perlakuan selama 4 hari. Jumlah maksimal yang dibutuhkan dalam satu kali pembuatan adalah 10 gram serbuk simplisia herba sambiloto.

10 gram serbuk simplisia herba sambiloto direbus dengan air sebanyak [100 ml + (2 x 10) ml = 120 ml], lalu dipanaskan selama 15 menit pada suhu 90⁰C sambil sesekali diaduk. Infusa diserukai sewaktu masih panas dengan kain flanel hingga didapatkan volume infusa 100 ml.

$$1) \text{ Dosis 1} = \frac{50 \text{ mg}}{200 \text{ g bb}}$$

Dibutuhkan volume infusa sebanyak :

$$\frac{50 \text{ mg}}{10000 \text{ mg}} \times 100 \text{ ml} = 0,5 \text{ ml} / 200 \text{ g bb}$$

$$2) \text{ Dosis 2} = \frac{100 \text{ mg}}{200 \text{ g bb}}$$

Dibutuhkan volume infusa sebanyak :

$$\frac{100 \text{ mg}}{10000 \text{ mg}} \times 100 \text{ ml} = 1 \text{ ml} / 200 \text{ g bb}$$

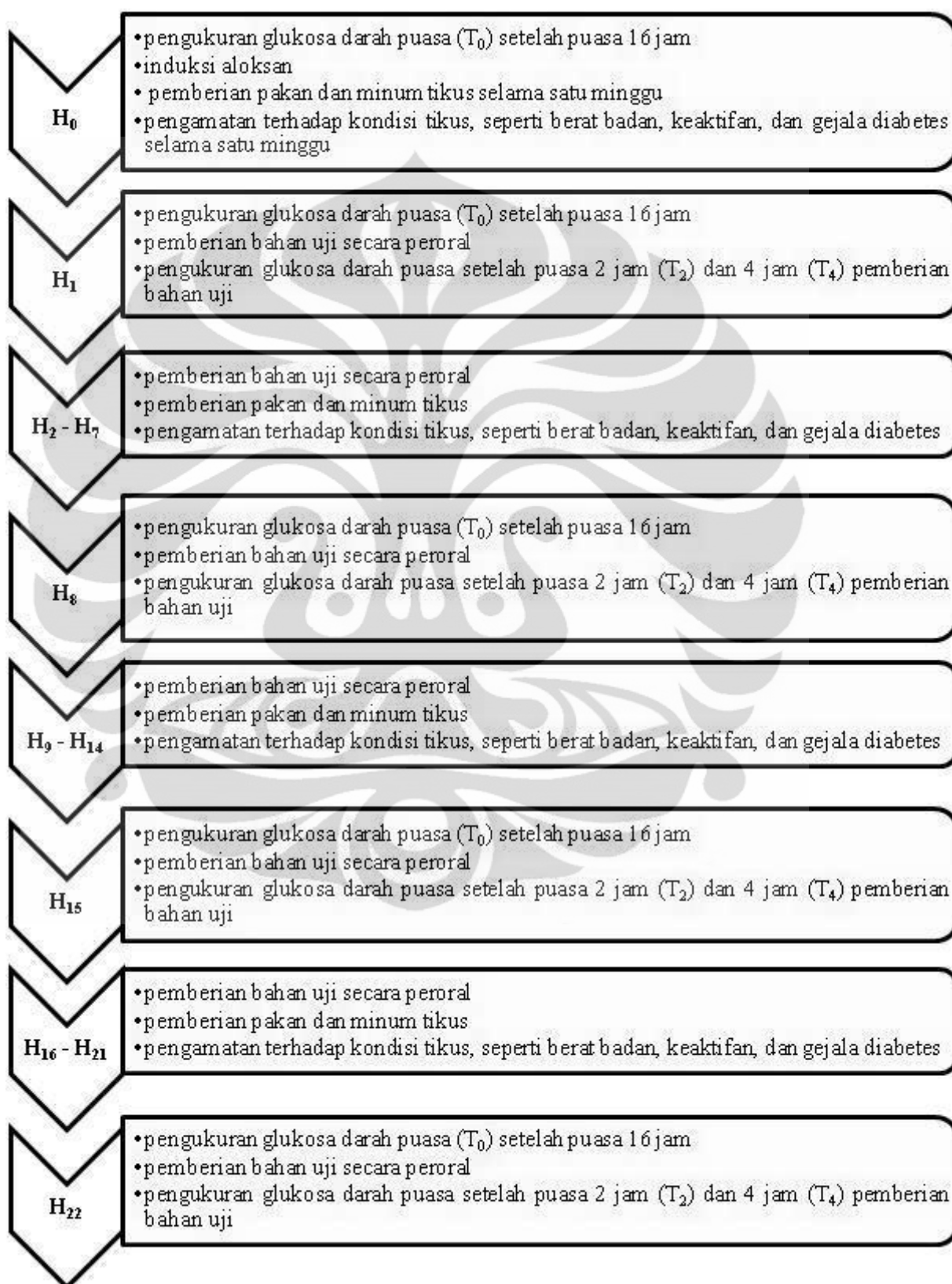
Lampiran 2. Perhitungan dosis dan pembuatan suspensi glibenklamid

Dosis efektif glibenklamid pada manusia adalah 5 mg/hari. Maka dosis untuk tikus per 200 g bb adalah $5 \text{ mg} \times 0,018 \times 10 = 0,9 \text{ mg}$. Jumlah glibenklamid maksimal yang dibutuhkan selama perlakuan dalam 3 hari adalah 61 mg disuspensikan dengan CMC 0,5% hingga volume 68 ml. Tiap 1 ml suspensi, mengandung 0,9 mg glibenklamid.

$$\frac{0,9 \text{ mg}}{61 \text{ mg}} \times 68 \text{ ml} = 1 \text{ ml}/200 \text{ g bb}$$

Satu kali pembuatan suspensi ini dipakai untuk perlakuan selama 3 hari. Jadi, dalam perlakuan selama 21 hari, dilakukan pembuatan suspensi glibenklamid kurang lebih sebanyak 7 kali.

Lampiran 3. Skema kerja uji pengaruh infusa herba sambiloto terhadap glibenklamid dalam menurunkan kadar glukosa darah



Lampiran 4. Uji normalitas (Uji *Saphiro-Wilk*) terhadap kadar glukosa darah seluruh kelompok hewan uji (SPSS 17.0)

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

Hipotesis : H_0 = Data kadar glukosa darah tikus terdistribusi normal

H_a = Data kadar glukosa darah tikus tidak terdistribusi normal

α : 0,05

Pengambilan kesimpulan:

H_0 diterima jika nilai signifikansi $> 0,05$

H_0 ditolak jika nilai signifikansi $< 0,05$

Hari	Waktu (Jam)	Kelompok	Signifikansi	Kesimpulan
0	0	Kontrol Normal	0,509*	H_0 diterima
		Kontrol Diabetes	0,953*	H_0 diterima
		Kontrol Glibenklamid	0,754*	H_0 diterima
		Kontrol Sambiloto	0,781*	H_0 diterima
		Interaksi Dosis 1	0,921*	H_0 diterima
		Interaksi Dosis 2	0,375*	H_0 diterima
1	0	Kontrol Normal	0,163*	H_0 diterima
		Kontrol Diabetes	0,987*	H_0 diterima
		Kontrol Glibenklamid	0,924*	H_0 diterima
		Kontrol Sambiloto	0,870*	H_0 diterima
		Interaksi Dosis 1	0,856*	H_0 diterima
		Interaksi Dosis 2	0,984*	H_0 diterima
	2	Kontrol Normal	0,032**	H_0 ditolak
		Kontrol Diabetes	0,958*	H_0 diterima
		Kontrol Glibenklamid	0,981*	H_0 diterima
		Kontrol Sambiloto	0,820*	H_0 diterima
		Interaksi Dosis 1	0,996*	H_0 diterima
		Interaksi Dosis 2	0,999*	H_0 diterima
	4	Kontrol Normal	0,998*	H_0 diterima
		Kontrol Diabetes	0,737*	H_0 diterima
		Kontrol Glibenklamid	0,718*	H_0 diterima
		Kontrol Sambiloto	0,975*	H_0 diterima
		Interaksi Dosis 1	0,097*	H_0 diterima
		Interaksi Dosis 2	0,097*	H_0 diterima

(lanjutan)

8	0	Kontrol Normal	0,790*	H ₀ diterima
		Kontrol Diabetes	0,981*	H ₀ diterima
		Kontrol Glibenklamid	0,824*	H ₀ diterima
		Kontrol Sambiloto	0,420*	H ₀ diterima
		Interaksi Dosis 1	0,445*	H ₀ diterima
		Interaksi Dosis 2	0,179*	H ₀ diterima
	2	Kontrol Normal	0,235*	H ₀ diterima
		Kontrol Diabetes	0,838*	H ₀ diterima
		Kontrol Glibenklamid	0,782*	H ₀ diterima
		Kontrol Sambiloto	0,843*	H ₀ diterima
		Interaksi Dosis 1	0,192*	H ₀ diterima
		Interaksi Dosis 2	0,731*	H ₀ diterima
	4	Kontrol Normal	0,274*	H ₀ diterima
		Kontrol Diabetes	0,338*	H ₀ diterima
		Kontrol Glibenklamid	0,732*	H ₀ diterima
		Kontrol Sambiloto	0,094*	H ₀ diterima
		Interaksi Dosis 1	0,161*	H ₀ diterima
		Interaksi Dosis 2	0,590*	H ₀ diterima
15	0	Kontrol Normal	0,818*	H ₀ diterima
		Kontrol Diabetes	0,081*	H ₀ diterima
		Kontrol Glibenklamid	0,576*	H ₀ diterima
		Kontrol Sambiloto	0,379*	H ₀ diterima
		Interaksi Dosis 1	0,349*	H ₀ diterima
		Interaksi Dosis 2	0,771*	H ₀ diterima
	2	Kontrol Normal	0,791*	H ₀ diterima
		Kontrol Diabetes	0,652*	H ₀ diterima
		Kontrol Glibenklamid	0,981*	H ₀ diterima
		Kontrol Sambiloto	0,390*	H ₀ diterima
		Interaksi Dosis 1	0,479*	H ₀ diterima
		Interaksi Dosis 2	0,228*	H ₀ diterima
	4	Kontrol Normal	0,354*	H ₀ diterima
		Kontrol Diabetes	0,358*	H ₀ diterima
		Kontrol Glibenklamid	0,920*	H ₀ diterima
		Kontrol Sambiloto	0,647*	H ₀ diterima
		Interaksi Dosis 1	0,677*	H ₀ diterima
		Interaksi Dosis 2	0,374*	H ₀ diterima
22	0	Kontrol Normal	0,952*	H ₀ diterima
		Kontrol Diabetes	0,627*	H ₀ diterima
		Kontrol Glibenklamid	0,685*	H ₀ diterima
		Kontrol Sambiloto	0,528*	H ₀ diterima

(lanjutan)

		Interaksi Dosis 1	0,992*	H ₀ diterima
		Interaksi Dosis 2	0,503*	H ₀ diterima
	2	Kontrol Normal	0,619*	H ₀ diterima
		Kontrol Diabetes	0,640*	H ₀ diterima
		Kontrol Glibenklamid	0,984*	H ₀ diterima
		Kontrol Sambiloto	0,353*	H ₀ diterima
		Interaksi Dosis 1	0,664*	H ₀ diterima
		Interaksi Dosis 2	0,710*	H ₀ diterima
	4	Kontrol Normal	0,198*	H ₀ diterima
		Kontrol Diabetes	0,021**	H ₀ ditolak
		Kontrol Glibenklamid	0,519*	H ₀ diterima
		Kontrol Sambiloto	0,521*	H ₀ diterima
		Interaksi Dosis 1	0,167*	H ₀ diterima
		Interaksi Dosis 2	0,659*	H ₀ diterima

keterangan: *) H₀ diterima sehingga data terdistribusi normal

***) H₀ ditolak sehingga data tidak terdistribusi normal

Lampiran 5. Uji homogenitas (Uji *Levene*) terhadap kadar glukosa darah seluruh kelompok hewan uji (SPSS 17.0).

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

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

H_a = Data kadar glukosa darah tikus tidak bervariasi secara homogen

α : 0,05

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

H_0 ditolak jika nilai signifikansi $< 0,05$

Hari	Waktu (Jam)	Signifikansi	Hipotesis	Kesimpulan
0	0	0,271	H_0 diterima	bervariasi homogen
1	0	0,125	H_0 diterima	bervariasi homogen
	2	0,071	H_0 diterima	bervariasi homogen
	4	0,135	H_0 diterima	bervariasi homogen
8	0	0,285	H_0 diterima	bervariasi homogen
	2	0,171	H_0 diterima	bervariasi homogen
	4	0,083	H_0 diterima	bervariasi homogen
15	0	0,010	H_0 ditolak	Tidak bervariasi homogen
	2	0,056	H_0 diterima	bervariasi homogen
	4	0,003	H_0 ditolak	Tidak bervariasi homogen
22	0	0,009	H_0 ditolak	Tidak bervariasi homogen
	2	0,502	H_0 diterima	bervariasi homogen
	4	0,073	H_0 diterima	bervariasi homogen

Lampiran 6. Uji analisis variansi (ANOVA) satu arah terhadap kadar glukosa darah kelompok hewan uji (SPSS 17.0).

Tujuan : Untuk mengetahui ada tidaknya perbedaan data terhadap kadar glukosa darah seluruh kelompok hewan uji

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

H_a = Data kadar glukosa darah tikus berbeda secara bermakna

α : 0,05

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

H_0 ditolak jika nilai signifikansi $< 0,05$

Hari	Waktu (Jam)	Signifikansi	Hipotesis	Kesimpulan
0	0	0,624	H_0 diterima	Tidak ada perbedaan bermakna
1	0	0,000	H_0 ditolak	ada perbedaan bermakna
	2	0,000	H_0 ditolak	ada perbedaan bermakna
	4	0,000	H_0 ditolak	ada perbedaan bermakna
8	0	0,000	H_0 ditolak	ada perbedaan bermakna
	2	0,000	H_0 ditolak	ada perbedaan bermakna
	4	0,000	H_0 ditolak	ada perbedaan bermakna
15	2	0,000	H_0 ditolak	ada perbedaan bermakna
22	2	0,000	H_0 ditolak	ada perbedaan bermakna
	4	0,000	H_0 ditolak	ada perbedaan bermakna

Lampiran 7. Uji Beda Nyata Terkecil (BNT) terhadap kadar glukosa darah kelompok hewan uji (SPSS 17.0).

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

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

H_a = Data kadar glukosa darah tikus memiliki perbedaan

α : 0,05

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

H_0 ditolak jika nilai signifikansi $< 0,05$

Hari	Waktu (Jam)	Kelompok A	Kelompok B	Signifikansi
1	0	Kontrol Normal	Kontrol Diabetes*	0,000
			Kontrol Glibenklamid*	0,000
			Kontrol Sambiloto*	0,000
			Interaksi Dosis 1*	0,000
			Interaksi Dosis 2*	0,000
		Kontrol Diabetes	Kontrol Normal*	0,000
			Kontrol Glibenklamid	0,680
			Kontrol Sambiloto	0,054
			Interaksi Dosis 1	0,054
			Interaksi Dosis 2	0,067
		Kontrol Glibenklamid	Kontrol Normal*	0,000
			Kontrol Diabetes	0,680
			Kontrol Sambiloto	0,118
			Interaksi Dosis 1	0,118
		Kontrol Sambiloto	Interaksi Dosis 2	0,143
			Kontrol Normal*	0,000
			Kontrol Diabetes	0,054
			Kontrol Glibenklamid	0,118
			Interaksi Dosis 1	0,999
		Interaksi Dosis 1	Interaksi Dosis 2	0,912
			Kontrol Normal*	0,000
			Kontrol Diabetes	0,054
			Kontrol Glibenklamid	0,118
			Kontrol Sambiloto	0,999
Interaksi Dosis 2	Interaksi Dosis 2	0,913		
	Kontrol Normal*	0,000		
	Kontrol Diabetes	0,067		
		Kontrol Glibenklamid	0,143	

(lanjutan)

2		Kontrol Sambiloto	0,912
		Interaksi Dosis 1	0,913
	Kontrol Normal	Kontrol Diabetes*	0,000
		Kontrol Glibenklamid*	0,000
		Kontrol Sambiloto*	0,000
		Interaksi Dosis 1*	0,000
		Interaksi Dosis 2*	0,000
		Kontrol Normal*	0,000
	Kontrol Diabetes	Kontrol Glibenklamid	0,823
		Kontrol Sambiloto	0,092
		Interaksi Dosis 1	0,093
		Interaksi Dosis 2	0,082
		Kontrol Normal*	0,000
	Kontrol Glibenklamid	Kontrol Diabetes	0,823
		Kontrol Sambiloto	0,138
		Interaksi Dosis 1	0,140
		Interaksi Dosis 2	0,123
		Kontrol Normal*	0,000
	Kontrol Sambiloto	Kontrol Diabetes	0,092
		Kontrol Glibenklamid	0,138
		Interaksi Dosis 1	0,995
		Interaksi Dosis 2	0,948
		Kontrol Normal*	0,000
	Interaksi Dosis 1	Kontrol Diabetes	0,093
		Kontrol Glibenklamid	0,140
		Kontrol Sambiloto	0,995
		Interaksi Dosis 2	0,943
		Kontrol Normal*	0,000
Interaksi Dosis 2	Kontrol Diabetes	0,082	
	Kontrol Glibenklamid	0,123	
	Kontrol Sambiloto	0,948	
	Interaksi Dosis 1	0,943	
	Kontrol Diabetes*	0,000	
4	Kontrol Normal	Kontrol Glibenklamid*	0,000
		Kontrol Sambiloto*	0,000
		Interaksi Dosis 1*	0,000
		Interaksi Dosis 2*	0,000
		Kontrol Normal*	0,000
	Kontrol Diabetes	Kontrol Glibenklamid	0,513
		Kontrol Sambiloto*	0,012
		Interaksi Dosis 1*	0,002
		Interaksi Dosis 2*	0,002
		Kontrol Normal*	0,000
	Kontrol Glibenklamid	Kontrol Diabetes	0,513

(lanjutan)

8	0	Kontrol Sambiloto	Kontrol Sambiloto*	0,047
			Interaksi Dosis 1*	0,010
			Interaksi Dosis 2*	0,010
			Kontrol Normal*	0,000
			Kontrol Diabetes*	0,012
			Kontrol Glibenklamid*	0,047
			Interaksi Dosis 1	0,459
			Interaksi Dosis 2	0,459
			Interaksi Dosis 1	Kontrol Normal*
		Kontrol Diabetes*		0,002
		Kontrol Glibenklamid*		0,010
		Kontrol Sambiloto		0,459
		Interaksi Dosis 2		1,000
		Interaksi Dosis 2	Kontrol Normal*	0,000
			Kontrol Diabetes*	0,002
			Kontrol Glibenklamid*	0,010
			Kontrol Sambiloto	0,459
			Interaksi Dosis 1	1,000
		Kontrol Normal	Kontrol Diabetes*	0,000
			Kontrol Glibenklamid*	0,000
			Kontrol Sambiloto*	0,000
			Interaksi Dosis 1*	0,000
			Interaksi Dosis 2*	0,000
		Kontrol Diabetes	Kontrol Normal*	0,000
			Kontrol Glibenklamid*	0,005
			Kontrol Sambiloto*	0,002
			Interaksi Dosis 1*	0,000
			Interaksi Dosis 2*	0,000
Kontrol Glibenklamid	Kontrol Normal*	0,000		
	Kontrol Diabetes*	0,005		
	Kontrol Sambiloto	0,716		
	Interaksi Dosis 1	0,133		
	Interaksi Dosis 2*	0,014		
Kontrol Sambiloto	Kontrol Normal*	0,000		
	Kontrol Diabetes*	0,002		
	Kontrol Glibenklamid	0,716		
	Interaksi Dosis 1	0,244		
	Interaksi Dosis 2*	0,029		
Interaksi Dosis 1	Kontrol Normal*	0,000		
	Kontrol Diabetes*	0,000		
	Kontrol Glibenklamid	0,133		
	Kontrol Sambiloto	0,244		
	Interaksi Dosis 2	0,260		
Interaksi Dosis 2	Kontrol Normal*	0,000		

(lanjutan)

		Kontrol Diabetes*	0,000	
		Kontrol Glibenklamid*	0,014	
		Kontrol Sambiloto*	0,029	
		Interaksi Dosis 1	0,260	
	2	Kontrol Normal	Kontrol Diabetes*	0,000
			Kontrol Glibenklamid*	0,000
			Kontrol Sambiloto*	0,000
			Interaksi Dosis 1*	0,000
			Interaksi Dosis 2*	0,000
		Kontrol Diabetes	Kontrol Normal*	0,000
			Kontrol Glibenklamid*	0,007
			Kontrol Sambiloto*	0,005
			Interaksi Dosis 1*	0,000
			Interaksi Dosis 2*	0,000
		Kontrol Glibenklamid	Kontrol Normal*	0,000
			Kontrol Diabetes*	0,007
			Kontrol Sambiloto	0,866
			Interaksi Dosis 1	0,069
			Interaksi Dosis 2*	0,015
		Kontrol Sambiloto	Kontrol Normal*	0,000
			Kontrol Diabetes*	0,005
			Kontrol Glibenklamid	0,866
			Interaksi Dosis 1	0,095
			Interaksi Dosis 2*	0,022
	Interaksi Dosis 1	Kontrol Normal*	0,000	
		Kontrol Diabetes*	0,000	
		Kontrol Glibenklamid	0,069	
		Kontrol Sambiloto	0,095	
Interaksi Dosis 2		0,463		
Interaksi Dosis 2	Kontrol Normal*	0,000		
	Kontrol Diabetes*	0,000		
	Kontrol Glibenklamid*	0,015		
	Kontrol Sambiloto*	0,022		
	Interaksi Dosis 1	0,463		
4	Kontrol Normal	Kontrol Diabetes*	0,000	
		Kontrol Glibenklamid*	0,000	
		Kontrol Sambiloto*	0,000	
		Interaksi Dosis 1*	0,002	
		Interaksi Dosis 2*	0,010	
	Kontrol Diabetes	Kontrol Normal*	0,000	
		Kontrol Glibenklamid*	0,000	
		Kontrol Sambiloto*	0,003	
		Interaksi Dosis 1*	0,000	
		Interaksi Dosis 2*	0,000	

(lanjutan)

		Kontrol Glibenklamid	Kontrol Normal*	0,000
			Kontrol Diabetes*	0,000
			Kontrol Sambiloto	0,299
			Interaksi Dosis 1	0,555
			Interaksi Dosis 2	0,173
		Kontrol Sambiloto	Kontrol Normal*	0,000
			Kontrol Diabetes*	0,003
			Kontrol Glibenklamid	0,299
			Interaksi Dosis 1	0,112
			Interaksi Dosis 2*	0,023
		Interaksi Dosis 1	Kontrol Normal*	0,002
			Kontrol Diabetes*	0,000
			Kontrol Glibenklamid	0,555
			Kontrol Sambiloto	0,112
			Interaksi Dosis 2	0,425
		Interaksi Dosis 2	Kontrol Normal*	0,010
			Kontrol Diabetes*	0,000
			Kontrol Glibenklamid*	0,173
			Kontrol Sambiloto*	0,023
			Interaksi Dosis 1	0,425
15	2	Kontrol Normal	Kontrol Diabetes*	0,000
			Kontrol Glibenklamid*	0,006
			Kontrol Sambiloto*	0,059
			Interaksi Dosis 1	0,323
			Interaksi Dosis 2	0,701
		Kontrol Diabetes	Kontrol Normal*	0,000
			Kontrol Glibenklamid*	0,002
			Kontrol Sambiloto*	0,000
			Interaksi Dosis 1*	0,000
			Interaksi Dosis 2*	0,000
		Kontrol Glibenklamid	Kontrol Normal*	0,006
			Kontrol Diabetes*	0,002
			Kontrol Sambiloto	0,288
			Interaksi Dosis 1	0,051
			Interaksi Dosis 2*	0,014
		Kontrol Sambiloto	Kontrol Normal	0,059
			Kontrol Diabetes*	0,000
			Kontrol Glibenklamid	0,288
			Interaksi Dosis 1	0,330
			Interaksi Dosis 2	0,121
Interaksi Dosis 1	Kontrol Normal	0,323		
	Kontrol Diabetes*	0,000		
	Kontrol Glibenklamid	0,051		
	Kontrol Sambiloto	0,330		

(lanjutan)

			Interaksi Dosis 2	0,539
		Interaksi Dosis 2	Kontrol Normal	0,701
			Kontrol Diabetes*	0,000
			Kontrol Glibenklamid*	0,014
			Kontrol Sambiloto	0,121
			Interaksi Dosis 1	0,539
			Kontrol Diabetes*	0,000
22	2	Kontrol Normal	Kontrol Glibenklamid	0,456
			Kontrol Sambiloto	0,991
			Interaksi Dosis 1	0,655
			Interaksi Dosis 2	0,343
		Kontrol Diabetes	Kontrol Normal*	0,000
			Kontrol Glibenklamid*	0,000
			Kontrol Sambiloto*	0,000
			Interaksi Dosis 1*	0,000
		Kontrol Glibenklamid	Interaksi Dosis 2*	0,000
			Kontrol Normal	0,456
			Kontrol Diabetes*	0,000
			Kontrol Sambiloto	0,450
	Kontrol Sambiloto	Interaksi Dosis 1	0,240	
		Interaksi Dosis 2	0,833	
		Kontrol Normal	0,991	
		Kontrol Diabetes*	0,000	
	Interaksi Dosis 1	Kontrol Glibenklamid	0,450	
		Kontrol Sambiloto	0,450	
		Interaksi Dosis 1	0,662	
		Interaksi Dosis 2	0,337	
		Kontrol Normal	0,655	
		Kontrol Diabetes*	0,000	
Interaksi Dosis 2	Kontrol Glibenklamid	0,240		
	Kontrol Sambiloto	0,662		
	Interaksi Dosis 2	0,170		
	Kontrol Normal	0,343		
	Kontrol Diabetes*	0,000		
	Kontrol Glibenklamid*	0,833		
4	Kontrol Normal	Kontrol Sambiloto	0,337	
		Interaksi Dosis 1	0,170	
		Interaksi Dosis 2	0,328	
		Kontrol Diabetes*	0,000	
	Kontrol Diabetes	Kontrol Glibenklamid*	0,000	
		Kontrol Sambiloto*	0,000	
		Kontrol Normal	0,671	
		Kontrol Sambiloto	0,847	
			Interaksi Dosis 1	0,570

(lanjutan)

			Interaksi Dosis 1*	0,000
			Interaksi Dosis 2*	0,000
		Kontrol Glibenklamid	Kontrol Normal	0,671
			Kontrol Diabetes*	0,000
			Kontrol Sambiloto	0,539
			Interaksi Dosis 1	0,884
			Interaksi Dosis 2	0,573
			Kontrol Sambiloto	Kontrol Normal
		Kontrol Diabetes*		0,000
		Kontrol Glibenklamid		0,539
		Interaksi Dosis 1		0,449
		Interaksi Dosis 2		0,245
		Interaksi Dosis 1	Kontrol Normal	0,570
			Kontrol Diabetes*	0,000
			Kontrol Glibenklamid	0,884
			Kontrol Sambiloto	0,449
			Interaksi Dosis 2	0,674
		Interaksi Dosis 2	Kontrol Normal	0,328
			Kontrol Diabetes*	0,000
			Kontrol Glibenklamid	0,573
			Kontrol Sambiloto	0,245
			Interaksi Dosis 1	0,674

keterangan:*) H_0 ditolak, sehingga terdapat perbedaan bermakna antara kelompok A dan B

Lampiran 8. Uji *Kruskal-Wallis* terhadap kadar glukosa darah kelompok hewan uji (SPSS 17.0).

Tujuan : Untuk mengetahui ada tidaknya perbedaan data kadar glukosa darah kelompok kontrol diabetes hari ke-29 post induksi, 4 jam setelah diberi perlakuan.

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

H_a = Data kadar glukosa darah tikus berbeda secara bermakna

α : 0,05

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

H_0 ditolak jika nilai signifikansi $< 0,05$

Hari	Waktu (Jam)	Signifikansi	Hipotesis	Kesimpulan
1	2	0,017	H_0 ditolak	ada perbedaan bermakna
15	0	0,002	H_0 ditolak	ada perbedaan bermakna
	4	0,002	H_0 ditolak	ada perbedaan bermakna
22	0	0,003	H_0 ditolak	ada perbedaan bermakna
	4	0,045	H_0 ditolak	ada perbedaan bermakna

Lampiran 9. Uji *Mann-Whitney* terhadap kadar glukosa darah kelompok hewan uji (SPSS 17.0).

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

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

H_a = Data kadar glukosa darah tikus memiliki perbedaan

α : 0,05

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

H_0 ditolak jika nilai signifikansi $< 0,05$


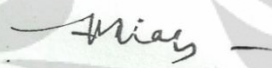
Hari	Waktu (jam)	Kelompok A	Kelompok B	Signifikansi
1	2	Kontrol normal	Kontrol diabetes*	0,021
			Kontrol glibenklamid*	0,021
			Kontrol sambiloto*	0,021
			Interaksi dosis 1*	0,021
			Interaksi dosis 2*	0,021
15	0	Kontrol normal	Kontrol diabetes*	0,021
			Kontrol glibenklamid*	0,021
			Kontrol sambiloto*	0,021
			Interaksi dosis 1*	0,021
			interaksi dosis 2*	0,021
		Kontrol diabetes	Kontrol glibenklamid*	0,021
			Kontrol sambiloto*	0,021
			Interaksi dosis 1*	0,021
			interaksi dosis 2*	0,021
			Kontrol sambiloto	0,248
	4	Kontrol normal	Kontrol glibenklamid*	0,021
			Kontrol sambiloto*	0,043
			Interaksi dosis 1	0,083
			interaksi dosis 2	0,149
			interaksi dosis 2	0,248

(lanjutan)

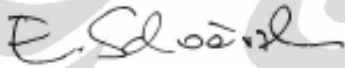
		Kontrol diabetes	Kontrol glibenklamid*	0,043		
			Kontrol sambiloto*	0,021		
			Interaksi dosis 1*	0,021		
			interaksi dosis 2*	0,021		
		Kontrol glibenklamid	Kontrol sambiloto*	0,043		
			Interaksi dosis 1*	0,021		
			interaksi dosis 2*	0,021		
		Kontrol sambiloto	interaksi dosis 1	0,564		
			Interaksi dosis 2	0,149		
		Interaksi dosis 1	interaksi dosis 2	0,191		
		22	0	Kontrol normal	Kontrol diabetes*	0,021
					Kontrol glibenklamid	0,059
Kontrol sambiloto*	0,021					
Interaksi dosis 1*	0,021					
interaksi dosis 2	0,149					
Kontrol diabetes	Kontrol glibenklamid*			0,043		
	Kontrol sambiloto*			0,021		
	Interaksi dosis 1*			0,021		
	interaksi dosis 2*			0,021		
Kontrol glibenklamid	Kontrol sambiloto*			0,021		
	Interaksi dosis 1			0,248		
	interaksi dosis 2			0,564		
Kontrol sambiloto	interaksi dosis 1		0,083			
	Interaksi dosis 2		0,059			
Interaksi dosis 1	interaksi dosis 2		0,386			
4	Kontrol normal		Kontrol diabetes*	0,021		
			Kontrol glibenklamid*	0,021		
			Kontrol sambiloto*	0,021		
			Interaksi dosis 1*	0,021		
			Interaksi dosis 2*	0,021		

keterangan:*) H_0 ditolak, sehingga terdapat perbedaan bermakna antara kelompok A dan B


Lampiran 10. Surat keterangan hewan uji

	BAGIAN PRODUKSI TERNAK DAGING KERJA DAN ANEKA TERNAK DEPARTEMEN ILMU PRODUKSI DAN TEKNOLOGI PETERNAKAN FAKULTAS PETERNAKAN INSTITUT PERTANIAN BOGOR
Sekretariat : Jl. Agatis, Kampus IPB, Dramaga, Bogor 16680 Telepon : (0251) 8624774, Fax. (0251) 8624774	
<u>SURAT KETERANGAN</u>	
Yang bertanda tangan di bawah ini:	
Nama	: Prof. Dr. Ir. Pollung H. Siagian, MS
Jabatan	: Kepala Bagian Produksi Ternak Daging Kerja Dan Aneka Ternak
Alamat	: Jl. Agatis kampus IPB Darmaga-Bogor Telp. 0251-8624774, Fax. 0251-8624774
Menyatakan bahwa tikus putih (<i>Rattus norvegicus</i>) strain <i>Sprague Dawley</i> (SD) yang dikembangkan di Laboratorium Non Ruminansia dan Satwa Harapan, Fakultas. Peternakan IPB, telah memenuhi syarat sebagai hewan uji untuk penelitian atau kegiatan praktikum.	
Demikian surat keterangan ini dibuat dengan sebenar-benarnya.	
Kepala,	
	
Prof. Dr. Ir. Pollung H. Siagian, MS NIP. 19460825 197711 1 001	

Lampiran 11. Sertifikat analisis Aloksan Monohidrat

SIGMA-ALDRICH®		ALDRICH® LIFE SCIENCE	
		Industriestrasse 25, CH-9471 Buchs (SG), Switzerland Tel: +41 81 755 2511 Fax: +41 81 756 5449	
Certificate of Analysis			
Product Name:	ALLOXAN MONOHYDRATE		
Product Number:	A7413		
Product Brand:	Aldrich		
Molecular Formula:	$C_4H_2N_2O_4 \cdot H_2O$		
Molecular Mass:	160.08		
CAS Number:	2244-11-3		
TEST	SPECIFICATION	LOT BCBC9107 RESULTS	
APPEARANCE (COLOR)	WHITE TO TAN	TAN	
APPEARANCE (FORM)	POWDER OR FINE CRYSTALS	FINE CRYSTALS WITH LUMPS	
PURITY (TLC AREA %)	≥ 98.0 %	98.5 %	
SOLUBILITY (COLOR)	COLORLESS TO FAINT YELLOW	VERY FAINTLY YELLOW	
SOLUBILITY (TURBIDITY)	CLEAR TO SLIGHTLY HAZY	SLIGHTLY HAZY	
SOLUBILITY (METHOD)	50 MG/ML IN WATER	50 MG/ML IN WATER	
CARBON CONTENT	29.3 % - 30.7 %	29.67 %	
NITROGEN CONTENT	17.1 % - 17.9 %	17.15 %	
PROTON NMR SPECTRUM	CONSISTENT WITH STRUCTURE	CONFORMS	
QC RELEASE DATE	10/AUG/10		
 Edeltraud Schwärzler, Manager Quality Control Buchs, Switzerland			
<p><small>Sigma-Aldrich warrants, that its products conform to the information contained in this and other Sigma-Aldrich publications. Purchaser must determine the suitability of the product for its particular use. See reverse side of invoice for additional terms and conditions of sale. The values given on the 'Certificate of Analysis' are the results determined at the time of analysis.</small></p>			
Sigma-Aldrich		Certificate of Analysis - Product A7413 Lot BCBC9107	
		Page 1 of 1	

Lampiran 12. Surat determinasi Herba Sambiloto



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

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

Cibinong, 16 Maret 2011

Nomor : 319/IPH.1.02/If.8/III/2011
 Lampiran : -
 Perihal : Hasil identifikasi/ determinasi Tumbuhan


Kepada Yth.
 Bpk./Ibu/Sdr(i). Diandra Andina Ratimanjari
 Mhs. Univ. Indonesia

Dengan hormat,

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

No.	No. Kol.	Jenis	Suku
1	Herba Sambiloto	<i>Andrographis paniculata</i> Nees	Acanthaceae





Demikian, semoga berguna bagi Saudara.

Kepala Bidang Botani
 Pusat Penelitian Biologi-LIPI,

 Prof. Dr. Eko Baroto Walujo
 NIP. 195111041975011001

J:\Ident 2010\Diandra Andina Ratimanjari.doc\DG-SP

Page 1 of 1

Lampiran 13. Sertifikat Analisis Glibenklamid

 CADILA PHARMACEUTICALS LIMITED CHEMICALS BRU		3303, G.L.D.C. Estate, Ankleshwar - 393002 Gujarat, India.		Phone : +91-2646-250174 / 220178 Fax : +91-2646-226519 Website : www.cadilapharma.com	
Name of Finished Product		Glibenclamide BP/ Ph. Eur.			
Manufactured By		Cadila Pharmaceuticals Limited, Ankleshwar			
Lot. No.		0GLL011	A.R.NO.	PF00076	
Manufacturing Date		JANUARY 2010	Qty. Mfgd.	200.10 kg.	
Expiry Date		DECEMBER 2014			
Certificate of Analysis					
Test	Requirements		Results		
Characteristics Appearance	A white or almost white crystalline powder		White crystalline powder.		
Solubility	Practically insoluble in water, sparingly soluble in methylene chloride, slightly soluble in alcohol and in methanol.		Practically insoluble in water, sparingly soluble in methylene chloride, slightly soluble in alcohol and in methanol.		
Identification A) Melting point C) IR	Melting Point: 169°C to 174°C Examine infrared absorption spectrum, compare with spectrum obtained with Glibenclamide working standard. Burn the substance at first prepared with potassium bicarbonate. If the spectra obtained shows differences, repeat separately the substance with methanol, triturate, dry at 100°C to 125°C and record the spectrum again.		169.5°C to 171.2°C Matches with working standard.		
Related substances (By HPLC) 1. Impurity A 2. Impurity B 3. Unknown Impurity 1 4. Unknown Impurity 2 5. Unknown Impurity 3 6. Total of other Impurity	Not more than 0.4 % Not more than 0.5 % Not more than 0.2 % Not more than 0.1 % Not more than 0.1 % Not more than 0.5 %		0.06 % 0.06 % 0.07 % 0.07 % Below Detection Limit 0.14 %		
Heavy metals	Not more than 20 ppm (Determined on 1.0 g.)		Less than 20 ppm		
Loss on drying	Not more than 1.0 % (Determined on 1.0 g by drying in an oven at 100 to 105°C.)		0.40 % w/w		
Sulphated ash	Not more than 0.1 % (Determined on 1.0 g.)		0.05 % w/w		
Assay	Not less than 99.0 % and not more than the equivalent of 101.0 % of $C_{14}H_{10}ClN_2O_5$, calculated with reference to the dried substance.		99.6 % w/w		
Additional tests:					
Particle size (By Malvern master size)	90 % particle should be less than 10 µ		Complies		
Remarks: The material complies with respect to the BP/ Ph. Eur. Specifications.					
Prepared By		Checked By		Approved By	
Date	20-07-10	Date	20-07-10	Date	20-02-10
P/QC2590/26.03.08					
Corporate Office : "Cadila Corporate Campus," Sarkaj-Dholi Road, Bhat, Ahmedabad - 382 210, Gujarat, India.		Phone : +91-2710-325001-15 Fax : +91-2710-225079 Website : www.cadilapharma.com		<i>The Care Continues...</i>	