



**UNIVERSITAS INDONESIA**

**PENGARUH PEMBERIAN SARI BUAH MENGGUDU  
(*Morinda citrifolia* Linn.) TERHADAP GLIBENKLAMID  
DALAM MENURUNKAN KADAR GLUKOSA DARAH  
TIKUS PUTIH JANTAN YANG DIBUAT DIABETES**

**SKRIPSI**

**SRI WULANDAH FITRIANI  
0706265011**

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



UNIVERSITAS INDONESIA

**PENGARUH PEMBERIAN SARI BUAH MENGGKUDU  
(*Morinda citrifolia* Linn.) TERHADAP GLIBENKLAMID  
DALAM MENURUNKAN KADAR GLUKOSA DARAH  
TIKUS PUTIH JANTAN YANG DIBUAT DIABETES**

**SKRIPSI**

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

**SRI WULANDAH FITRIANI  
0706265011**

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

ii

## HALAMAN PERNYATAAN ORISINALITAS

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

Nama : Sri Wulandah Fitriani

NPM : 0706265011

Tanda Tangan : 

Tanggal : 15 JULI 2011

## HALAMAN PENGESAHAN

Skripsi ini diajukan oleh :

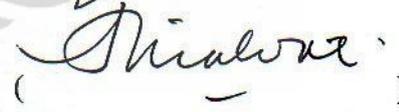
Nama : Sri Wulandah Fitriani  
NPM : 0706265011  
Program Studi : Sarjana Farmasi  
Judul Skripsi : Pengaruh Pemberian Sari Buah Mengkudu (*Morinda citrifolia* Linn.) terhadap Glibenklamid dalam Menurunkan Kadar Glukosa Darah Tikus Putih Jantan yang Dibuak Diabetes

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

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

Pembimbing II : Dr. Abdul Mun'im M.Si., Apt (  )

Penguji : Prof. Dr. Effionora A., M.S. (  )

Penguji : Dra. Azizahwati, M.S., Apt. (  )

Penguji : Dr. Herman Suryadi, M.S., Apt. (  )

Ditetapkan di Depok  
Tanggal : 15 JULI 2011

## KATA PENGANTAR

Puji dan syukur saya panjatkan kepada Allah SWT yang telah melimpahkan hidayah, rahmat, dan nikmatNya yang tak terhingga kepada penulis sehingga skripsi ini dapat terselesaikan. Saya menyadari bahwa tanpa bantuan dan dukungan dari berbagai pihak, baik semasa perkuliahan, maupun selama penelitian, sangatlah sulit bagi saya untuk menyelesaikan skripsi ini. Oleh karena itu, saya mengucapkan terima kasih kepada:

1. Ibu Santi Purna Sari, S.Si., M.Si., sebagai Pembimbing I yang dengan sabar telah membimbing, memotivasi, dan memberikan solusi selama penelitian berlangsung hingga tersusunnya skripsi ini.
2. Bapak Dr. Abdul Mun'im, M.Si., sebagai Pembimbing II yang telah bersedia memberikan saran dan menjawab segala pertanyaan dan kegundahan penulis akan masalah-masalah yang dihadapi selama penelitian.
3. Ibu Prof. Dr. Yahdiana Harahap, M.S., selaku Ketua Departemen Farmasi FMIPA UI atas kesempatan yang diberikan kepada penulis untuk melaksanakan penelitian ini.
4. Bapak Dr. Harmita, Apt., selaku Pembimbing Akademis, atas segala bimbingan dan arahan yang diberikan selama empat tahun masa studi di Farmasi.
5. Ibu Dr. Berna Elya, M.Si., selaku Koordinator Pendidikan atas segala bantuan dan nasihatnya selama ini.
6. Seluruh staf pengajar dan karyawan Departemen FMIPA UI, yang telah membantu, baik selama masa perkuliahan, maupun penelitian.
7. Kedua orangtua tercinta, Ayah Abdul Hamid dan Umak Syafridah yang telah membesarkan, mendidik, dan membimbing penulis dengan penuh kesabaran dan pengorbanan yang tak terbalaskan. Tak lupa rasa sayang dan bangga penulis sampaikan kepada adik Rizka Fadilah dan Nazhifah Salsabila yang selalu menjadi pemantik semangat.

8. Rekan-rekan penelitian laboratorium farmakologi, khususnya Diandra Andina R. yang telah berjuang bersama-sama selama lima bulan ini.
9. Sahabat-sahabat Farmasi 2007, khususnya Annisa Nooryani, Annisrakhma S.K., Kun Fitriana, Loedfiasfiati A., Maya Masitha, dan Yodifta A., yang dengan sabar selalu memotivasi dan memberikan solusi kepada penulis.
10. Teman-teman B.O Pers Suara Mahasiswa UI dan ILDP UI yang senantiasa berdoa demi kelancaran penyusunan skripsi ini.
11. Semua pihak yang tidak dapat disebutkan namanya satu per satu atas segala bantuan baik secara langsung maupun tidak langsung kepada penulis selama penulisan dan penyusunan skripsi ini.

Akhir kata, penulis berharap Allah SWT berkenan membalas segala kebaikan semua pihak yang telah membantu. Semoga skripsi ini membawa manfaat bagi pengembangan ilmu.

Penulis

2011

**HALAMAN PERNYATAAN PERSETUJUAN PUBLIKASI  
KARYA ILMIAH UNTUK KEPENTINGAN AKADEMIS**

---

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

Nama : Sri Wulandah Fitriani  
NPM : 0706265011  
Program Studi : Sarjana Farmasi  
Departemen : Farmasi  
Fakultas : Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam  
Jenis Karya : Skripsi

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

Pengaruh Pemberian Sari Buah Mengkudu (*Morinda citrifolia* Linn.) terhadap Glibenklamid dalam Menurunkan Kadar Glukosa Darah Tikus Putih Jantan yang Dibuat Diabetes

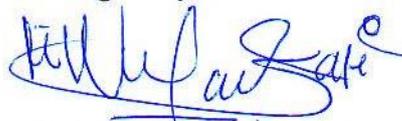
beserta perangkat yang ada (jika diperlukan). Dengan Hak Bebas Royalti Noneksklusif ini Universitas Indonesia berhak menyimpan, mengalih-media/formatkan, mengelola dalam bentuk pangkalan data (database), merawat, dan mempublikasikan tugas akhir saya selama tetap mencantumkan nama saya sebagai penulis/pencipta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

Demikian pernyataan ini saya buat dengan sebenarnya.

Dibuat di : Depok

Pada tanggal : 15 JULI 2011

Yang menyatakan



( Sri Wulandah Fitriani )

## ABSTRAK

Nama : Sri Wulandah Fitriani  
Program Studi : Farmasi  
Judul : Pengaruh Pemberian Sari Buah Mengkudu (*Morinda citrifolia* Linn.) terhadap Glibenklamid dalam Menurunkan Kadar Glukosa Darah Tikus Putih Jantan yang Dibuak Diabetes

Interaksi obat dapat terjadi pada penggunaan dua atau lebih obat secara bersamaan, termasuk penggunaan obat sintetik dengan obat herbal. Kombinasi glibenklamid dengan sari buah mengkudu seringkali digunakan pasien diabetes melitus untuk pemeliharaan kadar glukosa darah yang lebih baik. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui pengaruh pemberian sari buah mengkudu terhadap glibenklamid dalam menurunkan kadar glukosa darah tikus putih jantan yang dibuat diabetes. Penelitian ini menggunakan 24 ekor tikus putih jantan galur *Sprague-Dawley* yang terbagi dalam 6 kelompok. Sebelum diberi perlakuan, hewan uji dibuat diabetes dengan diinduksi aloksan (32 mg/200 g bb tikus) terlebih dahulu, kecuali kelompok 1 yang merupakan kontrol normal. Kelompok 2 merupakan kontrol diabetes yang tidak diberikan bahan uji. Kelompok 3 dan 4 adalah kelompok kontrol tunggal dari masing-masing bahan uji, yaitu glibenklamid (0,9 mg/200 g bb tikus) dan sari buah mengkudu (2,5 ml/200 g bb tikus). Kelompok 5 dan 6 adalah kelompok uji interaksi glibenklamid (0,9 mg/200 g bb tikus) dengan sari buah mengkudu (2,5 ml atau 5,0 ml/200 g bb tikus) dengan selang waktu pemberian satu jam. Kadar glukosa darah ditentukan menggunakan metode spektrofotometri dengan pereaksi o-toluidin. Hasil penelitian menunjukkan bahwa sari buah mengkudu dengan dosis 5,0 ml/200 g bb tikus dapat memperbesar penurunan kadar glukosa darah oleh glibenklamid setelah dua minggu pemberian.

Kata Kunci : Aloksan, Diabetes Melitus, Glibenklamid, Interaksi Obat-Herbal, *Morinda citrifolia* Linn.

xiii+78 halaman ; 7 gambar ; 8 tabel ; 20 lampiran

Daftar Pustaka : 38 (1981-2011)

## ABSTRACT

Name : Sri Wulandah Fitriani  
Study Program : Pharmacy  
Title : The Effect of Noni Juice (*Morinda citrifolia* Linn.)  
Combined with Glibenclamide in Lowering Blood Glucose  
Level on Diabetic Male Albino Rats

Drug interactions can occur in the use of two or more drugs simultaneously, including the use of synthetic drug with herbal medicine. Combination of glibenclamide with noni juice (*Morinda citrifolia* Linn.) often used by diabetic patient to decrease their blood glucose level. The aim of this research was to know the interaction between glibenclamide and noni juice administration on blood glucose level. This research used 24 *Sprague-Dawley* male rats which were divided into 6 groups. Before the experiment, the rats were first induced by alloxan, except group 1, which was the normal control. Group 2 was the control of diabetic without given any drugs. Group 3 and 4 were the control of glibenclamide (0.9 mg/200 g body weight of rat) and control of noni juice (2.5 ml/200 g body weight of rat). Group 5 and 6 were the interaction test group which were given glibenclamide (0.9 mg/200 g body weight rat) and noni juice (2.5 ml or 5.0 ml/200 g body weight of rat) with an hour interval. Measurement of blood glucose level used spectrophotometer with o-toluidine as reagent. The result of this research shows that noni juice at a dose 5.0 ml/200 g body weight rat is able to enlarge the reduction of blood glucose levels from glibenclamide after two weeks administration.

Key Words : Alloxan, Diabetes Mellitus, Glibenclamide, Herb-Drug Interaction, *Morinda citrifolia* Linn.

xiii+78 pages ; 7 pictures ; 8 tables ; 20 appendixs

Bibliography : 38 (1981-2011)

## DAFTAR ISI

<b>HALAMAN JUDUL</b> .....	<b>ii</b>
<b>HALAMAN PERNYATAAN ORISINALITAS</b> .....	<b>iii</b>
<b>HALAMAN PENGESAHAN</b> .....	<b>iv</b>
<b>KATA PENGANTAR</b> .....	<b>v</b>
<b>HALAMAN PERNYATAAN PERSETUJUAN PUBLIKASI KARYA ILMIAH UNTUK KEPENTINGAN AKADEMIS</b> .....	<b>vii</b>
<b>ABSTRAK</b> .....	<b>viii</b>
<b>ABSTRACT</b> .....	<b>ix</b>
<b>DAFTAR ISI</b> .....	<b>x</b>
<b>DAFTAR GAMBAR</b> .....	<b>xi</b>
<b>DAFTAR TABEL</b> .....	<b>xii</b>
<b>DAFTAR LAMPIRAN</b> .....	<b>xiii</b>
<b>BAB 1 PENDAHULUAN</b> .....	<b>1</b>
1.1. Latar Belakang .....	1
1.2. Tujuan Penelitian .....	2
1.3. Hipotesis .....	2
<b>BAB 2 TINJAUAN PUSTAKA</b> .....	<b>3</b>
2.1 Tanaman Mengkudu ( <i>Morinda citrifolia</i> Linn) .....	3
2.2 Diabetes Melitus .....	6
2.3 Pengobatan Diabetes Melitus.....	9
2.4 Interaksi Obat.....	15
2.5 Metode Pengujian .....	18
<b>BAB 3 METODE PENELITIAN</b> .....	<b>21</b>
3.1 Lokasi dan Waktu Penelitian .....	21
3.2 Alat.....	21
3.3 Bahan .....	21
3.4 Cara Kerja .....	22
<b>BAB 4 HASIL DAN PEMBAHASAN</b> .....	<b>31</b>
4.1 Uji Pendahuluan Dosis Alokasan .....	31
4.2 Penyiapan Bahan Uji.....	32
4.3 Penetapan Kadar Glukosa Darah .....	32
<b>BAB 5 KESIMPULAN DAN SARAN</b> .....	<b>41</b>
5.1 Kesimpulan .....	41
5.2 Saran .....	41
<b>DAFTAR ACUAN</b> .....	<b>42</b>

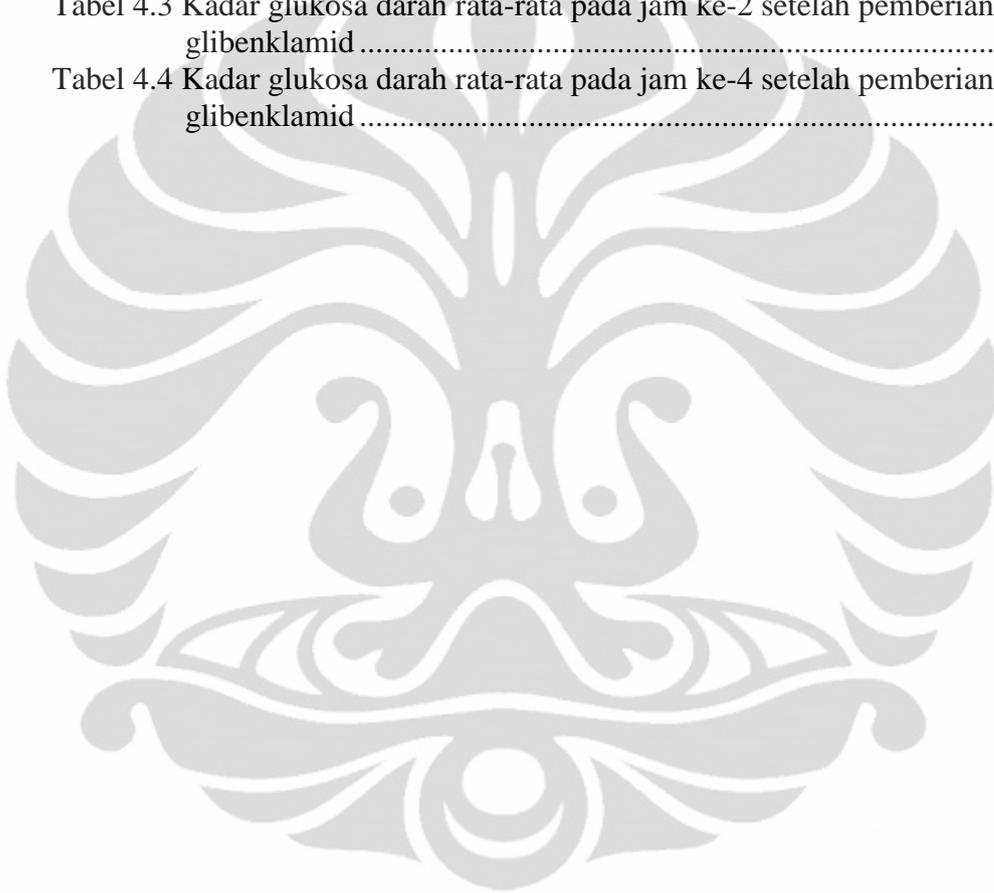
## DAFTAR GAMBAR

Gambar 2.1 Reaksi kondensasi glukosa dengan o-toluidin .....	20
Gambar 3.1 Morfologi buah Mengkudu .....	22
Gambar 3.2 Penampang melintang buah Mengkudu .....	22
Gambar 4.1 Grafik kestabilan hasil serapan larutan standar glukosa .....	33
Gambar 4.2 Grafik kadar glukosa darah puasa rata-rata setiap kelompok uji ....	35
Gambar 4.3 Grafik kadar glukosa darah rata-rata pada jam ke-2 setelah pemberian glibenklamid .....	38
Gambar 4.4 Grafik kadar glukosa darah rata-rata pada jam ke-4 setelah pemberian glibenklamid .....	39



## DAFTAR TABEL

Tabel 2.1 Kriteria penegakan diagnosis .....	9
Tabel 3.1 Pembagian kelompok hewan uji pada uji pendahuluan .....	23
Tabel 3.2 Pembagian kelompok hewan uji .....	26
Tabel 3.3 Perlakuan setiap kelompok hewan uji.....	27
Tabel 4.1 Hasil uji pendahuluan aloksan .....	31
Tabel 4.2 Kadar glukosa darah puasa rata-rata setiap kelompok uji.....	34
Tabel 4.3 Kadar glukosa darah rata-rata pada jam ke-2 setelah pemberian glibenklamid .....	37
Tabel 4.4 Kadar glukosa darah rata-rata pada jam ke-4 setelah pemberian glibenklamid .....	39



## DAFTAR LAMPIRAN

Lampiran 1.	Foto tanaman Mengkudu ( <i>Morinda citrifolia</i> Linn.).....	46
Lampiran 2.	Foto sari buah Mengkudu ( <i>Morinda citrifolia</i> Linn.).....	47
Lampiran 3.	Spektrum serapan larutan glukosa standar .....	48
Lampiran 4.	Hasil determinasi Mengkudu ( <i>Morinda citrifolia</i> Linn).....	49
Lampiran 5.	Sertifikat analisis Aloksan Monohidrat .....	50
Lampiran 6.	Sertifikat analisis Glibenklamid .....	51
Lampiran 7.	Skema kerja penelitian.....	52
Lampiran 8.	Perhitungan dosis Aloksan Monohidrat secara intra- peritoneal .....	53
Lampiran 9.	Hasil uji pendahuluan aloksan monohidrat.....	54
Lampiran 10.	Pembuatan larutan uji glibenklamid .....	55
Lampiran 11.	Hasil uji kestabilan serapan larutan standar glukosa .....	56
Lampiran 12.	Hasil pengukuran kadar glukosa darah pra-induksi.....	57
Lampiran 13.	Hasil pengukuran kadar glukosa darah setelah pemberian bahan uji.....	58
Lampiran 14.	Uji statistik terhadap kadar glukosa darah puasa seluruh kelompok hewan uji pra-induksi (HA) .....	61
Lampiran 15.	Uji normalitas ( <i>Saphiro-Wilk</i> ) terhadap kadar glukosa darah seluruh kelompok hewan uji .....	64
Lampiran 16.	Uji homogenitas ( <i>Levene</i> ) terhadap kadar glukosa darah seluruh kelompok hewan uji .....	67
Lampiran 17.	Uji ANAVA satu arah terhadap kadar glukosa darah kelompok hewan uji.....	68
Lampiran 18.	Uji Beda Nyata Terkecil (BNT) terhadap kadar glukosa darah kelompok hewan uji.....	69
Lampiran 19.	Uji <i>Kruskal-Wallis</i> terhadap kadar glukosa darah kelompok hewan uji.....	76
Lampiran 20.	Uji <i>Mann-Whitney</i> terhadap kadar glukosa darah kelompok hewan uji.....	77

# **BAB 1**

## **PENDAHULUAN**

### **1.1 Latar Belakang**

Diabetes melitus (DM) atau yang biasa dikenal sebagai penyakit kencing manis menjadi salah satu masalah kesehatan bagi masyarakat Indonesia setiap tahunnya. Pada tahun 2000 dilaporkan terdapat 8,4 juta jiwa penderita diabetes. Jumlah ini diprediksi akan mencapai 21,3 juta jiwa dan menduduki peringkat keempat dunia setelah India, China, dan Amerika Serikat pada tahun 2030 (Wild, Roglic, Green, Sicree, & King, 2004).

Penyakit kronis yang ditandai oleh tingginya kadar glukosa darah disertai gangguan metabolisme karbohidrat, lipid, dan protein ini tidak menyebabkan kematian secara langsung, tetapi dapat menyebabkan berbagai komplikasi bila pengelolaannya tidak tepat (WHO, 1999). Komplikasi dapat terjadi pada mikrovaskular, makrovaskular, dan neuropati yang tak jarang menyebabkan kematian (Triplitt, Reasner, & Isley, 2005). Untuk itu, pasien DM diharuskan mengendalikan kadar glukosa darahnya melalui diet, olahraga, penggunaan insulin eksogen, dan/atau mengkonsumsi obat antidiabetik oral dalam jangka waktu yang lama (Departemen Kesehatan RI, 2005).

Salah satu obat antidiabetik oral yang sering digunakan adalah glibenklamid. Antidiabetik oral golongan sulfonilurea ini bekerja merangsang sel  $\beta$  pankreas untuk mensekresi lebih banyak insulin. Meskipun waktu paruhnya pendek, glibenklamid memberikan efek hipoglikemik yang panjang, yaitu 12-24 jam sehingga cukup diberikan satu kali sehari (Suherman, 2007).

Untuk pengendalian kadar glukosa darah yang lebih baik, seringkali pasien berinisiatif mengkombinasi antidiabetik oral yang diresepkan dokter dengan obat herbal (Wibudi, Kiranadi, Manalu, Winarto, & Suyono, 2008). Penggunaan obat herbal dianggap aman dan tidak memiliki efek samping sehingga seringkali pasien mengkombinasikannya tanpa berkonsultasi terlebih dahulu kepada dokter (Colalto, 2010). Padahal, menggunakan lebih dari satu jenis obat berpotensi menimbulkan interaksi, termasuk mengkombinasikan obat sintetik dengan obat herbal (Setiawati, 2007).

Salah satu obat herbal yang terbukti efektif sebagai antidiabetes adalah sari buah mengkudu (*Morinda citrifolia*). Pemberian sari buah mengkudu pada dosis 2 ml/200 g bb tikus sebanyak dua kali sehari selama 20 hari terbukti dapat menurunkan kadar glukosa darah tikus yang diinduksi streptozotosin hingga mencapai 150 mg/dl. Hal ini diperkirakan karena kandungan saponin dan rutin di dalam sari buah mengkudu bekerja merangsang sekresi insulin dari sel  $\beta$  pankreas (Nayak, Marshall, Isitor, & Adogwa, 2010). Hasil penelitian lain memperkuat dugaan tersebut, dilaporkan adanya peningkatan kadar insulin pada hewan uji yang diberikan sari buah mengkudu (Rao, 2008). Selain itu, penelitian lain menyebutkan bahwa sari buah mengkudu memiliki pengaruh yang sebanding dengan glibenklamid dalam menurunkan kadar glukosa darah (Nuraini, 2001).

Penggunaan glibenklamid yang dikombinasikan dengan sari buah mengkudu dalam jangka waktu yang lama diduga dapat memperbesar resiko terjadinya hipoglikemia. Gejala-gejala terjadinya hipoglikemia adalah lapar, lemas, gemetar, sakit kepala, berkeringat dingin, detak jantung meningkat, hingga kejang. Hipoglikemia merupakan komplikasi akut DM yang paling berbahaya karena dapat mengakibatkan koma, kerusakan otak, atau bahkan kematian bila tidak cepat diatasi (Departemen Kesehatan RI, 2005). Berdasarkan uraian tersebut, perlu dilakukan penelitian untuk mengetahui ada tidaknya interaksi pada penggunaan sari buah mengkudu oleh penderita DM yang mengkonsumsi glibenklamid dalam pengobatannya.

## **1.2 Tujuan Penelitian**

Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui pengaruh pemberian sari buah mengkudu (*Morinda citrifolia* Linn.) terhadap glibenklamid dalam menurunkan kadar glukosa darah tikus putih jantan yang dibuat diabetes.

## **1.3 Hipotesis**

Pemberian sari buah mengkudu (*Morinda citrifolia* Linn.) berpengaruh terhadap glibenklamid dalam menurunkan kadar glukosa darah tikus putih jantan yang dibuat diabetes.

## BAB 2 TINJAUAN PUSTAKA

### 2.1 Tanaman Mengkudu (*Morinda citrifolia* Linn)

#### 2.1.1 Klasifikasi Tanaman

Menurut ilmu taksonomi, tanaman mengkudu diklasifikasikan sebagai berikut (Badan Penelitian dan Pengembangan Kesehatan Departemen Kesehatan RI, 1991).

Dunia : Plantae  
Divisi : Spermatophyta  
Sub Divisi : Angiospermae  
Kelas : Dicotyledonae  
Bangsa : Rubiales  
Suku : Rubiaceae  
Marga : *Morinda*  
Jenis : *Morinda citrifolia* L.

#### 2.1.2 Nama Lain

*Morinda citrifolia* di Indonesia dikenal dengan nama Mengkudu. Selain itu juga dikenal dengan nama lain di beberapa daerah, seperti Keumudu (Aceh); Makudu (Nias); Mangkudu (Minang); Mekudu (Lampung); Kudu atau Cangkudu (Sunda); Pace (Jawa); Tibah atau Wungkudu (Bali) (Heyne, 1987; Badan Penelitian dan Pengembangan Kesehatan Departemen Kesehatan RI, 1991). Tanaman ini juga dikenal di negara lain dengan berbagai nama, salah satunya Noni (Harada, Hamabe, Kamiya, Mizushina, Satake, & Tokuyama, 2010). Sedangkan sinonim dari nama ilmiahnya adalah *Morinda bracteata* Roxb dan *Morinda littoralis* Blanco (ASEAN Countries, 1993).

### 2.1.3 Morfologi Tanaman

*Morinda citrifolia* Linn. berupa pohon kecil atau semak dengan ketinggian 3-8 m (ASEAN Countries, 1993). Batangnya berkayu, berwarna cokelat kekuningan, dan kulit luarnya terasa kasar. Bijinya keras, berbentuk segitiga dan berwarna cokelat kemerahan. Akar mengkudu berjenis tunggang dan berwarna cokelat muda.

Daun mengkudu berupa daun tunggal, berbentuk bulat telur, tepinya rata dengan ujung dan pangkal yang runcing. Tulang daun menyirip dengan tangkai yang pendek (Badan Penelitian dan Pengembangan Kesehatan Departemen Kesehatan RI, 1991). Permukaan atas daun berwarna hijau gelap dan mengkilap. Panjang daun 10-15 cm dengan lebar 5-17 cm (ASEAN Countries, 1993).

Bunga tanaman ini berjenis bunga majemuk dengan mahkota terompet berwarna putih. Bunga terletak di ketiak daun (Badan Penelitian dan Pengembangan Kesehatan Departemen Kesehatan RI, 1991). Buah mengkudu berbentuk bongkol dengan ciri khas terletak pada permukaannya yang tidak teratur dan terdapat benjolan-benjolan. Panjang buah 5-10 cm dengan diameter 5-7 cm. Jika telah masak, buahnya akan mengeluarkan bau yang tidak sedap (ASEAN Countries, 1993).

### 2.1.4 Kandungan Kimia

Berdasarkan hasil penelitian, disebutkan bahwa *Morinda citrifolia* mengandung komponen bioaktif seperti flavonoid, triterpen, triterpenoid, dan saponin dalam jumlah yang signifikan. Senyawa flavonoid yang terkandung dalam mengkudu bermanfaat sebagai antioksidan yang terbukti memiliki aktivitas sebagai hepatoprotektif pada uji *in vivo* (Nayak, Marshall, Isitor, & Adogwa, 2010). Selain itu, flavonoid yang terkandung dalam tanaman ini juga terbukti mampu mencegah terjadinya kanker (Lemmens dan Bunyapraphatsara, 2003).

Kandungan lain yang diketahui bermanfaat ialah senyawa saponin, rutin, dan triterpen. Ketiganya diduga memiliki efek hipoglikemik yang telah dibuktikan melalui beberapa penelitian. Oleh karena itu, mengkudu sering digunakan sebagai obat diabetes (Nayak, Marshall, Isitor, & Adogwa, 2010).

Buah mengkudu mengandung alkaloid, antrakuinon, morindin, asam malat, asam sitrat, gum, asam kaprik, dan glukosa (ASEAN Countries, 1993; Badan Penelitian dan Pengembangan Kesehatan Departemen Kesehatan RI, 1991). Glukosa berguna sebagai nutrisi, baik bagi pertumbuhan tanaman mengkudu sendiri, maupun bagi makhluk hidup lain yang mengkonsumsi buahnya. Asam kaprik menghasilkan bau tidak sedap pada buah mengkudu yang telah matang.

Daun mengkudu diketahui mengandung vitamin A, polifenol, alkaloid, dan antrakuinon. Kulit akar tanaman mengkudu mengandung zat pewarna *Turkish red* yang digunakan dalam industri batik (Lemmens dan Bunyapraphatsara, 2003).

#### 2.1.5 Kegunaan Tanaman

Buah mengkudu di Indonesia digunakan untuk mengobati beri-beri, asma, diabetes, batuk, mengurangi gangguan menstruasi, dan mengobati beberapa masalah pernapasan (Lemmens dan Bunyapraphatsara, 2003). Manfaat lain dari buah mengkudu ialah memperlancar pengeluaran urin, membersihkan luka, dan menyembuhkan pembengkakan limpa (Heyne, 1987). Sedangkan daunnya berguna sebagai obat amandel, masuk angin, radang usus, mulas, dan diabetes (Badan Penelitian dan Pengembangan Kesehatan Departemen Kesehatan RI, 1991).

Selain sebagai obat tradisional, mengkudu juga memiliki arti penting dalam dunia industri. Akar mengkudu berfungsi sebagai zat pewarna merah pada kain batik. Kayu mengkudu dapat dijadikan bahan penggosok, bahan bakar, dan tanaman pendukung lada. Selain itu, bubur buah mengkudu dapat digunakan untuk membersihkan besi dan baja yang berkarat, juga menghilangkan ketombe dari rambut (ASEAN Countries, 1993).

Tanaman mengkudu tidak hanya digunakan di Indonesia. Masyarakat Filipina memanfaatkan daunnya sebagai obat bisul dan sari daunnya sebagai obat arthritis. Tanaman ini juga berperan penting dalam pengobatan tradisional masyarakat Papua Nugini, Thailand, dan Vietnam sebagai obat demam, gigitan lipan, radang tenggorokan, hipertensi, ostalgia, lumbago, sakit kepala, pneumonia, sakit perut, dan disentri. Mengkudu juga banyak digunakan untuk keluhan yang

sama di Afrika, Amerika, dan kepulauan Samudera Pasifik (Lemmens dan Bunyaphatsara, 2003).

#### 2.1.6 Mekanisme Penurunan Kadar Glukosa Darah

Sari buah mengkudu terbukti efektif menurunkan kadar glukosa darah (Nuraini, 2001). Namun hingga saat ini, belum diketahui secara pasti mekanisme kerjanya. Berdasarkan hasil penelitian, beberapa mekanisme kerja telah dikemukakan oleh para peneliti, salah satunya merangsang sel  $\beta$  pankreas untuk mensekresikan lebih banyak insulin (Nayak, Marshall, Isitor, & Adogwa, 2010).

Rutin dan saponin yang terkandung dalam buah mengkudu diduga merangsang sel  $\beta$  pankreas untuk menghasilkan lebih banyak insulin (Nayak, Marshall, Isitor, & Adogwa, 2010). Hal ini didukung oleh hasil penelitian yang menyebutkan bahwa terjadi peningkatan kadar insulin plasma pada kelompok tikus diabetes diinduksi streptozotosin yang diberikan ekstrak buah mengkudu. Kadar insulin plasma kelompok tikus yang diberikan ekstrak buah mengkudu (300 mg/kg bb) selama 30 hari sebesar  $12,52 \mu\text{U mL}^{-1}$ , sedangkan kelompok yang diberikan glikazid (5 mg/kg bb) sebesar  $13,27 \mu\text{U mL}^{-1}$ . Dengan demikian, kemampuan ekstrak buah mengkudu meningkatkan produksi insulin sebanding dengan glikazid yang merupakan salah satu antidiabetik oral golongan sulfonilurea (Rao dan Subramanian, 2008).

## 2.2 Diabetes Melitus

### 2.2.1 Definisi dan Etiologi

Kata diabetes berasal dari bahasa Yunani yang memiliki arti mengalir, sedangkan melitus berasal dari bahasa latin yang berarti madu atau manis. Dengan demikian, arti kata diabetes melitus menunjukkan keadaan seseorang dengan volume aliran urin yang besar (poliuria) dengan kadar glukosa tinggi di dalamnya (glikosuria) (Corwin, 2008). Diabetes melitus (DM) didefinisikan sebagai suatu penyakit yang ditandai oleh tingginya kadar glukosa darah disertai gangguan metabolisme karbohidrat, lipid, dan protein sebagai akibat insufisiensi fungsi insulin (WHO, 1999; Departemen Kesehatan RI, 2005).

Hiperglikemia sebagai manifestasi utama penyakit DM terjadi akibat berkurangnya jumlah glukosa yang masuk ke dalam sel, berkurangnya penggunaan glukosa oleh berbagai jaringan, dan peningkatan produksi glukosa (glukoneogenesis) oleh hati (Mayes, 2003). Pada keadaan normal, kurang lebih 50% glukosa yang dikonsumsi mengalami metabolisme sempurna menjadi CO<sub>2</sub> dan H<sub>2</sub>O, 5% menjadi glikogen, dan 30-40% diubah menjadi lemak. Pada pasien DM, jumlah glukosa yang diubah menjadi lemak, CO<sub>2</sub>, dan H<sub>2</sub>O mengalami penurunan, sedangkan jumlah glukosa yang diubah menjadi glikogen tidak mengalami peningkatan sehingga glukosa akan tertimbun di dalam darah. Hal ini disebabkan karena ketidakmampuan insulin untuk bekerja secara normal (Suherman, 2007).

Insufisiensi fungsi insulin dapat disebabkan karena kurang responsifnya sel-sel tubuh terhadap hormon tersebut, salah satu penyebabnya adalah pola hidup yang tidak sehat. Adanya gangguan di sel-sel  $\beta$  Langerhans juga dapat menjadi penyebab terjadinya defisiensi dalam menghasilkan hormon insulin (WHO, 1999; Departemen Kesehatan RI, 2005). Kedua hal tersebut mengakibatkan energi utama yang diperoleh tubuh tidak lagi berasal dari asupan glukosa, melainkan dari hasil metabolisme lemak dan protein (Suherman, 2007).

Selain hiperglikemia, manifestasi DM lainnya ialah banyak minum (polidipsia), banyak makan (polifagia), dan sering buang air kecil (poliuria) yang tidak jarang mengakibatkan dehidrasi. Selain itu, pasien juga merasa cepat lelah dan ototnya terasa lemah karena terjadinya katabolisme protein di dalam otot untuk mendapatkan energi (Corwin, 2008).

Diabetes yang tidak terkontrol dengan baik dapat menimbulkan komplikasi. Hipoglikemia merupakan komplikasi akut DM paling berbahaya yang ditandai pusing, lemas, gemetar, pandangan berkunang-kunang, pitam (pandangan menjadi gelap), berkeringat dingin, detak jantung meningkat, hingga koma. Apabila tidak segera ditolong, penderita DM dapat mengalami kerusakan otak, atau bahkan kematian. Hiperglikemia yang tidak dikendalikan dapat mengakibatkan komplikasi kronis yaitu komplikasi makrovaskular (meliputi jantung koroner, penyakit pembuluh darah otak, dan pembuluh darah perifer) atau

komplikasi mikrovaskular (meliputi retinopati, nefropati, dan neuropati) (Departemen Kesehatan RI, 2005).

### 2.2.2 Klasifikasi Diabetes Melitus

Klasifikasi diabetes melitus mengalami perkembangan dari waktu ke waktu. Dahulu diabetes diklasifikasikan berdasarkan waktu munculnya sebagai berikut:

- a. Diabetes *Juvenile* yaitu diabetes yang muncul sejak masa kanak-kanak.
- b. Diabetes Dewasa yaitu diabetes yang baru muncul setelah seseorang berumur di atas 45 tahun.

Namun klasifikasi ini sudah tidak layak dipertahankan lagi, sebab pada perkembangannya ditemukan banyak sekali kasus diabetes yang muncul pada usia 20-39 tahun sehingga timbul kebingungan untuk mengklasifikasikannya (Departemen Kesehatan RI, 2005).

Pada tahun 1997, komite pakar *American Diabetes Association* menguraikan empat kategori utama diabetes, yakni DM tipe 1 (ditandai dengan kebutuhan mutlak terhadap insulin), DM tipe 2 (ditandai dengan sel-sel tubuh yang resisten terhadap insulin), DM gestasional (diabetes pada saat hamil), dan DM yang disebabkan faktor lain, termasuk gangguan pankreas, neoplasma, atau penyakit yang ditandai oleh gangguan endokrin lainnya, misalnya, penyakit Cushing (Corwin, 2008). Penggunaan beberapa jenis obat seperti interferon, dilantin, dan asam nikotinat juga dapat menyebabkan DM yang disebabkan faktor lain (Departemen Kesehatan RI, 2005).

### 2.2.3 Diagnosis Diabetes Melitus

Umumnya, diagnosis terhadap penyakit DM baru akan dilakukan jika pasien mengalami keluhan khas seperti poliuria, polidipsia, polifagia, dan penurunan berat badan yang tidak jelas penyebabnya. Keluhan lain yang mungkin disampaikan penderita antara lain badan terasa lemah, sering kesemutan, gatal-gatal, mata kabur, disfungsi ereksi pada pria, dan *pruritus vulvae* pada wanita (Departemen Kesehatan RI, 2005).

Dalam kebanyakan kasus, DM tipe 1 dapat dengan mudah dicurigai. Riwayat poliuria, polidipsi, polifagia, dan penurunan berat badan terlihat dengan jelas. Sedangkan untuk DM tipe 2, kecurigaan dan pengujian mungkin tertunda karena manifestasi klinis yang tidak spesifik. Selanjutnya kecurigaan tersebut dikonfirmasi dengan pengecekan gula darah (Corwin, 2008).

Tabel 2.1 Kriteria penegakan diagnosis

Klasifikasi diagnosis keadaan penderita	Glukosa plasma puasa	Glukosa plasma 2 jam setelah makan
Normal	< 100 mg/dL	< 140 mg/dL
Pra-Diabetes	100-125 mg/dL	---
IFG* atau IGT**	---	140-199 mg/dL
Diabetes	≥ 126 mg/dL	≥ 200 mg/dL

Keterangan: \*) IFG = *Impaired Fasting Glucose* (terganggunya glukosa puasa)

\*\*\*) IGT = *Impaired Glucose Tolerance* (terganggunya toleransi glukosa)

[Sumber: Departemen Kesehatan RI, 2005, telah diolah kembali]

Apabila pasien merasakan keluhan khas diabetes, hasil pemeriksaan kadar glukosa darah sewaktu >200 mg/dL atau kadar glukosa darah puasa >126 mg/dL sudah cukup untuk menegakkan diagnosis DM. Sedangkan jika tidak ada keluhan khas, hasil pemeriksaan kadar glukosa darah satu kali saja tidak cukup kuat untuk menegakkan diagnosis DM. Untuk itu, diperlukan konfirmasi dengan melakukan pemeriksaan kadar glukosa darah di hari lain (Departemen Kesehatan RI, 2005).

Untuk mendiagnosis diabetes gestasional, dilakukan skrining glukosa dalam urin ibu hamil sepanjang kehamilannya. Selain itu juga dilakukan pengukuran kadar glukosa darah puasa atau uji toleransi glukosa pada minggu ke-28 kehamilan (Corwin, 2008).

### 2.3 Pengobatan Diabetes Melitus

Penatalaksanaan diabetes bertujuan untuk menurunkan morbiditas dan mortalitas pada pasien DM, yang secara spesifik ditujukan untuk mencapai dua target utama, yaitu:

1. Menjaga agar kadar glukosa darah berada dalam kisaran normal.
2. Mencegah atau meminimalkan kemungkinan terjadinya komplikasi diabetes.

Pada dasarnya ada dua pendekatan dalam penatalaksanaan diabetes, yakni pendekatan tanpa obat dan pendekatan dengan obat, sebagai berikut:

### 2.3.1 Terapi Tanpa Obat (Departemen Kesehatan RI, 2005)

#### 2.3.1.1 Diet

Diet yang baik merupakan kunci keberhasilan penatalaksanaan diabetes. Penurunan berat badan telah dibuktikan dapat mengurangi resistensi insulin dan memperbaiki respons sel-sel  $\beta$  Langerhans terhadap stimulus glukosa.

#### 2.3.1.2 Olahraga

Berolah raga secara teratur dapat menurunkan dan menjaga kadar glukosa darah tetap normal. Olah raga dapat meningkatkan jumlah dan aktivitas reseptor insulin dalam tubuh dan juga meningkatkan pembakaran glukosa.

### 2.3.2 Terapi Obat

#### 2.3.2.1 Insulin

Insulin dapat menurunkan kadar glukosa darah dengan menstimulasi pengambilan glukosa perifer dan menghambat produksi glukosa hepatic (Sukandar, Andrajati, Sigit, Adnyana, Setiadi, & Kusnandar, 2008). Pemberian insulin eksogen tidak hanya untuk menormalkan kadar glukosa darah, tetapi juga memperbaiki semua aspek metabolisme pasien. Sediaan insulin diperoleh dari *bovine* (sapi), *porcine* (babi), atau melalui rekombinasi DNA (*human insulin*) (Suherman, 2007). Kini *human insulin* paling banyak digunakan karena rendahnya efek samping dan komplikasi yang dihasilkan (Corwin, 2008).

Insulin mutlak diberikan kepada pasien DM tipe 1 atau yang dikenal sebagai *Insulin Dependent Diabetes Mellitus* (IDDM). Pada DM tipe 1, sel-sel  $\beta$  Langerhans pasien mengalami kerusakan sehingga tidak dapat lagi memproduksi insulin. Sebagai penggantinya, penderita DM tipe 1 membutuhkan insulin

eksogen agar metabolisme karbohidrat dalam tubuhnya berlangsung normal (Departemen Kesehatan RI, 2005).

Selain itu, insulin juga diberikan kepada pasien DM tipe 2 yang kadar glukosa darahnya tidak dapat dikendalikan dengan diet dan antidiabetik oral, DM dengan berat badan yang menurun cepat, DM dengan komplikasi akut, DM paska-bedah pankreas (pankreatektomi), DM dengan ketoasidosis, atau komplikasi lain sebelum tindakan operasi (DM tipe 1 dan 2) (Suherman, 2007). Penderita DM yang mendapat nutrisi parenteral untuk memenuhi kebutuhan energinya yang meningkat, juga memerlukan insulin eksogen secara bertahap untuk mempertahankan kadar glukosa darah mendekati normal (Departemen Kesehatan RI, 2005).

Insulin tersedia dalam bentuk injeksi. Umumnya, insulin diberikan secara subkutan sebanyak 5-150 U sehari terbagi menjadi 1-4 kali pemberian bergantung pada keadaan pasien (Corwin, 2008; Suherman, 2007). Respon individual terhadap terapi insulin cukup beragam. Oleh karena itu, penentuan jenis dan frekuensi penyuntikkan dilakukan secara individual (Departemen Kesehatan RI, 2005).

#### 2.3.2.2 Obat Antidiabetik Oral (Departemen Kesehatan RI, 2005; Suherman, 2007)

Antidiabetik oral diindikasikan untuk penderita DM tipe 2 yang kadar glukosa darahnya tidak dapat dikendalikan hanya dengan diet dan olahraga saja. Selain itu, pasien dengan gangguan fungsi hati, ginjal, atau sedang dalam masa kehamilan, tidak diperbolehkan menggunakan jenis obat ini. Obat antidiabetik oral terbagi menjadi lima golongan sebagai berikut:

##### a. Sulfonilurea

Golongan sulfonilurea merupakan obat hipoglikemik oral yang paling dahulu ditemukan. Golongan ini sering disebut sebagai *insulin secretagogues* karena mekanisme kerjanya merangsang sekresi insulin di pankreas. Penggunaan sulfonilurea dalam jangka panjang atau dosis yang besar dapat menyebabkan hipoglikemik (Sukandar, Andrajati, Sigit, Adnyana, Setiadi, & Kusnandar, 2008).

Golongan sulfonilurea dibagi menjadi dua. Golongan sulfonilurea generasi pertama antara lain asetoheksamid, klorpropamid, tolazamid, dan tolbutamid. Golongan sulfonilurea generasi kedua yang kini banyak dipasarkan antara lain gliburid (glibenklamid), glipizid, glikazid, glimepirid, dan glikuidon. Umumnya, potensi hipoglikemik sulfonilurea generasi II hampir 100 kali lebih besar dibanding generasi I. Oleh karena itu, sebaiknya dilakukan pertimbangan matang dalam memilih jenis obat yang sesuai terkait kondisi kesehatan dan terapi lain yang sedang dijalani pasien.

Glibenklamid merupakan salah satu obat antidiabetik oral golongan sulfonilurea generasi II. Potensi glibenklamid 200 kali lebih kuat dari tolbutamid. Meski masa paruhnya hanya sekitar 4 jam, efek hipoglikemiknya berlangsung 12-24 jam. Oleh karena itu, glibenklamid cukup diberikan satu kali sehari dengan dosis sebesar 5 mg/hari.

Mekanisme kerja glibenklamid yaitu dengan merangsang sekresi hormon insulin dari granul sel  $\beta$  langerhans pankreas. Interaksi glibenklamid dengan *ATP-sensitive K channel* pada membran sel  $\beta$  menimbulkan depolarisasi membran yang selanjutnya akan membuka kanal kalsium (Ca). Dengan terbukanya kanal Ca, maka ion  $Ca^{2+}$  akan masuk ke dalam sel  $\beta$  kemudian merangsang granul untuk mensekresikan insulin di dalamnya.

Glibenklamid memiliki efek samping berupa gangguan saluran cerna dan sakit kepala. Gejala hematologik termasuk trombositopenia, agranulositosis, dan anemia aplastik dapat terjadi walau jarang sekali. Glibenklamid dapat meningkatkan sekresi ADH (*Anti Diuretik Hormone*), menyebabkan hiponatremia dan fotosensitivitas yang jarang terjadi. Hipoglikemia dapat terjadi bila dosis tidak tepat atau diet terlalu ketat, juga pada gangguan fungsi hati atau ginjal, atau pada pasien usia lanjut dengan fungsi ginjal dan hati yang tidak lagi sempurna (Sukandar, Andrajati, Sigit, Adnyana, Setiadi, & Kusnandar, 2008). Oleh karena itu, diperlukan perhatian khusus bagi pasien DM usia lanjut, pasien dengan gangguan hati, atau ginjal yang ingin mengkonsumsi glibenklamid.

Absorpsi glibenklamid melalui saluran cerna cukup efektif. Untuk mencapai kadar optimal di plasma, glibenklamid akan lebih efektif bila diminum 30 menit sebelum makan. Sekitar 90-99% glibenklamid terikat pada protein

plasma, terutama albumin. Glibenklamid diekskresikan melalui feses atau diekskresikan sebagai metabolit melalui urin.

#### b. Meglitinid

Mekanisme kerja obat golongan meglitinid mirip dengan golongan sulfonilurea, yakni meningkatkan sintesis dan sekresi insulin oleh kelenjar pankreas. Masa paruhnya relatif cepat sehingga perlu diberikan beberapa kali sehari. Umumnya, obat golongan ini dikombinasi dengan obat antidiabetik oral lainnya. Efek samping utama ialah hipoglikemia dan gangguan saluran cerna. Contoh obat antidiabetik golongan ini adalah repaglinid dan nateglinid.

#### c. Biguanid

Satu-satunya senyawa golongan biguanid yang hingga saat ini masih digunakan sebagai antidiabetik oral adalah metformin. Hal ini disebabkan karena frekuensi terjadinya asidosis laktat cukup sedikit dibanding senyawa biguanid lain, asalkan dosis tidak melebihi 1700 mg/hari dan pasien tidak memiliki gangguan fungsi hati dan ginjal. Mekanisme kerja obat ini ialah menurunkan produksi glukosa di hepar dengan mengurangi terjadinya glukoneogenesis. Selain itu, metformin juga meningkatkan sensitifitas jaringan otot dan adiposa terhadap insulin.

#### d. Tiazolidindion (TZD)

Senyawa golongan tiazolidindion bekerja dengan meningkatkan kepekaan sel tubuh terhadap insulin dengan cara berikatan dengan PPAR $\gamma$  (*Peroxisome Proliferator Activated Receptor- gamma*) di otot, jaringan lemak, dan hati. Senyawa-senyawa TZD juga menurunkan kecepatan glukoneogenesis, menurunkan jumlah asam lemak bebas di plasma, dan *remodeling* jaringan adiposa. Contoh antidiabetik oral golongan ini adalah rosiglitazon dan pioglitazon.

#### e. Penghambat $\alpha$ -Glukosidase

$\alpha$ -Glukosidase berfungsi untuk menghidrolisis oligosakarida pada dinding usus halus. Penghambatan terhadap kerja enzim tersebut secara efektif dapat memperkecil peningkatan kadar glukosa darah *post prandial* melalui pengurangan absorpsi karbohidrat kompleks. Selain itu, obat golongan ini juga dapat menghambat  $\alpha$ -amilase pankreas dalam menghidrolisis polisakarida di dalam lumen usus halus. Contoh obat golongan ini adalah akarbose dan miglitol.

#### 2.3.2.3 Inkretin (Neumiller, 2011)

Inkretin adalah hormon epitel usus yang berperan dalam glukoregulator. Inkretin terdiri dari dua jenis yaitu *Glucagon Like Peptide-1* (GLP-1) dan *Gastric Inhibitory Polypeptide* (GIP). Terapi DM berbasis inkretin hanya didasari oleh fungsi fisiologis GLP-1 karena penderita DM resisten terhadap kerja GIP.

Melalui ikatannya dengan reseptor sel  $\beta$  pankreas, GLP-1 berfungsi meningkatkan sekresi insulin, menekan sekresi glukagon, meningkatkan proliferasi sel  $\beta$ , dan menjaga sel  $\beta$  agar resisten terhadap apoptosis. GLP-1 yang dihasilkan berpengaruh pada kemampuan tubuh mengendalikan kadar glukosa darah. Namun, GLP-1 sangat cepat didegradasi oleh enzim *Dipeptidyl Peptidase-IV* (DPP-IV) sehingga GLP-1 mempunyai waktu paruh yang sangat singkat (1-2 menit).

Terapi DM berbasis inkretin terdiri atas dua macam mekanisme yaitu agen yang bekerja sebagai analog GLP-1 dan yang menghambat DPP-IV. Terapi ini beresiko rendah menyebabkan hipoglikemia, tidak menimbulkan efek samping pada gastrointestinal, dan dapat mengatasi kekurangan obat antidiabetes oral dalam menghambat terjadinya progresivitas kerusakan sel beta.

#### a. Agonis Reseptor GLP-1

Exenatida adalah sebuah asam amino peptida yang diperoleh dari saliva *Heloderma suspectum* (*Gila monster*). Rantai asam amino exenatida dilaporkan memiliki 53% kesamaan struktur dengan GLP-1 mamalia sehingga exenatida dapat berikatan dengan reseptor GLP-1 dan memberikan pengaruh yang sama dengan GLP-1 asli. Exenatida resisten terhadap degradasi enzim DPP-IV sehingga

pengaruh yang dihasilkan dapat bertahan lebih lama dibanding GLP-1. Exenatida telah diakui oleh FDA pada tahun 2005 sebagai terapi DM tipe 2. Sama seperti insulin, exenatida diberikan dalam sediaan injeksi dengan rute pemberian subkutan sebanyak dua kali sehari.

#### b. Inhibitor DPP-IV

Inhibitor DPP-IV secara selektif menghambat aktivitas enzim DPP-IV yang mendegradasi hormon GLP-1 sehingga GLP-1 dapat bertahan lebih lama di dalam tubuh. Berbeda dengan agonis reseptor GLP-1, inhibitor DPP-IV diberikan secara peroral dengan frekuensi pemberian satu hingga dua kali sehari. Contoh obat golongan ini adalah sitagliptin, vildagliptin, dan alogliptin.

#### 2.3.3 Terapi Herbal

Berdasarkan hasil penelitian sebelumnya, berikut adalah tanaman obat Indonesia yang telah terbukti efektif menurunkan kadar glukosa darah (Widowati, Dzulkarnain, & Sa'roni, 1997) :

- a. Lidah Buaya (*Aloe vera* Linn.)
- b. Bawang Merah (*Allium cepa* Linn.)
- c. Pule (*Alstonia scholaris* R. Br.)
- d. Sambiloto (*Andrographis paniculata* Nees.)
- e. Belimbing (*Wuluh Averhoa bilimbi* Linn.)
- f. Sembung (*Blumea balsamifera* D. C. )
- g. Tapak Dara (*Catharanthus roseus* (L.) G. Don )
- h. Mengkudu (*Morinda citrifolia* Linn.)
- i. Kumis Kucing (*Orthosiphon aristatus* (BL) Miq.)
- j. Mahoni (*Swietenia macrophylla* King. )

#### 2.4 Interaksi Obat

Interaksi obat adalah interaksi yang terjadi ketika efek dari suatu obat berubah dengan adanya obat lain, makanan, minuman, atau zat kimia lingkungan (Karalliedde, Clarke, Collignon, & Karalliedde, 2010). Saat ini, tersedianya agen terapeutik yang semakin kompleks, penggunaan beberapa obat sekaligus

(polifarmasi), dan berkembangnya obat herbal atau terapi pelengkap lainnya dapat memperbesar potensi terjadinya interaksi obat (Lee dan Stockley, 2003).

Interaksi antar obat dapat berakibat menguntungkan atau merugikan. Interaksi obat dikatakan menguntungkan jika interaksi yang terjadi dapat meningkatkan efektivitas dan/atau mengurangi efek samping obat, seperti kombinasi sesama obat antihipertensi, antiasma, dan antidiabetes. Interaksi obat dianggap merugikan bila meningkatkan toksisitas dan/atau mengurangi efektivitas obat yang berinteraksi, seperti kombinasi obat AINS dan antikoagulan yang menyebabkan pendarahan, penggunaan *Piper nigrum* yang dapat meningkatkan kadar fenitoin dalam darah (Colalto, 2010), serta penggunaan pil KB (estradiol) yang tidak efektif bila diberikan bersamaan dengan rifampisin (Setiawati, 2007).

Terjadinya interaksi obat sukar diperkirakan karena kurangnya dokumentasi. Selain itu, seringkali dokter menganggap interaksi obat yang terjadi sebagai reaksi idiosinkrasi atau akibat bertambahnya keparahan penyakit (Setiawati, 2007). Banyak pula faktor lain yang mempengaruhi, seperti dosis obat yang digunakan, faktor variasi individual, juga penggunaan obat bebas, termasuk suplemen dan obat herbal yang seringkali tidak dilaporkan pasien kepada tenaga medis (Colalto, 2010). Dengan demikian, kecurigaan terjadinya interaksi perlu diikuti dengan pengukuran parameter fisiologis dan pemberian edukasi kepada pasien mengenai tanda-tanda yang mungkin timbul dari dugaan interaksi (Karalliedde, Clarke, Collignon, & Karalliedde, 2010).

Mekanisme interaksi obat secara garis besar dapat dibedakan atas 3 mekanisme, yakni interaksi farmasetik atau inkompatibilitas, interaksi farmakokinetik, dan interaksi farmakodinamik. Namun yang terjadi di dalam tubuh hanya interaksi farmakokinetik dan farmakodinamik yang dijelaskan sebagai berikut (Setiawati, 2007) :

#### 2.4.1 Interaksi Farmakokinetik

Interaksi farmakokinetik adalah interaksi obat yang terjadi jika salah satu obat mempengaruhi absorpsi, distribusi, metabolisme, atau ekskresi obat lain sehingga kadar obat yang dipengaruhi meningkat atau menurun dalam plasma darah. Akibatnya terjadi peningkatan toksisitas atau penurunan efektivitas obat

tersebut. Adanya variasi sifat fisikokimia obat dapat mempersulit prediksi terjadinya interaksi farmakokinetika.

Terdapat beberapa hal yang dapat menyebabkan interaksi pada masing-masing tahapan farmakokinetika. Interaksi saat absorpsi dapat terjadi karena perubahan pH cairan saluran cerna, perubahan waktu pengosongan lambung, motilitas saluran cerna, perubahan flora usus, dan kompetisi transporter membran di saluran cerna. Interaksi saat distribusi dapat terjadi karena adanya interaksi dalam ikatan protein plasma atau kompetisi untuk transporter membran di sawar darah otak dan sawar darah dengan cairan serebrospinal. Interaksi metabolisme dapat disebabkan induksi atau inhibisi metabolisme obat pada sitokrom P450 (CYP) dalam mikrosom hati, perubahan aliran darah hepar, atau gangguan ekskresi empedu dan sirkulasi enterohepatik. Interaksi dalam ekskresi dapat terjadi karena gangguan ekskresi ginjal oleh obat tertentu, kompetisi untuk sekresi aktif di tubulus ginjal, perubahan pH urin, dan perubahan kesetimbangan natrium total dalam tubuh.

Kombinasi obat herbal dengan obat sintetik dapat menghasilkan interaksi farmakokinetik dengan mekanisme dan pengaruh yang tidak sama. Pemberian ginseng dapat menghambat metabolisme warfarin pada isoenzim CYP2C9 yang berakibat pada pendarahan, sedangkan buah alpukat dapat menghambat absorpsi warfarin sehingga menurunkan efektivitasnya. Beragam senyawa kimia yang terkandung dalam obat herbal, membuatnya dapat berinteraksi dengan banyak obat sintetik, contohnya *Ginkgo biloba*. Tanaman yang bermanfaat untuk mengobati demensia dan disfungsi otak ini dapat menginduksi isoenzim CYP2D6 yang memetabolisme alprazolam dan menginduksi metabolisme tolbutamid (Karalliedde, Clarke, Collignon, & Karalliedde, 2010).

#### 2.4.2 Interaksi Farmakodinamik

Interaksi farmakodinamik adalah interaksi obat yang bekerja pada sistem reseptor, tempat kerja, atau sistem fisiologik yang sama sehingga menghasilkan efek aditif, sinergis, atau antagonis tanpa mengubah kadar obat dalam plasma. Interaksi farmakodinamik sulit diklasifikasikan, namun dapat diprediksi jika diketahui mekanisme dari masing-masing obat. Sebagai contoh pemberian kafein,

teh hijau, atau *Ephedra* bersamaan dengan teofilin dapat memperburuk efek samping takikardi dan palpitasi yang terjadi (Karalliedde, Clarke, Collignon, & Karalliedde, 2010).

## 2.5 Metode Pengujian

### 2.5.1 Metode Uji Efek Antidiabetes

Uji efek antidiabetes dapat dilakukan dengan dua metode sebagai berikut (Yayasan Pengembangan Obat Bahan Alam Phyto Medica, 1993):

#### 2.5.1.1 Uji Toleransi Glukosa Oral

Sebelum diberi obat, hewan uji dipuasakan terlebih dahulu kemudian dilakukan pengambilan sampel darah dari masing-masing hewan sebagai kadar glukosa darah awal. Setengah jam setelah pemberian sediaan obat yang diuji, hewan uji yang telah dipuasakan (20-24 jam) diberi larutan glukosa secara oral. Pengambilan sampel darah diulangi setelah perlakuan pada waktu-waktu tertentu. Keadaan hiperglikemia pada uji toleransi glukosa hanya berlangsung beberapa jam setelah pemberian glukosa sebagai diabetogen.

#### 2.5.1.2 Uji Diabetes Aloksan

Aloksan merupakan derivat pirimidin yang diisolasi pertama kali pada tahun 1818 oleh Brugnatelli. Aloksan paling sering digunakan untuk induksi diabetes melitus karena cepat menimbulkan hiperglikemia permanen dalam dua sampai tiga hari (Yayasan Pengembangan Obat Bahan Alam Phyto Medica, 1993). Aloksan bersifat toksik karena dapat merusak sel  $\beta$  pankreas sebagai penghasil insulin.

Pemberian aloksan bertujuan untuk menghasilkan keadaan diabetes eksperimental pada hewan uji seperti kelinci, tikus, mencit, dan anjing. Aloksan diberikan secara intravena melalui vena telinga kelinci atau secara intraperitoneal untuk tikus dan mencit (Etuk, 2010; Sharma et al., 2010). Sebelum kondisi diabetes secara permanen tercapai, pemberian aloksan akan menyebabkan terjadinya beberapa tahapan fluktuatif dengan adanya fase hiperglikemik dan fase

hipoglikemik pada hewan. Tahapan-tahapan sebagai respon glukosa darah akibat pemberian aloksan adalah sebagai berikut (Lenzen, 2008):

1. Fase pertama, hipoglikemia awal terjadi pada 1 hingga 30 menit setelah injeksi aloksan. Hipoglikemia awal terjadi sebagai respon adanya rangsangan sekresi insulin sementara. Fase ini berlangsung singkat, akan tetapi dapat menyebabkan kematian hewan uji.
2. Fase kedua dimulai dengan adanya peningkatan kadar glukosa darah dan penurunan kadar insulin dalam plasma. Fase hiperglikemia pertama ini terjadi sekitar satu jam setelah pemberian aloksan dan bertahan kurang lebih 2-4 jam.
3. Terjadi fase hipoglikemia kembali. Biasanya terjadi 4-8 jam setelah pemberian dan akan bertahan selama beberapa jam. Keadaan hipoglikemia ini terkadang amat parah sampai menyebabkan kejang atau bahkan kematian jika tidak diberikan glukosa. Keadaan hipoglikemia transisi ini disebabkan keluarnya insulin dari dalam sel akibat kerusakan sel-sel tersebut.
4. Fase ini merupakan fase hiperglikemia diabetik. Secara morfologis, telah terjadi degranulasi yang sempurna dan hilangnya integritas dari sel  $\beta$  pankreas. Fase ini dapat terlihat pada 12-48 jam setelah pemberian.

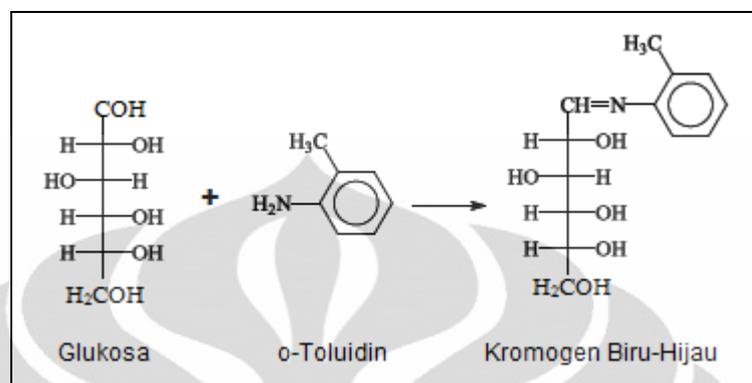
#### 2.5.2 Metode Pemeriksaan Kadar Glukosa Darah

Secara umum, kadar glukosa darah dapat ditentukan dengan beberapa cara sebagai berikut:

##### 2.5.2.1 Metode Kondensasi Gugus Amin (Dubowsky, 2008)

Prinsip metode ini adalah terjadinya reaksi kondensasi pada gugus aldehid glukosa oleh senyawa amin aromatis dalam suasana asam sehingga menghasilkan campuran kromogen biru-hijau setelah dipanaskan. Kadar glukosa darah ditentukan sesuai dengan intensitas warna yang dihasilkan dan diukur menggunakan spektrofotometer pada panjang gelombang 630 nm dimana campuran kromogen biru-hijau memberikan adsorpsi maksimum (Yayasan Pengembangan Obat Bahan Alam Phyto Medica, 1993). Berbagai senyawa amin aromatis seperti anilin, benzidin, 2-aminidifenil, dan o-toluidin bereaksi dengan ikatan aldehid glukosa dalam larutan asam asetat panas membentuk derivat-

derivat yang berwarna. Pemakaian reagen terbatas hanya pada o-toluidin karena senyawa amin aromatis lainnya diduga bersifat karsinogenik.



[sumber: Dubowsky, 2008, telah diolah kembali]

Gambar 2.1 Reaksi kondensasi glukosa dengan o-toluidin

#### 2.5.2.2 Metode Enzimatik

Metode ini menggunakan 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).

#### 2.5.2.3 Metode Reduksi

Metode ini dikembangkan berdasarkan sifat glukosa sebagai zat pereduksi dalam larutan alkali panas. Sebagai contoh, pengukuran kadar glukosa darah menggunakan oksidan ferisianida yang direduksi menjadi ferisianida oleh glukosa dalam suasana basa dengan pemanasan. Kemudian kelebihan garam feri ditirasi secara iodometri. Metode ini tidak spesifik karena senyawa pereduksi bukan glukosa juga dapat ikut terukur (Widowati, Dzulkarnain, & Sa'roni, 1997).

## **BAB 3 METODE PENELITIAN**

### **3.1 Lokasi dan Waktu Penelitian**

Penelitian dilaksanakan di Laboratorium Farmakologi dan Laboratorium Kimia Kuantitatif, Departemen Farmasi FMIPA UI, Depok, selama kurang lebih empat bulan, sejak Februari hingga Mei 2011.

### **3.2 Alat**

Alat-alat yang digunakan pada penelitian ini adalah sonde oral, jarum dan alat suntik (Terumo), timbangan analitik (Ohaus), timbangan hewan (And), *juicer* (Sanyo), *mikrotube*, mikropipet (Socorex), spektrofotometer UV-Vis *double-beam* (Shimadzu UV-1601), vortex, pisau bedah (Braun), dan alat-alat gelas.

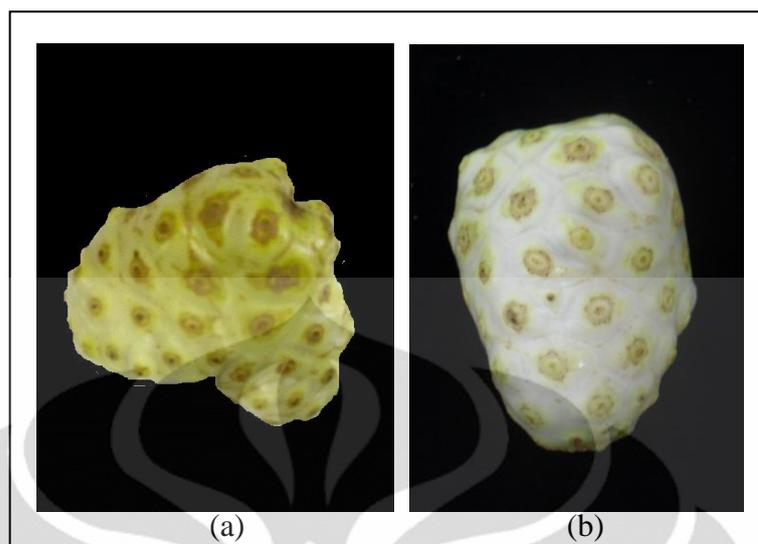
### **3.3 Bahan**

#### **3.3.1 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 g. Hewan uji diperoleh dari Bagian Non Ruminansia dan Satwa Harapan Fakultas Peternakan Institut Pertanian Bogor.

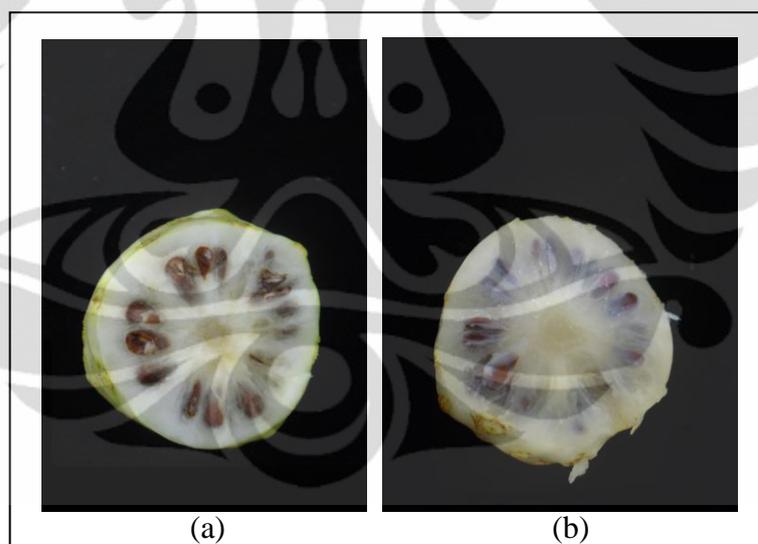
#### **3.3.2 Bahan Uji**

Bahan uji yang digunakan adalah sari buah mengkudu (*Morinda citrifolia* Linn.). Buah diperoleh dari kawasan Kampus UI, Depok. Pemetikan dilakukan pada bulan April-Mei 2011 dengan kriteria buah belum matang, berwarna hijau keputihan, dan daging buah masih terasa keras (Gambar 3.1 (a) dan 3.2 (a)). Determinasi tanaman mengkudu dilakukan di Pusat Penelitian Biologi Lembaga Ilmu Pengetahuan Indonesia (LIPI) Bogor. Bahan uji lainnya adalah serbuk glibenklamid yang diperoleh dari PT. Mersifarma Tirmaku Mercusuaana.



Keterangan: (a) Buah belum matang (baru dipetik); (b) Buah telah matang dengan pemanasan selama 10-12 jam.

Gambar 3.1 Morfologi buah Mengkudu



Keterangan: (a) Daging buah masih terlihat keras; (b) Daging buah sedikit lunak dan mulai berair.

Gambar 3.2 Penampang melintang buah Mengkudu

### 3.3.3 Bahan Kimia dan Habis Pakai

Bahan-bahan yang digunakan dalam penelitian ini adalah alkohol 70% (PT. Jakarta), aloksan monohidrat (Sigma), asam asetat glasial (Mallinckrodt), asam benzoat (Merck), asam trikloroasetat (Merck), CMC (didistribusikan oleh

PT. Brataco), glukosa anhidrat, heparin (PT. Pratapa Nirmala), larutan NaCl 0,9% (Otsuka), tiourea (Merck), dan o-toluidin (Merck).

### 3.4 Cara Kerja

#### 3.4.1 Uji Pendahuluan Aloksan

Meski percobaan menggunakan diabetogen aloksan telah banyak dilakukan, adanya perbedaan pada spesies hewan uji, rute pemberian aloksan, dan nutrisi yang diberikan, berpengaruh pada keberhasilan penginduksian (Frode dan Medeiros, 2007). Untuk itu, perlu dilakukan uji pendahuluan terlebih dahulu untuk mengetahui dosis efektif aloksan yang dapat menyebabkan keadaan hiperglikemia, namun tidak menyebabkan kematian. Tikus dibagi menjadi 4 kelompok dengan tiga variasi dosis aloksan dimana masing-masing kelompok terdiri dari 3 ekor tikus sebagai berikut:

Tabel 3.1 Pembagian kelompok hewan uji pada uji pendahuluan

Kelompok	Perlakuan	Jumlah Tikus (ekor)
KN	disuntikkan NaCl 0,9% sebanyak 1 ml/200 g bb tikus	3
AD1	diinduksi aloksan dosis 1	3
AD2	diinduksi aloksan dosis 2	3
AD3	diinduksi aloksan dosis 3	3

Keterangan : KN (Kontrol Normal); AD1 (diinduksi aloksan dengan dosis 32 mg/200 g bb tikus); AD2 (diinduksi aloksan dengan dosis 36 mg/200 g bb tikus); AD3 (diinduksi aloksan dengan dosis 40 mg/200 g bb tikus)

Sebelum percobaan, hewan uji diaklimatisasi terlebih dahulu selama tujuh hari. Setelah aklimatisasi, tikus dipuasakan selama 10-12 jam dengan tetap diberikan air minum, kemudian ditentukan kadar glukosa darah puasa. Selanjutnya masing-masing kelompok diberi perlakuan seperti terlihat pada Tabel 3.1 secara intraperitoneal. Setelah perlakuan, tikus diberi makan dan minum seperti biasa. Pengukuran kadar glukosa darah puasa dilakukan kembali pada hari ke-3 setelah induksi aloksan untuk memastikan bahwa tikus mengalami hiperglikemia.

### 3.4.2 Penyiapan Bahan Uji

#### 3.4.2.1 Pembuatan Sari Buah Mengkudu

Buah yang telah dipetik dipanaskan di bawah sinar matahari selama  $\pm 12$  jam hingga kulit buah berwarna putih dan daging buah menjadi sedikit lunak (Gambar 3.1 (b) dan 3.2 (b)). Kemudian buah dicuci dengan air hangat untuk menghilangkan jamur dan menghambat pertumbuhan mikroba yang peka terhadap panas (Nayak, Marshall, Isitor, & Adogwa, 2010). Buah diiris setebal 0,5 sampai 1 cm, lalu dimasukkan ke dalam *juicer*. Sari buah yang terbentuk ditampung dalam wadah terpisah. Penetapan dosis sari buah mengkudu dibuat sesuai dengan hasil penelitian sebelumnya, yaitu 2,5 ml/200 g bb tikus dan 5,0 ml/200 g bb tikus (Nuraini, 2001).

#### 3.4.2.2 Pembuatan Suspensi Glibenklamid

Glibenklamid diberikan sesuai dosis efektif pada manusia (5 mg/hari) yang dikonversi berdasarkan rumus konversi Paget dan Barnes, yaitu dosis untuk setiap 200 g bb tikus setara dengan  $0,018 \times$  dosis manusia dan dikalikan faktor farmakokinetika 10, sehingga dosis yang digunakan adalah 0,9 mg/200 g bb tikus.

$$\text{Dosis tikus (200 g)} = 5 \text{ mg} \times 0,018 \times 10 = 0,9 \text{ mg}$$

Glibenklamid tidak dapat larut dalam air. Untuk itu, glibenklamid diberikan dalam bentuk suspensi kepada hewan uji dengan menggunakan agen pensuspensi *Carboxy Methyl Celulose* (CMC) 0,5%. Tiap 1 ml suspensi glibenklamid, mengandung 0,9 mg glibenklamid (cara pembuatan dapat dilihat pada Lampiran 7).

#### 3.4.2.3 Pembuatan Larutan Aloksan Monohidrat

Berdasarkan hasil uji pendahuluan, dosis aloksan yang digunakan sebesar 32 mg/200 g bb tikus. Aloksan monohidrat dibuat dengan konsentrasi 40 mg/ml dengan melarutkannya dalam larutan fisiologis (NaCl 0,9% b/v) dingin (Jarald, Bangar, Edwin, Ahmad, & Jamalludin, 2009; Osinubi, 2006).

### 3.4.3 Penyiapan Hewan Uji

Sebelum dilakukan penelitian, tikus diaklimatisasi terlebih dahulu selama 14 hari agar dapat menyesuaikan diri dengan kondisi lingkungan baru. Selama aklimatisasi, tikus diberi makanan dan minuman yang sama secara teratur setiap harinya. Pada tahap ini dilakukan pengamatan terhadap keadaan umum dan berat badan tikus secara rutin. Tikus yang diikutsertakan harus sehat dengan tanda-tanda mata jernih, bulu tidak berdiri, dan berwarna putih bersih, pertumbuhannya normal, suhu tubuh normal, dan tidak memperlihatkan kelainan berarti pada fesesnya (Departemen Kesehatan RI, 1979).

### 3.4.4 Rancangan Percobaan

Tikus yang telah dipilih dikelompokkan secara acak menjadi enam kelompok perlakuan. Penentuan jumlah tikus tiap kelompok ( $n=4$ ) dihitung berdasarkan rumus empiris Federer sebagai berikut:

$$\begin{array}{ll} (t-1)(n-1) & \geq 15 \\ (6-1)(n-1) & \geq 15 \\ 5n-5 & \geq 15 \\ n & \geq 4 \end{array} \quad \begin{array}{l} \text{keterangan:} \\ t = \text{jumlah perlakuan} \\ n = \text{banyaknya pengulangan untuk tiap perlakuan} \end{array}$$

Pada penelitian 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.

Tabel 3.2 Pembagian kelompok hewan uji

No.	Nama Kelompok	Perlakuan	Jumlah Tikus (ekor)
1.	KN	Kontrol normal, diberi CMC 0,5% (1 ml/200 g bb tikus).	4
2.	KD	Kontrol perlakuan, dibuat diabetes dan diberi CMC 0,5% (1 ml/200 g bb tikus).	4
3.	KG	Kontrol pembanding, dibuat diabetes dan diberi glibenklamid (0,9 mg/200 g bb tikus).	4
4.	KM	Kontrol pembanding, dibuat diabetes dan diberi sari buah mengkudu (2,5 ml/200 g bb tikus).	4
5.	ID1	Dibuat diabetes, kemudian diberi glibenklamid (0,9 mg/200 g bb tikus) dan sari buah mengkudu (2,5 ml/200 g bb tikus).	4
6.	ID2	Dibuat diabetes, kemudian diberi glibenklamid (0,9 mg/200 g bb tikus) dan sari buah mengkudu (5,0 ml/200 g bb tikus).	4

Keterangan: KN: Kontrol Normal; KD: Kontrol Diabetes; KG: Kontrol Glibenklamid; KM: Kontrol Mengkudu; ID1: Interaksi Dosis 1; ID2: Interaksi Dosis 2

### 3.4.5 Induksi Diabetes pada Tikus

Sebelum diinduksi aloksan, hewan uji dipuasakan terlebih dahulu namun tetap diberikan air minum. Ini dilakukan sesuai dengan protokol percobaan yang menyebutkan bahwa hewan uji yang dipuasakan selama 8-12 jam lebih rentan mengalami hiperglikemia dibanding hewan uji yang tidak dipuasakan (Katsumata et al., 1992). Pertama-tama dilakukan pengukuran kadar glukosa darah puasa untuk mengetahui kadar glukosa darah hewan uji sebelum diinduksi aloksan. Setelah itu, larutan aloksan monohidrat disuntikkan secara intraperitoneal dengan dosis 32 mg/200 g bb tikus pada kelompok KD, KG, KM, ID1, dan ID2 yang masing-masing terdiri dari 4 hewan uji. Besarnya volume penyuntikan disesuaikan dengan berat badan masing-masing tikus. Setelah penyuntikan, tikus diberi makan dan minum seperti biasa (Yayasan Pengembangan Obat Bahan Alam Phyto Medica, 1993).

Pengukuran kadar glukosa darah puasa tikus dilakukan kembali pada hari ke-3 setelah induksi aloksan untuk memastikan bahwa tikus mengalami hiperglikemia permanen (Lenzen, 2008). Parameter keberhasilan penginduksian

ialah kenaikan kadar glukosa darah puasa yang melebihi 150 mg/dL (Jain et al., 2010).

### 3.4.6 Pemberian Bahan Uji

Pada hari ke-8 setelah induksi aloksan, bahan uji mulai diberikan sesuai perlakuan masing-masing kelompok seperti tertera pada Tabel 3.2. Untuk kelompok ID1 dan ID2, suspensi glibenklamid diberikan terlebih dahulu kemudian diikuti pemberian sari buah mengkudu satu jam setelahnya seperti terlihat pada Tabel 3.3.

Pemberian berselang satu jam dilakukan agar pada saat sari buah mengkudu diberikan, kadar glibenklamid di dalam plasma darah mendekati kadar tertinggi sehingga potensi terjadinya interaksi glibenklamid dengan sari buah mengkudu akan lebih mudah terlihat. Selain itu, absorpsi glibenklamid melalui saluran cerna dilaporkan cukup efektif. Glibenklamid memerlukan waktu kurang dari satu jam untuk mendapatkan kadar optimum di dalam plasma (Suherman, 2007). Dengan demikian, pemberian sari buah mengkudu berselang satu jam diharapkan tidak mengganggu proses absorpsi glibenklamid. Pemberian bahan uji dilakukan setiap hari. Pengamatan berlangsung selama 29 hari setelah induksi aloksan atau selama tiga minggu pemberian bahan uji.

Tabel 3.3 Perlakuan setiap kelompok hewan uji

Kelompok	Perlakuan				
	1	2	3	4	5
KN	Pengukuran kadar glukosa darah puasa	Pemberian CMC 0,5% (T <sub>0</sub> )	---	Pengukuran kadar glukosa darah (T <sub>2</sub> )	Pengukuran kadar glukosa darah (T <sub>4</sub> )
KD		Pemberian CMC 0,5% (T <sub>0</sub> )	---		
KG		Pemberian glibenklamid (T <sub>0</sub> )	---		
KM		---	Pemberian sari buah mengkudu (T <sub>1</sub> )		
ID1		Pemberian glibenklamid (T <sub>0</sub> )	Pemberian sari buah mengkudu (T <sub>1</sub> )		
ID2		Pemberian glibenklamid (T <sub>0</sub> )	Pemberian sari buah mengkudu (T <sub>1</sub> )		

Keterangan: KN: Kontrol Normal; KD: Kontrol Diabetes; KG: Kontrol Glibenklamid; KM: Kontrol Mengkudu; ID1: Interaksi Dosis 1; ID2: Interaksi Dosis 2; T<sub>0</sub>: saat pemberian glibenklamid; T<sub>1</sub>: satu jam setelah pemberian glibenklamid; T<sub>2</sub>: dua jam setelah pemberian glibenklamid; T<sub>4</sub>: empat jam setelah pemberian glibenklamid

### 3.4.7 Pengambilan Sampel Darah

Tikus dimasukkan ke dalam kotak intravena. Kemudian ekor tikus dibersihkan dengan alkohol 70% dan dibasahi dengan sedikit air hangat agar pembuluh darah vena tikus dapat dengan mudah terlihat. Bulu di sekitar daerah yang ingin ditoreh dicukur hingga bersih menggunakan pisau bedah ujung tumpul agar darah tidak meresap. Pembuluh vena kemudian ditoreh menggunakan pisau bedah ujung tajam hingga membentuk sayatan kecil yang dalam. Darah ditampung ke dalam *mikrotube* yang telah dioleskan heparin, kemudian dilakukan sentrifugasi selama lima menit dengan kecepatan putaran 7000 rpm. Plasma darah dipisahkan dan disimpan di dalam lemari pendingin pada suhu 0-10°C.

Pengambilan sampel darah dilakukan pada tiga titik, yaitu sebelum pemberian bahan uji, jam ke-2 ( $T_2$ ), dan jam ke-4 ( $T_4$ ) setelah pemberian glibenklamid seperti terlihat pada Tabel 3.3. Pada tiap kali pengukuran kadar glukosa darah sebelum pemberian bahan uji, tikus harus dipuasakan selama 10-12 jam terlebih dahulu untuk meminimalisir pengaruh zat-zat yang terkandung dalam makanan yang mungkin dapat mempengaruhi hasil penelitian. Selesai perlakuan, semua tikus diistirahatkan di dalam kandang masing-masing dan diberi makanan dan minuman seperti biasa. Pengambilan sampel darah dilakukan pada hari ke-1 (H1), hari ke-8 (H8), hari ke-15 (H15), dan hari ke-22 (H22) pemberian bahan uji.

### 3.4.8 Penyiapan Pereaksi untuk Analisis Glukosa

#### 3.4.8.1 Larutan Asam Benzoat 0,15% b/v

Asam benzoat seberat 1,5 g dilarutkan ke dalam 1000 ml aquadest yang telah dipanaskan sebelumnya.

#### 3.4.8.2 Larutan Glukosa Standar

Glukosa anhidrat seberat 100,0 mg dilarutkan dalam larutan asam benzoat 0,15% b/v hingga volumenya 100 ml.

#### 3.4.8.3 Larutan o-toluidin

Tiourea sebanyak 75 mg dilarutkan dalam 47 ml asam asetat glasial. Kemudian 3 ml o-toluidin ditambahkan ke dalam larutan campuran, lalu diaduk hingga homogen.

#### 3.4.8.4 Larutan Asam Trikloro Asetat (TCA) 10% b/v

Asam trikloroasetat sebanyak 20 g dilarutkan dalam aquadest sedikit demi sedikit, hingga volumenya mencapai 200 ml. Penimbangan asam trikloroasetat harus dilakukan dengan cepat untuk mencegah hilangnya zat karena sifatnya yang higroskopis.

### 3.4.9 Penetapan Kadar Glukosa Darah

#### 3.4.9.1 Penetapan Panjang Gelombang Maksimum

Larutan glukosa standar sebanyak 0,1 ml dimasukkan ke dalam tabung reaksi. Kemudian ditambahkan larutan asam trikloroasetat (TCA) 10% b/v sebanyak 1 ml, dikocok hingga homogen menggunakan vortex. Selanjutnya diambil 1,0 ml dari larutan tersebut, ditambahkan 4,0 ml pereaksi o-toluidin, kemudian divortex hingga homogen. Tabung reaksi dipanaskan dalam penangas air bersuhu 100<sup>0</sup>C selama 10 menit, lalu didinginkan dalam beaker berisi air dingin selama 3 menit. Hasil yang terbentuk dalam tabung reaksi diukur serapannya menggunakan spektrofotometer *double-beam* sehingga dapat diketahui panjang gelombang maksimumnya.

#### 3.4.9.2 Penetapan Kestabilan Senyawa

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

#### 3.4.9.3 Penetapan Kadar Glukosa Sampel

Sampel plasma darah sebanyak 0,1 ml dimasukkan ke dalam *mikrotube*, kemudian ditambahkan 1,0 ml larutan TCA 10% b/v dan *disentrifuge* dengan

kecepatan 7000 rpm selama 5 menit. Selanjutnya 1,0 ml supernatan diambil dan ditambahkan dengan 4,0 ml pereaksi o-toluidin dalam tabung reaksi. Tabung reaksi dipanaskan di dalam penangas air bersuhu 100°C selama 10 menit, lalu didinginkan dalam beaker berisi air dingin selama 3 menit. Serapan diukur menggunakan spektrofotometer pada panjang gelombang maksimum. Hasil serapan kemudian dimasukkan ke dalam perhitungan sebagai berikut:

$$\text{Kadar Glukosa Darah} = A_t/A_s \times 100 \text{ mg/dL}$$

Keterangan:  $A_t$  = serapan larutan uji

$A_s$  = serapan larutan baku (larutan glukosa-standar)

Sebagai standar digunakan 0,1 ml larutan glukosa standar, sedangkan sebagai blanko digunakan 0,1 ml aquadest sebagai pengganti 0,1 ml sampel plasma darah. Setelah dipanaskan, larutan standar akan mengalami perubahan warna menjadi biru-hijau, sedangkan larutan blanko tidak mengalami perubahan warna apapun.

#### 3.4.10 Pengolahan Data

Hasil perhitungan kadar glukosa darah selama 22 hari pengamatan diolah secara statistik menggunakan SPSS. Analisis yang digunakan adalah uji distribusi normal (uji *Shapiro-Wilk*) dan uji homogenitas (uji *Levene*). Jika data yang dinyatakan terdistribusi normal dan homogen, uji dilanjutkan dengan uji analisis varian satu arah (ANAVA). Jika terdapat perbedaan yang signifikan, maka dilanjutkan dengan uji Beda Nyata Terkecil (BNT). Jika data yang diperoleh dinyatakan tidak terdistribusi normal dan/atau tidak homogen, uji dilanjutkan dengan analisis non parametrik (uji *Kruskal-Walis*). Jika terdapat perbedaan yang bermakna, uji dilanjutkan dengan uji *Mann-Whitney*.

## BAB 4 HASIL DAN PEMBAHASAN

### 4.1 Uji Pendahuluan Aloksan

Aloksan adalah senyawa analog glukosa yang bersifat toksik dimana pengubahannya menjadi ion radikal hidroksi dapat mengakibatkan kematian sel  $\beta$  pankreas yang kemudian menghambat sekresi insulin (Frode dan Medeiros, 2007). Pemilihan aloksan sebagai agen penginduksi diabetes dikarenakan kemampuannya untuk membuat hewan uji terkondisi sama seperti pasien DM. Selain itu, aloksan dapat menimbulkan keadaan hiperglikemia permanen dalam waktu yang cukup singkat, yaitu 2-3 hari setelah induksi (Yayasan Pengembangan Obat Bahan Alam Phyto Medica, 1993).

Rentang dosis aloksan yang harus diberikan kepada hewan uji untuk menghasilkan keadaan “diabetes aloksan” sangat sempit. Apabila dosis sedikit lebih besar, hewan uji dapat mengalami toksisitas pada bagian sel tubular ginjal atau bahkan kematian (Lenzen, Tiedge, Jorns, & Munday, 1996). Uji pendahuluan aloksan bertujuan untuk menentukan dosis efektif yang akan digunakan dalam penelitian. Hasil uji pendahuluan dapat dilihat pada Tabel 4.1.

Tabel 4.1 Hasil uji pendahuluan aloksan

Kelompok	Kadar Glukosa Darah Puasa Rata-Rata (mg/dL)	
	Pra-Induksi	Hari ke-3 Paska-Induksi
KN	97,3	100,00
AD1	88,7	248,00
AD2	85,3	416,00
AD3	81,3	402,00

Keterangan:

KN : Kelompok kontrol normal (nondiabetes + NaCl 0,9%)

AD1 : Kelompok dosis 1 (diinduksi aloksan monohidrat dengan dosis 32 mg/200g bb)

AD2 : Kelompok dosis 2 (diinduksi aloksan monohidrat dengan dosis 36 mg/200g bb)

AD3 : Kelompok dosis 3 (diinduksi aloksan monohidrat dengan dosis 40 mg/200g bb)

Berdasarkan hasil uji pendahuluan, terlihat bahwa seluruh kelompok uji mengalami keadaan hiperglikemia pada hari ke-3 pasca-induksi. Namun beberapa tikus pada kelompok uji AD2 dan AD3 mengalami kematian pada hari berikutnya.

Oleh karena itu, dipilih dosis 32 mg/200 g bb tikus sebagai dosis optimum yang dapat mengakibatkan keadaan hiperglikemia pada tikus, namun tidak menyebabkan kematian.

#### **4.2 Penyiapan Bahan Uji**

Sari buah mengkudu dibuat menggunakan buah yang telah matang agar senyawa kimia dalam buah yang bermanfaat sebagai antihiperglikemia berada dalam jumlah optimum. Pematangan buah di pohon umumnya memakan waktu lebih lama dan sulit dipantau. Oleh karena itu, dilakukan pemanasan buah di bawah sinar matahari selama 12 jam untuk mempercepat pematangan. Pematangan tanpa sinar matahari atau diperam tidak dipilih karena dikhawatirkan buah akan menghasilkan alkohol sebagai akibat terjadinya glikolisis anaerob yang dapat mengurangi potensi zat berkhasiat (Heinecke, 1985).

Pembuatan sari buah mengkudu dilakukan setiap hari. Satu gram buah mengkudu dapat menghasilkan 0,53 ml sari buah tanpa penambahan air. Sari buah diberikan sesegera mungkin kepada hewan uji untuk mencegah terjadinya kerusakan senyawa kimia yang terkandung dalam sari buah.

Glibenklamid tidak dapat larut dalam air sehingga diberikan dalam bentuk suspensi menggunakan agen pensuspensi *Carboxy Methyl Celulose* (CMC). Alasan pemilihan CMC dikarenakan sistem pencernaan tikus tidak memiliki enzim selulase, maka penggunaan CMC tidak akan berpengaruh pada kadar glukosa darah (Akhtar, Athar, & Yaquib, 1981). Akan tetapi, untuk menghilangkan pengaruh CMC pada hasil percobaan, kelompok kontrol normal dan kontrol diabetes diberikan larutan CMC 0,5% sebagai pengganti bahan uji.

#### **4.3 Penetapan Kadar Glukosa Darah**

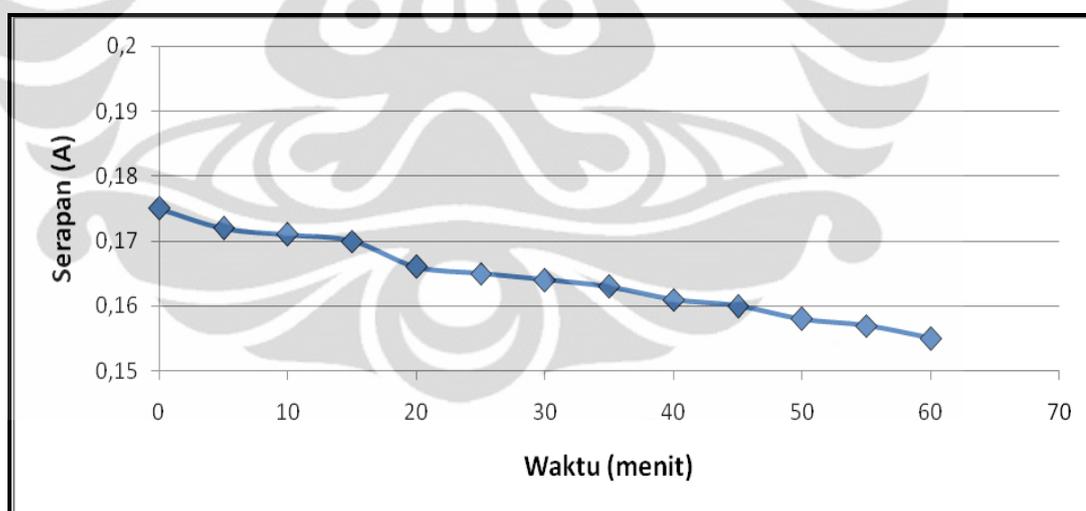
Metode kondensasi gugus amin digunakan untuk mengukur kadar glukosa darah karena memberikan hasil yang spesifik, valid, dan mendekati kadar glukosa sebenarnya. Pereaksi yang digunakan terbatas hanya pada o-toluidin karena senyawa amin aromatis lainnya diduga bersifat karsinogenik (Dubowski, 2008).

#### 4.3.1 Penetapan Panjang Gelombang Maksimum

Berdasarkan hasil pengukuran serapan larutan glukosa standar yang direaksikan dengan o-toluidin menggunakan spektrofotometer *double beam*, panjang gelombang maksimum yang diperoleh adalah 632,5 nm.

#### 4.3.2 Penetapan Kestabilan Senyawa

O-toluidin merupakan senyawa amin aromatis yang dapat bereaksi dengan gugus aldehid glukosa dalam asam asetat glasial panas membentuk kromogen kompleks biru hijau. Intensitas warna yang dihasilkan bersifat tidak stabil, terlihat dari perubahan warna larutan yang lama kelamaan akan memudar. Berdasarkan hasil uji kestabilan, serapan yang dihasilkan oleh larutan standar stabil selama kurang dari 15 menit dan akan berkurang 11,43 % setelah 1 jam. Oleh sebab itu, pengukuran kadar glukosa darah sebisa mungkin dilakukan kurang dari 15 menit setelah larutan direaksikan. Grafik hasil uji kestabilan dapat dilihat pada Gambar 4.1.



Gambar 4.1 Grafik kestabilan hasil serapan larutan standar glukosa

#### 4.3.3 Hasil Pengukuran Kadar Glukosa Darah

Pada penelitian ini, tidak dilakukan uji terhadap tikus betina. Siklus hormonal tikus betina dikhawatirkan dapat berpengaruh pada kadar glukosa yang akan diukur. Selain itu, hormon estrogen dan progesterin diketahui bersifat antagonis terhadap insulin (Suherman, 2007).

Pengamatan dilakukan selama 22 hari pemberian bahan uji, dengan satu kali pengambilan sampel darah setiap minggunya. Pengambilan sampel darah dilakukan pada tiga titik, yaitu sebelum pemberian bahan uji, jam ke-2 ( $T_2$ ), dan ke-4 ( $T_4$ ) setelah pemberian glibenklamid. Pengambilan sampel darah sebelum perlakuan diperlukan untuk mengetahui efek jangka panjang pemberian bahan uji. Pengambilan sampel darah pada  $T_2$  dan  $T_4$  ditentukan berdasarkan waktu paruh glibenklamid, diharapkan baik kadar glibenklamid maupun mengkudu di dalam plasma darah berada dalam kadar maksimal. Hal tersebut akan mempermudah pengamatan terjadinya interaksi.

Pengambilan sampel darah yang berkali-kali dalam satu hari pengujian menjadi alasan mengapa pengambilan darah dilakukan melalui pembuluh vena ekor. Hal ini dikarenakan cara pengambilan darah lain, seperti melalui orbital sinus mata tidak diperbolehkan jika lebih dari satu kali selama dua minggu (Hoff, 2000). Selain itu, jumlah darah yang diperoleh dari vena ekor mencukupi jumlah darah yang diperlukan untuk analisis.

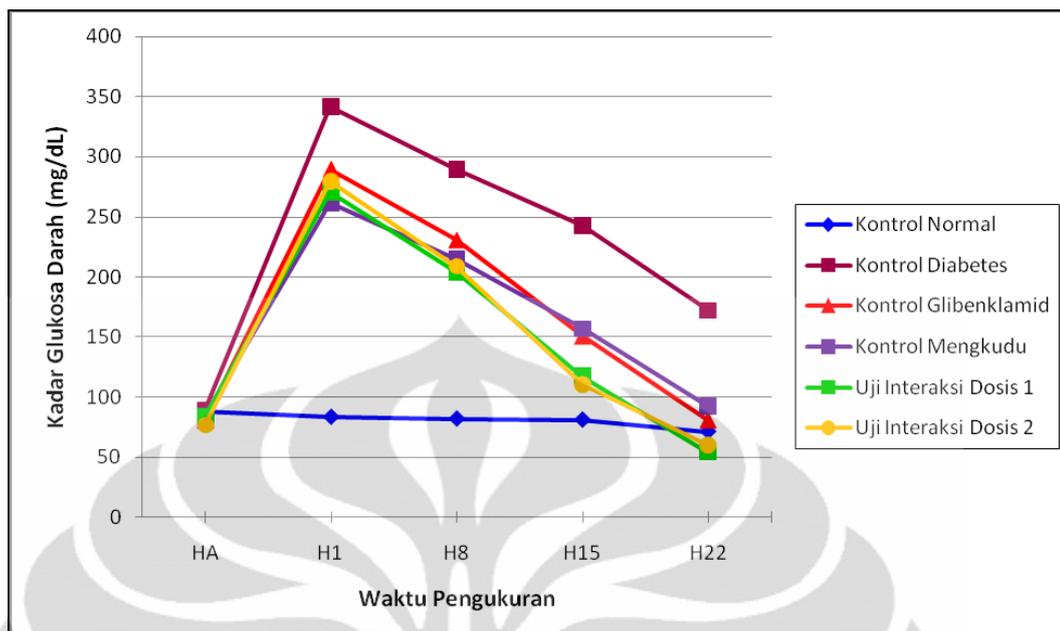
#### 4.3.3.1 Kadar Glukosa Darah Puasa

Setelah dipuasakan selama 10-12 jam, dilakukan pengukuran kadar glukosa darah. Hasil pengukuran masing-masing tikus dapat dilihat pada Lampiran 13. Berikut adalah hasil pengukuran kadar glukosa darah puasa rata-rata setiap kelompok uji.

Tabel 4.2 Kadar glukosa darah puasa rata-rata setiap kelompok uji

Kelompok	Kadar Glukosa Darah $\pm$ SD (mg/dL)				
	HA	H1	H8	H15	H22
KN	87,67 $\pm$ 12,29	83,22 $\pm$ 7,08	81,77 $\pm$ 9,36	80,87 $\pm$ 6,34	71,14 $\pm$ 4,98
KD	88,98 $\pm$ 21,65	341,74 $\pm$ 98,98	289,69 $\pm$ 41	242,84 $\pm$ 57,49	172,36 $\pm$ 26,52
KG	80,50 $\pm$ 18,16	289,61 $\pm$ 77,21	230,62 $\pm$ 24,60	150,50 $\pm$ 28,41	80,90 $\pm$ 7,79
KM	84,16 $\pm$ 12,24	261,46 $\pm$ 44,37	214,66 $\pm$ 30,91	156,81 $\pm$ 26,62	92,33 $\pm$ 6,84
ID1	83,79 $\pm$ 11,15	270,98 $\pm$ 50,07	204,24 $\pm$ 37,92	117,35 $\pm$ 14,64	54,14 $\pm$ 28,05
ID2	76,48 $\pm$ 7,05	279,89 $\pm$ 38,71	208,91 $\pm$ 47,55	110,29 $\pm$ 17,22	59,8 $\pm$ 27,72

Keterangan: HA: Hari induksi aloksan, H1: Hari pertama pemberian bahan uji; H8: Hari ke-8 pemberian bahan uji, H15: Hari ke-15 pemberian bahan uji, H22: Hari ke-22 pemberian bahan uji, KN: Kontrol Normal, KD: Kontrol Diabetes, KG: Kontrol Glibenklamid, KM: Kontrol Mengkudu, ID1: Interaksi Dosis 1 (glibenklamid 0,9 mg/200g bb tikus + sari buah mengkudu 2,5 ml/200 g bb tikus), ID2: Interaksi Dosis 2 (glibenklamid 0,9 mg/200g bb tikus + sari buah mengkudu 5,0 ml/200 g bb tikus)



Keterangan: HA: Hari induksi aloksan, H1: Hari pertama pemberian bahan uji; H8: Hari ke-8 pemberian bahan uji, H15: Hari ke-15 pemberian bahan uji, H22: Hari ke-22 pemberian bahan uji.

Gambar 4.2 Grafik kadar glukosa darah puasa rata-rata setiap kelompok uji

Hasil pengukuran kadar glukosa darah puasa rata-rata pra-induksi (HA) memperlihatkan data yang cukup beragam. Hal ini disebabkan karena adanya variasi biologis yang dimiliki tiap tikus sehingga tidak memungkinkan untuk memperoleh kadar glukosa darah puasa yang tepat sama antar tikus yang berbeda. Walaupun demikian, hasil uji statistik menunjukkan bahwa kadar glukosa darah puasa pra-induksi terdistribusi normal, homogen, dan tidak terdapat perbedaan bermakna antar kelompok.

Bahan uji mulai diberikan pada hari ke-8 setelah induksi aloksan (H1). Sebelumnya dilakukan pengukuran kadar glukosa darah puasa terlebih dahulu untuk memastikan bahwa hewan uji mengalami hiperglikemia. Hasil pengukuran memperlihatkan terjadinya peningkatan kadar glukosa darah. Hal ini diperkuat dengan hasil uji statistik yang menyatakan bahwa terdapat perbedaan bermakna antara KN dengan semua kelompok. Bila dibandingkan dengan hasil uji statistik kadar glukosa darah puasa pra-induksi, adanya perbedaan bermakna ini menyatakan bahwa aloksan berhasil meningkatkan kadar glukosa darah.

Respon tubuh yang berbeda terhadap aloksan menghasilkan peningkatan kadar glukosa darah yang berbeda pula (Frode dan Medeiros, 2007). Peningkatan paling tinggi terjadi pada kelompok KD, dapat dilihat pada Gambar 4.2. Variasi data yang cukup beragam ini juga terlihat dari simpangan masing-masing kelompok yang jauh lebih besar dibandingkan SD kadar glukosa darah puasa pra-induksi. Setelah dilakukan uji statistik, diketahui bahwa peningkatan kadar glukosa darah kelompok KD tidak berbeda bermakna dengan peningkatan kadar glukosa darah kelompok lain yang juga diinduksi aloksan. Dengan demikian, perbedaan respon tubuh terhadap aloksan tidak menimbulkan masalah berarti dalam penelitian ini.

Hasil pengukuran kadar glukosa darah puasa H8 dan H15 menunjukkan adanya penurunan kadar glukosa darah yang cukup signifikan. Hal ini diperkuat dengan hasil uji statistik yang menyatakan bahwa terdapat perbedaan bermakna antara KD dengan semua kelompok dimana sebelumnya tidak ada perbedaan bermakna di antara kelompok yang diinduksi aloksan tersebut. Meski demikian, penurunan yang terjadi belum mampu mengembalikan kadar glukosa darah hewan uji kepada kadar normal. Terbukti dari hasil uji statistik, masih terdapat perbedaan bermakna antara kelompok KN dengan semua kelompok.

Hasil uji statistik kadar glukosa darah puasa H15 menyebutkan adanya perbedaan bermakna antara kelompok ID2 dengan KG dan KM. Hal ini terjadi karena penurunan kadar glukosa darah kelompok ID2 jauh lebih besar dibandingkan kelompok KG dan KM. Kejadian ini memperlihatkan terjadinya interaksi sinergis, dimana efek antihiperqlikemik yang dihasilkan oleh kelompok kombinasi lebih besar dibandingkan kelompok tunggal masing-masing.

Hal yang sama juga terjadi pada H22. Penurunan kadar glukosa darah puasa kelompok kombinasi jauh lebih besar dibandingkan kelompok tunggal, bahkan ID1 dan ID2 mengalami hipoglikemia. Namun secara statistik, tidak terdapat perbedaan bermakna antara ID1 dan ID2 dengan kelompok KN. Ini dimungkinkan karena simpangan kelompok uji yang terlalu besar.

Perbedaan bermakna juga terjadi diantara kelompok KG dengan KM pada H22. Hal ini menjelaskan bahwa efek penurunan kadar glukosa darah glibenklamid secara jangka panjang lebih besar dibandingkan dengan mengkudu.

Hal ini diduga karena kandungan glukosa yang dimiliki mengkudu menjaga agar kadar glukosa darah tetap berada pada rentang normal. Hal ini diperkuat dengan hasil uji statistik yang menyatakan bahwa tidak ada lagi perbedaan bermakna antara kelompok KG dengan KN, sedangkan kelompok KM masih berbeda bermakna dengan kelompok KN.

Penurunan kadar glukosa darah juga didukung oleh regenerasi sel  $\beta$  Langerhans pankreas. Hal ini terlihat dari penurunan kadar glukosa darah kelompok KD yang tidak diberikan bahan uji apapun. Induksi diabetogen aloksan tidak merusak seluruh sel  $\beta$  Langerhans pankreas sehingga insulin masih dapat disekresikan (Dor, 2004). Namun hal tersebut tidak mengganggu jalannya penelitian, karena kondisi “diabetes aloksan” mampu dipertahankan hingga hari terakhir pengujian. Terlihat dari kadar glukosa darah puasa rata-rata kelompok KD di hari ke-22 yang masih memenuhi kriteria, yaitu  $> 150$  mg/dL.

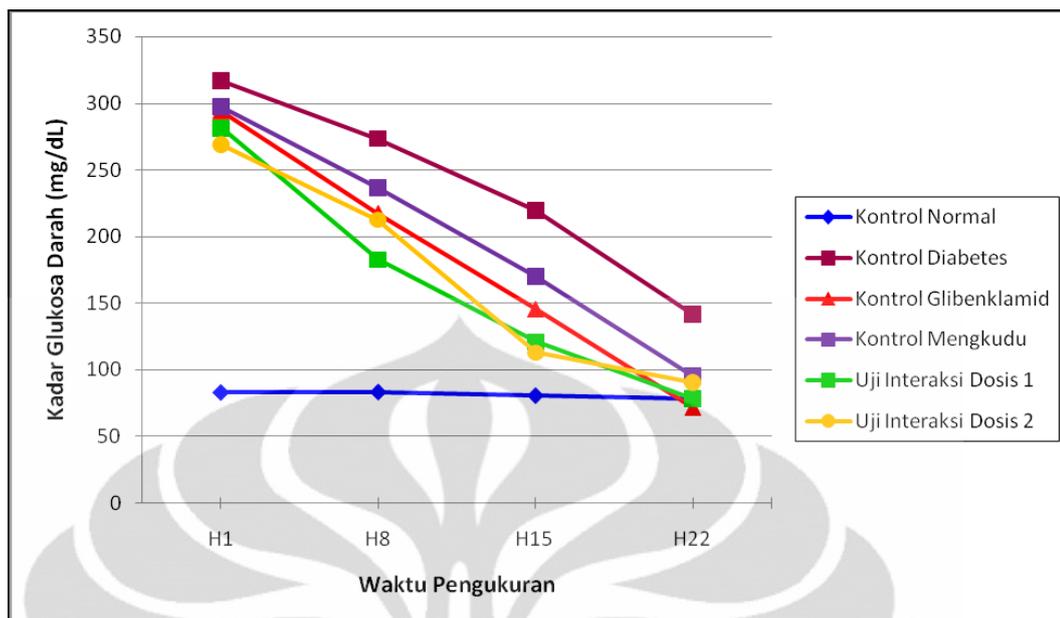
#### 4.3.3.2 Kadar Glukosa Darah pada Jam ke-2 Setelah Pemberian Glibenklamid

Setelah dilakukan pemberian bahan uji sesuai perlakuan masing-masing kelompok, terlihat adanya perubahan kadar glukosa darah sejak hari pertama pemberian bahan uji. Hasil pengukuran masing-masing tikus dapat dilihat pada Lampiran 13. Berikut adalah hasil pengukuran kadar glukosa darah rata-rata setelah 2 jam pemberian glibenklamid ( $T_2$ ).

Tabel 4.3 Kadar glukosa darah rata-rata pada jam ke-2 setelah pemberian glibenklamid

Kelompok	Kadar Glukosa Darah $\pm$ SD (mg/dL)			
	H1	H8	H15	H22
KN	82,76 $\pm$ 7,35	83,01 $\pm$ 4,87	80,42 $\pm$ 8,30	78,02 $\pm$ 12,25
KD	316,94 $\pm$ 57,51	273,43 $\pm$ 47,17	219,61 $\pm$ 62,52	141,54 $\pm$ 18,71
KG	294,29 $\pm$ 96,49	217,45 $\pm$ 19,55	145,52 $\pm$ 27,95	71,63 $\pm$ 8,33
KM	297,22 $\pm$ 35,89	236,60 $\pm$ 20,96	169,96 $\pm$ 28,18	95,54 $\pm$ 26,55
ID1	281,54 $\pm$ 33,07	182,44 $\pm$ 42,12	120,85 $\pm$ 16,16	77,98 $\pm$ 32,05
ID2	269,06 $\pm$ 16,87	212,51 $\pm$ 38,73	112,69 $\pm$ 21,31	90,34 $\pm$ 51,33

Keterangan: H1: Hari pertama pemberian bahan uji; H8: Hari ke-8 pemberian bahan uji, H15: Hari ke-15 pemberian bahan uji, H22: Hari ke-22 pemberian bahan uji, KN: Kontrol Normal, KD: Kontrol Diabetes, KG: Kontrol Glibenklamid, KM: Kontrol Mengkudu, ID1: Interaksi Dosis 1 (glibenklamid 0,9 mg/200g bb tikus + sari buah mengkudu 2,5 ml/200 g bb tikus), ID2: Interaksi Dosis 2 (glibenklamid 0,9 mg/200g bb tikus + sari buah mengkudu 5,0 ml/200 g bb tikus)



Keterangan: H1: Hari pertama pemberian bahan uji; H8: Hari ke-8 pemberian bahan uji, H15: Hari ke-15 pemberian bahan uji, H22: Hari ke-22 pemberian bahan uji.

Gambar 4.3 Grafik kadar glukosa darah rata-rata pada jam ke-2 setelah pemberian glibenklamid

Glibenklamid memiliki masa kerja yang panjang, yakni selama 12-24 jam sehingga cukup dilakukan pemberian tunggal. Hal ini diperkirakan karena 90-99% glibenklamid terikat pada protein plasma (Suherman, 2007). Hal tersebut memungkinkan kerja glibenklamid terjadi secara bertahap sehingga pada  $T_2$  hari pertama pemberian bahan uji, efek hipoglikemiknya belum terlihat dengan jelas.

Kelompok KM mengalami peningkatan kadar glukosa darah pada  $T_2$ , baik pada H1 maupun hari-hari selanjutnya. Peningkatan kadar glukosa darah ini diperkirakan karena sari buah mengkudu mengandung cukup banyak glukosa sebagai cadangan makanan (Asean Countries, 1993). Selain itu, selang waktu pemberian sari buah mengkudu dengan pengambilan sampel darah cukup pendek sehingga kadar glukosa yang berasal dari buah mengkudu masih cukup tinggi di dalam plasma darah.

Interaksi sinergis yang terlihat dari hasil pengukuran kadar glukosa darah puasa kelompok ID2 di hari ke-15, tidak terlihat pada  $T_2$  di hari yang sama. Hal ini disebabkan terjadinya peningkatan kadar glukosa darah akibat tingginya kadar glukosa yang terkandung di dalam sari buah mengkudu. Meski peningkatannya

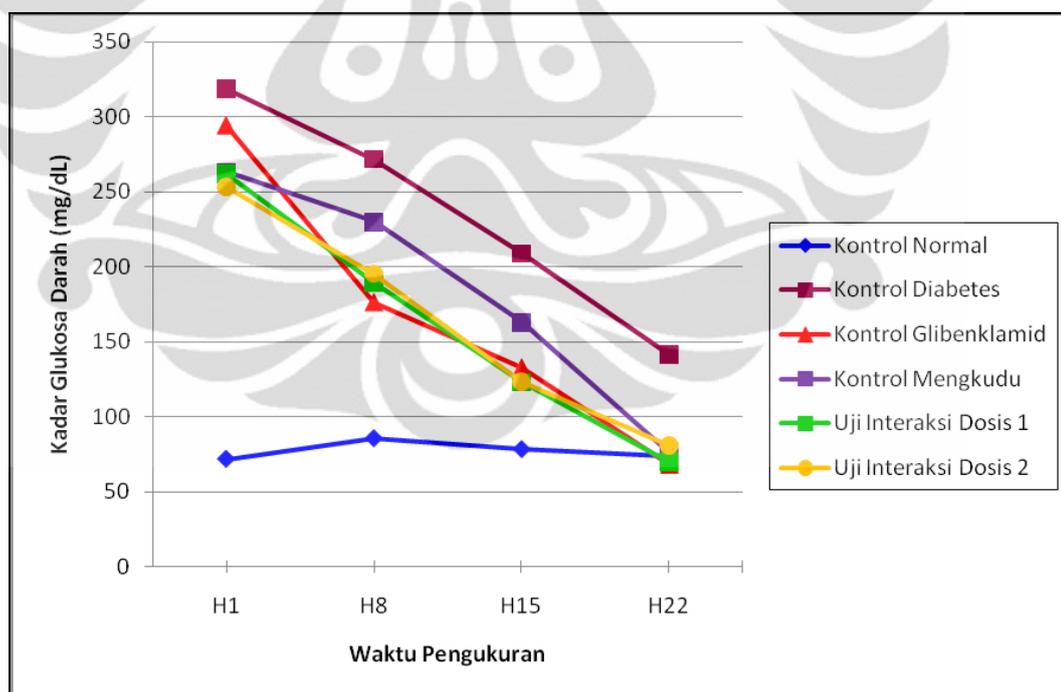
tidak terlalu besar, namun efek penurunan kadar glukosanya tidak berbeda bermakna dengan KG.

#### 4.3.3.3 Kadar Glukosa Darah pada Jam ke-4 Setelah Pemberian Glibenklamid

Tabel 4.4 Kadar glukosa darah rata-rata pada jam ke-4 setelah pemberian glibenklamid

Kelompok	Kadar Glukosa Darah $\pm$ SD (mg/dL)			
	H1	H8	H15	H22
KN	71,82 $\pm$ 6,80	85,55 $\pm$ 6,72	78,31 $\pm$ 10,27	73,82 $\pm$ 3,35
KD	318,74 $\pm$ 38,49	271,63 $\pm$ 55,39	208,81 $\pm$ 80,62	141,27 $\pm$ 31,79
KG	294,08 $\pm$ 68,98	176,23 $\pm$ 35,83	132,71 $\pm$ 16,85	68,00 $\pm$ 21,43
KM	263,18 $\pm$ 47,94	229,97 $\pm$ 34,79	163,20 $\pm$ 26,88	76,38 $\pm$ 16,75
ID1	262,26 $\pm$ 56,22	189,59 $\pm$ 45,18	123,01 $\pm$ 42,62	69,61 $\pm$ 37,12
ID2	253,12 $\pm$ 30,60	195,27 $\pm$ 34,26	123,24 $\pm$ 13,15	80,87 $\pm$ 19,01

Keterangan: H1: Hari pertama pemberian bahan uji; H8: Hari ke-8 pemberian bahan uji, H15: Hari ke-15 pemberian bahan uji, H22: Hari ke-22 pemberian bahan uji, KN: Kontrol Normal, KD: Kontrol Diabetes, KG: Kontrol Glibenklamid, KM: Kontrol Mengkudu, ID1: Interaksi Dosis 1 (glibenklamid 0,9 mg/200g bb tikus + sari buah mengkudu 2,5 ml/200 g bb tikus), ID2: Interaksi Dosis 2 (glibenklamid 0,9 mg/200g bb tikus + sari buah mengkudu 5,0 ml/200 g bb tikus)



Keterangan: H1: Hari pertama pemberian bahan uji; H8: Hari ke-8 pemberian bahan uji, H15: Hari ke-15 pemberian bahan uji, H22: Hari ke-22 pemberian bahan uji.

Gambar 4.4 Grafik kadar glukosa darah rata-rata pada jam ke-4 setelah pemberian glibenklamid

Tiga jam setelah pemberian sari buah mengkudu, kelompok KM mulai memperlihatkan efek antihiperlikemiknya. Terlihat dari adanya penurunan kadar glukosa darah yang cukup signifikan meski tidak lebih besar dari KG, ID1, maupun ID2 dimana tidak terdapat perbedaan bermakna diantara kelompok-kelompok tersebut.

Hasil pengukuran  $T_2$  dan  $T_4$  pada H22 memperlihatkan bahwa kadar glukosa darah hewan uji telah kembali normal. Hal ini diperkuat dengan hasil uji statistik yang memperlihatkan bahwa tidak ada lagi perbedaan bermakna antara kelompok KN dengan semua kelompok uji, kecuali kelompok KD.

Berdasarkan pembahasan di atas, dapat dilihat bahwa terjadi interaksi yang cukup signifikan antara glibenklamid dengan sari buah mengkudu pada kelompok ID2 di hari ke-15 pemberian bahan uji. Hal ini diduga terjadi karena adanya kemiripan mekanisme kerja antara glibenklamid dengan sari buah mengkudu dalam menurunkan kadar glukosa darah. Peningkatan sekresi insulin dalam tubuh diduga tidak hanya terjadi karena perangsangan sel  $\beta$  pankreas oleh glibenklamid saja, melainkan juga oleh sari buah mengkudu. Hal tersebut memperbesar efek penurunan kadar glukosa yang dihasilkan.

Hasil penelitian ini menunjukkan bahwa secara oral penggunaan sari buah mengkudu bersamaan dengan glibenklamid dapat memperbesar penurunan kadar glukosa darah. Interaksi sinergis terjadi pada penggunaan bersama glibenklamid (0,9 mg/ 200g bb tikus) dengan sari buah mengkudu (5,0 ml/ 200 g bb tikus) pada hari ke-15 pemberian bahan uji. Untuk itu, pengkombinasian glibenklamid dengan sari buah mengkudu dapat dilakukan oleh pasien diabetes untuk memperbesar penurunan kadar glukosa darah, tetapi tetap diperlukan pengawasan dalam penggunaannya, terutama jika digunakan lebih dari 15 hari.

## **BAB 5**

### **KESIMPULAN DAN SARAN**

#### **5.1 Kesimpulan**

Pemberian sari buah mengkudu berpengaruh secara signifikan terhadap glibenklamid dalam menurunkan kadar glukosa darah tikus putih jantan yang dibuat diabetes pada kombinasi glibenklamid (0,9 mg/200 g bb tikus) dengan sari buah mengkudu (5,0 ml/200 g bb tikus) setelah dua minggu pemberian.

#### **5.2 Saran**

1. Perlu dilakukan penelitian sejenis dengan menggunakan parameter lain seperti kadar glibenklamid dalam darah, menggunakan lima atau enam ekor tikus pada setiap kelompok perlakuan untuk memperkecil simpangan yang dihasilkan akibat adanya variasi biologis.
2. Perlu dilakukan penelitian lebih lanjut untuk mengetahui mekanisme interaksi yang terjadi pada penggunaan glibenklamid yang dikombinasikan dengan sari buah mengkudu melalui uji *in vitro*.

## DAFTAR ACUAN

- Akhtar, Muhammad Shoaib, Athar, Muhammad Amin, & Yaquib, Muhammad. (1981). Effect of *Momordica charantia* on Blood Glucose Level of Normal and Alloxan-Diabetic Rabbits. *Planta Medica*, Vol. 42, hal. 205-212.
- ASEAN Countries. (1993). *Morindae Fructus*. Dalam: *Standard of ASEAN Herbal Medicine* (Vol. I, hal. 294-304). Jakarta: ASEAN Countries.
- Badan Penelitian dan Pengembangan Kesehatan Departemen Kesehatan RI. (1991). *Inventaris Tanaman Obat Indonesia I*. Jakarta: Badan Penelitian dan Pengembangan Kesehatan Departemen Kesehatan RI.
- Colalto, Cristiano. (2010). Review Herbal Interactions on Absorption of Drugs: Mechanisms of Action and Clinical Risk Assessment. *Pharmacological Research*, Vol. 62, hal. 207-227.
- Corwin, Elizabeth J. (2008). The Pancreas and Diabetes Mellitus. Dalam *Handbook of Pathophysiology* (3<sup>rd</sup> Edition, hal. 550-570). Philadelphia: Lippincott Williams & Wilkins.
- Departemen Kesehatan RI. (1979). Uji Hayati. Dalam *Farmakope Indonesia Edisi Ketiga* (hal. 901-902). Jakarta: Departemen Kesehatan RI.
- Departemen Kesehatan RI. (2005). *Pharmaceutical Care untuk Penyakit Diabetes Melitus*. Jakarta: Departemen Kesehatan RI.
- Dor, Yuval, Brown, Juliana, Martinez, Olga I., & Melton, Douglas A. (2004). Adult Pancreatic  $\beta$ -Cells are Formed by Self-Duplication rather than Stem Cell Differentiation. *Nature*, Vol. 429, hal. 41-46.
- Dubowsky, K. M. (2008). An O-toluidine Method for Body-Fluid Glucose Determination. *Clinical Chemistry*, Vol. 54, hal. 1919-1920.
- Etuk, E.U. (2010). Animals Models for Studying Diabetes Mellitus. *Agriculture and Biology Journal of North America*, Vol. 1(2), hal. 130-134.
- Frode, T.S., & Medeiros, Y.S. (2007). Animal Models to Test Drugs with Potential Antidiabetic Activity. *Journal of Ethnopharmacology*, Vol.115, hal. 173-183.

- Heinecke, R.M. (1985). The Pharmacologically Active Ingridient of Noni. *Dalam: The University of Hawaii Bulletin* (hal.10-14).
- Heyne, K. (1987). *Morinda citrifolia* LINN. *Dalam: Heyne, K. Tumbuhan Berguna Indonesia* (Jilid III, hal. 1795-1799). Jakarta: Badan Litbang Kehutanan.
- Hoff, Janet. (2000). Methods of Blood Collection in The Mouse. *Lab Animal*, Vol.29, No.10.
- Jain, Sanjay, Bhatia, Gaurav, Barik, Rakesh, Kumar, Praveen, Jain, Avnish, & Dixit, Vinod Kumar. (2010). Antidiabetic Activity of *Paspalum scrobiculatum* Linn. in Alloxan Induced Diabetic Rats. *Ethnopharmacology*, Vol. 127, hal. 325-328.
- Jarald, Edwin, Bangar, Omprakash, Edwin, Sheeja, Ahmad, Showkat, Jamalludin, & Shamsuddin. (2009). Antidiabetic Activity of Few Indian Medicinal Plants vs Their Combination in Alloxan Induced Diabetic Rats. *Pharmacy Research*, Vol. 2(11), hal. 1760-1763.
- Karalliedde, Lakshman, Clarke, Simon F.J., Collignon, Ursula, & Karalliedde, Janaka. (2010). Adverse Drug Interactions: A Handbook for Prescribers. <http://www.hoddereducation.com>
- Katsumata, K., Katsumata, Jr., Katsumata, Y. (1992). Protective Effect of Diltiazem Hydrochloride on The Occurence of Alloxan- or Streptozotocin-Induced Diabetes in Rats. *Hormone and Metabolic Research*, Vol. 24, hal. 508-510.
- Lee, A., & Stockley, I.H. (2003). Drug Interactions. *Dalam: Walker, R., C. Edwards. Clinical Pharmacy and Therapeutics* (3<sup>rd</sup> edition, hal. 21-32). New York: Churchill Livingstone.
- Lemmens, R.H.M.J., Bunyaphatsara, N. (2003). *Morinda L. Dalam: Lemmens, R.H.M.J., Bunyaphatsara, N. Plant Resources of South-East Asia No 12 (3) Medicinal and Poisonous Plants 3* (hal. 302-305). Bogor: Prosea Foundation.
- Lenzen, S., Tiedge, M., Jorns, A., & Munday, R. (1996). Alloxan Derivatives as A Tool for The Elucidation of The Mechanism of The Diabetogenic Action of Alloxan. *Dalam: Shafrir, E. (Ed.). Lessons from Animal Diabetes* (hal. 113-122). Boston: Birkhauser.

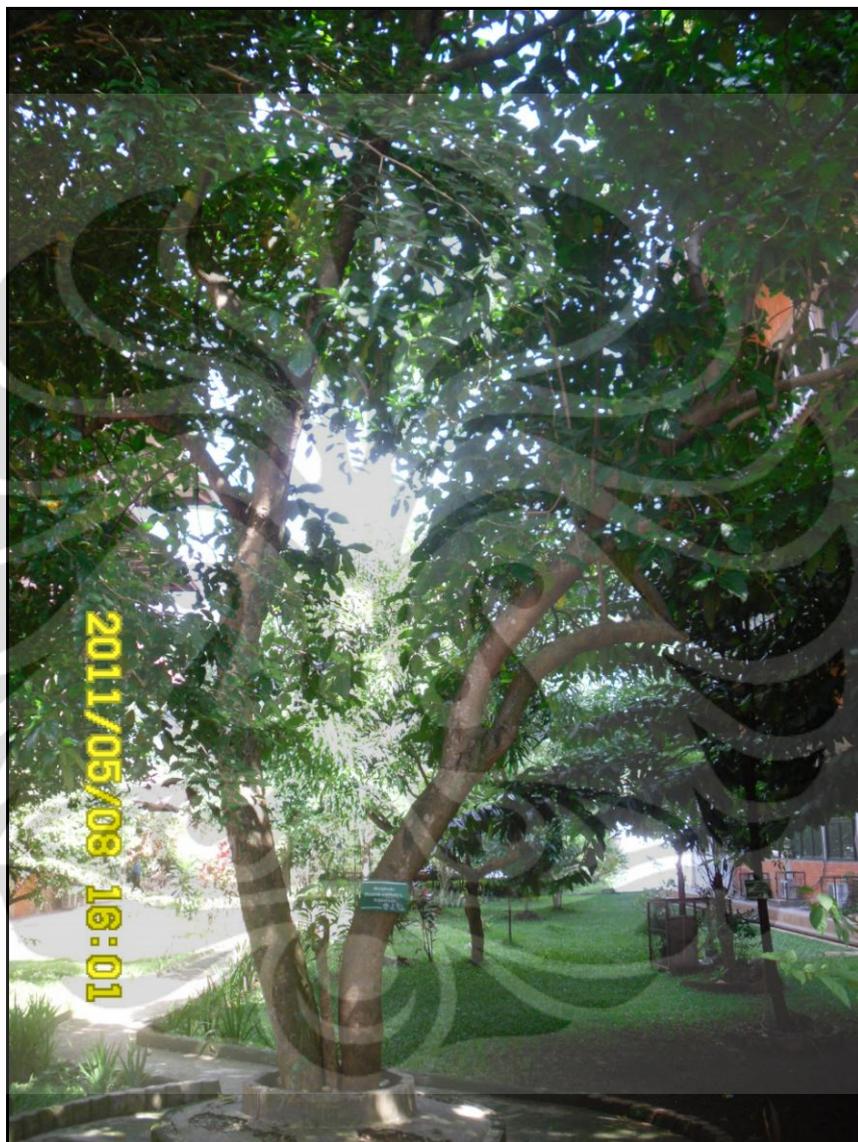
- Lenzen, S. (2008). The Mechanism of Alloxan and Streptozotocin-Induced Diabetes. *Diabetologia*, Vol. 51, hal. 216-226.
- Mayes, Peter A. (2003). Glukoneogenesis dan Pengontrolan Kadar Glukosa Darah. *Dalam: Murray, Robert K., et al. Biokimia Harper* (hal. 195-205). Jakarta: EGC.
- Nayak, B.Shivananda, Marshall, Julien R., Isitor, Godwin, & Adogwa, Andrew. (2010). Hypoglycemic and Hepatoprotective Activity of Fermented Fruit Juice of *Morinda citrifolia* (Noni) in Diabetic Rats. *Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine*, Vol. 2011, No. 875293.
- Neumiller, Joshua J. (2011). Clinical Pharmacology of Incretin Therapies for Type 2 Diabetes Mellitus: Implications for Treatment. *Clinical Therapeutics*, Vol.33, No.5.
- Nuraini, Maria Fatma. (2001). Pengaruh Sari Buah Mengkudu (*Morinda citrifolia* Linn.) terhadap Kadar Glukosa Darah Tikus Putih Jantan yang Diinduksi dengan Aloksan. *Skripsi Sarjana Farmasi FMIPA UI*. Depok: Departemen Farmasi FMIPA UI.
- Norberg, Ake, Hoa, Nguyen Khanh, Liepinsh, Edvards, Phan, Dao Phan, Thuan, Nguyen Duy, Jornvall, Hans, Sillard, Rannar, et al. (2004). A Novel Insulin-releasing Substance, Phanoside, from the Plant *Gynostemma pentaphyllum*. *Biological Chemistry*, Vol. 279, No. 40, hal. 41361-41367.
- Osinubi, A.A., Ajavi, O.G., & Adesiyun, A.E. (2006). Evaluation of Anti-Diabetic Effect of Aqueous Leaf Extract of *Tapinanthus butungii* in Male Sprague-Dawley Rats. *Medical Journal Islamic World Academic Science*, Vol.16, hal. 41-47.
- Rao, U.S.Mahadeva, & Subramanian, S. (2008). Biochemical Evaluation of Antihyperglycemic and Antioxidative Effects of *Morinda citrifolia* Fruit Extract Studied in Streptozotocin-Induced Diabetic Rats. *Medical Chemistry Research*, Vol.18, hal. 433-446.
- Setiawati, Arini. (2007). Interaksi Obat. *Dalam: Gunawan, S.G., R.Setiabudy, Nafrialdi, & Elysabeth. Farmakologi dan Terapi* (Edisi 5, hal. 862-875). Jakarta: Departemen Farmakologi dan Terapeutik Fakultas Kedokteran Universitas Indonesia.

- Sharma, Vivek Kumar, Kumar, Suresh, Patel, Hitesh Jayantibhai, & Hugar, Shivakumar. (2010). Hypoglycemic Activity of *Ficus glomerata* in Alloxan Induced Diabetic Rats. *International Journal of Pharmaceutical Sciences Review and Research*, Vol. 1, No. 004.
- Suherman, Suharti K. (2007). Insulin dan Antidiabetik Oral. *Dalam: Gunawan, S.G., R. Setiabudy, Nafrialdi, & Elysabeth. Farmakologi dan Terapi* (Edisi 5, hal. 481-495). Jakarta: Departemen Farmakologi dan Terapeutik Fakultas Kedokteran Universitas Indonesia.
- Sukandar, Elin Yulinah, Andrajati, Retnosari, Sigit, Joseph I., Adnyana, I Ketut, Setiadi, A. Adji Prayitno, & Kusnandar. (2008). ISO Farmakoterapi (hal. 26-28). Jakarta: PT. ISFI Penerbitan.
- Triplitt, C. L., Reasner, C. A., & Isley, W. L. (2005). Diabetes Mellitus. *Dalam J. T. Di Piro, R. L. Talbert, G. C. Yee, G. R. Matzke, B. G. Wells, & L. M. Posey, Pharmacotherapy: A Patophysiologic Approach* (Edisi 6, hal. 1333-1367). New York: Mc Graw Hill.
- Wibudi, Aris, Kiranadi, Bambang, Manalu, Wasmen, Winarto, Adi, & Suyono, Slamet. (2008). The Traditional Plant, *Andrographis paniculata* (Sambiloto), Exhibits Insulin-Releasing Actions in Vitro. *Acta Med Indones-Indones Journal Internal Medical*, Vol. 40, No. 2.
- Widowati, Lucie, Dzulkarnain, B., & Sa'roni. (1997). Tanaman Obat untuk Diabetes Melitus. *Cermin Dunia Kedokteran*, No. 116, hal. 53.
- Wild, S., Roglic, G., Green, A., Sicree, R., & King, H. (2004). Estimates for the Year 2000 and Projections for 2030. *Diabetes Care*, Vol. 27 (5), hal. 1047-1053.
- World Health Organization. (1999). Part 1: Diagnosis and Classification of Diabetes Mellitus. *Dalam: Definition, Diagnosis and Classifications of Diabetes Mellitus and Its Complications (Report of WHO Consultation)*. Geneva: World Health Organization.
- Yayasan Pengembangan Obat Bahan Alam Phyto Medica. (1993). Penapisan Farmakologi, Pengujian Fitokimia dan Pengujian Klinik. Jakarta: Yayasan Pengembangan Obat Bahan Alam Phyto Medica.



# LAMPIRAN

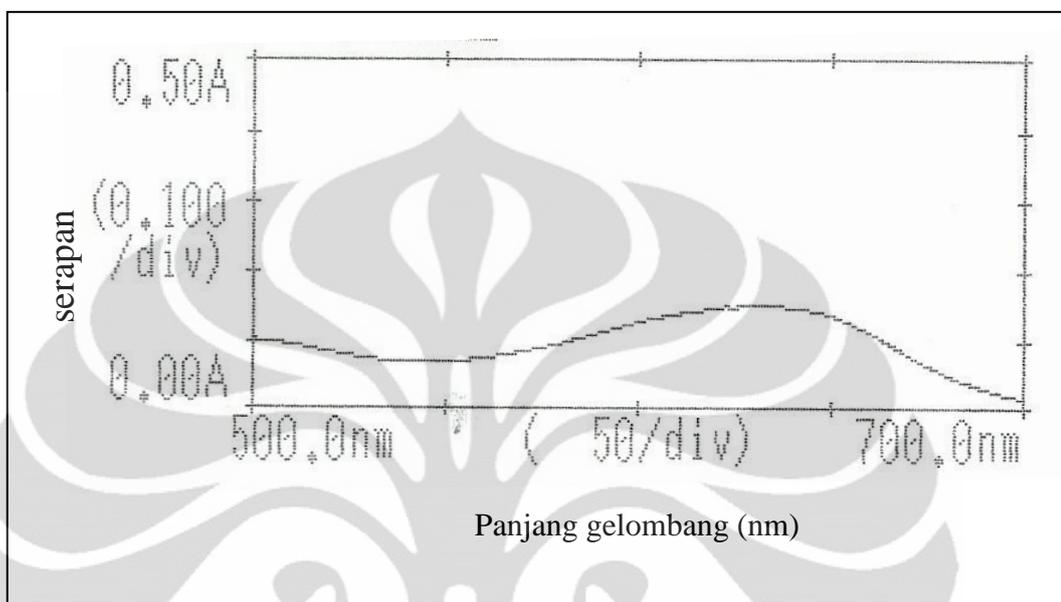
Lampiran 1. Foto tanaman Mengkudu (*Morinda citrifolia* Linn.)



Lampiran 2. Foto sari buah Mengkudu (*Morinda citrifolia* Linn.)



## Lampiran 3. Spektrum serapan larutan glukosa standar



Keterangan: panjang gelombang maksimum yang diperoleh adalah 632,5 nm dengan serapan larutan glukosa standar sebesar 0,1490.

Lampiran 4. Hasil determinasi tanaman Mengkudu (*Morinda citrifolia* Linn.)

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

Kepada Yth.  
 Bpk./Ibu/Sdr(i). Sri Wulandari Fitriani  
 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	Mengkudu	<i>Morinda citrifolia</i> L.	Rubiaceae

Demikian, semoga berguna bagi Saudara.

Kepala Bidang Botani  
 Pusat Penelitian Biologi-LIPI,

  
 Prof. Dr. Eko Baroto Walujo  
 NIP. 195111041975011001

## Lampiran 5. Sertifikat analisis Aloksan Monohidrat

<b>SIGMA-ALDRICH</b>		<b>ALDRICH</b> LABORATORIES
		Industriestrasse 25, CH-9471 Buchs (SG), Switzerland Tel: +41 81 755 2511 Fax: +41 81 758 5449
<b>Certificate of Analysis</b>		
<b>Product Name:</b>	ALLOXAN MONOHYDRATE	
<b>Product Number:</b>	-	
<b>Product Brand:</b>	Aldrich	
<b>Molecular Formula:</b>	$C_4H_7N_2O_4 \cdot H_2O$	
<b>Molecular Mass:</b>	160.08	
<b>CAS Number:</b>	2244-11-3	
<b>TEST</b>	<b>SPECIFICATION</b>	<b>LOT BCBC9107 RESULTS</b>
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>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.</p>		
Sigma-Aldrich	Certificate of Analysis - Product A7413 Lot BCBC9107	Page 1 of 1

## Lampiran 6. Sertifikat analisis Glibenklamid



3203, G.I.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.		00L018	A.R.NO. FP00076
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 by IR and absorption spectroscopy, compare with spectral obtained with Glibenclamide working standard. Examine the substance as dir prepared by potassium biclida. If the spectra obtained shows difference, moisten separately the substance with methanol, triturate, dry at 100°C to 105°C and record the spectrum again.	169.5°C to 171.2°C Matches with working standard.	
Related substances (By HPLC)			
1. Impurity A	Not more than 0.4 %	0.06 %	
2. Impurity B	Not more than 0.5 %	0.06 %	
3. Unknown Impurity 1	Not more than 0.2 %	0.07 %	
4. Unknown Impurity 2	Not more than 0.1 %	0.07 %	
5. Unknown Impurity 3	Not more than 0.1 %	Below Detection Limit	
6. Total of other Impurity	Not more than 0.5 %	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.)	0.03 % w/w	
Assay	Not less than 99.0 % and not more than the equivalent of 101.0 % of $C_{12}H_{16}ClN_2O_5S$ , calculated with reference to the dried substance.	99.6 % w/w	
<b>Additional tests:</b>			
Particle size (By Malvern number size)	90 % particle should be less than 10 µ	Complies	
Remarks: The material complies with respect to the BP/ Ph.Eur. Specifications.			
Prepared By	<i>Prg</i>	Checked By	<i>[Signature]</i>
Date	20-02-10	Date	20-01-10
Approved By	<i>[Signature]</i>	Date	20-02-10

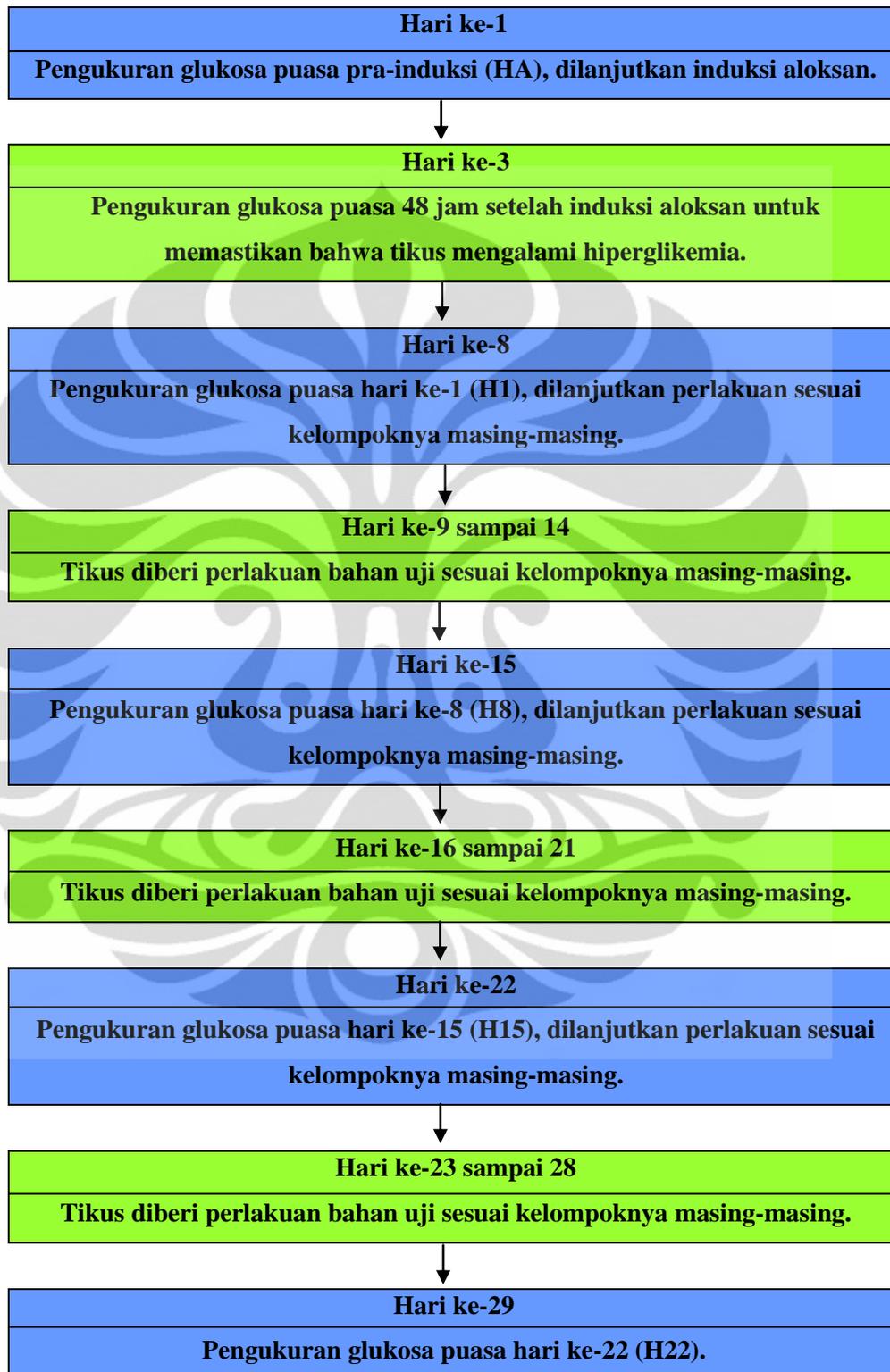
P/QC02901/24.03.08

Corporate Office 1  
"Cadila Corporate Campus,"  
Sarkhej-Dholoi Road, Dholoi,  
Ahmedabad - 382 210, Gujarat, India.

Phone : +91-2710-225001-45  
Fax : +91-2710-225039  
Website : www.cadilapharma.com

The Care Continues...

## Lampiran 7. Skema kerja penelitian



Keterangan : \*Perhitungan hari belum termasuk masa aklimatisasi selama 14 hari.

\*\*Sejak hari ke-8, pemberian pakan tikus dilakukan setelah perlakuan selesai.

## Lampiran 8. Perhitungan dosis Aloksan Monohidrat secara intraperitoneal

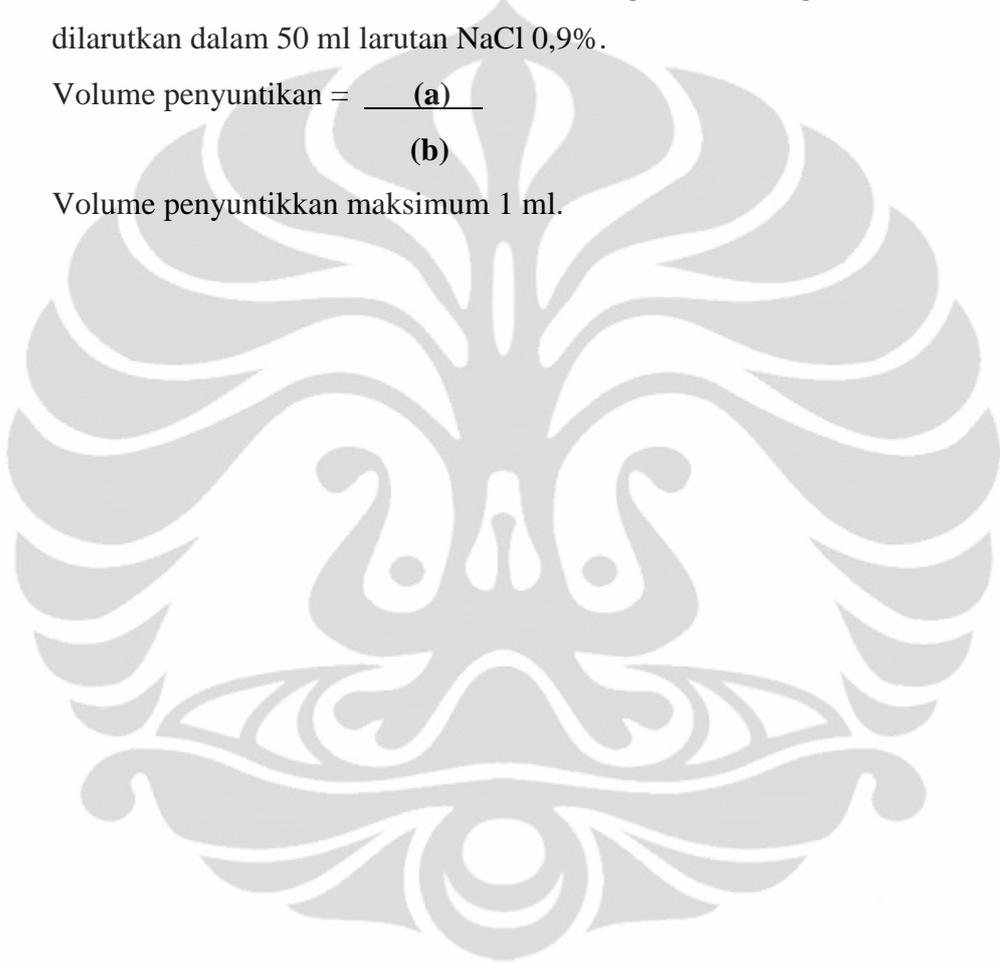
Dosis aloksan yang digunakan = 160 mg/ kg bb ~ 32 mg/ 200 g bb

Dosis aloksan untuk 1 ekor tikus **(a)** =  $\frac{32 \text{ mg}}{200 \text{ g}} \times \text{bb}$

Pembuatan larutan aloksan konsentrasi 40 mg/ ml **(b)** = 2 g aloksan monohidrat dilarutkan dalam 50 ml larutan NaCl 0,9%.

Volume penyuntikan =  $\frac{\text{(a)}}{\text{(b)}}$

Volume penyuntikkan maksimum 1 ml.



## Lampiran 9. Hasil uji pendahuluan Aloksan

## A. Kadar Glukosa Darah Puasa H1(Pra-Induksi)

Kelompok	1	2	3	<b>Rerata</b>	<b>SD</b>
KN	81	86	125	<b>97,33</b>	24,09
AD1	74	111	81	<b>88,66</b>	19,65
AD2	90	82	84	<b>85,33</b>	4,16
AD3	72	80	92	<b>81,33</b>	10,06

## B. Kadar Glukosa Darah Puasa H3

Kelompok	1	2	3	<b>Rerata</b>	<b>SD</b>
KN	110	101	89	<b>100,00</b>	10,54
AD1	346	291	107	<b>248,00</b>	125,17
AD2	> 600	372	426	<b>466,00</b>	119,15
AD3	> 600	366	240	<b>402,00</b>	182,68

## Keterangan:

H1 : Hari saat induksi aloksan

H3 : Hari ke-3 ( $\pm 48$  jam setelah induksi aloksan)

KN : Kelompok kontrol normal (nondiabetes + NaCl 0,9%)

AD1 : Kelompok dosis 1 (diinduksi aloksan monohidrat dengan dosis 32 mg/200g bb)

AD2 : Kelompok dosis 2 (diinduksi aloksan monohidrat dengan dosis 36 mg/200g bb)

AD3 : Kelompok dosis 3 (diinduksi aloksan monohidrat dengan dosis 40 mg/200g bb)

### Lampiran 10. Pembuatan larutan uji glibenklamid

Dosis efektif glibenklamid pada manusia adalah 5 mg/ hari.

Faktor konversi dari manusia ke tikus adalah 0,018.

Dosis untuk 200 g bb tikus setelah dikonversi adalah:

$$0,018 \times 5 \text{ mg/ manusia} = 0,09 \text{ mg/ 200g bb tikus.}$$

Faktor farmakokinetik yang digunakan adalah 10 sehingga dosis yang digunakan untuk percobaan adalah :

$$0,09 \text{ mg/ 200 g bb tikus} \times 10 = 0,9 \text{ mg/ 200g bb tikus.}$$

Glibenklamid tidak larut dalam air, maka disuspensikan dengan CMC 0,5%.

Pembuatan CMC 0,5 % sebagai berikut:

CMC ditimbang sesuai jumlah yang dibutuhkan. Pertama, disiapkan akuades sebanyak 200 kali berat CMC, lalu CMC dikembangkan dalam akuades sebanyak 20 kali beratnya selama kurang lebih 15 menit lalu dihomogenkan. Volume larutan dicukupkan dengan sisa akuades yang telah disiapkan sebelumnya, lalu dihomogenkan kembali.

Untuk volume pemberian sejumlah 1 ml/ 200 g bb tikus, untuk tiap ml pemberian, mengandung bahan uji sejumlah:

$$0,9 \text{ mg} : 1 \text{ ml} = 0,9 \text{ mg/ml}$$

Sebanyak 54 mg serbuk glibenklamid disuspensikan dengan CMC 0,5% hingga volume 60 ml sehingga didapat konsentrasi 0,9 mg/ml.

Lampiran 11. Hasil uji kestabilan serapan larutan standar glukosa

Waktu (menit)	Serapan	Serapan (%)
0	0,175	100,00
5	0,172	98,28
10	0,171	97,71
15	0,170	97,14
20	0,166	94,86
25	0,165	94,28
30	0,164	93,71
35	0,163	93,14
40	0,161	92,00
45	0,160	91,43
50	0,158	90,28
55	0,157	89,71
60	0,155	88,57

## Lampiran 12. Hasil pengukuran kadar glukosa darah pra-induksi

Kelompok	Kadar Glukosa Darah HA (mg/dL)				Rerata	SD
	1	2	3	4		
KN	80,07	100,58	74,66	95,37	<b>87,67</b>	12,28791
KD	63,51	115,97	91,94	84,51	<b>88,98</b>	21,64812
KG	98,17	77,36	90	56,48	<b>80,50</b>	18,15947
KM	78,67	85,09	72,16	100,73	<b>84,16</b>	12,24159
ID1	83,65	73,74	78,4	99,38	<b>83,79</b>	11,15231
ID2	86,05	77,36	70,23	72,26	<b>76,48</b>	7,052

## Keterangan:

HA : Hari induksi aloksan,  
 KN : Kontrol Normal,  
 KD : Kontrol Diabetes,  
 KG : Kontrol Glibenklamid,  
 KM : Kontrol Mengkudu,  
 ID1 : Interaksi Dosis 1  
 ID2 : Interaksi Dosis 2

Lampiran 13. Hasil pengukuran kadar glukosa darah setelah pemberian bahan uji

Kelompok	Waktu Pengukuran	Kadar Glukosa Darah H1 (mg/dL)				Rerata	SD
		1	2	3	4		
KN	T0	88,6	86,75	84,63	72,88	<b>83,22</b>	7,08
	T2	87,65	86,04	85,53	71,82	<b>82,76</b>	7,35
	T4	73,53	80,02	63,75	69,96	<b>71,82</b>	6,80
KD	T0	295,15	310,48	328,4	272,94	<b>301,74</b>	23,52
	T2	310,96	288,94	339,21	268,63	<b>301,94</b>	30,27
	T4	341,32	299,71	329,19	274,73	<b>311,24</b>	29,96
KG	T0	297,57	389,01	202,94	268,9	<b>289,60</b>	77,21
	T2	312,06	413,18	180,44	271,48	<b>294,29</b>	96,49
	T4	294,6	388,17	225	268,57	<b>294,08</b>	68,98
KM	T0	276,69	300,6	197,78	270,76	<b>261,46</b>	44,37
	T2	319,41	315,76	243,7	310	<b>297,22</b>	35,89
	T4	277,72	308,6	195,63	270,76	<b>263,18</b>	47,94
ID1	T0	286,62	323,18	203,51	270,62	<b>270,98</b>	50,07
	T2	287,67	323,38	244,48	270,62	<b>281,54</b>	33,07
	T4	290,22	303,61	179,7	275,53	<b>262,26</b>	56,22
ID2	T0	312,06	308,81	229,87	268,83	<b>279,89</b>	38,71
	T2	289,78	265,72	248,92	271,82	<b>269,06</b>	16,87
	T4	277,5	253,42	209,88	271,68	<b>253,12</b>	30,60

Kelompok	Waktu Pengukuran	Kadar Glukosa Darah H8 (mg/dL)				Rerata	SD
		1	2	3	4		
KN	T0	79,52	71,61	94,2	81,76	<b>81,77</b>	9,36
	T2	78,98	82	81,01	90,07	<b>83,02</b>	4,87
	T4	80,96	94,9	85,97	80,37	<b>85,55</b>	6,72
KD	T0	341,09	277,18	297,7	242,79	<b>289,69</b>	41,08
	T2	335,56	261,54	274,9	221,74	<b>273,44</b>	47,17
	T4	350,81	252,17	261,44	222,11	<b>271,63</b>	55,39
KG	T0	232,03	260,96	200,81	228,68	<b>230,62</b>	24,60
	T2	211,26	217,78	197,04	243,74	<b>217,46</b>	19,55
	T4	191,5	174,32	127,57	211,54	<b>176,23</b>	35,83
KM	T0	223,54	243,82	171,01	220,26	<b>214,66</b>	30,91
	T2	253,7	255,23	223,19	214,26	<b>236,60</b>	20,96
	T4	230,32	275,6	191,3	222,65	<b>229,97</b>	34,79
ID1	T0	183,41	244,41	162,32	226,8	<b>204,24</b>	37,92
	T2	151,79	217,98	140,58	219,41	<b>182,44</b>	42,12
	T4	155,11	239,68	147,83	215,73	<b>189,59</b>	45,18
ID2	T0	160,1	265,9	181,16	228,46	<b>208,91</b>	47,55
	T2	172,75	263,75	196,09	217,43	<b>212,51</b>	38,73
	T4	164,06	241,38	175,36	200,29	<b>195,27</b>	34,26

Kelompok	Waktu Pengukuran	Kadar Glukosa Darah H15 (mg/dL)				Rerata	SD
		1	2	3	4		
KN	T0	82,44	80,76	72,49	87,78	<b>80,87</b>	6,34
	T2	84,92	76,44	70,92	89,39	<b>80,42</b>	8,30
	T4	72,6	77,95	69,83	92,86	<b>78,31</b>	10,27
KD	T0	327,72	224,48	218,54	200,62	<b>242,84</b>	57,49
	T2	305,53	216,58	199,38	156,96	<b>219,61</b>	62,52
	T4	319,36	217,73	154,59	143,56	<b>208,81</b>	80,62
KG	T0	148,78	165,52	111,41	176,3	<b>150,50</b>	28,41
	T2	152,69	135,05	114,18	180,16	<b>145,52</b>	27,95
	T4	140,44	128,29	111,47	150,63	<b>132,71</b>	16,85
KM	T0	170,29	143,98	126,65	186,3	<b>156,80</b>	26,62
	T2	188,55	145,98	145,76	199,55	<b>169,96</b>	28,18
	T4	170,26	161,98	127,88	192,67	<b>163,20</b>	26,88
ID1	T0	102,86	130,18	106,63	129,74	<b>117,35</b>	14,64
	T2	125,92	132,98	97,04	127,46	<b>120,85</b>	16,16
	T4	99,29	159,48	74,95	158,33	<b>123,01</b>	42,62
ID2	T0	90,03	110,23	132,13	108,78	<b>110,29</b>	17,22
	T2	90,74	130,88	131,03	98,1	<b>112,69</b>	21,31
	T4	134,47	124,12	104,57	129,8	<b>123,24</b>	13,15

Kelompok	Waktu Pengukuran	Kadar glukosa darah H22 (mg/dL)				Rerata	SD
		1	2	3	4		
KN	T0	77,29	71,85	70,2	65,21	<b>71,14</b>	4,98
	T2	80,75	94,11	70,46	66,75	<b>78,02</b>	12,25
	T4	72,12	78,68	73,25	71,22	<b>73,82</b>	3,35
KD	T0	197,69	162,52	139,6	189,65	<b>172,37</b>	26,52
	T2	142,12	132,91	123,84	167,27	<b>141,54</b>	18,71
	T4	124,48	121,85	130,07	188,68	<b>141,27</b>	31,79
KG	T0	90,89	71,85	80,53	80,32	<b>80,90</b>	7,79
	T2	81,32	68,61	61,85	74,73	<b>71,63</b>	8,33
	T4	78,65	53,24	47,28	92,85	<b>68,00</b>	21,43
KM	T0	94,39	82,18	95,9	96,85	<b>92,33</b>	6,84
	T2	119,5	88,87	112,86	60,95	<b>95,54</b>	26,55
	T4	77,13	55,16	77,08	96,14	<b>76,38</b>	16,75
ID1	T0	79,94	41,72	74,37	20,51	<b>54,14</b>	28,05
	T2	89,91	57,15	117,55	47,33	<b>77,99</b>	32,05
	T4	46,48	32,45	113,91	85,59	<b>69,61</b>	37,12
ID2	T0	77,13	54,17	84,81	23,09	<b>59,80</b>	27,72
	T2	157,76	81,26	89,2	33,12	<b>90,34</b>	51,33
	T4	93,52	63,77	100,73	65,47	<b>80,88</b>	19,01

Keterangan:

H1 : Hari pertama pemberian bahan uji,

H8 : Hari ke-8 pemberian bahan uji,

H15 : Hari ke-15 pemberian bahan uji,

H22 : Hari ke-22 pemberian bahan uji,

KN : Kontrol Normal,

KD : Kontrol Diabetes,

KG : Kontrol Glibenklamid,

KM : Kontrol Mengkudu,

ID1 : Interaksi Dosis 1

ID2 : Interaksi Dosis 2

T0 : Kadar glukosa darah sebelum pemberian bahan uji,

T2 : Kadar glukosa darah dua jam setelah pemberian glibenklamid,

T4 : Kadar glukosa darah empat jam setelah pemberian glibenklamid



Lampiran 14. Uji statistik terhadap kadar glukosa darah puasa seluruh kelompok hewan uji pra-induksi (HA)

A. Uji Normalitas (Uji *Saphiro-Wilk*) terhadap Kadar Glukosa Darah Puasa Seluruh Kelompok Hewan Uji Sebelum Perlakuan (HA)

Tujuan :

Untuk mengetahui apakah data kadar glukosa darah seluruh kelompok hewan uji pada HA terdistribusi normal atau tidak

Hipotesis :

Ho = Data kadar glukosa darah tikus terdistribusi normal

Ha = Data kadar glukosa darah tikus tidak terdistribusi normal

$\alpha$  : 0,05

Pengambilan kesimpulan:

Ho diterima jika nilai signifikansi  $\geq 0,05$

Ho ditolak jika nilai signifikansi  $< 0,05$

Kelompok	Shapiro-Wilk		
	Statistic	df	Sig.
KN	0.915	4	0.509
KD	0.989	4	0.953
KG	0.956	4	0.754
KM	0.953	4	0.737
ID1	0.917	4	0.519
ID2	0.921	4	0.540

Hasil : Nilai signifikansi  $> \alpha$

Kesimpulan : Ho diterima, data kadar glukosa darah puasa seluruh kelompok uji pada HA terdistribusi normal.

B. Uji Homogenitas (Uji *Levene*) terhadap Kadar Glukosa Darah Puasa Seluruh Kelompok Hewan Uji Sebelum Perlakuan (HA)

Tujuan :

Untuk mengetahui apakah data kadar glukosa darah puasa seluruh kelompok hewan uji sebelum perlakuan (HA) bervariasi homogen atau tidak

Hipotesis :

Ho = Data kadar glukosa darah tikus bervariasi homogen

Ha = Data kadar glukosa darah tikus tidak bervariasi homogen

$\alpha$  : 0,05

Pengambilan kesimpulan :

Ho diterima jika nilai signifikansi  $\geq 0,05$

Ho ditolak jika nilai signifikansi  $< 0,05$

Test of Homogeneity of Variances			
Levene Statistic	df1	df2	Sig.
0.872	5	18	0.519

Hasil : Nilai signifikansi  $> \alpha$

Kesimpulan : Ho diterima, data kadar glukosa darah puasa seluruh kelompok uji pada HA bervariasi homogen.

C. Uji ANAVA Satu Arah terhadap Kadar Glukosa Darah Puasa Seluruh Kelompok Hewan Uji Sebelum Perlakuan (HA)

Tujuan :

Untuk mengetahui ada tidaknya perbedaan kadar glukosa darah puasa yang bermakna pada seluruh kelompok hewan uji pada HA

Hipotesis :

Ho = Data kadar glukosa darah tikus tidak berbeda bermakna

Ha = Data kadar glukosa darah tikus berbeda bermakna

$\alpha$  : 0,05

Pengambilan kesimpulan :

Ho diterima jika nilai signifikansi  $\geq 0,05$

Ho ditolak jika nilai signifikansi  $< 0,05$

ANOVA					
	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	424.999	5	85.000	0.401	0.842
Within Groups	3820.123	18	212.229		
Total	4245.122	23			

Hasil : Nilai signifikansi  $> \alpha$

Kesimpulan :  $H_0$  diterima, tidak terdapat perbedaan bermakna pada kadar glukosa darah puasa seluruh kelompok uji pada HA

Lampiran 15. Uji normalitas (*Saphiro-Wilk*) terhadap kadar glukosa darah seluruh kelompok hewan uji

Tujuan :

Untuk mengetahui apakah data kadar glukosa darah kelompok hewan uji terdistribusi normal atau tidak

Hipotesis :

Ho = Data kadar glukosa darah tikus terdistribusi normal

Ha = Data kadar glukosa darah tikus tidak terdistribusi normal

$\alpha$  : 0,05

Pengambilan kesimpulan:

Ho diterima jika nilai signifikansi  $\geq 0,05$

Ho ditolak jika nilai signifikansi  $< 0,05$

Hari	Waktu (Jam)	Kelompok	Signifikansi	Kesimpulan
1	0	Kontrol Normal	0.163	terdistribusi normal
		Kontrol Diabetes	0.987	terdistribusi normal
		Kontrol Glibenklamid	0.924	terdistribusi normal
		Kontrol Mengkudu	0.295	terdistribusi normal
		Interaksi Dosis 1	0.769	terdistribusi normal
		Interaksi Dosis 2	0.368	terdistribusi normal
	2	Kontrol Normal	0.032	tidak terdistribusi normal
		Kontrol Diabetes	0.958	terdistribusi normal
		Kontrol Glibenklamid	0.981	terdistribusi normal
		Kontrol Mengkudu	0.023	tidak terdistribusi normal
		Interaksi Dosis 1	0.970	terdistribusi normal
		Interaksi Dosis 2	0.966	terdistribusi normal
	4	Kontrol Normal	0.998	terdistribusi normal
		Kontrol Diabetes	0.737	terdistribusi normal
		Kontrol Glibenklamid	0.718	terdistribusi normal
Kontrol Mengkudu		0.709	terdistribusi normal	
Interaksi Dosis 1		0.551	terdistribusi normal	

		Interaksi Dosis 2	0.732	terdistribusi normal
8	0	Kontrol Normal	0.790	terdistribusi normal
		Kontrol Diabetes	0.981	terdistribusi normal
		Kontrol Glibenklamid	0.824	terdistribusi normal
		Kontrol Mengkudu	0.397	terdistribusi normal
		Interaksi Dosis 1	0.647	terdistribusi normal
		Interaksi Dosis 2	0.762	terdistribusi normal
	2	Kontrol Normal	0.235	terdistribusi normal
		Kontrol Diabetes	0.838	terdistribusi normal
		Kontrol Glibenklamid	0.782	terdistribusi normal
		Kontrol Mengkudu	0.189	terdistribusi normal
		Interaksi Dosis 1	0.100	terdistribusi normal
		Interaksi Dosis 2	0.845	terdistribusi normal
	4	Kontrol Normal	0.274	terdistribusi normal
		Kontrol Diabetes	0.338	terdistribusi normal
		Kontrol Glibenklamid	0.732	terdistribusi normal
		Kontrol Mengkudu	0.814	terdistribusi normal
		Interaksi Dosis 1	0.318	terdistribusi normal
		Interaksi Dosis 2	0.605	terdistribusi normal
15	0	Kontrol Normal	0.818	terdistribusi normal
		Kontrol Diabetes	0.081	terdistribusi normal
		Kontrol Glibenklamid	0.576	terdistribusi normal
		Kontrol Mengkudu	0.832	terdistribusi normal
		Interaksi Dosis 1	0.095	terdistribusi normal
		Interaksi Dosis 2	0.758	terdistribusi normal
	2	Kontrol Normal	0.791	terdistribusi normal
		Kontrol Diabetes	0.652	terdistribusi normal
		Kontrol Glibenklamid	0.981	terdistribusi normal
		Kontrol Mengkudu	0.131	terdistribusi normal
		Interaksi Dosis 1	0.094	terdistribusi normal
		Interaksi Dosis 2	0.114	terdistribusi normal
	4	Kontrol Normal	0.354	terdistribusi normal
		Kontrol Diabetes	0.358	terdistribusi normal
		Kontrol Glibenklamid	0.920	terdistribusi normal
Kontrol Mengkudu		0.856	terdistribusi normal	

		Interaksi Dosis 1	0.214	terdistribusi normal
		Interaksi Dosis 2	0.388	terdistribusi normal
22	0	Kontrol Normal	0.952	terdistribusi normal
		Kontrol Diabetes	0.627	terdistribusi normal
		Kontrol Glibenklamid	0.685	terdistribusi normal
		Kontrol Mengkudu	0.048	tidak terdistribusi normal
		Interaksi Dosis 1	0.468	terdistribusi normal
		Interaksi Dosis 2	0.579	terdistribusi normal
	2	Kontrol Normal	0.619	terdistribusi normal
		Kontrol Diabetes	0.640	terdistribusi normal
		Kontrol Glibenklamid	0.984	terdistribusi normal
		Kontrol Mengkudu	0.565	terdistribusi normal
		Interaksi Dosis 1	0.631	terdistribusi normal
		Interaksi Dosis 2	0.762	terdistribusi normal
	4	Kontrol Normal	0.198	terdistribusi normal
		Kontrol Diabetes	0.021	tidak terdistribusi normal
		Kontrol Glibenklamid	0.519	terdistribusi normal
		Kontrol Mengkudu	0.672	terdistribusi normal
		Interaksi Dosis 1	0.683	terdistribusi normal
		Interaksi Dosis 2	0.178	terdistribusi normal

Lampiran 16. Uji homogenitas (*Levene*) terhadap kadar glukosa darah seluruh kelompok hewan uji

Tujuan :

Untuk mengetahui apakah data kadar glukosa darah kelompok hewan uji bervariasi homogen atau tidak

Hipotesis :

$H_0$  = Data kadar glukosa darah tikus bervariasi homogen

$H_a$  = Data kadar glukosa darah tikus tidak bervariasi homogen

$\alpha$  : 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	Kesimpulan
1	0	0.221	bervariasi homogen
	2	0.045	tidak bervariasi homogen
	4	0.259	bervariasi homogen
8	0	0.116	bervariasi homogen
	2	0.074	bervariasi homogen
	4	0.206	bervariasi homogen
15	0	0.038	tidak bervariasi homogen
	2	0.106	bervariasi homogen
	4	0.009	tidak bervariasi homogen
22	0	0.003	tidak bervariasi homogen
	2	0.192	bervariasi homogen
	4	0.018	tidak bervariasi homogen

## Lampiran 17. Uji ANAVA satu arah terhadap kadar glukosa darah kelompok hewan uji

Tujuan :

Untuk mengetahui ada tidaknya perbedaan kadar glukosa darah yang bermakna pada kelompok hewan uji

Hipotesis :

Ho = Data kadar glukosa darah tikus tidak berbeda bermakna

Ha = Data kadar glukosa darah tikus berbeda bermakna

$\alpha$  : 0,05

Pengambilan kesimpulan :

Ho diterima jika nilai signifikansi  $\geq 0,05$

Ho ditolak jika nilai signifikansi  $< 0,05$

Hari	Waktu (jam)	Signifikansi	Kesimpulan
1	0	0.000	ada perbedaan bermakna
	4	0.000	ada perbedaan bermakna
8	0	0.000	ada perbedaan bermakna
	2	0.000	ada perbedaan bermakna
	4	0.000	ada perbedaan bermakna
15	2	0.000	ada perbedaan bermakna
22	2	0.031	ada perbedaan bermakna
	4	0.000	ada perbedaan bermakna

## Lampiran 18. Uji Beda Nyata Terkecil (BNT) terhadap kadar glukosa darah kelompok hewan uji

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

$\alpha$  : 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 Mengkudu*	0.000
			Interaksi Dosis 1*	0.000
			Interaksi Dosis 2*	0.000
		Kontrol Diabetes	Kontrol Normal*	0.000
			Kontrol Glibenklamid	0.712
			Kontrol Mengkudu	0.229
			Interaksi Dosis 1	0.354
			Interaksi Dosis 2	0.508
		Kontrol Glibenklamid	Kontrol Normal*	0.000
			Kontrol Diabetes	0.712
			Kontrol Mengkudu	0.395
			Interaksi Dosis 1	0.572
			Interaksi Dosis 2	0.767
		Kontrol Mengkudu	Kontrol Normal*	0.000
			Kontrol Diabetes	0.229
			Kontrol Glibenklamid	0.395
			Interaksi Dosis 1	0.772
			Interaksi Dosis 2	0.576
Interaksi Dosis 1	Kontrol Normal*	0.000		

1	4		Kontrol Diabetes	0.354
			Kontrol Glibenklamid	0.572
			Kontrol Mengkudu	0.772
			Interaksi Dosis 2	0.786
			Kontrol Normal*	0.000
		Interaksi Dosis 2	Kontrol Diabetes	0.508
			Kontrol Glibenklamid	0.767
			Kontrol Mengkudu	0.576
			Interaksi Dosis 1	0.786
			Kontrol Diabetes*	0.000
	4	Kontrol Normal	Kontrol Glibenklamid*	0.000
			Kontrol Mengkudu*	0.000
			Interaksi Dosis 1*	0.000
			Interaksi Dosis 2*	0.000
			Kontrol Normal*	0.000
		Kontrol Diabetes	Kontrol Glibenklamid	0.596
			Kontrol Mengkudu	0.147
			Interaksi Dosis 1	0.140
			Interaksi Dosis 2	0.084
			Kontrol Normal*	0.000
Kontrol Glibenklamid	Kontrol Diabetes	0.596		
	Kontrol Mengkudu	0.343		
	Interaksi Dosis 1	0.330		
	Interaksi Dosis 2	0.213		
	Kontrol Normal*	0.000		
Kontrol Mengkudu	Kontrol Diabetes	0.147		
	Kontrol Glibenklamid	0.343		
	Interaksi Dosis 1	0.977		
	Interaksi Dosis 2	0.755		
	Kontrol Normal*	0.000		
Interaksi Dosis 1	Kontrol Diabetes	.0140		
	Kontrol Glibenklamid	.0330		
	Kontrol Mengkudu	.0977		
	Interaksi Dosis 2	.0777		
	Kontrol Normal*	0.000		
Interaksi Dosis 2	Kontrol Normal*	0.000		

			Kontrol Diabetes	0.084
			Kontrol Glibenklamid	0.213
			Kontrol Mengkudu	0.755
			Interaksi Dosis 1	0.777
8	0	Kontrol Normal	Kontrol Diabetes*	0.000
			Kontrol Glibenklamid*	0.000
			Kontrol Mengkudu*	0.000
			Interaksi Dosis 1*	0.000
		Kontrol Diabetes	Interaksi Dosis 2*	0.000
			Kontrol Normal*	0.000
			Kontrol Glibenklamid*	0.025
			Kontrol Mengkudu*	0.006
			Interaksi Dosis 1*	0.002
		Kontrol Glibenklamid	Interaksi Dosis 2*	0.004
			Kontrol Normal*	0.000
			Kontrol Diabetes*	0.025
			Kontrol Mengkudu	0.518
			Interaksi Dosis 1	0.290
		Kontrol Mengkudu	Interaksi Dosis 2	0.382
			Kontrol Normal*	0.000
			Kontrol Diabetes*	0.006
			Kontrol Glibenklamid	0.518
			Interaksi Dosis 1	0.672
		Interaksi Dosis 1	Interaksi Dosis 2	0.815
			Kontrol Normal*	0.000
			Kontrol Diabetes*	0.002
			Kontrol Glibenklamid	0.290
			Kontrol Mengkudu	0.672
		Interaksi Dosis 2	Interaksi Dosis 2	0.849
			Kontrol Normal*	0.000
			Kontrol Diabetes*	0.004
			Kontrol Glibenklamid	0.382
Kontrol Mengkudu	0.815			
8	2	Kontrol Normal	Interaksi Dosis 1	0.849
			Kontrol Diabetes*	0.000

			Kontrol Glibenklamid*	0.000
			Kontrol Mengkudu*	0.000
			Interaksi Dosis 1*	0.000
			Interaksi Dosis 2*	0.000
		Kontrol Diabetes	Kontrol Normal*	0.000
			Kontrol Glibenklamid*	0.026
			Kontrol Mengkudu	0.127
			Interaksi Dosis 1*	0.001
			Interaksi Dosis 2*	0.016
		Kontrol Glibenklamid	Kontrol Normal*	0.000
			Kontrol Diabetes*	0.026
			Kontrol Mengkudu	0.416
			Interaksi Dosis 1	0.145
			Interaksi Dosis 2	0.832
		Kontrol Mengkudu	Kontrol Normal*	0.000
			Kontrol Diabetes	0.127
			Kontrol Glibenklamid	0.416
			Interaksi Dosis 1*	0.030
			Interaksi Dosis 2	0.309
		Interaksi Dosis 1	Kontrol Normal*	0.000
			Kontrol Diabetes*	0.001
			Kontrol Glibenklamid	0.145
			Kontrol Mengkudu*	0.030
			Interaksi Dosis 2	0.207
		Interaksi Dosis 2	Kontrol Normal*	0.000
			Kontrol Diabetes*	0.016
			Kontrol Glibenklamid	0.832
			Kontrol Mengkudu	0.309
			Interaksi Dosis 1	0.207
8	4	Kontrol Normal	Kontrol Diabetes*	0.000
			Kontrol Glibenklamid*	0.004
			Kontrol Mengkudu*	0.000
			Interaksi Dosis 1*	0.001
			Interaksi Dosis 2*	0.001
		Kontrol Diabetes	Kontrol Normal*	0.000

15	2		Kontrol Glibenklamid*	0.002
			Kontrol Mengkudu	0.142
			Interaksi Dosis 1*	0.007
			Interaksi Dosis 2*	0.011
		Kontrol Glibenklamid	Kontrol Normal*	0.004
			Kontrol Diabetes*	0.002
			Kontrol Mengkudu	0.063
			Interaksi Dosis 1	0.628
			Interaksi Dosis 2	0.492
		Kontrol Mengkudu	Kontrol Normal*	0.000
			Kontrol Diabetes	0.142
			Kontrol Glibenklamid	0.063
			Interaksi Dosis 1	0.154
			Interaksi Dosis 2	0.217
		Interaksi Dosis 1	Kontrol Normal*	0.001
			Kontrol Diabetes*	0.007
			Kontrol Glibenklamid	0.628
			Kontrol Mengkudu	0.154
			Interaksi Dosis 2	0.836
		Interaksi Dosis 2	Kontrol Normal*	0.001
			Kontrol Diabetes*	0.011
			Kontrol Glibenklamid	0.492
			Kontrol Mengkudu	0.217
			Interaksi Dosis 1	0.836
Kontrol Normal	Kontrol Diabetes*	0.000		
	Kontrol Glibenklamid*	0.011		
	Kontrol Mengkudu*	0.001		
	Interaksi Dosis 1	0.094		
	Interaksi Dosis 2	0.175		
	Kontrol Diabetes	Kontrol Normal*	0.000	
		Kontrol Glibenklamid*	0.005	
		Kontrol Mengkudu*	0.043	
		Interaksi Dosis 1*	0.000	
		Interaksi Dosis 2*	0.000	
Kontrol	Kontrol Normal*	0.011		

		Glibenklamid	Kontrol Diabetes*	0.005
			Kontrol Mengkudu	0.299
			Interaksi Dosis 1	0.295
			Interaksi Dosis 2	0.168
		Kontrol Mengkudu	Kontrol Normal*	0.001
			Kontrol Diabetes*	0.043
			Kontrol Glibenklamid	0.299
			Interaksi Dosis 1*	0.045
			Interaksi Dosis 2*	0.022
		Interaksi Dosis 1	Kontrol Normal	0.094
			Kontrol Diabetes*	0.000
			Kontrol Glibenklamid	0.295
			Kontrol Mengkudu*	0.045
			Interaksi Dosis 2	0.725
		Interaksi Dosis 2	Kontrol Normal	0.175
			Kontrol Diabetes*	0.000
			Kontrol Glibenklamid	0.168
			Kontrol Mengkudu*	0.022
			Interaksi Dosis 1	0.725
		22	2	Kontrol Normal
Kontrol Glibenklamid	0.756			
Kontrol Mengkudu	0.399			
Interaksi Dosis 1	0.999			
Interaksi Dosis 2	0.551			
Kontrol Diabetes	Kontrol Normal*			0.006
	Kontrol Glibenklamid*			0.003
	Kontrol Mengkudu*			0.036
	Interaksi Dosis 1*			0.006
	Interaksi Dosis 2*			0.021
Kontrol Glibenklamid	Kontrol Normal	0.756		
	Kontrol Diabetes*	0.003		
	Kontrol Mengkudu	0.254		
	Interaksi Dosis 1	0.758		
	Interaksi Dosis 2	0.369		
Kontrol	Kontrol Normal	0.399		

	Mengkudu	Kontrol Diabetes*	0.036
		Kontrol Glibenklamid	0.254
		Interaksi Dosis 1	0.398
		Interaksi Dosis 2	0.800
	Interaksi Dosis 1	Kontrol Normal	0.999
		Kontrol Diabetes*	0.006
		Kontrol Glibenklamid	0.758
		Kontrol Mengkudu	0.398
		Interaksi Dosis 2	0.550
	Interaksi Dosis 2	Kontrol Normal	0.551
		Kontrol Diabetes*	0.021
		Kontrol Glibenklamid	0.369
		Kontrol Mengkudu	0.800
		Interaksi Dosis 1	0.550

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

Lampiran 19. Uji *Kruskal-Wallis* terhadap kadar glukosa darah kelompok hewan uji

Tujuan :

Untuk mengetahui ada tidaknya perbedaan kadar glukosa darah puasa yang bermakna antar kelompok hewan uji tertentu.

Hipotesis :

$H_0$  = Data kadar glukosa darah tikus tidak berbeda bermakna

$H_a$  = Data kadar glukosa darah tikus berbeda bermakna

$\alpha$  : 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	Kesimpulan
1	2	0.053	tidak ada perbedaan bermakna
15	0	0.002	ada perbedaan bermakna
	4	0.012	ada perbedaan bermakna
22	0	0.004	ada perbedaan bermakna
	4	0.070	tidak ada perbedaan bermakna

Lampiran 20. Uji *Mann-Whitney* terhadap kadar glukosa darah kelompok hewan uji

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

$\alpha$  : 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
15	0	Kontrol Normal	Kontrol Diabetes*	0.021
			Kontrol Glibenklamid*	0.021
			Kontrol Mengkudu*	0.021
			Interaksi Dosis 1*	0.021
			Interaksi Dosis 2*	0.021
		Kontrol Diabetes	Kontrol Glibenklamid*	0.021
			Kontrol Mengkudu*	0.021
			Interaksi Dosis 1*	0.021
			Interaksi Dosis 2*	0.021
		Kontrol Glibenklamid	Kontrol Mengkudu	0.773
			Interaksi Dosis 1	0.083
			Interaksi Dosis 2*	0.043
		Kontrol Mengkudu	Interaksi Dosis 1	0.083
			Interaksi Dosis 2*	0.043
Interaksi Dosis 1	Interaksi Dosis 2	1.000		
15	4	Kontrol Normal	Kontrol Diabetes*	0.021
			Kontrol Glibenklamid*	0.021
			Kontrol Mengkudu*	0.021
			Interaksi Dosis 1	0.083
			Interaksi Dosis 2*	0.021
		Kontrol Diabetes	Kontrol Glibenklamid*	0.043

			Kontrol Mengkudu	0.564
			Interaksi Dosis1	0.248
			Interaksi Dosis 2*	0.021
		Kontrol Glibenklamid	Kontrol Mengkudu	0.149
			Interaksi Dosis 1	1.000
			Interaksi Dosis 2	0.386
		Kontrol Mengkudu	Interaksi Dosis 1	0.083
			Interaksi Dosis 2	0.083
		Interaksi Dosis 1	Interaksi Dosis 2	1.000
22	0	Kontrol Normal	Kontrol Diabetes*	0.021
			Kontrol Glibenklamid	0.059
			Kontrol Mengkudu*	0.021
			Interaksi Dosis 1	0.773
			Interaksi Dosis 2	0.773
		Kontrol Diabetes	Kontrol Glibenklamid*	0.021
			Kontrol Mengkudu*	0.021
			Interaksi Dosis 1*	0.021
			Interaksi Dosis 2*	0.021
		Kontrol Glibenklamid	Kontrol Mengkudu*	0.043
			Interaksi Dosis 1	0.083
			Interaksi Dosis 2	0.248
		Kontrol Mengkudu	Interaksi Dosis 1*	0.021
			Interaksi Dosis 2*	0.043
		Interaksi Dosis 1	Interaksi Dosis 2	0.564

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