



UNIVERSITAS INDONESIA

**EFEK PEMBERIAN SECARA ORAL KOMBINASI INFUSA
DAUN SIRIH MERAH (*Piper cf. fragile*, Benth.) DAN HERBA
PEGAGAN (*Centella asiatica*, (L.) Urb) TERHADAP
PENYEMBUHAN LUKA TIKUS PUTIH JANTAN YANG
DIBUAT DIABETES**

SKRIPSI

**NURLITASARI
0706264904**

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



UNIVERSITAS INDONESIA

**EFEK PEMBERIAN SECARA ORAL KOMBINASI INFUSA
DAUN SIRIH MERAH (*Piper cf. fragile*, Benth.) DAN HERBA
PEGAGAN (*Centella asiatica*, (L.) Urb) TERHADAP
PENYEMBUHAN LUKA TIKUS PUTIH JANTAN YANG
DIBUAT DIABETES**

SKRIPSI

Diajukan sebagai salah satu syarat untuk memperoleh gelar sarjana farmasi

**NURLITASARI
0706264904**

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

ii

HALAMAN PERNYATAAN ORISINALITAS

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

Nama : Nurlitasari

NPM : 0706264904

Tanda tangan :



Tanggal : 24 Juni 2011

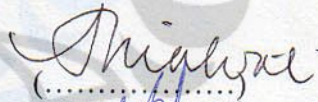
HALAMAN PENGESAHAN

Skripsi ini diajukan oleh :
Nama : Nurlitasari
NPM : 0706264904
Program Studi : Farmasi
Judul Skripsi : Efek Pemberian secara Oral Kombinasi Infusa Daun Sirih Merah (*Piper cf. fragile*, Benth) dan Herba Pegagan (*Centella asiatica*, (L.) Urb) terhadap Penyembuhan Luka Tikus Putih Jantan yang Dibuat Diabetes


Telah berhasil dipertahankan di hadapan dewan penguji dan diterima sebagai bagian persyaratan yang diperlukan untuk memperoleh gelar sarjana farmasi pada program studi farmasi, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Indonesia.

DEWAN PENGUJI

Pembimbing I : Dra. Azizahwati, M.S., Apt


(.....)

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


(.....)

Penguji I : Dr. Amarila Malik, M.Si., Apt


(.....)

Penguji II : Dra. Juheini Amin, M.Si


(.....)

Penguji III : Dr. Herman Suryadi, M.S., Apt


(.....)

Ditetapkan di : Depok

Tanggal : 27 Juni 2011

KATA PENGANTAR

“If we knew what it was we were doing, it would not be called research, would it?”

Albert Einstein

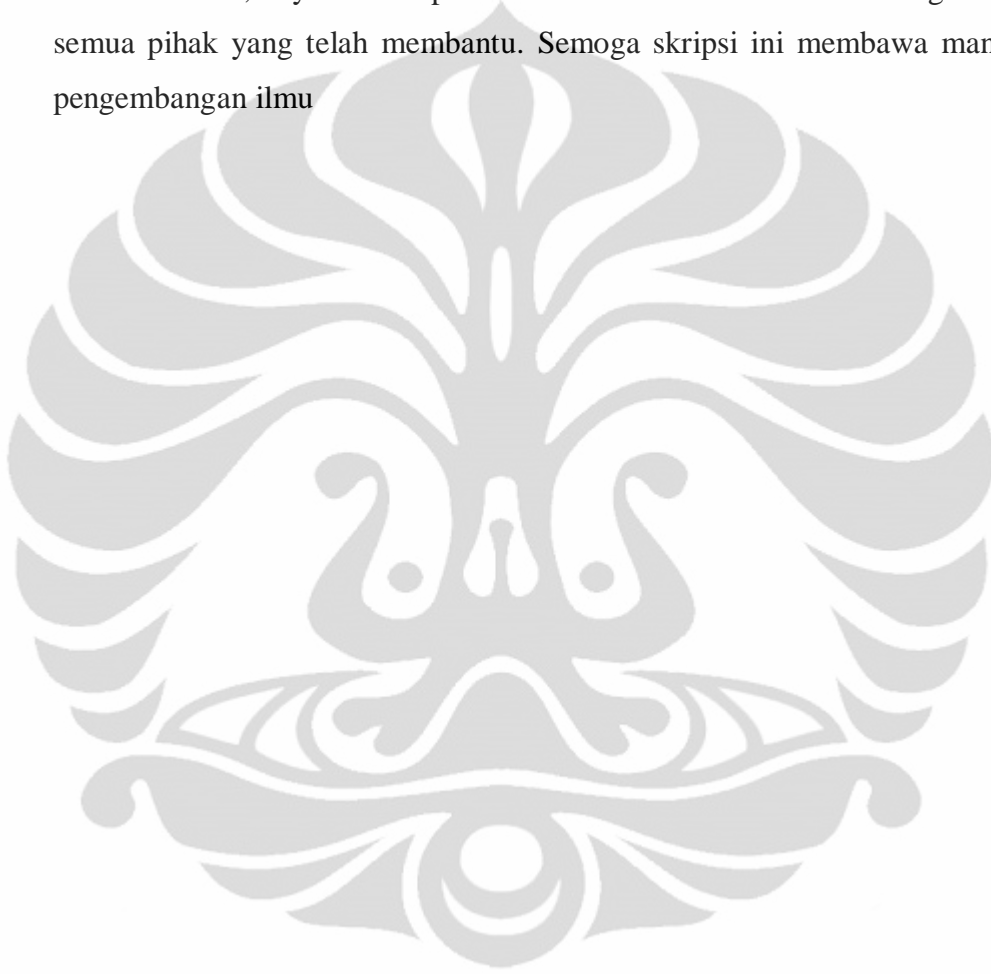
Puji syukur saya panjatkan kepada Allah SWT, karena atas berkat dan rahmat-Nya, saya dapat menyelesaikan skripsi ini. Penulisan skripsi ini dilakukan dalam rangka memenuhi salah satu syarat untuk mencapai gelar sarjana farmasi pada Departemen Farmasi Fakultas Matematika Dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Indonesia.

Saya menyadari bahwa, tanpa bantuan dan bimbingan dari berbagai pihak, dari masa perkuliahan sampai pada masa penyusunan ini, sangatlah sulit bagi saya untuk menyelesaikan skripsi ini. Oleh karena itu, saya mengucapkan terimakasih kepada:

- 1 Ibu Prof. Dr. Yahdiana Harahap, selaku Ketua Departemen Farmasi FMIPA UI, terima kasih atas kesempatan yang diberikan kepada penulis untuk melaksanakan penelitian.
- 2 Ibu Dra. Azizahwati, MS sebagai Pembimbing I, terima kasih atas segala bimbingan yang telah diberikan dengan penuh kesabaran sehingga penulis dapat menyelesaikan skripsi ini.
- 3 Bapak Dr. Abdul Mun'im, M.Si sebagai Pembimbing II, terima kasih atas segala bimbingan yang telah diberikan dengan penuh kesabaran sehingga penulis dapat menyelesaikan skripsi ini.
- 4 Dr. Iskandarsyah M.S., Apt selaku Pembimbing Akademis, terima kasih banyak atas bimbingan dan semangat yang diberikan selama empat tahun masa studi di Farmasi.
- 5 PT Mersifarma Tirmaku Mercusana yang telah memberikan bantuan bahan baku penelitian
- 6 Keluarga tercinta: ayah, ibu, dan adik yang telah memberikan semangat, dukungan, bantuan dan finansial.
- 7 Ibu dan Bapak dosen pengajar dan seluruh karyawan di Departemen Farmasi FMIPA UI, terima kasih banyak atas keikhlasan dan semua ilmu yang telah diberikan dari awal penulis menempuh pendidikan di sini.

8 Kakak-kakak farmasi (Kak Ayu, Kak Yuni, & Kak Anita), dan teman-teman KBI Farkol khususnya Dian Reni, Nikki, Farmasi UI, rekan pekatan, Akpro UI 2011, angkatan 2007 dan Bintang kecil tersayang terima kasih atas kebersamaan, semangat, dukungan, bantuan, dan keikhlasannya.

Akhir kata, saya 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 : Nurlitasari

NPM : 0706264904

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 :

Efek Pemberian secara Oral Kombinasi Infusa Daun Sirih Merah (*Piper cf. fragile*, Benth) dan Herba Pegagan (*Centella asiatica* (L.) Urb) terhadap Penyembuhan Luka Tikus Putih Jantan yang Dibuat Diabetes

Dengan Hak Bebas Royalti Noneksklusif ini Universitas Indonesia berhak menyimpan, mengalihmedia/format-kan, mengelola dalam bentuk pangkalan data (*database*), merawat, dan mempublikasikan tugas akhir saya tanpa meminta izin dari 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 : 24 Juni 2011

Yang menyatakan



(Nurlitasari)

ABSTRAK

Nama : Nurlitasari
Program Studi : Farmasi
Judul : Efek Pemberian secara Oral Kombinasi Infusa Daun Sirih Merah (*Piper cf. fragile* Benth) dan Herba Pegagan (*Centella asiatica* (L.) Urb) terhadap Penyembuhan Luka Tikus Putih Jantan yang Dibuak Diabetes

Piper cf. fragile, Benth dan *Centella asiatica*, (L.) Urb telah diketahui berpotensi menyembuhkan luka. Tujuan dari penelitian ini adalah untuk mengetahui efek penyembuhan luka diabetes dari kombinasi infusa daun *Piper cf. fragile*, Benth dan herba *Centella asiatica*, (L.) Urb pada luka tikus yang diabetes. Hewan uji dibagi menjadi 7 kelompok dan dilukai menggunakan metode Morton. Semua kelompok diinduksi aloksan secara intraperitoneal dengan dosis 32 mg/200 g BB tikus kecuali kelompok I. Kelompok I sebagai kontrol normal menerima akuades dan kelompok II sebagai kontrol induksi. Kelompok III diberi glibenklamid dengan dosis 0,9 mg/200 g BB tikus, kelompok IV diberi infusa dosis tunggal daun *Piper cf. fragile*, Benth dan kelompok V, VI dan VII diberi kombinasi infusa daun *Piper cf. fragile*, Benth dan herba *Centella asiatica*, (L.) Urb. Persentase penyembuhan luka dianalisis secara statistik dengan uji ANAVA satu arah. Hasilnya menunjukkan tidak ada perbedaan bermakna antar kelompok perlakuan selama 8 hari perlakuan.

Kata kunci: *Centella asiatica* (L.) Urb, infusa, kombinasi, luka diabetes, oral, *Piper cf. fragile* Benth, penyembuhan luka.

xiv+59 halaman : 9 gambar; 11 lampiran; 11 tabel;
Daftar acuan: 60 (1972-2011)

ABSTRACT

Name : Nurlitasari
Program Study : Pharmacy
Title : Wound Healing Effect of Perorally Administration of
Combination Sirih Merah (*Piper cf. fragile*, Benth) Leaves and
Pegagan (*Centella asiatica*, (L.) Urb) Herbs Infusions in
Diabetic Rat

Piper cf. fragile, Benth. and *Centella asiatica*, (L.) Urb were evaluated for their wound healing potential. The aim of this study was to assess the wound healing effect of a combination of *Piper cf. fragile* leaves and *Centella asiatica*, (L.) Urb herbs infusions on diabetic male rats. Rats divided into 7 groups and experimentally wounded by Morton method. All groups received intraperitoneally 32 mg/ 200 g bw of alloxan except group I. Group I was normal control received aquadest and group II was induced control. Group III received 0.9 mg/200 bw of glibenclamide, group IV had been treat with a single dose of *Piper cf. fragile*, Benth leaves infusions and group V, VI and VII had been given a combination of *Piper cf. fragile* leaves and *Centella asiatica*, (L.) Urb herbs infusions. The percentage of wound healing analyzed statistically by one way ANOVA. The result showed no significant different between groups for 8 days treatment.

Keywords ; *Centella asiatica*, (L.) Urb combination, diabetic ulcer, oral, infusions, *Piper cf. fragile*, Benth., wound healing.

xiv+59 pages ; 9 pictures; 11 tables; 11 appendix

Bibliography ; 60 (1972-2011)

DAFTAR ISI

	Halaman
HALAMAN JUDUL	i
HALAMAN PERNYATAAN ORISINALITAS	iii
HALAMAN PENGESAHAN	iv
KATA PENGANTAR	v
HALAMAN PERNYATAAN PERSETUJUAN PUBLIKASI KARYAILMIAH UNTUK KEPENTINGAN AKADEMIS	vii
ABSTRAK	viii
ABSTRACT	ix
DAFTAR ISI	x
DAFTAR GAMBAR	xii
DAFTAR TABEL	xiii
DAFTAR LAMPIRAN	xiv
BAB 1 PENDAHULUAN	1
1.1 Latar Belakang	1
1.2 Tujuan Penelitian	2
1.3 Hipotesis	3
BAB 2 TINJAUAN PUSTAKA	4
2.1 Tanaman sirih merah	4
2.1.1 Klasifikasi	4
2.1.2 Nama Lain	4
2.1.3 Morfologi	4
2.1.4 Asal dan Penyebaran	5
2.1.5 Kandungan Kimia	5
2.1.6 Penggunaan	5
2.2 Herba Pegagan	6
2.2.1 Klasifikasi	6
2.2.2 Nama daerah dan asing	6
2.2.3 Morfologi	6
2.2.4 Asal dan penyebaran	7
2.2.5 Kandungan kimia	7
2.2.6 Penggunaan	7
2.3 Diabetes melitus	8
2.3.1 Definisi	8
2.3.2 Diagnosis diabetes melitus	9
2.3.3 Komplikasi diabetes melitus	10
2.3.4 Diagnosis diabetes melitus	10
2.3.5 Pengobatan diabetes melitus	10
2.4 Uji Efek Antidiabetes	11
2.5 Kulit dan Luka	12
2.5.1 Kulit dan Lapisannya	12
2.5.2 Fungsi Kulit	13
2.5.3 Luka	14
BAB 3 METODE PENELITIAN	16
3.1 Lokasi dan Waktu Penelitian	16
3.2 Bahan	16

3.2.1 Hewan uji.....	16
3.2.2 Bahan uji.....	16
3.2.3 Bahan kimia dan bahan habis pakai	16
3.3 Rancangan Percobaan	16
3.3.1 Penyiapan Hewan Coba.....	16
3.3.2 Penetapan Dosis	17
3.3.2.1 Sirih merah.....	17
3.3.2.2 Pegagan.....	17
3.3.2.3 Glibenklamid.....	17
3.3.2.4 Aloksan Monohidrat	18
3.3.3 Pembuatan Bahan Uji.....	18
3.3.3.1 Pembuatan infusa daun sirih merah.....	18
3.3.3.2 Pembuatan infusa herba pegagan	18
3.3.3.3 Pembuatan campuran infusa sirih merah dan pegagan.....	18
3.3.3.4 Pembuatan larutan Aloksan monohidrat.....	19
3.3.3.5 Pembuatan suspensi glibenklamid.....	19
3.4 Pelaksanaan Percobaan	19
3.4.1 Cara kerja.....	19
3.4.2 Pembuatan model luka eksisi.....	21
3.4.4 Pengukuran glukosa pada tikus	22
3.4.5 Pengolahan data	22
BAB 4 HASIL DAN PEMBAHASAN.....	23
4.1 Pengukuran glukosa darah.....	23
4.2. Luas luka	25
4.3 Persentase penyembuhan luka	26
BAB 5 KESIMPULAN DAN SARAN.....	30
5.1 Kesimpulan.....	30
5.2 Saran.....	30
DAFTAR ACUAN	31

DAFTAR GAMBAR

	Halaman
Gambar 2.1. Tanaman sirih merah	5
Gambar 2.2 Tanaman Herba Pegagan	6
Gambar 2.3 Struktur kulit	13
Gambar 3.1. Pengukuran empat arah diameter luka.....	21
Gambar 4.1. Grafik rata-rata glukosa darah puasa	37
Gambar 4.2. Grafik rata-rata glukosa darah <i>post prandial</i>	38
Gambar 4.3. Grafik luas permukaan luka tikus pada semua kelompok perlakuan	39
Gambar 4.4. Grafik persentase penyembuhan luka pada semua kelompok.....	40
Gambar 4.5. Foto luka tikus pada semua kelompok perlakuan	41

DAFTAR TABEL

	Halaman
Tabel 3.1. Tabel perlakuan terhadap semua kelompok.....	20
Tabel 4.1. Kadar glukosa darah puasa rata-rata pada tiap kelompok perlakuan.....	24
Tabel 4.2. Tabel kadar glukosa <i>post prandial</i> rata-rata pada semua kelompok perlakuan.....	24
Tabel 4.3. Luas luka rata-rata tiap kelompok perlakuan	25
Table 4.4. Persentase penyembuhan luka	26
Tabel 4.5. Kadar glukosa darah puasa dan <i>post prandial</i>	41
Tabel 4.6. Tabel luas permukaan luka tiap kelompok perlakuan	44
Tabel 4.7. Persentase penyembuhan semua kelompok perlakuan selama 8 hari pengamatan	46
Tabel 4.8. Tes normalitas	52
Tabel 4.9. Tes Homogenitas	53
Tabel 5.0. Tabel hasil uji ANAVA satu arah.....	54

DAFTAR LAMPIRAN

Lampiran		Halaman
1	Dosis sirih merah dan herba pegagan.....	48
2	Pembuatan campuran bahan uji.....	50
3	Susut pengeringan.....	51
4	Uji statistik persentase penyembuhan luka seluruh kelompok uji.....	52
5	Bagan pelaksanaan percobaan.....	55
6	Sertifikat analisis Aloksan monohidrat.....	56
7	Sertifikat analisis Glibenklamid.....	57
8	Surat keterangan hewan uji.....	58
9	Surat determinasi tumbuhan.....	59

BAB 1

PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

Diabetes merupakan masalah kesehatan serius yang meningkat jumlah kasusnya. Jumlah penderita diabetes pada tahun 2010 mencapai 285 juta orang dengan angka kematian 3,9 juta orang. Jumlah penderita diabetes juga diperkirakan akan meningkat pada tahun 2030 menjadi 438 juta orang. Berdasarkan data IDF, kasus diabetes di Indonesia berada pada peringkat ke 9 dunia dengan jumlah sekitar 6.963.500 penderita dengan angka kematian 147.390 pada kelompok usia 20-79 tahun (*International Diabetes Federation*, 2010).

Diabetes yang tidak tertangani dapat mengakibatkan komplikasi makrovaskular dan mikrovaskular. Gangguan mikrovaskular meliputi neuropati, retinopati dan nefropati. Lima puluh persen penderita diabetes mengalami neuropati beberapa tahun setelah didiagnosis mengalami diabetes. Pasien yang mengalami neuropati akan kehilangan sensitivitas di daerah-daerah tertentu seperti tidak dapat merasakan panas, dingin ataupun nyeri (Dipiro, Talbert, Yee, Matzke, Wells, & Posey, 2005). Neuropati sensorik pada penderita DM ditandai dengan parestesia dan hipestesia sehingga berkurangnya kewaspadaan terhadap benda-benda yang melukai kaki. Penurunan sirkulasi darah di kaki juga menghambat proses penyembuhan luka, akibatnya kuman masuk ke dalam luka dan terjadi infeksi. Peningkatan kadar gula darah akan menghambat kerja leukosit dalam mengatasi infeksi. Luka menjadi ulkus dan terjadi perluasan infeksi hingga ke tulang (osteomielitis) bila tidak ditanggulangi (Soegondo, Soewondo, & Subekti, 2007).

Luka merupakan masalah serius bagi penderita diabetes khususnya pada daerah kaki. Menurut Foster (1995), kaki diabetes rentan terhadap infeksi. Setelah terinfeksi, penderita diabetes mungkin sulit untuk melawan infeksi karena kekurangan imunitas (Gordon & Coates, 1997). Dua puluh lima persen pasien diabetes mengalami kaki diabetes dan 85% diantaranya mengalami amputasi (Chin, & Boulton, 2009).

Prinsip terapi kaki diabetes meliputi penanganan terhadap infeksi, perawatan luka, kontrol vaskular, dan perawatan pencegahan (Frykberg, 2000). Hal tersebut diaplikasikan pada teknis terapi yang meliputi pengaturan kadar gula darah, penggunaan antiseptik dan antibiotik topikal, pembalutan, dan kontrol edema (SPILF, 2007).

Kebutuhan perawatan dan pengobatan kaki diabetes menjadi salah satu hal yang penting. Terapi herbal menjadi salah satu terapi alternatif yang tengah berkembang dan diminati. Permintaan pasien akan terapi herbal berasal dari persepsi bahwa obat herbal lebih aman dan tidak berisiko daripada obat sintetik (Schulz, Hansel, & Tyler, 2001). Selain aman karena telah digunakan secara turun temurun, penelitian terhadap khasiat herbal telah banyak dibuktikan. Tanaman yang telah diteliti dan berkhasiat menyembuhkan luka diantaranya adalah *Piper cf. fragile*, Benth (Astuti, 2010), *Curcuma longa*, (L.) (Bhagavathula et al., 2009), *Zingiber officinale*, (L.) Rosc (Bhagavathula et al., 2009), *Rubia cordifolia*, L (Karodi, Jadhay, Rub, & Bafna, 2009), *Catharanthus roseus*, (L.) G. Don (Nayak, 2006), *Centella asiatica*, (L.) Urb (Suguna, Sivakumar & Chandrakasan, 1996).

Kombinasi tanaman yang berpotensi menyembuhkan luka diantaranya adalah sirih merah dan pegagan. Penelitian sebelumnya membuktikan bahwa sirih merah mampu mempercepat penyembuhan luka (Astuti, 2010) karena aktivitasnya sebagai antimikroba (Sandeep et al., 2008; Juliantina, Citra, Nirwani, Nurmasitoh, & Bowo, n.d), antioksidan (Suratmo, n.d ; Sandeep et al., 2008) dan antiinflamasi (Sandeep et al., 2008 ; Subarnas, Yasmiwar, & Elis, n.d). Begitupula dengan pegagan memiliki khasiat serupa karena dapat meningkatkan proliferasi sel dan sintesis kolagen pada luka, antioksidan, antiinflamasi, antivirus, antiprotozoa (Jamil, Nizami, & Salam, 2007) dan antidiabetes (Chauhan, Pandev, & Dhatwalia, 2010). Kombinasi pegagan dan sirih merah diharapkan menjadi kombinasi yang baik untuk menyembuhkan luka diabetes.

1.2 TUJUAN PENELITIAN

Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui efek kombinasi dari infusa daun sirih merah dan herba pegagan yang diberikan per oral terhadap penyembuhan luka tikus putih jantan yang dibuat diabetes.

1.3 HIPOTESIS

Hipotesis penelitian ini adalah kombinasi infusa daun sirih merah dan herba pegagan yang diberikan per oral dapat menyembuhkan luka diabetes lebih baik daripada penggunaan sirih merah secara tunggal.



BAB 2 **TINJAUAN PUSTAKA**

2.1 Tanaman Sirih merah

2.1.1 Klasifikasi (Shin & Seizoburohemmi, 1986)

Kingdom: Plantae
Divisi : Magnoliophyta
Kelas : Magnoliopsida
Ordo : Piperales
Famili : Piperaceae
Genus : *Piper*
Spesies : *Piper cf. fragile*, Benth

2.1.2 Nama Lain

Piper crocatum, Ruiz & Pav. (IPNI, 2005), sirih pait (Maluku), tali pait (Maluku), gumi momadi (Ternate), sulamu tali (Ternate) (Heyne, 1987).

2.1.3 Morfologi

Tanaman sirih merah tumbuh menjalar (Sudewo, 2005) dan terbagi menjadi cabang-cabang kecil (Heyne, 1987). Batangnya hijau keunguan dan tidak berbunga. Daunnya bertangkai membentuk jantung dengan bagian atas meruncing, bertepi rata, permukaannya mengilap dan tidak berbulu. Panjang daunnya mencapai 15-20 cm. Warna daun bagian atas hijau bercorak warna putih keabu-abuan. Bagian bawah daun berwarna merah cerah. Daunnya berlendir, berasa sangat pahit dan beraroma wangi khas sirih. Batangnya bersulur dan beruas dengan jarak buku 5-10 cm. Setiap buku tumbuh bakal akar (Sudewo, 2005).



[sumber : Sudewo, 2005]

Gambar 2.1. Tanaman sirih merah

2.1.4 Asal dan Penyebaran

Tanaman ini merupakan tanaman asli Ternate dan Maluku (Heyne, 1987). Tanaman ini tumbuh di berbagai daerah di Indonesia seperti Yogyakarta, Papua, Jawa Barat, Aceh dan beberapa tempat lainnya. Tumbuh dengan baik di tempat yang teduh, tidak terlalu banyak sinar matahari (Sudewo, 2005), hutan dan dekat pantai (Heyne, 1987).

2.1.5 Kandungan Kimia

Sirih merah mengandung flavonoid, alkaloid, tanin, minyak atsiri (Sudewo, 2005), saponin, monoterpen dan seskuiterpen, polifenol, kuinon, dan steroid (Subarnas, Yasmiwar & Elis, n.d).

2.1.6 Penggunaan

Secara tradisional, sirih merah digunakan untuk mengobati penyakit diabetes melitus, jantung koroner, radang prostat, tuberkulosis, hiperurikemia, kanker rahim, kanker payudara, ambeien, penyakit ginjal, hepatitis, eksim, sakit gigi, radang gusi, sariawan, batuk, kekurangan nafsu makan, keputihan akut, demam berdarah, impotensi, kanker darah, penuaan dini, radang telinga dan penyakit kelamin (Sudewo, 2005). Berdasarkan penelitian, sirih merah berpotensi sebagai antiinflamasi (Sandeep et al, 2009; Subarnas, Yasmiwar, Elis, n.d), antioksidan (Sandeep et al, 2009 & Suratmo, n.d), antimikroba (Sandeep, 2009; Juliantina, Citra, Nirwani, Nurmasitoh, & Bowo, n.d), dan penyembuh luka diabetes (Astuti, 2010).

Universitas Indonesia

2.2 Herba Pegagan

2.2.1 Klasifikasi (Tjitrosoepomo, 1991)

Kingdom:	Plantae
Divisi :	Angiospermae
Kelas :	Dicotyledonae
Ordo :	Umbelliferae
Famili :	Apiaceae
Genus :	Centella
Spesies :	<i>Centella Asiatica</i> , (L.) Urb.



[Sumber: Duke, 2002]

Gambar 2.2. Herba Pegagan

2.2.2 Nama Daerah dan Asing

Sumatra: pegaga (Aceh), daun kaki kuda, daun penggaga, rumput kaki kuda, kaki kuda (melayu), pegago pugao (Minangkabau). Jawa: cowet gompeng, antanan, antanan bener, antanan gedae (Sunda), gagan-gagan, ganggagan, kerok batok, panegowang, panigowang, rendeng, calingan rambat, pacul gowang (Jawa), gan gagan (Madura). Nusa tenggara: bebele (sasak), paiduh penggaga (Bali), kelai lere (Sawo). Maluku: sarowati (Halmahera), kolotidi manora (Ternate). Sulawesi: pagaga, wisu-wisu (Makasar), cipubalawo (Bugis), hisu-hisu (Salayar). Irian: dogauke, gogauke, sandanan (Heyne, 1987).

2.2.3 Morfologi

Morfologi pegagan berupa herba atau semak rendah setinggi 0,1-0,8 m. Batang; berupa batang pendek atau percabangan batang merayap. Daun; tunggal, dalam susunan roset atau spiral, jumlahnya 2-10 daun, berbentuk ginjal dengan

pangkal melekok ke dalam dan lebar, tepi bergerigi 1-7 kali, panjang 5-9 cm, tangkai daun 1-50 cm panjangnya dari pangkal berbentuk pelepah. Bunga; tunggal atau majemuk terdiri dari 2-3, berhadapan dengan daun, bertangkai 0,5-5 cm, daun pembalut terdiri dari 2-3. Tangkai bunga sangat pendek. Mahkota; daun mahkota kemerahan dengan pangkal pucat dan panjangnya 1-1,5 mm. Buah; lebar lebih panjang dibanding tinggi, tinggi 3 mm, berlekuk-lekuk, merah muda kuning & berusuk (Gunawan, 2001).

2.2.4 Asal dan Penyebaran

Tumbuh liar di seluruh Indonesia serta daerah-daerah beriklim tropis pada umumnya, dari dataran rendah hingga ketinggian 2500 m di atas permukaan laut. Tumbuh di tempat sedikit terbuka atau ternaungi. Pada tanah yang lembab dan subur seperti di tegalan dan padang rumput (Depkes RI, 1977).

2.2.5 Kandungan Kimia

Herba pegagan mengandung asam triterpen; Asam asiatat, asam madekasat (Prosea Foundation, 1999) terminolat, sentelat, asam sentoat, dan asam madasiatat, alkaloid; hidrokotilin, glikosida; asiaticosida A, asiaticosida B, madekasosida, sentelosida dan flavonoid; 3-glukosilkuersetin, 3-glukosilkaemferol dan 7-glukosilkaemferol (Jamil, Nizami, & Salam 2007).

2.2.6 Penggunaan

Secara tradisional, pegagan digunakan sebagai terapi anemia, asma, bronkhitis, selulit, kolera, cacar air, konstipasi, dermatitis, diare, pusing, disentri, epilepsi, pendarahan, hepatitis, hipertensi, nefritis, rematik, penyakit syaraf, cacar, sifilis, sakit gigi, varises, antipiretik, analgesik, dan antiinflamasi (Heyne, 1987).

Berdasarkan penelitian pegagan berkhasiat menyembuhkan ulkus lambung, luka (Suguna, Sivakumar, & Chandrakasan, 1996), antitumor, peningkatan memori, neuroprotektif, kardioprotektif, hepatoprotektif, antimikroba, antioksidan (Ullah, Sultana, Haque & Tasmin, 2009), imunomodulator, radioprotektif, antiinflamasi, antialergi, antipruritis (George, Joseph & Ramaswamy, 2009), dan antipiretik (Irawati, 2008).

Triterpenoid ditemukan pada pegagan (asam asiatat, asam madekasat, dan asiaticosida) untuk mempercepat penyembuhan luka dan menurunkan tekanan darah vena. Pegagan meningkatkan sirkulasi darah kaki bagian bawah dengan menstimulasi sintesis kolagen pada dinding pembuluh darah (Ulbricht & Seamon, 2010).

2.3. Diabetes melitus

2.3.1 Definisi dan jenis-jenisnya

Diabetes melitus merupakan gangguan metabolik yang ditandai dengan kadar insulin yang tidak cukup dalam tubuh, ketidaksensitifan sel terhadap insulin atau keduanya. Hal ini terkait dengan hiperglikemia yang dapat mengakibatkan gangguan mikrovaskular dan makrovaskular (Dipiro, Talbert, Yees, Matzke, dan Posey, 2005). Diabetes dibagi menjadi 4 jenis, yaitu diabetes melitus tipe 1, diabetes melitus tipe 2, diabetes gestasional dan diabetes tipe lain (Soegondo, Soewondo, & Subekti, 2007).

1. Diabetes melitus tipe 1

Faktor pencetus DM tipe 1 diduga karena pengaruh genetik atau infeksi virus. DM tipe 1 umumnya disebabkan oleh penyakit autoimun dimana sistem imun tubuh menyerang selnya sendiri (Ulbricht, 2010) ataupun oleh virus seperti Cocksakie, Rubella, CMV, Herpes, dan lain-lain. Ada beberapa tipe otoantibodi yang dihubungkan dengan DM Tipe 1, antara lain ICCA (*Islet Cell Cytoplasmic Antibodies*), ICSA (*Islet cell surface antibodies*), dan antibodi terhadap GAD (*glutamic acid decarboxylase*). Destruksi autoimun dari sel-sel β pulau Langerhans kelenjar pankreas mengakibatkan defisiensi sekresi insulin. (Depkes RI, 2005).

2. Diabetes melitus tipe 2

Diabetes tipe 2 ditandai dengan hiperglikemia yang lambat, berangsur-angsur dan asimtomatik. Disfungsi metabolik yang menjadi pencetus penyakit ini disebabkan kombinasi antara faktor genetik dan lingkungan. Peningkatan gula darah merupakan hasil dari peningkatan resistensi insulin (Burns et al., 2008). Reseptor inaktif, reseptor yang terdesensitisasi, atau aksi insulin yang inadekuat juga menimbulkan hiperglikemia (Dipiro, Talbert, Yee, Matzke, Wells, & Posey,

2005). Selain resistensi insulin, penderita DM tipe 2 dapat mengalami gangguan sekresi insulin dan produksi glukosa hepatik yang berlebihan. Namun demikian, tidak terjadi pengrusakan sel-sel β Langerhans secara autoimun sebagaimana yang terjadi pada DM tipe 1. Dengan demikian defisiensi fungsi insulin pada penderita DM tipe 2 hanya bersifat relatif (Depkes RI, 2005).

3. Diabetes Melitus Gestasional

Diabetes melitus gestasional terjadi pada 7% kehamilan (Dipiro, Talbert, Yee, Matzke, Wells, & Posey, 2005). Diabetes melitus gestasional mengarah pada onset intoleransi glukosa selama kehamilan dan biasanya terjadi pada trimester kedua dan ketiga (Soegondo, Soewondo, & Subekti, 2007). Diabetes melitus gestasional dapat mengakibatkan malformasi kongenital, peningkatan berat badan bayi ketika lahir, meningkatnya resiko mortalitas perinatal serta peningkatan resiko diabetes pasca melahirkan bagi ibu (Depkes RI, 2005).

4. Diabetes tipe lain

Diabetes tipe lain disebabkan oleh infeksi, endokrinopati, obat, (Burns et al., 2008) zat kimia dan defek genetik sel beta (Soegondo, Soewondo, & Subekti, 2007).

2.3.2 Diagnosis Diabetes melitus

Diagnosis diabetes melitus dapat dilakukan dengan menganalisa gejala-gejala khas seperti poliuria, polidipsia, polifagia, penurunan berat badan yang tidak dapat dijelaskan sebabnya, lemah, kesemutan, gatal, mata kabur, disfungsi ereksi, dan pruritus vulva pada pasien wanita. Jika keluhan khas, pemeriksaan glukosa darah sewaktu ≥ 200 mg/dl sudah cukup untuk menegakkan diagnosis DM. Hasil pemeriksaan kadar glukosa darah puasa ≥ 126 mg/dl juga dapat digunakan sebagai parameter diagnosis DM. Pada kelompok tanpa keluhan khas DM, hasil pemeriksaan glukosa darah yang hanya satu kali saja abnormal belum cukup kuat untuk menegakkan diagnosis DM. Pemastian lebih lanjut diperlukan dengan mendapat sekali lagi angka abnormal baik kadar glukosa darah puasa ≥ 126 mg/dl, kadar glukosa sewaktu ≥ 200 mg/dl pada hari yang lain, atau dari hasil tes toleransi glukosa oral (TTGO) didapatkan kadar glukosa darah pasca pembebanan ≥ 200 mg/dl (Soegondo, Soewondo, & Subekti, 2007).

Pemeriksaan lainnya adalah pemeriksaan HbA_{1c}. Tes ini berguna untuk mengukur tingkat ikatan gula pada hemoglobin A (A_{1c}) sepanjang umur sel darah merah (120 hari). A_{1c} pada orang normal sekitar 4-8%. Semakin tinggi nilai A_{1c} ada penderita DM semakin potensial berisiko terkena komplikasi (Sutedjo, 2007).

2.3.3 Komplikasi Diabetes melitus

Diabetes yang tidak tertangani dapat mengakibatkan gangguan fungsi makrovaskular dan mikrovaskular. Komplikasi makrovaskular terkait dengan pembuluh darah seperti koroner, serebral atau pembuluh darah perifer. Penyakit makrovaskular lainnya meliputi hiperlipidemia dan hipertensi. Gangguan mikrovaskular dapat terjadi pada kedua tipe diabetes dan peningkatan durasi penyakit dapat memicu terjadinya diabetes neuropati, retinopati dan nefropati (Dipiro, Talbert, Yee, Matzke, Wells, & Posey, 2005).

Diabetes dapat menimbulkan komplikasi lain seperti ulkus kaki. Penurunan sirkulasi darah kaki menghambat proses penyembuhan luka, akibatnya kuman masuk ke dalam luka dan terjadi infeksi. Peningkatan kadar gula darah akan menghambat kerja leukosit dalam mengatasi infeksi, luka menjadi ulkus dan terjadi perluasan infeksi sampai tulang (osteomielitis) bila tidak ditanggulangi (Soegondo, Soewondo, & Subekti, 2007).

3.4 Pengobatan diabetes melitus

Penatalaksanaan terapi obat dapat dilakukan dengan pemberian insulin bagi penderita DM tipe 1 dan sebagian penderita DM tipe 2 sedangkan obat hipoglikemik oral ditujukan untuk membantu penanganan pasien DM tipe II. Farmakoterapi hipoglikemik oral dapat dilakukan dengan menggunakan satu jenis obat atau kombinasi dari dua jenis obat. Pemilihan dan penentuan rejimen hipoglikemik yang digunakan harus mempertimbangkan tingkat keparahan diabetes serta kondisi kesehatan pasien secara umum termasuk penyakit lain dan komplikasinya (Depkes RI, 2005). Berdasarkan mekanisme kerjanya, obat-obat hipoglikemik oral dapat dibagi menjadi 3 golongan, yaitu:

1. Obat yang meningkatkan sekresi insulin, meliputi obat hipoglikemik oral golongan sulfonilurea dan glinida (meglitinida dan turunan fenilalanin).

2. Obat yang dapat meningkatkan sensitifitas sel terhadap insulin, meliputi obat hipoglikemik golongan biguanida dan tiazolidindion.
3. Inhibitor katabolisme karbohidrat, antara lain inhibitor α -glukosidase yang bekerja menghambat absorpsi glukosa dan umum digunakan untuk mengendalikan hiperglikemia *post prandial* (Depkes RI, 2005).

Glibenklamid tergolong obat sulfonilurea generasi II yang memiliki potensi hipoglikemik lebih besar daripada obat generasi I. Golongan obat ini bekerja merangsang sekresi insulin dari granula sel-sel β langerhans pankreas. Rangsangannya melalui interaksinya dengan kanal sensitif ATP-K pada membran sel-sel β merangsang granula yang berisi insulin dan akan terjadi sekresi insulin (Suherman, 2007).

Glibenklamid diberikan secara oral sebagai terapi diabetes tipe 2 yang berdurasi aksi hingga 24 jam. Dosis awal bagi diabetes melitus tipe 2 adalah 2,5 – 5 mg perhari. Glibenklamid memiliki potensi 200 kali lebih kuat daripada tolbutamid dan masa paruhnya sekitar 4 jam. Metabolismenya di hepar. Pada pemberian dosis tunggal, 25% metabolitnya diekskresi melalui urin dan sisanya melalui empedu (Suherman, 2007).

2.4 Uji efek antidiabetes

Uji efek antidiabetes dapat dilakukan dengan dua metode yaitu :

1. Metode tes toleransi glukosa peroral (TTGO)

Hewan uji dipuasakan 20-24 jam lalu diberi larutan glukosa secara oral. Pada awal percobaan sebelum pemberian obat, pengukuran glukosa darah dilakukan sebagai kadar glukosa darah awal. Keadaan hiperglikemia pada uji toleransi glukosa hanya berlangsung beberapa menit setelah pemberian glukosa sebagai diabetogen (Kelompok kerja ilmiah, 1983).

2. Metode uji dengan perusakan pankreas

Metode ini dilakukan dengan memberikan diabetogen yang dapat menyebabkan pankreas hewan uji rusak sehingga terkondisi seperti pada penderita DM. Diabetogen yang banyak digunakan adalah aloksan dan streptozotosin. Streptozotosin (STZ) disintesis oleh *Streptomyces achromogenes*. Dosis tunggal intravena dosis pada tikus dewasa untuk menginduksi IDDM adalah antara 40

dan 60 mg/kg BB tikus tetapi dosis yang lebih tinggi juga dapat digunakan. Dosis STZ sebesar 50 mg/kg BB secara intravena pada tikus mengakibatkan peningkatan glukosa darah 15 mM setelah 2 minggu induksi (Szudelzki, 2000).

Diabetogen lain yang lazim digunakan adalah aloksan, karena dapat menimbulkan hiperglikemi dalam waktu dua hingga tiga hari. Jenis hewan perobaan meliputi mencit, tikus, kelinci, dan anjing. Pemberian aloksan sebesar 150 mg/kg BB secara intraperitoneal pada tikus dapat meningkatkan kadar gula darah secara signifikan (Kelompok kerja ilmiah, 1983). Efek diabetogeniknya bersifat antagonis dengan glutathion yang bereaksi dengan gugus SH nya. Mekanisme aksi yang menimbulkan perusakan yang selektif belum diketahui dengan jelas. Beberapa hipotesis tentang mekanisme aksi yang telah diajukan antara lain: pembentukan khelat terhadap Zn, interferensi dengan enzim-enzim sel serta deaminasi dan dekarboksilasi asam amino. Perusakan sel pankreas secara selektif oleh aloksan belum banyak diketahui. Penelitian terhadap mekanisme kerja aloksan secara invitro menunjukkan bahwa aloksan menginduksi pengeluaran ion kalsium dari mitokondria yang mengakibatkan proses oksidasi sel terganggu. Keluarnya ion kalsium dari mitokondria ini mengakibatkan gangguan homeostatis yang merupakan awal matinya sel (Suharmiati, 2003).

2.5 Kulit dan luka

2.5.1 Kulit dan lapisannya

Kulit memiliki dua lapisan yaitu lapisan terluar (epidermis) dan lapisan dalam (dermis). Tiap lapisan terdiri dari jaringan dengan fungsi yang berbeda.

1 Epidermis

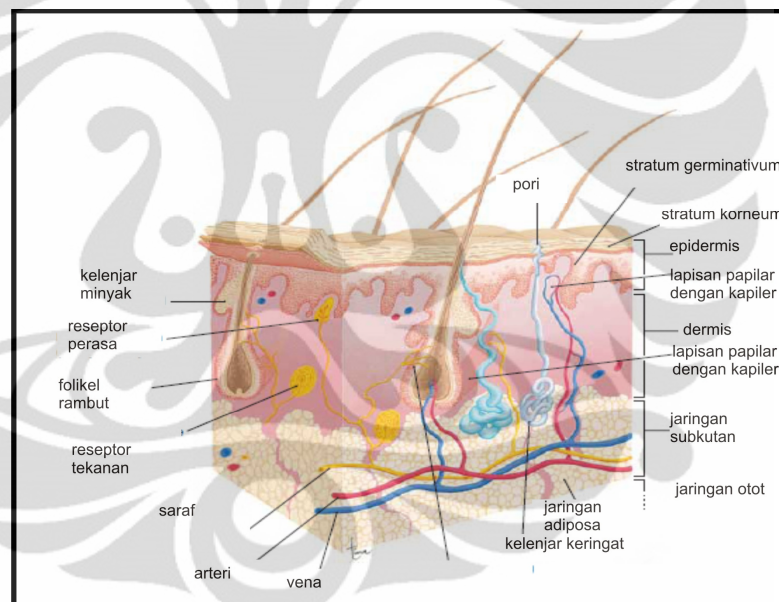
Lapisan sel epidermis tidak memiliki pembuluh darah. Bagian sel terluar terdiri dari sel mati, sel terkeratinasi dan *cornified cell*. Epidermis dibagi menjadi 5 lapisan struktural dan fungsional dari bagian terluar hingga terdalam yaitu stratum korneum, stratum lusidum, stratum granulosum, stratum spinosum, dan stratum basal. Stratum korneum berfungsi mencegah masuknya air dan patogen sedangkan stratum basal berfungsi dalam mitosis sel. Antara stratum basal dan spinosum terdapat melanosit yang menghasilkan melanin (de Graaf, Van & Rhees, 2001).

2. Dermis

Lapisan ini terbagi menjadi lapisan papila dan lapisan retikular yang terdiri dari jaringan pengikat ter vascularisasi, sel-sel hidup, serat kolagen, elastin dan retikular. Dermis juga memiliki sejumlah kelenjar minyak, keringat, folikel rambut dan reseptor (de Graaf, Van & Rhees, 2001).

3. Hipodermis

Hipodermis terdiri dari jaringan pengikat, jaringan lemak, pembuluh darah dan limfa. Serat kolagen dan elastin memperkuat hipodermis. Hipodermis berfungsi sebagai penghubung antara otot dan kulit, menyimpan energi dalam bentuk lemak, mengandung sel mast yang melepaskan histamin leukotrien dan agen inflamasi (Scanlon & Sanders, 2007) serta termoregulasi (de Graaf, Van & Rhees, 2001).



[Sumber: Scanlon & Sanders, 2007]

Gambar 2.3. Struktur kulit (telah diolah kembali)

2.5.2 Fungsi Kulit

Fungsi integumen meliputi proteksi fisik, hidoregulasi, termoregulasi, absorpsi kutan, sintesis dan penerimaan sensorik. Kulit merupakan penghalang fisik bagi sebagian besar mikroorganisme, air, dan sinar UV. Permukaan yang asam (pH 4,0-6,8) memperlambat pertumbuhan patogen. Kulit melindungi tubuh dari dehidrasi. Temperatur normal tubuh 37°C dan terjaga dengan adanya aktivitas menggigil dan berkeringat melalui vasodilatasi dan vasokonstriksi pembuluh

Universitas Indonesia

darah di kulit. Kulit mengabsorpsi sejumlah cahaya UV untuk sintesis vitamin D. Kulit mensintesis melanin (pigmen protektif) dan keratin (protein protektif). Sejumlah reseptor sensoris terdapat di kulit terutama wajah, telapak tangan, jari, telapak kaki dan genitalia. Kulit juga terkait dengan sistem tubuh lainnya untuk memenuhi fungsi sistem sirkulasi, sistem imun dan sistem saraf (de Graaf, Van & Rhees, 2001).

2.5.3 Luka

Luka adalah hasil cedera baik iatrogenik atau alami (Man, 2009). Terdapat 3 tahap penyembuhan luka (Mac Kay & Miller, 2003).

1. Tahap inflamasi

Luka pada jaringan dimulai dengan pembersihan luka dari jaringan mati dan material asing untuk penyembuhan dan regenerasi. Respon vaskular awal melibatkan vasokonstriksi dalam waktu singkat. Periode vasokonstriksi selama 5-10 menit diikuti oleh vasodilatasi aktif disertai dengan peningkatan permeabilitas kapiler. Tahap kedua dari fase inflamasi, ditunjukkan dengan eritema, bengkak, rasa hangat, dan rasa sakit. Peningkatan respon inflamasi permeabilitas vaskular menyebabkan migrasi neutrofil dan monosit ke dalam jaringan sekitarnya. Neutrofil membersihkan jaringan mati dan mikroorganisme serta menyediakan garis pertahanan pertama terhadap infeksi. Migrasi neutrofil berhenti pada hari pertama pasca cedera jika luka tidak terkontaminasi. Fase akut inflamasi berlanjut, karena luka hipoksia, infeksi, kekurangan gizi, penggunaan obat, atau faktor yang berhubungan dengan respon imun pasien, yang dapat mengganggu dengan fase akhir inflamasi.

Pada akhir fase inflamasi, monosit menjadi makrofag di dalam jaringan, yang membunuh bakteri patogen, membersihkan jaringan mati dan menghancurkan neutrofil yang tersisa. Makrofag memulai transisi dari peradangan luka menjadi perbaikan luka dengan mengeluarkan berbagai zat kemotaksis dan faktor pertumbuhan yang merangsang migrasi sel, proliferasi, serta pembentukan matriks jaringan (Mac Kay & Miller, 2003)

2. Tahap proliferasi

Tahap selanjutnya adalah proliferasi yang didominasi oleh pembentukan jaringan granulasi dan epitelisasi. Durasinya tergantung ukuran luka. Zat kemotaktik dan faktor pertumbuhan dilepaskan oleh platelet dan makrofag untuk merangsang migrasi dan aktivasi fibroblas yang menghasilkan berbagai zat penting untuk perbaikan luka seperti glukosaminoglikan dan kolagen. Pertumbuhan kapiler baru harus bersamaan dengan peningkatan fibroblas menuju luka untuk memberikan kebutuhan metabolik.

Sintesis kolagen bertanggung jawab atas integritas vaskular dan kekuatan bantalan kapiler baru. Awal fase proliferasi aktivitas fibroblast terbatas pada replikasi dan migrasi seluler. Sekitar hari ketiga setelah luka, massa sel fibroblas mulai mensintesis dan mengeluarkan sejumlah kolagen. Tingkat kolagen meningkat selama kurang lebih tiga minggu. Jumlah kolagen yang dikeluarkan selama periode ini menentukan kekuatan tarik pada luka (Mac Kay & Miller, 2003).

3. Tahap Renovasi

Tahap ini merupakan tahap akhir penyembuhan luka, termasuk reorganisasi serat kolagen baru dan membentuk kisi yang lebih terorganisir (Mac Kay & Miller, 2003).

BAB 3 METODE PENELITIAN

3.1 Lokasi dan waktu penelitian

Penelitian ini dilaksanakan di Laboratorium Farmakologi dan Laboratorium Fitokimia Departemen Farmasi Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Indonesia mulai bulan Februari hingga Mei 2011.

3.2 Bahan

3.2.1 Hewan uji

Hewan uji pada penelitian ini adalah tikus putih jantan (*Rattus novergicus*) galur *Sprague dawley* yang berusia 3 bulan dengan berat 160-250 gram. Tikus putih jantan diperoleh di Fakultas Peternakan Institut Pertanian Bogor.

3.2.2 Bahan uji

Bahan yang digunakan adalah daun sirih merah (*Piper cf. fragile*, Benth) dan herba pegagan (*Centella asiatica*, (L.) Urb). Daun sirih merah dan herba pegagan segar diperoleh dari Balai Penelitian Tanaman Obat dan Aromatik (BALITTRO), Jalan Tentara Pelajar No. 3, Bogor. Simplisia tersebut dideterminasi di LIPI Pusat Penelitian Biologi, Jalan Raya Bogor Km.46, Cibinong.

3.2.3 Bahan kimia dan Bahan habis pakai

Bahan kimia dalam percobaan ini adalah aloksan monohidrat (Sigma-Aldrich), akuades, natrium klorida 0,9% (PT. Widatra Bhakti), strip glukometer (Accu check), glibenklamid (PT. Mersi Farma Tirmaku Mercusuaana), CMC (Brataco), eter, plester, dan kain kasa steril.

3.3 Rancangan Percobaan

3.3.1 Penyiapan hewan coba

Tikus sebanyak 40 ekor diaklimatisasi selama 14 hari di Laboratorium Farmakologi Departemen Farmasi FMIPA UI. Setiap tikus diberi makan dan

ditimbang berat badannya dan diamati kondisi umumnya. Tikus yang digunakan dalam penelitian harus sehat dengan tanda-tanda bulu tidak berdiri, warna putih bersih, mata jernih, dan tingkah laku normal. Tikus yang sehat dikelompokkan menjadi tujuh kelompok perlakuan dan jumlah ulangan tiap kelompok ditentukan berdasarkan rumus empiris Federer dengan perhitungan sebagai berikut:

$$(t - 1)(n - 1) \geq 15 \quad (3.1) \quad \text{Keterangan :}$$

$$(7 - 1)(n - 1) \geq 15 \quad t = \text{jumlah kelompok}$$

$$6n - 6 \geq 15 \quad n = \text{banyak sampel}$$

$$6n \geq 21$$

$$n \geq 3,5 \approx 4$$

Jadi jumlah tikus dalam tiap kelompok adalah 4 ekor .

3.3.2 Penetapan dosis

3.3.2.1 Sirih merah

Berdasarkan penelitian sebelumnya, dosis oral daun sirih merah yang efektif untuk penyembuhan luka diabetes pada tikus adalah 0,432 g/200 g BB tikus/hari (Astuti, 2010).

3.3.2.2 Pegagan

Dosis empiris yang digunakan di masyarakat sebanyak 1,5 gram herba kering direbus dalam 450 ml air untuk sekali sehari. Dosis tersebut dijadikan dosis kedua. Dosis pertama sebesar setengah dari dosis kedua yaitu 0,75 gram daun kering/hari dan dosis ketiga sebesar dua kali dosis kedua yaitu 3 gram daun kering/hari. Berdasarkan konversi (*Department of Health and Human Services*, 2005), dosis oral pegagan untuk tikus yaitu dosis 1; 0,135 g/200 g BB tikus/hari, dosis 2; 0,27 g/200 g BB tikus/hari dan dosis 3; 0,54 g/200 g BB tikus/hari. Perhitungan dosis pegagan dapat dilihat pada lampiran 1.

3.3.2.3 Glibenklamid

Dosis Glibenklamid pada manusia yaitu 5 mg/hari. Setelah dikonversi dan dikali faktor farmakokinetik 10 (*Department of Health and Human Services*, 2005), dosisnya menjadi 0,90 mg/200 g BB tikus/ hari.

3.3.2.4 Aloksan monohidrat

Dosis aloksan yang digunakan adalah 32 mg/200g BB tikus secara intraperitoneal dengan konsentrasi 40 mg/ml.

3.3.3 Pembuatan bahan uji

3.3.3.1 Pembuatan infusa daun sirih merah

Daun sirih merah kering dihaluskan menggunakan blender. Kemudian, simplisia daun sirih merah sebanyak 8,64 gram ditimbang dan ditempatkan pada gelas beker. Simplisia tersebut dicampur dengan akuades 30 ml, lalu dipanaskan diatas tangas air selama 15 menit terhitung mulai suhu mencapai 90° C sambil sekali-sekali diaduk. Karena mengandung minyak atsiri, infusa diserukai setelah dingin dengan menggunakan kain flanel. Kemudian akuades panas ditambahkan secukupnya pada ampas. Ampas diserukai kembali dan ditambahkan pada hasil infusa pertama hingga diperoleh volum sebanyak 30 ml (Depkes, 1979). Infusa tersebut kemudian diuapkan di penangas pada suhu sekitar 50° C hingga volum 20 ml.

3.3.3.2 Pembuatan infusa herba pegagan

Herba pegagan kering dihaluskan menggunakan blender. Kemudian simplisia herba pegagan sebanyak 21,6 gram ditimbang dan ditempatkan pada gelas beker. Simplisia tersebut dicampur dengan akuades 40 ml lalu dipanaskan diatas tangas air selama 15 menit terhitung mulai suhu mencapai 90° C sambil sesekali diaduk. Karena mengandung minyak atsiri, maka infusa diserukai setelah dingin dengan menggunakan kain flanel. Kemudian akuades panas ditambahkan secukupnya pada ampas. Ampas diserukai kembali dan ditambahkan pada infusa hasil perasan pertama hingga diperoleh volum infusa sebanyak 40 ml (Depkes, 1979).

3.3.3.3 Pembuatan campuran infusa sirih merah dan pegagan

Infusa sirih merah dan herba pegagan yang telah dibuat, dicampur dengan perbandingan 1:1. Proses pembuatan campuran dapat dilihat pada lampiran 2 .

3.3.3.4 Pembuatan larutan Aloksan monohidrat

Aloksan monohidrat ditimbang 0,2 gram lalu dilarutkan dalam larutan fisiologis (NaCl 0,9%) hingga 5 ml sehingga diperoleh konsentrasi 40 mg/ml.

3.3.3.5 Pembuatan suspensi Glibenklamid

Glibenklamid disuspensikan dalam CMC 0,5%. Konsentrasi glibenklamid 0,9 mg/ml. Volum yang diberikan secara peroral sebanyak 1 ml untuk tikus dengan berat badan 200 g.

3.4 Pelaksanaan percobaan

3.4.1 Cara kerja

Pada uji ini, tikus dipilih secara acak dan dikelompokkan. Uji ini menggunakan satu kelompok kontrol normal, satu kelompok kontrol induksi (tanpa pengobatan), satu kelompok kontrol glibenklamid, satu kelompok kontrol infusa daun sirih merah, dan tiga kelompok variasi dosis kombinasi. Masing-masing kelompok terdiri dari 4 ekor tikus putih jantan.

Pelaksanaan percobaan dilakukan selama 32 hari. Berikut ini langkah pelaksanaan percobaan yang dilakukan.

1. Tikus yang sehat diaklimatisasi selama 14 hari. Sebelum diinduksi, tikus sehat dipilih secara acak lalu dipuasakan selama 13 jam.
2. Pada hari ke-15, 6 dari semua kelompok perlakuan kecuali kelompok normal diinduksi aloksan secara intraperitoneal dengan dosis 32 mg/200 BB tikus. Kadar glukosa darah puasa dan *post prandial* diukur menggunakan glukometer.
3. Pada hari ke-17 kadar glukosa darah puasa dan *post prandial* setiap tikus diperiksa kembali untuk mengetahui efek diabetogenik aloksan.
4. Kadar glukosa darah puasa dan *post prandial* tikus diukur pada hari ke-21 untuk memastikan bahwa tikus masih mengalami hiperglikemik.
5. Sehari kemudian (hari ke-22), rambut tikus dicukur.
6. Keesokan harinya punggung tikus dibuat luka (hari ke-23) menggunakan metode Morton (Morton & Malone, 1972).

7. Hari ke 24 hingga hari ke-31, tikus diberi perlakuan sesuai kelompok masing-masing dan diukur diameter lukanya. Perlakuan tiap kelompok tikus dapat dilihat pada tabel 3.1. Selama perlakuan, luka tikus dibersihkan dengan cara membasuhnya dengan NaCl steril 0,9%.
8. Pada hari ke-32 pengukuran glukosa darah puasa dan *post prandial* dilakukan kembali.

Tabel 3.1 Tabel perlakuan terhadap semua kelompok

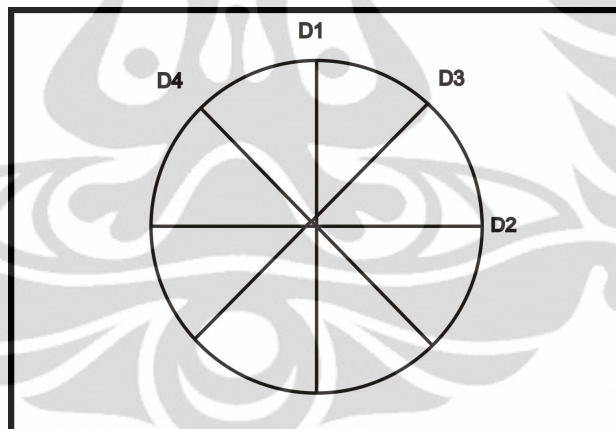
No	Kelompok	Jumlah tikus	Perlakuan
1	Kelompok kontrol normal (kk1)	4	Diberi akuades
2	Kelompok kontrol negatif (kk2)	4	Diberi akuades
3	Kelompok kontrol glibenklamid (kk3)	4	Diberi glibenklamid 0,9 mg/200 g BB tikus/hari sebagai obat antidiabetes.
4	Kelompok kontrol sirih merah (kk4)	4	Diberi infusa daun sirih merah dengan dosis tunggal 0,432 g/200 g BB tikus/hari
5	Kelompok dosis 1 (kk5)	4	Diberi infusa daun sirih merah dengan dosis 0,432g/ 200g BB tikus/hari dan infusa herba pegagan 0,135 g/200 g BB tikus/hari
6	Kelompok dosis 2 (kk6)	4	Diberi infusa daun sirih merah dengan dosis 0,432 g/200g BB tikus/hari dan infusa herba pegagan 0,27 g/200 g BB tikus/hari
7	Kelompok dosis 3 (kk7)	4	Diberi infusa daun sirih merah dengan dosis 0,432 g/200g BB tikus/hari dan infusa herba pegagan 0,54 g/200 g BB tikus/hari

3.4.2 Pembuatan model luka eksisi

Menurut metode Morton (Morton & Malone, 1972), penentuan efek penyembuhan luka dilakukan dengan cara sebagai berikut :

- a. Rambut tikus dicukur di daerah punggung bagian atas (sehari sebelum pembuatan luka).
- b. Tikus dibius menggunakan eter sebagai penganastesi.
- c. Sebelum dibuat luka, bagian yang dicukur, dibersihkan terlebih dahulu dengan alkohol 70%. Luka berbentuk lingkaran dibuat dengan diameter 2 cm. Pembuatan luka dibuat dengan cara mengangkat lapisan kulit hingga bagian subkutis (dermis serta jaringan ikat) menggunakan pinset dan gunting bedah

Evaluasi efek penyembuhan luka dilakukan dengan analisis data luas luka atau persentase penyembuhan luka. Pola pengukuran diameter luka ditampilkan pada gambar 3.1.



Keterangan:

- D1 : Diameter vertikal
 D2 : Diameter horizontal
 D3 & D4 : Diameter diagonal

Gambar 3.1. Pengukuran empat arah diameter luka

Cara Penilaian Luka :

$$\begin{aligned} \text{Luas luka} &= \pi \times r^2 = \pi \times (1/2 D)^2 = 1/4 \pi D^2 \\ &= 0,7854 D^2 \end{aligned}$$

(3.2)

$$\text{Persentase penyembuhan luka} = \frac{d1^2 - d2^2}{d1^2} \times 100\% \quad (3.3)$$

keterangan :

r = jari-jari

D = Diameter rata-rata D1, D2, D3 dan D4

d1 = diameter luka sehari setelah dibuat

d2 = diameter luka pada hari dilakukan pengamatan

3.4.3 Pengukuran kadar glukosa darah pada tikus

Tikus dimasukkan ke dalam kotak hewan. Ekor tikus dibersihkan dengan alkohol 70%, ditunggu mengering, kemudian ekor ditoreh menggunakan pisau bedah. Darah diteteskan pada strip glukometer yang sudah aktif dan secara otomatis kadar glukosa darah tertera pada glukometer.

3.5 Pengolahan data

Hasil percobaan dihitung secara statistik, yaitu dengan menggunakan uji distribusi normal dan uji homogenitas. Apabila kedua uji ini terpenuhi kemudian dilanjutkan dengan uji ANAVA satu arah untuk melihat perbedaan antar kelompok.

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

BAB 4

HASIL DAN PEMBAHASAN

4.1 Pengukuran glukosa darah

Metode pengukuran glukosa darah terdiri dari beberapa macam diantaranya metode kondensasi gugus amin, metode enzimatik, metode reduksi maupun metode pemisahan glukosa (Widowati, Dzulkarnain, & Sa'roni, 1997). Pengukuran glukosa darah dengan glukometer menjadi salah satu cara alternatif untuk memastikan kondisi hiperglikemik serta mengetahui kadar glukosa darah. Pengukuran menggunakan glukometer menjadi cara alternatif untuk mengetahui kadar glukosa darah. Pengukuran glukosa darah dilakukan sebanyak 4 kali yaitu 1 kali sebelum induksi, 2 kali setelah induksi dan 1 kali setelah perlakuan.

Pada hari 1 (T1) pengukuran glukosa darah puasa dilakukan untuk mengetahui kondisi kadar glukosa awal sebelum induksi diabetogen dan kadar glukosa darah *post prandial* setelah induksi. Induksi dilakukan kepada semua kelompok perlakuan kecuali kelompok normal. Diabetogen yang digunakan adalah aloksan karena menimbulkan hiperglikemi yang permanen dalam waktu dua hingga tiga hari (Kelompok kerja ilmiah, 1983). Induksi aloksan dilakukan secara intraperitoneal dengan dosis 32 mg/200g BB tikus/hari dan konsentrasi 40 mg/ml. Pemberian dilakukan dengan konsentrasi tersebut karena berdasarkan uji pendahuluan, konsentrasi tersebut mampu memberikan efek diabetogenik lebih baik daripada konsentrasi yang lebih encer. Selain itu, larutan diberikan pada suhu dingin karena aloksan bersifat hidrofilik dan tidak stabil. Waktu paruhnya pada pH netral dan suhu 37°C adalah 1,5 menit dan $t_{1/2}$ akan lebih lama pada temperatur lebih rendah (Szkudelski, 2000).

Pada hari ke-3 (T3) dilakukan pengukuran glukosa darah untuk mengetahui efek induksi diabetogen. Pada tabel 4.1 terlihat adanya peningkatan glukosa dibandingkan hari ke-1 (T1). Peningkatan glukosa pada tikus yang diabetes dari hari ke-1 (T1) hingga hari-3 (T3) rata-rata mencapai 403,75 mg/dl. Peningkatan ini disebabkan oleh mekanisme kerja dari aloksan. Berdasarkan penelitian secara invitro, aloksan menginduksi pengeluaran ion kalsium dari mitokondria yang mengakibatkan proses oksidasi sel terganggu (Suharmati, 1993). Aktivitas spesies oksigen reaktif dengan peningkatan konsentrasi kalsium

sitosol yang kuat dan simultan menjadi penyebab kerusakan sel β (Szkudelski, 2000). Pengukuran glukosa darah dilakukan kembali pada hari ke-7 (T7), untuk memastikan bahwa tikus masih berada pada kondisi hiperglikemik sebelum perlakuan.

Tabel 4.1 Kadar glukosa darah puasa rata-rata pada tiap kelompok perlakuan

Perlakuan	T1	T3	T7	T18
Kontrol Normal	90,0 \pm 9,1	92,5 \pm 17,1	103,8 \pm 21,4	78,5 \pm 8,35
Kontrol Induksi*	89,0 \pm 6,7	488,75 \pm 91,5	433,5 \pm 91,2	344,0 \pm 45,0
Kontrol Glibenklamid*	104,5 \pm 30,1	366,25 \pm 116,8	397,5 \pm 55,9	266,5 \pm 127,3
Kontrol Sirih merah*	100,5 \pm 14,6	421 \pm 122,2	360,8 \pm 170,7	229,3 \pm 107,7
Kontrol dosis 1*	85,3 \pm 8,5	355,0 \pm 76,2	287,8 \pm 152,4	112,3 \pm 64,8
Kontrol dosis 2*	96,0 \pm 17,6	356,0 \pm 94,3	330,8 \pm 124,1	151,8 \pm 107,7
Kontrol dosis 3*	87,5 \pm 7,7	416,0 \pm 170,7	400,5 \pm 192,2	176,0 \pm 93,4

Keterangan : * tikus yang dibuat diabetes

T1 : Hari saat induksi aloksan

T3 : Hari ke-3 pasca induksi

T7 : Hari ke-7 pasca induksi

T18: 1 Hari setelah perlakuan (T10 hingga T17)

Tabel 4.2 Kadar glukosa darah post prandial rata-rata pada tiap kelompok perlakuan

Perlakuan	T1	T3	T7	T18
Kontrol Normal	135,0 \pm 8,5	120,8 \pm 5,7	139,0 \pm 26,2	119,5 \pm 32,8
Kontrol Induksi*	367,5 \pm 80,67	508,0 \pm 113,5	449,0 \pm 46,3	435,0 \pm 69,0
Kontrol Glibenklamid*	315,0 \pm 115,5	410,3 \pm 143,1	485,0 \pm 67,3	319,3 \pm 177,4
Kontrol Sirih merah*	455,5 \pm 48,1	513,3 \pm 83,7	494,3 \pm 119,9	430,3 \pm 132,7
Kontrol dosis 1*	271,8 \pm 187,7	460,8 \pm 66,9	429,8 \pm 78,5	301,5 \pm 192,2
Kontrol dosis 2*	385,3 \pm 65,1	417,3 \pm 48,3	331,5 \pm 66,1	228,8 \pm 118,0
Kontrol dosis 3*	202,3 \pm 86,5	401,3 \pm 190,9	491,5 \pm 104,5	318,8 \pm 47,5

Keterangan : * tikus yang dibuat diabetes

T1 : Hari saat induksi aloksan

T3 : Hari ke-3 pasca induksi

T7 : Hari ke-7 pasca induksi

T18: 1 Hari setelah perlakuan (T10 hingga T17)

Pada hari ke-7 (T7), enam kelompok perlakuan masih mengalami diabetes. Hal tersebut terlihat dari tingginya kadar glukosa puasa. Setelah perlakuan (T18),

Universitas Indonesia

setiap kelompok perlakuan diukur kadar glukosa darah untuk mengetahui efek penurunan kadar glukosa kombinasi infusa daun sirih merah dan herba pegagan. Rata-rata penurunan kadar glukosa darah tertinggi terjadi pada kelompok dosis 3, yakni sebesar 224,5 mg/dl.

Beberapa kelompok perlakuan mengalami penurunan glukosa darah secara signifikan pada hari ke-7. Hal ini disebabkan oleh penyembuhan spontan pada tikus dan mencit yang diinduksi aloksan. Menurut Lazzarrow (1952), penyembuhan diabetes diduga karena multiplikasi sel β pasca induksi (Dinesh, 2011).

Berdasarkan tabel 4.1, setiap kelompok perlakuan berada dalam kondisi diabetes kecuali kelompok normal setelah perlakuan (T18). Ini menunjukkan bahwa kombinasi sirih merah dan pegagan dapat menurunkan glukosa darah tapi tidak dapat mencapai keadaan normal selama satu minggu perlakuan.

4.2 Luas Luka

Berdasarkan metode Malone & Morton (1972), evaluasi efek penyembuhan luka dihitung dari luas permukaan luka dan persentase penyembuhan.

Tabel 4.3 Luas Luka rata-rata tiap kelompok perlakuan

Hari	Kontrol Normal (kk1)	Kontrol induksi* (kk2)	Kontrol Glibenklamid* (kk3)	Kontrol Sirih merah* (kk4)	Kontrol Dosis 1* (kd1)	Kontrol Dosis 2* (kd2)	Kontrol Dosis 3* (kd3)
H1	4,78 ± 1,10	4,70±0,98	5,63 ± 1,05	5,61 ± 0,78	4,65 ± 0,89	4,83 ± 0,82	5,28± 1,69
H2	4,57 ± 0,79	4,63±0,99	5,09 ± 0,46	4,99 ± 0,73	4,43 ± 1,24	4,54 ± 0,94	4,72 ± 1,28
H3	4,02 ± 0,65	4,59±1,14	4,48 ± 0,51	5,02 ± 0,80	4,16 ± 1,04	4,18±0,64	4,74 ± 1,27
H4	3,81 ± 0,59	4,03±0,67	4,01 ± 0,47	4,91 ± 1,04	3,68 ± 1,20	3,89±0,57	4,57 ± 1,32
H5	3,63 ±0,59	3,84±0,44	3,59 ± 0,92	4,27 ± 0,95	3,34 ± 1,12	3,90 ± 1,55	4,32 ± 1,03
H6	3,52 ± 0,24	3,21±0,39	3,52 ± 0,72	4,01 ± 0,78	2,97 ± 1,01	3,50 ± 1,00	4,07 ± 0,90
H7	3,36 ± 0,73	3,24±0,21	3,39 ± 0,71	3,95 ± 0,76	2,79 ± 0,89	3,23 ± 0,90	3,74 ± 0,64
H8	2,59 ± 0,55	2,88±0,59	3,16 ± 0,93	3,70 ± 0,79	2,24 ± 1,16	2,75 ± 1,05	3,33 ± 0,72

Keterangan : * tikus yang dibuat diabetes
Hn : Hari perlakuan ke-n

Data rata-rata luas luka pada seluruh kelompok hewan uji dapat dilihat pada tabel, Data rata-rata luas luka pada hari ke-8 perlakuan dari yang terkecil hingga yang terbesar yaitu $2,24 \pm 1,16$ (kontrol dosis 1), $2,59 \pm 0,55$ (kontrol normal), $2,75 \pm 1,05$ (kontrol dosis 2), $2,88 \pm 0,59$ (kontrol induksi), $3,16 \pm 0,93$ (kontrol glibenklamid), $3,33 \pm 0,72$ (kontrol dosis 3) dan $3,70 \pm 0,79$ (kontrol sirih merah)

4.3 Persentase penyembuhan luka

Data rata-rata persentase penyembuhan luka pada seluruh kelompok hewan uji dapat dilihat pada tabel 4.4. Data rata-rata persentase penyembuhan luka pada hari ke-7 pengamatan dari yang terbesar hingga yang terkecil yaitu kontrol dosis 1 ($58,08 \pm 18,06$), kontrol glibenklamid ($49,98 \pm 23,84$), kontrol normal ($48,05 \pm 14,53$), kontrol dosis 2 ($44,71 \pm 12,53$), kontrol dosis 3 ($35,99 \pm 16,75$), kontrol sirih merah ($34,33 \pm 9,09$) dan kontrol induksi ($33,14 \pm 15,64$).

Table 4.4 Persentase penyembuhan luka tiap kelompok perlakuan

Hari	Kontrol Normal (kk1)	Kontrol Induksi (kk2)	Kontrol Glibenklamid (kk3)	Kontrol Sirih merah (kk4)	Kontrol Dosis 1 (kd1)	Kontrol Dosis 2 (kd2)	Kontrol Dosis 3 (kd3)
H1	$6,72 \pm 3,32$	$1,31 \pm 1,38$	$6,42 \pm 11,77$	$10,53 \pm 12,38$	$5,74 \pm 9,62$	$5,50 \pm 10,23$	$10,04 \pm 6,52$
H2	$15,86 \pm 5,57$	$3,52 \pm 3,97$	$17,33 \pm 17,80$	$9,60 \pm 16,50$	$14,36 \pm 11,71$	$12,89 \pm 10,10$	$10,04 \pm 3,98$
H3	$22,50 \pm 5,71$	$11,59 \pm 3,81$	$26,17 \pm 16,95$	$12,51 \pm 15,05$	$26,63 \pm 12,86$	$18,68 \pm 10,34$	$13,92 \pm 8,22$
H4	$24,79 \pm 3,78$	$13,28 \pm 7,73$	$39,21 \pm 22,27$	$23,25 \pm 16,12$	$33,47 \pm 9,63$	$24,01 \pm 13,32$	$18,97 \pm 11,04$
H5	$31,34 \pm 11,29$	$19,72 \pm 17,40$	$39,84 \pm 16,78$	$28,48 \pm 9,84$	$42,41 \pm 9,35$	$28,16 \pm 9,68$	$24,67 \pm 13,28$
H6	$38,71 \pm 7,78$	$23,98 \pm 10,62$	$44,73 \pm 20,10$	$29,75 \pm 8,19$	$47,10 \pm 12,21$	$33,88 \pm 6,79$	$31,91 \pm 13,82$
H7	$48,05 \pm 14,53$	$33,14 \pm 15,64$	$49,98 \pm 23,84$	$34,33 \pm 9,09$	$58,08 \pm 18,06$	$44,71 \pm 12,53$	$35,99 \pm 16,75$

Keterangan : * tikus yang dibuat diabetes

Hn : Hari pengamatan ke-n

Pada fase awal, luka mengalami inflamasi (Mac Kay & Miller, 2003). Hal tersebut mengakibatkan luas luka tidak stabil dan cenderung melebar pada beberapa ulangan kelompok sehingga persentase penyembuhan bervariasi. Keropeng pada tikus muncul pada hari ke-3 hingga hari ke-4 perlakuan. Hal ini disebabkan sekitar hari ke-tiga setelah luka, massa sel fibroblas mulai mensintesis

dan mengeluarkan sejumlah kolagen. Tingkat kolagen meningkat terus menerus selama kurang lebih tiga minggu (Mac Kay & Miller, 2003). Pada saat proses inflamasi berlangsung pada hari ke-1 hingga hari ke-3, aktivitas hewan coba yang aktif menyebabkan luka yang sudah terbentuk keropeng lepas dan luka melebar. Hal ini menyebabkan persentase penyembuhan berkurang pada hari tertentu dan standar deviasi yang besar pada beberapa kelompok perlakuan.

Masing-masing kelompok perlakuan mengalami peningkatan persentase penyembuhan tiap harinya. Berdasarkan analisis statistik dengan uji ANAVA satu arah menggunakan *Statistical Package for Social Science (SPSS) 17.0 for Windows* menunjukkan tidak terdapat perbedaan yang bermakna antar kelompok selama 8 hari perlakuan.

Walaupun secara statistik tidak berbeda bermakna, secara rata-rata kelompok dosis 1 mengalami penyembuhan luka lebih besar daripada kelompok lainnya. Hal tersebut mungkin disebabkan oleh infusa dosis 1 menyebabkan kadar gula darah puasa yang lebih rendah daripada kelompok dosis lainnya, sehingga proses penyembuhan nampak lebih cepat daripada kelompok lainnya.

Perbedaan pengolahan simplisia diduga memiliki pengaruh terhadap perubahan kandungan infusa. Ekstrak etanol sirih merah mempunyai efek sebagai antiinflamasi (Subarnas, Yasmiwar & Elis, n.d), antimikroba (Juliantina, Citra, Nurmasitoh, Nirwani, & Bowo, n.d), antioksidan (Suratmo, n.d) dan hipoglikemik (Sitepu, 2010). Ekstrak etanol daun sirih merah menunjukkan adanya golongan senyawa alkaloid, saponin, monoterpen dan seskuiterpen, flavonoid, tanin, polifenol, kuinon, steroid (Subarnas, Yasmiwar & Elis, n.d). Komponen senyawa polar tersebut dapat pula ditarik oleh air walaupun dengan jumlah yang berbeda. Perlakuan termal merupakan penyebab utama pengurangan antioksidan alami. Selain itu, suhu dan waktu perebusan juga dapat memengaruhi aktivitas antioksidan (Wan, Yu, Zhou, Liu, Tian & Cao, 2011; Rahim, Jailani, Mashitah, Ibrahim & Rizal, 2010). Proses penguapan infusa yang melibatkan pemanasan, kemungkinan merusak komponen yang bertindak sebagai antioksidan yang juga memberikan efek hipoglikemik.

Kontrol gula darah yang ketat dapat memengaruhi penyembuhan luka diabetes (Rubinstein & Pierce, 1988). Pada penelitian ini, kelompok tikus yang

diinduksi aloksan masih berada pada kondisi diabetes yang mengakibatkan terganggunya sirkulasi darah. Penurunan sirkulasi darah menghambat proses penyembuhan luka, akibatnya kuman masuk ke dalam luka dan terjadi infeksi. Peningkatan kadar gula darah akan menghambat kerja leukosit dalam mengatasi infeksi (Soegondo, Soewondo, & Subekti, 2007). Selain itu, gangguan tersebut juga menyebabkan iskemik pada luka dan kekurangan nutrisi (Gordon & Coates, 1997). Luka yang tidak menerima jumlah aliran darah, oksigen, dan nutrisi yang seharusnya akan menunjukkan proses penyembuhan yang lamban.

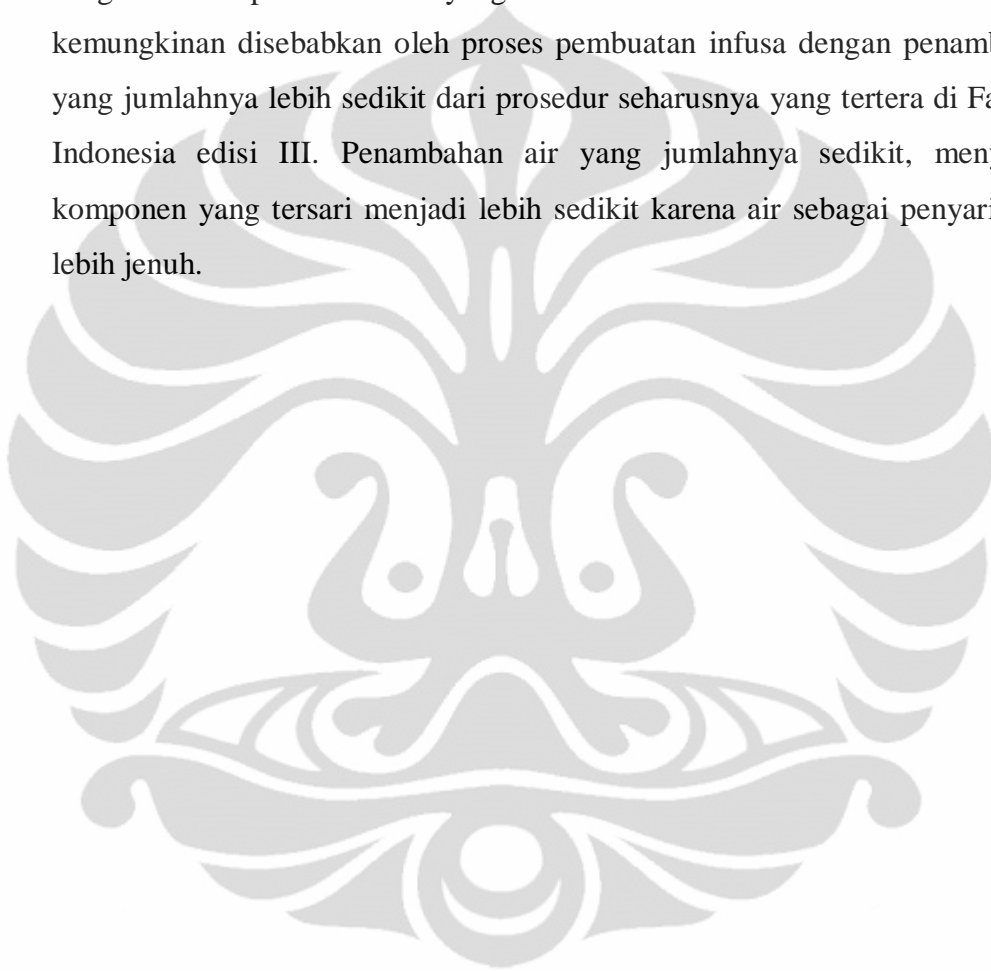
Penurunan glukosa puasa pada kelompok kontrol dosis 1 tidak memberikan efek penyembuhan luka secara signifikan walaupun penurunan glukosa puasa hampir mencapai kondisi normal. Hal ini menunjukkan bahwa manajemen luka diabetes membutuhkan manajemen menyeluruh yang meliputi penanganan terhadap infeksi, perawatan luka, kontrol vaskular, dan perawatan pencegahan (Fidler, 2002).

Pegagan telah banyak diteliti sebagai penyembuh luka baik secara oral maupun topikal. Penyembuhan luka merupakan proses yang secara fisiologis terdiri dari beberapa tahap yakni pada proses inflamasi, granulasi, pematangan kolagen dan pembentukan jaringan parut. Studi ilmiah menunjukkan bahwa triterpen ekstrak pegagan, menstimulasi akumulasi matriks ekstraselular pada tikus yang dibuat luka. Asam asiatat dan madekasosida mampu meningkatkan sintesis kolagen secara signifikan. Studi terbaru menunjukkan bahwa asiatikosida menginduksi sintesis kolagen tipe 1 (Cheng jian & Lu ping, 2007). Asiatikosida menjadi komponen utama dari pegagan yang berperan dalam penyembuhan luka secara signifikan pada marmut dengan dosis 1 mg/kg BB. Selain itu, asiatikosida juga mendorong terjadinya angiogenesis (Shukla, Rasik, Jain, Shankar, Kulshrestha, & Dhawan 1999). Proses angiogenesis penting pada pembentukan jaringan baru karena meningkatkan asupan nutrisi ke jaringan yang luka sehingga proses penyembuhan luka dapat berlangsung lebih cepat.

Perbedaan proses ekstraksi akan mempengaruhi komponen zat yang tersari. Air kurang efektif untuk mengekstraksi asam asiatat dan asiatikosida dari pegagan. Hasil ekstraksi yang rendah kemungkinan karena sifat air yang sangat polar (Kim et al., 2009). Kemungkinan karena proses ekstraksi dengan air sebagai

pelarut kurang efektif untuk menarik komponen aktif penyembuh luka mengakibatkan penyembuhan luka yang lamban.

Air pada proses pembuatan infusa merupakan hal penting yang harus dipertimbangkan karena mempengaruhi komponen zat aktif yang tersari. Persentase penyembuhan kelompok perlakuan kombinasi sirih merah dan pegagan dengan kelompok kontrol yang secara statistik tidak berbeda bermakna kemungkinan disebabkan oleh proses pembuatan infusa dengan penambahan air yang jumlahnya lebih sedikit dari prosedur seharusnya yang tertera di Farmakope Indonesia edisi III. Penambahan air yang jumlahnya sedikit, menyebabkan komponen yang tersari menjadi lebih sedikit karena air sebagai penyari menjadi lebih jenuh.



BAB 5

KESIMPULAN DAN SARAN

5.1 Kesimpulan

Berdasarkan hasil penelitian efek pemberian per oral kombinasi infusa daun sirih merah terhadap penyembuhan luka pada tikus putih jantan yang dibuat diabetes menunjukkan bahwa:

1. Pemberian kombinasi infusa daun sirih merah dan herba pegagan pada tikus dapat menurunkan luas luka, tapi secara statistik tidak terdapat perbedaan bermakna dengan kelompok normal, induksi, glibenklamid dan sirih merah tunggal.
2. Tidak terdapat perbedaan bermakna secara statistik pada persentase penyembuhan luka antara dosis sirih merah tunggal dengan dosis kombinasi sirih merah dan pegagan
3. Pemberian kombinasi infusa sirih merah dan pegagan dapat menurunkan kadar glukosa darah puasa.

5.2 Saran

1. Perlu dilakukan penelitian lebih lanjut mengenai preparasi ekstrak kombinasi sirih merah dan pegagan yang tepat
2. Perlunya penanganan tikus yang tepat untuk mengontrol bentuk luka pada jenis penelitian yang sama.

DAFTAR ACUAN

- Astuti, Y.T. (2010). *Efek Pemberian Per Oral Infusa Daun Sirih Merah (Piper cf. fragile, Benth.) Terhadap Penyembuhan Luka Tikus Putih Jantan yang Dibuak Diabetes*. Depok: Departemen Farmasi Universitas Indonesia
- Bhagavathula, N., Warner, R.L., DaSilva, M., McClintock, S.D., Barron, A., Aslam, M.N., Johnson, K.J., & Varani, J. (2009). A Combination of Curcumin and Ginger Extract Improves Abrasion Wound Healing in Corticosteroid Damaged Hairless Rat Skin. *Wound Repair Regen* 17, 360-366
- Burns, M.A.C., Wells, B.G., Schwinghammer, T.L., Malone, P.M., Kolesar, J.M., Rotschaffer, J.C., & Dipiro J.T. (2008). *Pharmacotherapy Principles & Practice*. USA: The McGraw-Hill Companies, 643-664
- Chauhan, P.K., Pandey, I.P., & Dhatwalia, V.K. (2010). Evaluation of the Anti-diabetic Effect of Ethanolic and Methanolic Extracts of *Centella asiatica* Leaves Extract on Alloxan Induced Diabetic Rats. *Advances in Biological Research* 4, 27-30
- Cheng jian Z., & Lu ping Q. (2007). Chemical components of *Centella asiatica* and their bioactivities. *Journal of Chinese Integrative Medicine*, 5, 348-351
- Chin, L.C.H., & Boulton, A.J.M. (2009). The Diabetic Foot: Epidemiology, Risk Factors, and Standards of Care. In *General surgery*. New york: Springer, 1867-1876
- De Graaf, M. Van & R. Rhees, W. (2001). *Schaum's easy outlines. Human Anatomy and Physiology*. USA : The Mac Graw Hill Companies, 176-178
- DiPiro, J.T., Talbert R.L., Yee G.C., Matzke G.R., Wells, B.G., & Posey, M. (2005). *Pharmacotherapy: A Pathophysiologic Approach, Sixth Edition*. USA: The McGraw-Hill Companies, 1335
- Dinesh, K.J & Arya, R.K. (2011). Anomalies in alloxan-induced diabetic model : It is standardize it first. *Indian Journal Pharmacology*, 43, 91

- Departemen Kesehatan Republik Indonesia. (1977) *Materia Medika Indonesia Jilid I*. Jakarta, 45-46
- Departemen Kesehatan, Republik Indonesia. (1979). *Farmakope Indonesia*. (Ed.Ke-3). Jakarta, 34-39
- Departemen Kesehatan, Republik Indonesia. (2005). *Pharmaceutical care untuk penyakit diabetes mellitus*. Jakarta.
- Department of Health and Human Services. (2005). *Guidance for Industry; Estimating the Maximum Safe Starting Dose in Initial Clinical Trials for Therapeutics in Adult Healthy Volunteers*. Center for Drug Evaluation and Research (CDER). USA
- Duke, J.A. (2002). *Handbook of medicinal herbs*. USA: CRC Press LLC, 344
- Ebuehi, O.A.T., Ajuluchukwu, A.E., Afolabi, O.T., & Akinwande, A.I.(2009). Oxidative stress in Alloxan-induced diabetes in female and male rats. *Advances in Medical and Dental Sciences*,3, 71-75
- Fidler, B.D., (2002). Diabetic foot care. *Oradell*, 146, 34
- Foster A, E.M.E.(1987) Examination of the diabetic foot - part 2. *Practical Diabetes*, 4, 153-154
- Frykberg, R.G., Armstrong, DG., Giurini, J., Edwards, A., Kravette, M., Kravitz, S., Ross, C., Stavosky, J., Stuck, R., & Vanore, J. (2000). Diabetic foot disorder A Clinical Practice Guideline. *The Journal of Foot & Ankle Surgery*, 39, 1-60
- George, M., Joseph, L., & Ramaswamy. (2009) Anti Allergic, Anti Pruritic and Anti Inflammation Extract of *Centella asiatica*. *African Journal. Traditional. CAM* , 6, 554 – 559
- Gordon & Coates, V. E. (1997) An update on diabetic foot care: a prerequisite for effective management. *Clinical Effectiveness in Nursing I*, 141- 148
- Gunawan, D. (2001). *Tumbuhan Obat 2 : Hasil Penelitian, Sifat-sifat & Penggunaan*. Yogyakarta: PPOT UGM, 43-47
- Heyne, K. (1987). *Tumbuhan berguna Indonesia II* (Badan Litbang Kehutanan Jakarta, Penerjemah). Jakarta: Yayasan Sarana Wana Jaya,
- International Diabetes Federation. Country profile. (2010). Diakses 26 Mei 2011 pk.12.35 WIB. <http://www.diabetesatlas.org/map>

- International Plant Names Index (IPNI). *Piper crocatum*, Ruiz & Pav.(2005).
Diakses 12 April 2011 pk.14.50 WIB. http://www.ipni.org/ipni/id/PublicationSearch.do?back_page=&id=3795-2
- Irawati, W. (2008). *Uji Daya Anti piretik Infusa Herba Pegagan (Centella asiatica L.) pada Mencit Jantan Galur Swiss*. Surakarta: Fakultas Farmasi Universitas Muhammadiyah Surakarta.
- Jamil ,S.S., Nizami, Q., & Salam, M. (2007). *Centella asiatica (L.) Urban, A Review. Natural Product Radiance*, 6, 158-170
- Juliantina, F., Citra M, D.A., Nirwani, B., Nurmasitoh, T., & Bowo, E. T. (nd) Manfaat sirih merah (*Piper crocatum*) sebagai agen anti bakterial terhadap bakteri Gram positif & Gram negatif. *Jurnal Kedokteran dan Kesehatan Indonesia*. Diakses 21 Januari 2011, pk.17.20 WIB <http://journal.uii.ac.id/index.php/JKKI/article/view/543/467>
- Karodi, R., Jadhav, M., Rub, R., & Bafna, A. (2009). Evaluation of the wound healing activity of a crude extract of *Rubia cordifolia* L. (Indian madder) in mice. *International Journal of Applied Research in Natural Products* 2, 12-18
- Lazarrow, A. (1952). Spontaneous recovery from alloxan diabetes in rats. *Diabetes*, 1, 363-372
- Man, K. (2009). Scar Management .*The Hongkong medical diary*, 14 , 211-216
- MacKay, D., & Miller, A.L. (2003). Nutritional support for wound healing. *Alternative Medicine Review*, 8, 359-377.
- Morton, J.J.P., & Malone, M.H. (1972). Evaluation of vulnerary by an open wound procedure in rats. *Archive Int Pharmacodyn*, 196, 117-128.
- Nayak, S. (2006). Influence of Ethanol Extract of *Vinca rosea* on Wound Healing in Diabetic Rats. *Online Journal Biology Science*, 6, 51-55
- Kelompok Kerja Ilmiah. (1983). *Penapisan farmakologi, pengujian fitokimia dan pengujian klinik, pedoman pengujian & pengembangan fitofarmaka*. Jakarta : Yayasan Pengembangan & Pemanfaatan Obat Bahan Alam Phyto Medica, 43-45
- Kim W.J., Kim J., Veriansyah, B., Kim J.D., Lee Y.W., Oh, S.G & Tjandrawinata, R.R. (2009). Extraction of bioactive components from

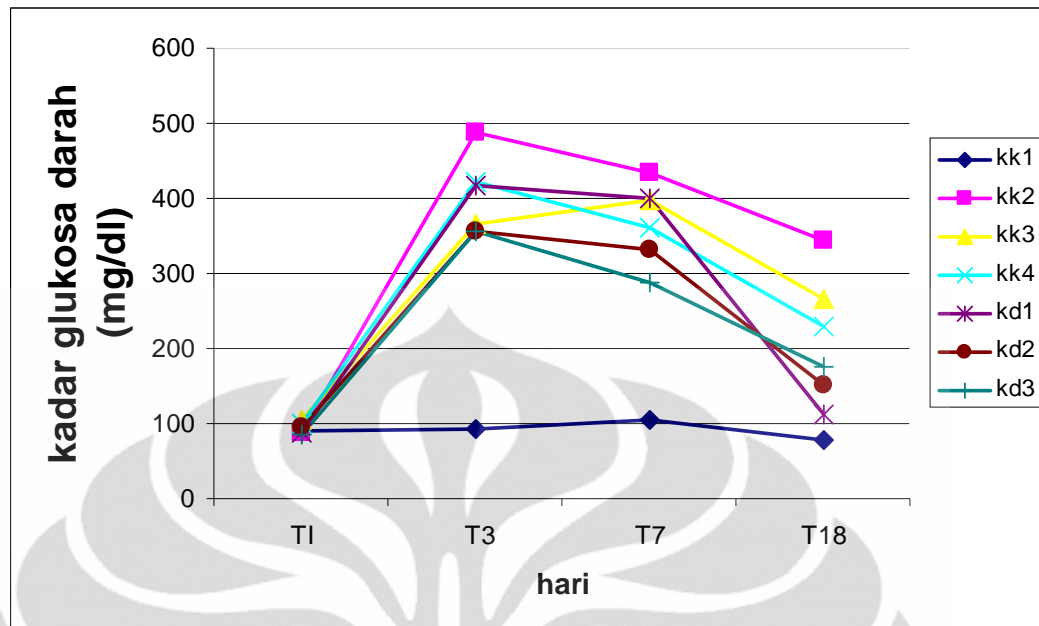
- Centella asiatica* using subcritical water. *Journal of Supercritical Fluids* 48, 211–216
- Prosea foundation. (1999). *Plant Resources of South East Asia 12, Medicinal & Poisonous Plants (1.)* Indonesia : Backhuys Publisher, 191-219
- Rahim, M.S.A.A., Jailani, S., Mashitah, M.Y., Ibrahim, A.B., & M Rizal, MD. (2010). Effect of Temperature and Time to the Antioxidant Activity in *Plecranthus amboinicus* Lour. *American Journal of Applied Sciences* 7, 1195-1199
- Rita, W. S., Raditya, Y., & Oka, A. P. (2009). Isolasi dan uji antiradikal bebas minyak atsiri pada daun sirih (*Piper bettle*, Linn) secara spektroskopi ultra violet-tampak. *Jurnal Kimia* 3, 1, 7-13.
- Rubinstein, A., & Pierce, C.E. (1988). Rapid healing of Diabetic Ulcer with meticulous blood glucose control. *Acta Diabetologica*, 25, 25-32.
- Sandeep, S., Khan, I.A., Ali, I., Ali, F., Kumar, M., Kumar, A., Johri, R.K., Abdullah, S.T., Bani, S., Pandey, A., Suri, K.A., Gupta, B.D., Satti, N.K., Dutt, P., & Qazi G.N. (2009). Evaluation of the antimicrobial, antioxidant, and anti-inflammatory activities of hydroxychavicol for its potential use as an oral care agent. *American Society for Microbiology*, 53, 216-222.
- Scanlon, V C., & Sanders, T . (2007). *Essentials of anatomy and physiology 5th ed.* United States of America: F. A. Davis Company, 91
- Schulz, V., Hansel, R., & Tyler, V.E. (2001). *Rational Phytoteraphy. A Physicians' Guide to Herbal Medicine.* Jerman: Springer, 19-20
- Shin, K & Seizoburohemmi (Ed.). (1986). *Medicinal Herb Index in Indonesia.* Indonesia: PT. Eisai Indonesia, 25
- Shukla, A., Rasik, A.M., Jain, G.K., Shankar, R., Kulshrestha, D.K., & Dhawan, BN. (1999) In vitro and in vivo wound healing activity of asiaticoside isolated from *Centella asiatica*. *Journal Ethnopharmacol*, 65, 1-11.
- Sitepu, S.H., (2010). Uji Efek Hipoglikemik Ekstrak Etanol Daun Sirih Merah (*Piper cf. fragile* Benth) terhadap Tikus Putih Jantan. Medan : Fakultas Farmasi Universitas Sumatera Utara

- Société de Pathologie Infectieuse de Langue Française (SPILF). (2007). Management of diabetic foot infections, Clinical practice guidelines. *Médecine et maladies infectieuses*, 37, 14–25
- Soegondo, S., Soewondo, P & Subekti, I. (2007). *Penatalaksanaan Diabetes Melitus Terpadu*. Jakarta: Balai penerbit FKUI, 67-80
- Subarnas, A., Yasmiwar, S., & Elis, M. (n.d). Aktivitas Antiinflamasi Ekstrak Etanol Daun Sirih Merah (*Piper betle* Var. *Rubrum*) pada Tikus Putih Jantan. Diakses 20 Januari 2011, pk. 14.45 WIB. <http://farmasi.unpad.ac.id/farmaka/v5n1/usi.pdf>
- Sudewo, B. (2005). *Basmi Penyakit dengan Sirih Merah*. Jakarta: PT. AgroMedia Pustaka, 35-45
- Suguna, L., Sivakumar, P., & Chandrakasan, G. (1996). Effects of *Centella asiatica* extract on dermal wound healing in rats. *Indian Journal Experiment Bioolgy*, 34, 1208-1211
- Suharmiati. (2003). Pengujian bioaktivitas anti diabetes melitus tumbuhan obat. *Cermin Dunia Kedokteran*, 140, 8-13
- Suherman, S. K. (2007). *Farmakologi dan terapi : insulin dan antidiabetik oral*. (Ed. Ke-5). Jakarta : Gaya Baru.
- Suratmo. (n.d) Potensi ekstrak daun sirih merah sebagai antioksidan. Diakses 5 Januari 2011 pk. 12.30 WIB. http://fisika.brawijaya.ac.id/bss-ub/PDF%20FILES/BSS_205_1.pdf
- Sutedjo, A.Y. (2007). *Buku saku mengenal penyakit melalui hasil pemeriksaan laboratorium*. Yogyakarta: Penerbit Andi, 113-114
- Szkudelski, T. (2001). The Mechanism of Alloxan and Streptozotocin Action in B Cells of the Rat Pancreas. *Journal Physiology*, 50, 536-546,
- Tjitrosoepomo, G. (1991). *Taksonomi tumbuhan (Spermatophyta)*. Gajah mada University Press. Yogyakarta, 316
- Ulbricht, C., & Seamon E. (2010). *Natural standad herbal pharmacoteraphy*. Kanada: Mosby Elsevier, 227
- Ullah, M.O., Sultana, S., Haque, A., & Tasmin, A. (2009). Antimicrobial, Cytotoxic and Antioxidant Activity of *Centella asiatica*. *European Journal of Scientific Research*, 30, 260-264

Wan, C., Yu Y., Zhou S., Liu W., Tian S., & Cao S. (2011). Antioxidant activity and free radical-scavenging capacity of *Gynura divaricata* leaf extracts at different temperatures. *Pharmacog Magazine* 7, 40-51

Widowati, L., Dzulkarnain, B., & Sa'roni. (1997). Tanaman Obat untuk Diabetes Melitus. *Cermin Dunia Kedokteran* No.116, 53-60





Keterangan :

kk1 : kontrol normal

kk2 : kontrol induksi tanpa pengobatan

kk3 : kontrol glibenklamid

kk4 : kontrol infusa daun sirih merah

kd1 : kelompok dosis 1 (kombinasi infusa daun sirih merah dengan dosis 0,432 g/ 200 g BB tikus/hari dan infusa herba pegagan 0,135 g/200 g BB tikus/hari)

kd2 : kelompok dosis 2 (kombinasi infusa daun sirih merah dengan dosis 0,432 g/200 g BB tikus/hari dan infusa herba pegagan 0,27 g/200 g BB tikus/hari)

kd3 : Kelompok dosis 3 (kombinasi infusa daun sirih merah dengan dosis 0,432 g/200 g BB tikus/hari dan infusa herba pegagan 0,54 g/200 g BB tikus/hari.)

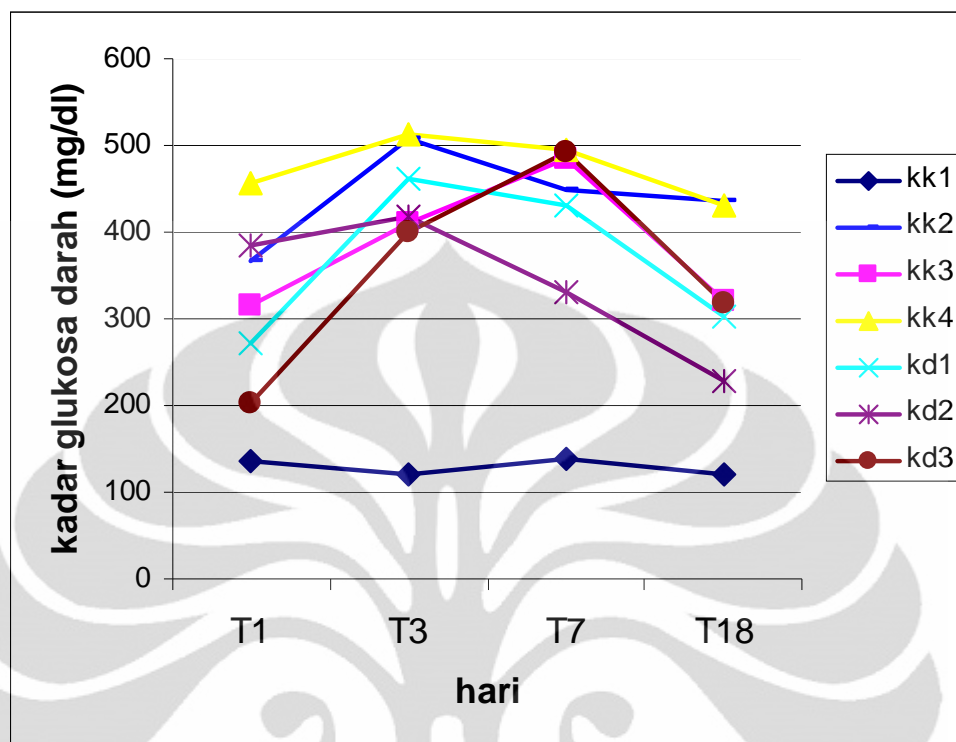
T1 : Hari saat induksi aloksan

T3 : Tiga hari setelah induksi aloksan

T7 : Tujuh hari setelah induksi aloksan

T18 : 18 hari setelah induksi aloksan atau setelah 8 hari pemberian infusa

Gambar 4.1. Grafik rata-rata glukosa darah puasa



Keterangan :

kk1 : kontrol normal

kk2 : kontrol induksi tanpa pengobatan

kk3 : kontrol glibenklamid

kk4 : kontrol infusa daun sirih merah

kd1 : kelompok dosis 1 (kombinasi infusa daun sirih merah dengan dosis 0,432 g/ 200 g BB tikus/hari dan infusa herba pegagan 0,135 g/200 g BB tikus/hari)

kd2 : kelompok dosis 2 (kombinasi infusa daun sirih merah dengan dosis 0,432 g/200 g BB tikus/hari dan infusa herba pegagan 0,27 g/200 g BB tikus/hari)

kd3 : Kelompok dosis 3 (kombinasi infusa daun sirih merah dengan dosis 0,432 g/200 g BB tikus/hari dan infusa herba pegagan 0,54 g/200 g BB tikus/hari.)

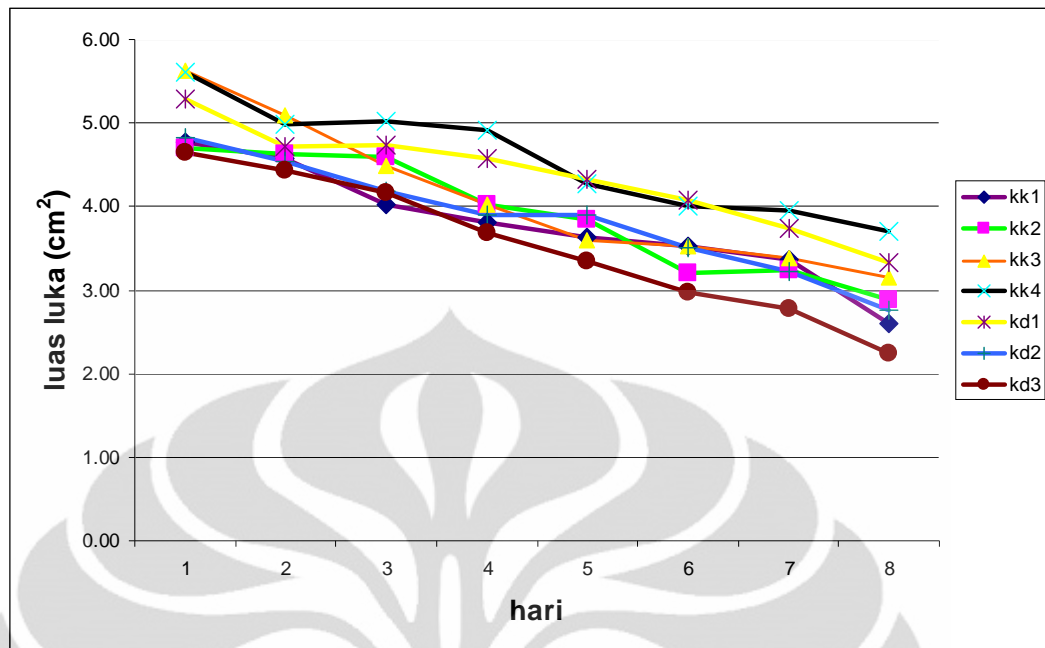
T1 : Hari saat induksi aloksan

T3 : Tiga hari setelah induksi aloksan

T7 : Tujuh hari setelah induksi aloksan

T18: 18 hari setelah induksi aloksan atau setelah 8 hari pemberian infusa

Gambar 4.2 Grafik rata-rata glukosa darah *post prandial*



Keterangan :

kk1 : kontrol normal

kk2 : kontrol induksi tanpa pengobatan

kk3 : kontrol glibenklamid

kk4 : kontrol infusa daun sirih merah

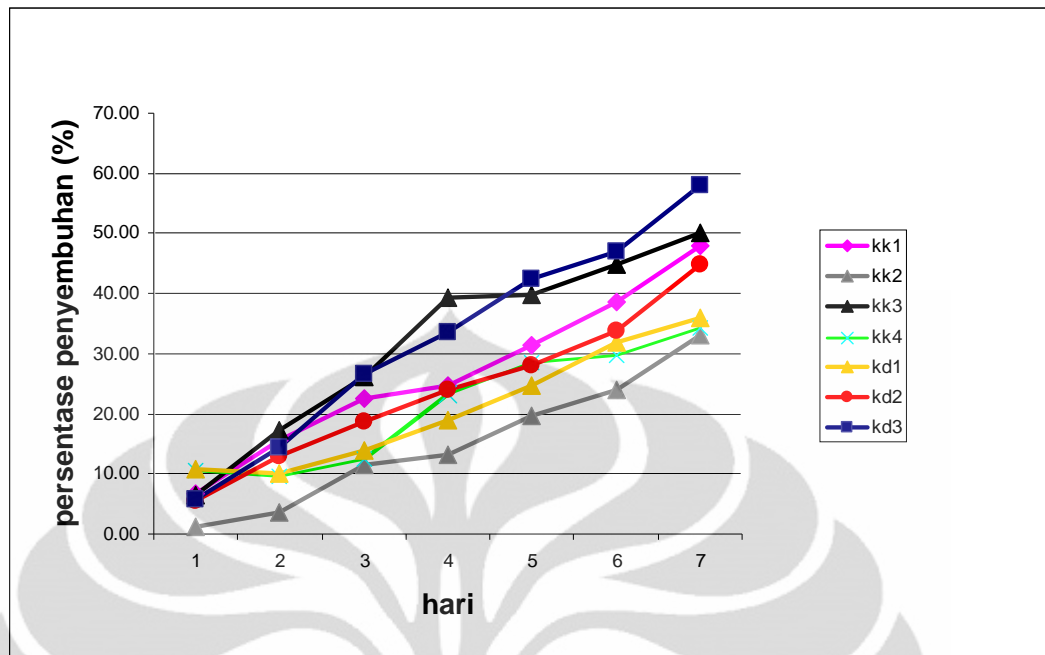
kd1 : kelompok dosis 1 (kombinasi infusa daun sirih merah dengan dosis 0,432 g/ 200 g BB tikus/hari dan infusa herba pegagan 0,135 g/200 g BB tikus/hari)

kd2 : kelompok dosis 2 (kombinasi infusa daun sirih merah dengan dosis 0,432 g/200 g BB tikus/hari dan infusa herba pegagan 0,27 g/200 g BB tikus/hari)

kd3 : kelompok dosis 3 (kombinasi infusa daun sirih merah dengan dosis 0,432 g/200 g BB tikus/hari dan infusa herba pegagan 0,54 g/200 g BB tikus/hari.)

Hn : hari perlakuan

Gambar 4.3 Grafik luas permukaan luka tikus pada semua kelompok perlakuan



Keterangan :

kk1 : kontrol normal

kk2 : kontrol induksi tanpa pengobatan

kk3 : kontrol glibenklamid

kk4 : kontrol infusa daun sirih merah

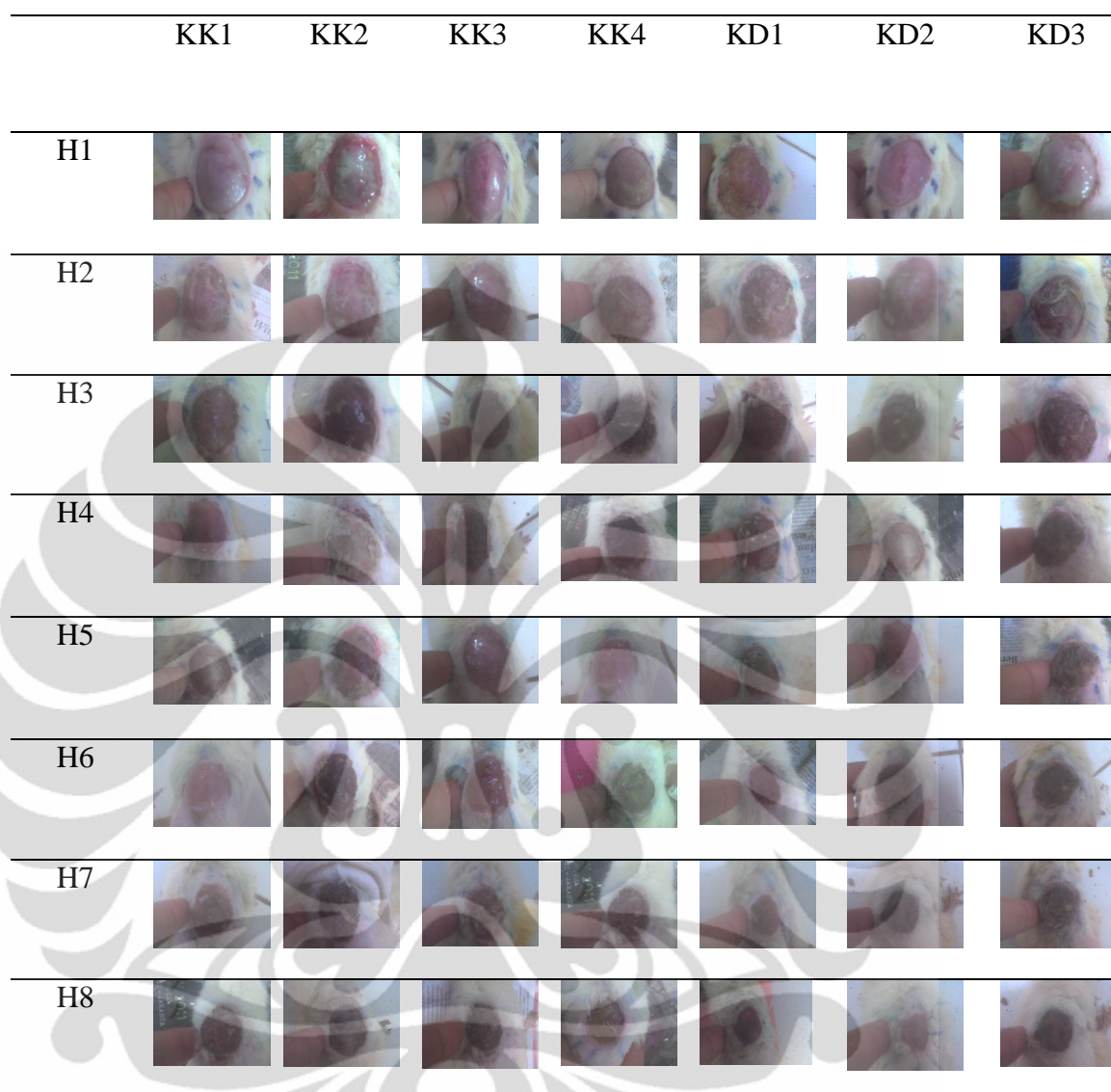
kd1 : kelompok dosis 1(kombinasi infusa daun sirih merah dengan dosis 0,432 g/ 200 g BB tikus/hari dan infusa herba pegagan 0,135 g/200 g BB tikus/hari)

kd2 : kelompok dosis 2 (kombinasi infusa daun sirih merah dengan dosis 0,432 g/200 g BB tikus/hari dan infusa herba pegagan 0,27 g/200 g BB tikus/hari)

kd3 : kelompok dosis 3 (kombinasi infusa daun sirih merah dengan dosis 0,432 g/200 g BB tikus/hari dan infusa herba pegagan 0,54 g/200 g BB tikus/hari.)

Hn : hari pengamatan

Gambar 4.4. Grafik persentase penyembuhan luka pada semua kelompok



Keterangan

kk1 : kontrol normal

kk2 : kontrol induksi tanpa pengobatan

kk3 : kontrol glibenklamid

kk4 : kontrol infusa daun sirih merah

kd1 : kelompok dosis 1(kombinasi infusa daun sirih merah dengan dosis 0,432 g/ 200 g BB tikus/hari dan infusa herba pegagan 0,135 g/200 g BB tikus/hari)

kd2 : kelompok dosis 2 (kombinasi infusa daun sirih merah dengan dosis 0,432 g/200 g BB tikus/hari dan infusa herba pegagan 0,27 g/200 g BB tikus/hari)

kd3 : kelompok dosis 3 (kombinasi infusa daun sirih merah dengan dosis 0,432 g/200 g BB tikus/hari dan infusa herba pegagan 0,54 g/200 g BB tikus/hari.)

Hn : Hari perlakuan

Gambar 4.5. Foto luka tikus pada semua kelompok perlakuan

Tabel 4.5 Kadar glukosa darah puasa dan *post prandial*

Kadar glukosa darah puasa pada T1								Kadar glukosa darah <i>post prandial</i> pada T1							
Ulangan	KK1	KK2	KK3	KK4	KD1	KD2	KD3	KK1	KK2	KK3	KK4	KD1	KD2	KD3	
U1	79	91	107	104	93	80	92	135	382	293	454	274	396	163	
U2	101	87	144	110	92	121	81	140	474	162	475	163	292	157	
U3	88	81	72	79	76	89	81	142	289	382	390	535	411	157	
U4	92	97	95	109	80	94	96	123	325	423	503	115	442	332	
Rata-rata	90	89	104,5	100,5	85,25	96	87,5	135	367,5	315	455,5	271,75	385,3	202,3	
Standar deviasi	9,13	6,73	30,07	14,57	8,54	17,64	7,68	8,52	80,67	115,54	48,06	187,71	65,05	86,55	
Kadar glukosa darah puasa pada T3								Kadar glukosa darah <i>post prandial</i> pada T3							
	KK1	KK2	KK3	KK4	KD1	KD2	KD3	KK1	KK2	KK3	KK4	KD1	KD2	KD3	
U1	110	376	407	380	291	355	421	113	600	482	539	546	462	442	
U2	70	489	196	324	421	225	188	125	465	208	514	442	357	141	
U3	100	490	462	600	287	402	600	125	367	417	600	385	450	600	
U4	90	600	400	380	421	442	455	120	600	534	400	470	400	422	
Rata-rata	92,5	488,8	366,3	421	355	356	416	120,8	508	410,25	513,3	460,75	417,3	401,3	
Standar deviasi	17,08	91,45	116,84	122,22	76,23	94,29	170,67	5,68	113,52	143,08	83,70	66,94	48,31	190,90	
Kadar glukosa darah puasa pada T7								Kadar glukosa darah <i>post prandial</i> pada T7							
	KK1	KK2	KK3	KK4	KD1	KD2	KD3	KK1	KK2	KK3	KK4	KD1	KD2	KD3	
U1	95	475	443	150	149	436	461	126	505	534	468	332	398	523	
U2	80	376	400	358	461	151	141	122	393	551	573	523	240	493	
U3	110	342	429	568	171	368	600	130	440	417	600	421	344	600	
U4	130	541	318	367	370	368	400	178	458	438	336	443	344	350	
Rata-rata	103,8	433,5	397,5	360,8	287,8	330,8	400,5	139	449	485	494,3	429,75	331,5	491,5	
Standar deviasi	21,36	91,21	55,94	170,70	152,38	124,05	192,18	26,20	46,31	67,31	119,88	78,53	66,10	104,55	

Kadar glukosa puasa darah pada T18								Kadar glukosa darah <i>post prandial</i> pada T18						
Ulangan	KK1	KK2	KK3	KK4	KD1	KD2	KD3	KK1	KK2	KK3	KK4	KD1	KD2	KD3
U1	88	394	162	339	208	220	125	129	377	202	371	150	235	284
U2	72	354	398	304	96	132	311	136	392	424	546	439	125	389
U3	83	285	353	145	74	69	104	142	530	512	533	494	392	300
U4	71	343	153	129	71	186	164	71	441	139	271	123	163	302
Rata-rata	78,5	344	266,5	229,3	112,3	151,8	176	119,5	435	319,25	430,3	301,5	228,8	318,8
Standar deviasi	8,35	45,03	127,25	107,67	64,80	66,00	93,37	32,77	68,98	177,35	132,70	192,16	118,01	47,52

Keterangan :

kk1 : Kelompok kontrol normal (tanpa induksi aloksan)

kk2 : Kelompok kontrol induksi

kk3 : Kelompok kontrol glibenklamid

kk4 : Kelompok kontrol infusa sirih merah

kd1 : Kelompok perlakuan 1 (infusa daun sirih merah dengan dosis 0,432 g/ 200 g BB tikus/hari dan infusa herba pegagan 0,135 g/200 g BB tikus/hari)

kd2 : Kelompok perlakuan 2 (infusa daun sirih merah dengan dosis 0,432 g/200 g BB tikus/hari dan infusa herba pegagan 0,27 g/200 g BB tikus/hari)

kd3 : Kelompok perlakuan 3 (infusa daun sirih merah dengan dosis 0,432 g/200 g BB tikus/hari dan infusa herba pegagan 0,54 g/200 g BB tikus/hari)

T1 : Satu hari pada hari induksi aloksan

T3 : Tiga hari setelah induksi aloksan

T7 : Tujuh hari setelah induksi aloksan

T18 : 18 hari setelah induksi aloksan (1 hari setelah perlakuan)

	Luas permukaan luka (cm ²)							
	H1	H2	H3	H4	H5	H6	H7	H8
KK1								
U1	6,15	5,53	4,70	4,41	4,32	3,20	3,24	2,14
U2	4,59	4,39	3,88	3,54	3,41	3,54	2,62	2,18
U3	3,47	3,62	3,18	3,13	2,94	3,79	4,37	3,30
U4	4,90	4,73	4,33	4,18	3,86	3,54	3,21	2,75
Rata-rata	4,78	4,57	4,02	3,81	3,63	3,52	3,36	2,59
Standar deviasi	1,10	0,79	0,65	0,59	0,59	0,24	0,73	0,55
KK2								
U1	3,45	3,42	3,26	3,14	3,20	3,10	2,93	2,80
U2	4,37	4,23	4,03	3,87	3,87	3,78	3,36	2,09
U3	5,48	5,44	5,54	4,55	4,14	2,98	3,34	3,32
U4	5,48	5,44	5,54	4,55	4,14	2,98	3,34	3,32
Rata-rata	4,70	4,63	4,59	4,03	3,84	3,21	3,24	2,88
Standar deviasi	0,98	0,99	1,14	0,67	0,44	0,39	0,21	0,59
KK3								
U1	7,40	5,78	4,28	3,78	2,30	2,93	2,67	2,76
U2	4,77	4,87	4,05	3,66	3,30	2,89	2,99	2,75
U3	5,14	5,31	5,14	4,72	4,31	4,15	4,12	4,09
U4	5,10	4,59	4,04	3,66	3,40	3,18	2,99	2,04
Rata-rata	5,63	5,09	4,48	4,01	3,59	3,52	3,39	3,16
Standar deviasi	1,05	0,46	0,51	0,47	0,92	0,72	0,71	0,93
KK4								
U1	6,27	5,41	5,07	4,65	3,36	3,69	3,83	3,61
U2	4,61	4,10	4,22	3,55	3,61	3,19	3,06	2,67
U3	5,39	5,73	6,10	5,76	4,76	4,14	4,00	3,93
U4	6,18	4,72	4,70	5,68	5,37	5,03	4,91	4,58
Rata-rata	5,61	4,99	5,02	4,91	4,27	4,01	3,95	3,70
Standar deviasi	0,78	0,73	0,80	1,04	0,95	0,78	0,76	0,79
KD3								
U1	5,33	4,44	4,96	5,10	5,12	4,89	4,48	4,33
U2	4,35	4,27	3,88	3,37	3,47	3,49	3,24	2,62
U3	7,63	6,57	6,46	6,19	5,30	4,78	4,07	3,24
U4	3,82	3,61	3,68	3,62	3,39	3,12	3,17	3,13
Rata-rata	5,28	4,72	4,74	4,57	4,32	4,07	3,74	3,33
Standar deviasi	1,69	1,28	1,27	1,32	1,03	0,90	0,64	0,72
KD2								
U1	4,60	4,40	4,25	4,09	3,11	2,99	2,94	2,51
U2	4,13	4,25	4,04	3,76	3,45	3,17	2,62	1,57

U3	6,00	5,86	4,99	4,53	6,19	4,99	4,57	4,11
U4	4,57	3,65	3,43	3,19	2,84	2,87	2,79	2,81
Rata-rata	4,83	4,54	4,18	3,89	3,90	3,50	3,23	2,75
Standar deviasi	0,82	0,94	0,64	0,57	1,55	1,00	0,90	1,05
KD1								
U1	4,03	3,29	3,83	2,89	2,46	2,10	2,11	1,71
U2	4,09	3,77	3,31	2,88	2,45	2,24	2,19	1,42
U3	5,95	6,12	5,68	5,42	4,80	4,25	4,04	3,96
U4	4,54	4,55	3,84	3,53	3,65	3,28	2,81	1,88
Rata-rata	4,65	4,43	4,16	3,68	3,34	2,97	2,79	2,24
Standar deviasi	0,89	1,24	1,04	1,20	1,12	1,01	0,89	1,16

Keterangan :

kk1 : Kelompok kontrol normal (tanpa induksi aloksan)

kk2 : Kelompok kontrol induksi (tanpa pengobatan)

kk3 : Kelompok kontrol glibenklamid

kk4 : Kelompok kontrol infusa sirih merah

kd1 : Kelompok dosis 1 (infusa daun sirih merah dengan dosis 0,432 g/ 200 g BB tikus/hari dan infusa herba pegagan 0,135 g/200 g BB tikus/hari)

kd2 : Kelompok dosis 2 (infusa daun sirih merah dengan dosis 0,432 g/200 g BB tikus/hari dan infusa herba pegagan 0,27 g/200 g BB tikus/hari)

kd3 : Kelompok dosis 3 (infusa daun sirih merah dengan dosis 0,432 g/200 g BB tikus/hari dan infusa herba pegagan 0,54 g/200 g BB tikus/hari)

Hn : Hari ke-n pengamatan

Un : Ulangan ke-n

Tabel 4.7 Persentase penyembuhan semua kelompok perlakuan selama 8 hari pengamatan

Kelompok	Persentase Penyembuhan Luka (%)						
	H1	H2	H3	H4	H5	H6	H7
KK1							
U1	10,10	23,61	28,23	29,73	47,99	47,21	65,21
U2	4,30	15,48	22,92	25,62	22,92	43,01	52,42
U3	3,37	11,65	14,64	21,17	27,78	34,42	43,94
U4	9,09	11,97	24,23	22,64	26,68	30,20	30,65
Rata-rata	6,72	15,68	22,50	24,79	31,34	38,71	48,05
Standar deviasi	3,37	5,57	5,71	3,78	11,29	7,78	14,53
KK2							
U1	0,76	5,46	8,86	7,03	10,05	15,13	18,87
U2	3,36	7,89	11,51	11,51	13,49	23,29	52,30
U3	0,76	-1,14	17,00	24,54	45,69	39,09	39,38
U4	0,34	1,88	8,98	10,05	9,64	18,40	22,01
Rata-rata	1,31	3,52	11,59	13,28	19,72	23,98	33,14
Standar Deviasi	1,38	3,97	3,81	7,73	17,40	10,62	15,64
KK3							
U1	21,96	42,17	49,01	68,89	60,39	63,99	62,71
U2	-2,04	15,20	23,39	30,84	39,49	37,42	42,30
U3	-3,35	0,00	8,04	16,11	19,30	19,82	20,35
U4	9,10	11,97	24,23	40,98	40,20	57,67	74,58
Rata-rata	6,42	17,33	26,17	39,21	39,84	44,73	49,98
standar deviasi	11,77	17,80	16,95	22,27	16,78	20,10	23,84
KK4							
U1	13,73	19,23	25,92	46,49	41,18	38,99	42,40
U2	11,03	8,48	22,87	21,78	30,81	33,70	42,00
U3	-6,20	-13,19	-6,79	11,66	23,27	25,76	27,07
U4	23,55	23,87	8,03	13,09	18,65	20,56	25,87
Rata-rata	10,53	9,60	12,51	23,25	28,48	29,75	34,33
Standar deviasi	12,38	16,50	15,05	16,12	9,84	8,19	9,09
KD 1							
U1	18,37	5,12	28,41	39,00	47,95	47,79	57,50
U2	7,94	19,14	29,61	40,04	45,34	46,47	65,41
U3	-2,93	4,49	8,88	19,31	28,50	32,14	33,48
U4	-0,42	28,70	39,62	35,53	47,85	62,02	75,96
Rata-rata	5,74	14,36	26,63	33,47	42,41	47,10	58,08
Standar Deviasi	9,62	11,71	12,86	9,63	9,35	12,21	18,06
KD2							
U1	4,29	7,50	11,04	32,38	35,07	36,07	45,44
U2	-2,86	2,17	8,95	16,49	23,32	36,63	61,90
U3	0,36	16,94	24,50	9,35	16,94	23,87	33,04
U4	20,21	24,95	30,24	37,81	37,32	38,95	38,46

Rata-rata	5,50	12,89	18,68	24,01	28,16	33,88	44,71
Standar deviasi	10,23	10,10	10,34	13,32	9,68	6,79	12,53
KD3							
U1	16,70	6,98	4,37	3,99	8,27	16,00	18,79
U2	1,69	10,75	22,39	20,12	19,74	25,35	39,65
U3	13,91	15,40	18,90	30,58	37,35	46,63	57,60
U4	10,45	7,06	10,03	21,20	33,33	39,65	27,90
rata-rata	10,69	10,04	13,92	18,97	24,67	31,91	35,99
Standar deviasi	6,52	3,98	8,22	11,04	13,28	13,82	16,75

Keterangan :

kk1 : Kelompok kontrol normal (tanpa induksi aloksan)

kk2 : Kelompok kontrol induksi (tanpa pengobatan)

kk3 : Kelompok kontrol glibenklamid

kk4 : Kelompok kontrol infusa Sirih merah

kd1 : Kelompok dosis 1 (infusa daun sirih merah dengan dosis 0,432 g/ 200 g BB tikus/hari dan infusa herba pegagan 0,135 g/200 g BB tikus/hari)

kd 2 : Kelompok dosis 2 (infusa daun sirih merah dengan dosis 0,432 g/200 g BB tikus/hari dan infusa herba pegagan 0,27 g/200 g BB tikus/hari)

kd 3 : Kelompok dosis 3 (infusa daun sirih merah dengan dosis 0,432 g/200 g BB tikus/hari dan infusa herba pegagan 0,54 g/200 g BB tikus/hari)

Hn : Hari ke-n pengamatan

Un : Ulangan ke-n

Lampiran 1. Dosis sirih merah dan Herba pegagan

A. Sirih merah

Dosis infusa sirih merah berdasarkan penelitian adalah = 2,16 g/kg BB tikus/hari (Astuti, 2010).

Volume bahan uji yang diberikan pada tikus sebanyak 1 ml/200 g BB tikus. Tikus yang akan digunakan sebanyak 4 ekor tiap kelompok.

Infusa sirih merah yang diperlukan per kelompok:

$$4 \text{ ekor tikus} \times 1 \text{ ml} = 4 \text{ ml}$$

Infusa dibuat dari pengenceran dosis 4,32 g/kg BB tikus/hari

Serbuk daun sirih merah per hari = $(4,32 \text{ g} \times 200 \text{ g}/1000 \text{ g})/3 \text{ ml} \times 30 \text{ ml} = 8,64 \text{ gram}$

Dosis 4,32 gram/3 ml dalam 30 ml seharusnya diencerkan menjadi 2,16 gram/kg BB/3ml dalam 60 ml. Namun, karena dibutuhkan 2,16 gram kg BB/ml maka infusa simplisia sirih merah diuapkan hingga 20 ml

Herba Pegagan

Dosis pegagan pada manusia adalah 1,5 daun kering pegagan / hari

Faktor konversi dari manusia ke tikus = 0,018

Faktor farmakokinetik = 10

Dosis tersebut dinyatakan sebagai dosis lazim/ dosis 2

Perhitungan dosis untuk 200 gram BB tikus, yaitu:

$$\text{Dosis 1} = 1/2 \times 1,5 \text{ gram} \times 0,018 \times 10$$

$$= 0,135 \text{ g}/200 \text{ g BB tikus/hari}$$

$$= 0,675 \text{ g/kg BB tikus/hari}$$

$$\text{Dosis 2 atau dosis lazim} = 1,5 \text{ gram} \times 0,018 \times 10$$

$$= 0,27 \text{ g/200 g BB tikus/hari}$$

$$= 1,35 \text{ g/kg BB tikus/hari}$$

$$\text{Dosis 3} = 2 \times 1,5 \text{ gram} \times 0,018 \times 10$$

$$= 0,54 \text{ g/200 g BB tikus}$$

$$= 2,7 \text{ g/kg BB tikus/hari}$$

Volume bahan uji yang diberikan pada tikus sebanyak 1 ml/200 g BB tikus. Tikus yang akan digunakan sebanyak 3 ekor tikus tiap kelompok ulangan.

Pembuatan volume untuk dosis 1 dan 2 merupakan hasil pengenceran dari dosis 3, maka volume untuk:

$$\text{Dosis 3} = 1 \text{ ml} \times 1 \text{ ekor} = 1 \text{ ml}$$

$$\text{Dosis 2} = 0,5 \times \text{dosis 3} = 0,5 \text{ ml}$$

$$\text{Dosis 1} = 0,25 \times 10 \text{ ml} = 0,25 \text{ ml}$$

Volume infusa yang dibutuhkan dalam 1 hari/kelompok ulangan:

$$\text{Volume infusa} = 1 \text{ ml} + 0,5 \text{ ml} + 0,25 \text{ ml}$$

$$= 1,75 \text{ ml}$$

Infusa herba pegagan yang akan dibuat melebihi dari volume yang dibutuhkan masing-masing melebihi 10 ml.

$$\text{Volume infusa} = 11 \text{ ml} + 10,5 \text{ ml} + 10,25 \text{ ml}$$

$$= 31,75 \approx 40 \text{ ml}$$

Serbuk herba pegagan perhari = dosis 3/1 ml x 40 ml

$$= (2,7 \text{ g} \times 200 \text{ g}/1000 \text{ g})/1 \text{ ml} \times 40 \text{ ml} = 21,6 \text{ gram}$$

Volume dosis III pegagan yang akan dibuat sebanyak 40 ml. Berat simplisia pegagan yang ditimbang = $0,54\text{g} \times 40 = 21,6 \text{ g}$. Rebus 21,6 g simplisia herba pegagan dengan akuades sebanyak 40 ml. Dosis II infusa herba pegagan diperoleh dari pengenceran dosis III, dan dosis I infusa herba pegagan diperoleh dari pengenceran dosis II. Skema pengenceran pembuatan infusa herba pegagan adalah sebagai berikut:

Dosis III pegagan (21,6 gram + 40 ml akuades)

↓ Ambil 10 ml, ditambahkan akuades hingga 20 ml

Dosis II pegagan

↓ Ambil 10 ml, ditambahkan akuades hingga 20 ml

Dosis I pegagan

Lampiran 2. Pembuatan Campuran Bahan Uji

Pada penelitian ini, volume peroral yang diberikan adalah 2 ml untuk masing-masing hewan uji. Dalam 2 ml tersebut, terdapat 1 ml infusa pegagan dan 1 ml sirih merah.

Pembuatan Campuran Bahan Uji tiap kelompok ulangan

Bahan uji I = 5 ml infusa sirih merah + 5ml infusa dosis I pegagan

Bahan uji II = 5 ml infusa sirih merah + 5 ml infusa dosis II pegagan

Bahan uji III = 5 ml infusa sirih merah + 5 ml infusa dosis III pegagan

Kontrol pembanding sirih merah = 5 ml infusa sirih merah

Lampiran 3. Susut Pengeringan**A. Susut Pengeringan sirih merah**

$$\frac{(\text{Berat basah}-\text{Berat kering})}{\text{Berat Basah}} \times 100\% \quad (3.6)$$

$$\frac{(2874 \text{ gram}-521 \text{ gram})}{2874 \text{ gram}} \times 100\% = 81.87 \%$$

B. Susut Pengeringan pegagan

$$\frac{(\text{Berat basah}-\text{Berat kering})}{\text{Berat Basah}} \times 100\%$$

$$\frac{(2952 \text{ gram}-262 \text{ gram})}{2952 \text{ gram}} \times 100\% = 91,12\%$$

Lampiran 4. Uji Statistik Persentase penyembuhan luka seluruh kelompok uji

4.1 Uji Normalitas (Uji Shapiro-Wilk) terhadap seluruh kelompok uji

- a. Tujuan : untuk mengetahui kenormalan data sebagai syarat uji ANAVA
- b. Hipotesis :
 - Ho = data persentase penyembuhan luka berasal dari populasi yang terdistribusi normal
 - Ha = data persentase penyembuhan luka berasal dari populasi yang tidak terdistribusi normal
- c. Kriteria Uji :
 - Sig. < 0,05 berarti Ho ditolak
 - Sig. > 0,05 berarti Ho diterima
- d. Hasil :

Tabel 4.8. Tabel hasil uji normalitas

Shapiro-Wilk		
Statistik	df	Sig.
.946	28	.153
.968	28	.540
.957	28	.301
.938	28	.098
.970	28	.583
.961	28	.374
.955	28	.263

- e. Kesimpulan: Ho diterima, berarti data persentase penyembuhan luka terdistribusi normal.

4.2 Uji Homogenitas (Uji Levene) terhadap seluruh kelompok uji

- a. Tujuan : untuk mengetahui homogenitas data sebagai syarat uji ANAVA

b. Hipotesis :

Ho= data persentase penyembuhan berasal dari populasi yang terdistribusi homogen

Ha= data persentase penyembuhan berasal dari populasi yang tidak terdistribusi homogen

c. Kriteria Uji :

(lanjutan)

Sig. < 0,05 berarti Ho ditolak

Sig. > 0,05 berarti Ho diterima

d. Hasil:

Tabel 4.9. Tes Homogenitas

	Statistik Levene	df1	df2	Sig.
hari 1	1.668	6	21	.178
hari 2	1.943	6	21	.121
hari 3	1.423	6	21	.252
hari 4	1.466	6	21	.238
hari 5	.401	6	21	.870
hari 6	1.897	6	21	.129
hari 7	.812	6	21	.572

e. Kesimpulan: Ho diterima, berarti data persentase penyembuhan luka homogen.

4.3 Uji ANAVA terhadap seluruh kelompok uji pada hari 1 hingga 7

a. Tujuan : untuk mengetahui adanya perbedaan yang bermakna dari persentase penyembuhan luka tiap perlakuan

b. Hipotesis :

Ho = Tidak terdapat perbedaan yang bermakna terhadap persentase penyembuhan luka tiap kelompok perlakuan

Ha = Terdapat perbedaan yang bermakna terhadap persentase penyembuhan luka tiap kelompok perlakuan

c. Kriteria Uji :

Sig. < 0,05 berarti H_0 ditolak

Sig. > 0,05 berarti H_0 diterima

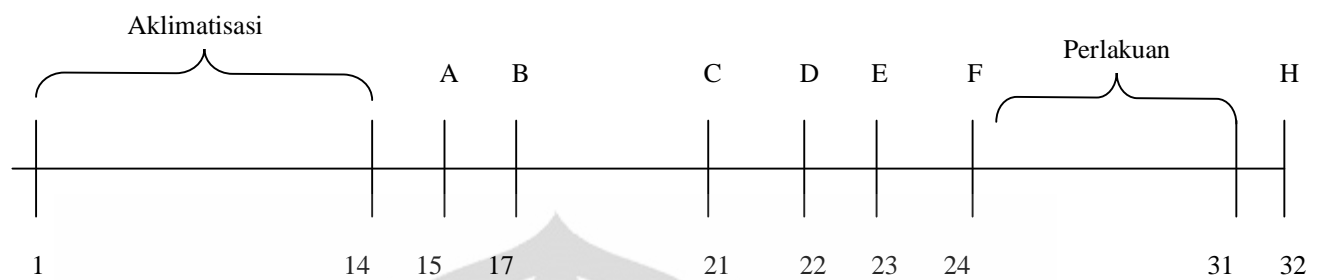
Tabel 5.0. Tabel hasil uji anava satu arah

Hari	F	Sig.	Hipotesis	Kesimpulan
hari 1	.532	.778	Ho diterima	Tidak ada perbedaan bermakna
hari 2	.680	.668	Ho diterima	Tidak ada perbedaan bermakna
hari 3	1.268	.314	Ho diterima	Tidak ada perbedaan bermakna
hari 4	1.721	.165	Ho diterima	Tidak ada perbedaan bermakna
hari 5	1.558	.208	Ho diterima	Tidak ada perbedaan bermakna
hari 6	1.861	.135	Ho diterima	Tidak ada perbedaan bermakna
hari 7	1.309	.296	Ho diterima	Tidak ada perbedaan bermakna

Hasil uji ANAVA satu arah yang telah diolah kembali

Kesimpulan: H_0 diterima, berarti tidak terdapat perbedaan bermakna antar kelompok perlakuan


Lampiran 5. Bagan pelaksanaan percobaan



Keterangan


- Hari 1-14 : aklimatisasi
- A : induksi (T1)
- B : tes glukosa hari 3 (T3)
- C : tes glukosa hari 7 (T7)
- D : pencukuran rambut tikus
- E : pembuatan luka
- F : hari pertama perlakuan
- G : hari terakhir perlakuan (T17)
- H : pengukuran glukosa darah terakhir (T18)

Lampiran 6. Sertifikat analisis Aloksan monohidrat

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

Lampiran 7. Sertifikat analisis Glibenklamid

ANALISY-00174-
AMA 01-00



CADILA
PHARMACEUTICALS
LIMITED
CHEMICALS GRU

378A, GATE NO. 1, Sector,
Ashokapuram - 390002
Gujarat, India.

Phone : +91-2646-250174/250175
Tel : +91-2646-254619
Website : www.cadilapharma.com


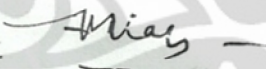
Name of Finished Product		Glibenclamide BP Ph. Eur.	
Manufactured By		Cadila Pharmaceuticals Limited, Ashokapuram	
Lot No.	WOL101	A.K.M.S.	FP0016
Manufacturing Date	15/11/2014	Exp. Date	20/10/15
Expiry Date	15/11/2014		
Certificate of Analysis			
Test	Requirements	Results	
Characteristics Appearance	A white or almost white crystalline powder	White crystalline powder	
Solubility	Practically insoluble in water, sparingly soluble in potassium chloride, slightly soluble in alcohol and in acetone.	Practically insoluble in water, sparingly soluble in potassium chloride, slightly soluble in alcohol and in acetone.	
Identification A) Melting point B) IR	Melting point 107°C to 110°C Infrared spectrum (KBr disc) corresponds with that of Glibenclamide, monohydrate, showing the characteristic absorption in the fingerprint region. If the infrared spectra show differences, confirm separately the substance with water, ethanol, dry at 100°C for 2 hours and retest the spectrum.	107.5°C to 111.5°C Infrared with working standard	
Assay (substance) (By HPLC)			
1. Assay by A	Not more than 100%	100.5%	
2. Assay by B	Not more than 100%	100.5%	
3. Relative Assay by 1	Not more than 0.1%	0.07%	
4. Relative Assay by 2	Not more than 0.1%	0.07%	
5. Relative Assay by 3	Not more than 0.1%	0.07%	
6. Total of other impurities	Not more than 0.1%	0.07%	
Loss on drying	Not more than 0.5% (Determined on 1.0 g by drying in an oven at 100 to 105°C)	Less than 0.20%	
Residual ash	Not more than 0.1% (Determined on 1.0 g)	0.05%	
Ash for sulphur	Not more than 0.1% and not more than the equivalent of 0.005% of SO_4^{2-} (Determined with reference to the dried substance)	0.05%	
Water of hydration	99.5% water should be lost from 10 g	99.5%	
Particle size	90% particles should be less than 10 µm	90%	
Remarks: The material complies with specified in the BP Ph. Eur. specifications.			
Prepared By	ESG	Checked By	[Signature]
Date	20-02-14	Date	20-02-14
Approved By		Approved By	
[Signature]		[Signature]	

Corporate Office :
"Opus Corporate Centre"
Suraj Park Road, Ghatlodiya,
Ahmedabad - 382 210, Gujarat, India.

Phone : +91-2710-725001-05
Fax : +91-2710-725099
Website : www.cadilapharma.com

The Certificate continues...

Lampiran 8. Surat keterangan hewan uji

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

Lampiran 9. Surat determinasi tumbuhan



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, 30 Mei 2011

Nomor : 8/0 /IPH.1.02/If.8/V/2011
Lampiran : -
Perihal : Hasil identifikasi/determinasi Tumbuhan

Kepada Yth.
Bpk./Ibu/Sdr(i). Nurlitasari
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.	Sirih Merah	<i>Piper cf. fragile</i> Benth.	Piperaceae
2.	Daun Pegagan	<i>Centella asiatica</i> (L.) Urb.	Apiaceae

Demikian, semoga berguna bagi Saudara.

Kepala Bidang Botani
Pusat Penelitian Biologi-LIPI,


Dr. Joeni Setijo Rahajoe
NIP. 196706241993032004