



UNIVERSITAS INDONESIA

**PENGARUH CAMPURAN EKSTRAK TANAMAN BINAHONG
(*Anredera cordifolia* (Ten.) Steenis) DAN SAMBILOTO
(*Andrographis paniculata* Nees) TERHADAP KADAR GLUKOSA
DARAH TIKUS PUTIH (*Rattus norvegicus* L.) JANTAN**

SKRIPSI

**OKVITASARI PURBOWATI
0606070125**

**FAKULTAS MATEMATIKA DAN ILMU PENGETAHUAN ALAM
DEPARTEMEN BIOLOGI
DEPOK
JUNI 2011**



UNIVERSITAS INDONESIA

**PENGARUH CAMPURAN EKSTRAK TANAMAN BINAHONG
(*Anredera cordifolia* (Ten.) Steenis) DAN SAMBILOTO
(*Andrographis paniculata* Nees) TERHADAP KADAR GLUKOSA
DARAH TIKUS PUTIH (*Rattus norvegicus* L.) JANTAN**

SKRIPSI

Diajukan sebagai salah satu syarat untuk memperoleh gelar Sarjana Sains

**OKVITASARI PURBOWATI
0606070125**

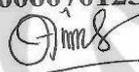
**FAKULTAS MATEMATIKA DAN ILMU PENGETAHUAN ALAM
DEPARTEMEN BIOLOGI
DEPOK
JUNI 2011**

HALAMAN PERNYATAAN ORISINALITAS

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

Nama : Okvitasari Purbowati

NPM : 0606070125

Tanda Tangan : 

Tanggal : 30 Juni 2011

HALAMAN PENGESAHAN

Skripsi ini diajukan oleh

Nama : Okvitasari Purbowati
NPM : 0606070125
Program Studi : S-1 Biologi Reguler
Judul Skripsi : Pengaruh Campuran Ekstrak Tanaman Binahong
(*Anredera cordifolia* (Ten.) Steenis) dan Sambilotto
(*Andrographis paniculata* Nees) terhadap Kadar
Glukosa Darah Tikus Putih (*Rattus norvegicus* L.)
Jantan

Telah berhasil dipertahankan di hadapan Dewan Penguji dan diterima sebagai bagian persyaratan yang diperlukan untuk memperoleh gelar Sarjana Sains pada Program Studi S1 Biologi, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Indonesia.

DEWAN PENGUJI

Pembimbing I : Dr. Dadang Kusmana, M.S. (.....)

Pembimbing II : Dra. Sri Ningsih, M.Si., Apt. (.....)

Penguji I : Dra. Setiorini, M. Kes. (.....)

Penguji II : Dr. Nisyawati (.....)

Ditetapkan di : Depok

Tanggal : 30 Juni 2011

KATA PENGANTAR

Alhamdulillah Robbil' alamin, puji syukur ke hadirat Allah SWT, karena atas cinta & rahmat-Nya penulis dapat menyelesaikan penelitian dan penulisan skripsi ini. Penulisan skripsi ini dilakukan untuk memenuhi salah satu syarat mencapai gelar Sarjana Sains di Departemen Biologi FMIPA UI. Penulis menyadari bahwa penyusunan skripsi ini dapat selesai atas bantuan dan bimbingan dari banyak pihak. Oleh karena itu, penulis ingin mengucapkan terima kasih kepada:

- (1) Dr. Dadang Kusmana, M.S. selaku pembimbing 1 dan Dra. Sri Ningsih, M.Si., Apt. selaku pembimbing 2, yang telah memberikan begitu banyak arahan, bimbingan, fasilitas, saran, dan dukungan selama penelitian hingga penulisan skripsi.
- (2) Badan Pengkajian dan Penerapan Teknologi (BPPT) beserta segenap staff dan karyawan yang telah memberikan fasilitas, bantuan, dan dukungan selama penelitian berlangsung.
- (3) Dra. Setiorini, M. Kes., Dr. Abinawanto, dan Dr. Nisyawati selaku penguji, yang telah bersedia meluangkan waktu dan memberikan arahan, saran, dan masukan bagi kelayakan skripsi ini.
- (4) Dr. rer. nat. Mufti P. Patria, M. Sc., Dra. Nining B. Prihantini, M. Sc., dan Dra. Titi Soedjiarti, SU selaku Ketua, Sekretaris, dan Koordinator Pendidikan Departemen Biologi FMIPA UI, beserta segenap staff dan karyawan yang telah banyak membantu selama proses studi.
- (5) Dr. Upi Chairun Nisa, selaku Pembimbing Akademis penulis yang selalu memberikan semangat dan nasihat dari awal hingga akhir masa studi.
- (6) Dr. Anom Bowolaksono, M.Sc. dan Dra. Luthfiralda S., M. Biomed. selaku Koordinator Seminar yang telah membantu selama proses seminar usulan penelitian dan seminar hasil penelitian.
- (7) Keluarga penulis yaitu kedua orang tua (Bapak Bambang Purwanto dan Ibu Sudilah) yang selalu memberikan dukungan, bantuan, perhatian, doa, dan

kasih sayang yang tak terhingga, yang menguatkan penulis untuk dapat menyelesaikan penelitian dan skripsi ini dengan sebaik-baiknya.

- (8) Adik tersayang, Endah, yang selalu memberi semangat, dukungan, dan bantuan kepada penulis.
- (9) Sahabat tersayang, Vinda, yang selalu memberi dukungan, saran, informasi, dan tentunya keceriaan selama menjalani perkuliahan dan penelitian.
- (10) Kawan-kawan mahasiswa Departemen Biologi angkatan 2006: Asma, Aang, Widi, Suci, Rika, Quwmil, Iqbal, Rahmat, Eva, Fido, Betty, Henny, Sholia, Kresna, Eko, Fuji, Rani, dan semua anak FELIX lainnya atas kebersamaan, dukungan, keceriaan, dan informasi.
- (11) Rekan-rekan di Laboratorium Perkembangan Hewan: Elly, Dini, Septi, kak Achil, kak Maru, kak Wienda, Ipit, Rini, dan Ade atas dukungan dan bantuan selama penelitian.
- (12) Kakak-kakak senior: BALIVEAU dan BI05PHERE, serta adik-adik: BLOSSOM dan BIOSENTRIS atas dukungan dan bantuannya.
- (13) Rekan-rekan di Departemen Pengabdian Masyarakat BEM MIPA UI dan seluruh keluarga besar BEM MIPA UI atas dukungannya.
- (14) Kawan-kawan di Wisma Karunia: Nida, Kimi, Ana, Numa, Nisa, Nisu, Eka, Fina, dan Anachan atas kebersamaan dan dukungannya.
- (15) Dan, kepada seluruh pihak yang tak dapat disebutkan satu per satu, terima kasih atas bantuan dan dukungan atas kelancaran penelitian dan penulisan skripsi ini.

Akhir kata, penulis hanya dapat berharap Allah SWT berkenan membalas segala kebaikan semua pihak yang telah berperan selama proses studi, penelitian, hingga penulisan skripsi ini dengan kebaikan yang lebih banyak. Semoga skripsi ini bermanfaat bagi perkembangan ilmu pengetahuan, khususnya biologi.

Depok, 30 Juni 2011

Penulis

HALAMAN PERNYATAAN PERSETUJUAN PUBLIKASI TUGAS AKHIR UNTUK KEPENTINGAN AKADEMIS

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

Nama : Okvitasari Purbowati
NPM : 0606070125
Program Studi : Sarjana (S1)
Departemen : Biologi
Fakultas : Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam
Jenis karya : Skripsi

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

“Pengaruh Campuran Ekstrak Tanaman Binahong (*Anredera cordifolia* (Ten.) Steenis) dan Sambiloto (*Andrographis paniculata* Nees) terhadap Kadar Glukosa Darah Tikus Putih (*Rattus norvegicus* L.) Jantan”.

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

Demikian pernyataan ini saya buat dengan sebenarnya.

Dibuat di : Depok
Pada tanggal : 30 Juni 2011



(Okvitasari Purbowati)

ABSTRAK

Nama : Okvitasari Purbowati
Program Studi : Biologi
Judul : Pengaruh Campuran Ekstrak Tanaman Binahong (*Anredera cordifolia* (Ten.) Steenis) dan Sambiloto (*Andrographis paniculata* Nees) terhadap Kadar Glukosa Darah Tikus Putih (*Rattus norvegicus* L.) Jantan

Telah dilakukan penelitian untuk mengetahui pengaruh campuran ekstrak tanaman binahong (*Anredera cordifolia* (Ten.) Steenis) dan sambiloto (*Andrographis paniculata* Nees) terhadap kadar glukosa darah tikus putih (*Rattus norvegicus* L.) jantan. Tikus dikelompokkan menjadi delapan kelompok. Kelompok kontrol normal tidak diinduksi aloksan dan diberi larutan *Carboxy Methyl Cellulose* (CMC). Kelompok lainnya diinduksi aloksan dosis 100 mg/kg bb secara intraperitoneal dan masing-masing diberi larutan CMC (kelompok kontrol negatif), *Glibenclamide*[®] (kelompok kontrol positif), ekstrak binahong dosis 250 mg/kg bb (kelompok perlakuan ekstrak binahong), ekstrak sambiloto dosis 500 mg/kg bb (kelompok perlakuan ekstrak sambiloto), dan campuran ekstrak dosis 750 mg/kg bb (kelompok perlakuan campuran ekstrak dosis 1); dosis 375 mg/kg bb (kelompok perlakuan campuran ekstrak dosis 2); serta dosis 187,5 mg/kg bb (kelompok campuran ekstrak dosis 3). Pemberian bahan uji dilakukan secara oral selama 21 hari berturut-turut. Hasil uji Kruskal-Wallis dan Anava 1-faktor ($P < 0,05$) menunjukkan bahwa ketiga dosis campuran ekstrak berpengaruh nyata terhadap penurunan rerata kadar glukosa darah. Penurunan kadar glukosa darah terbesar dicapai oleh kelompok dosis 750 mg/kg bb dengan rerata kadar glukosa darah mendekati nilai kelompok normal, yakni pada hari ke-15 sebesar 121,36 mg/dl dan pada hari ke-22 sebesar 85,37 mg/dl.

Kata kunci : Aloksan, *Andrographis paniculata* Nees, *Anredera cordifolia* (Ten.) Steenis, kadar glukosa darah, tikus putih (*Rattus norvegicus* L.)
xiii + 80 halaman : 12 gambar; 4 tabel; 13 lampiran
Daftar referensi : 71 (1965--2011)

ABSTRACT

Name : Okvitasari Purbowati
Study program: Biology
Title : Effect of a Mixture of Extract Binahong (*Anredera cordifolia* (Ten.) Steenis) and Sambiloto (*Andrographis paniculata* Nees) on Blood Glucose Levels of Male White Rats (*Rattus norvegicus* L.)

The research was done in order to determine the effect of a mixture of extract binahong (*Anredera cordifolia* (Ten.) Steenis) and sambiloto (*Andrographis paniculata* Nees) on blood glucose levels of male white rats (*Rattus norvegicus* L.). The male rats were divided into eight groups. Normal control group was not induced alloxan and given *Carboxy Methyl Cellulose* (CMC) solution. The others were induced alloxan at dose of 100 mg/kg body weight intraperitoneally and each of them was given CMC solution (negative control group), *Glibenclamide*[®] (positive control group), binahong extract at dose of 250 mg/kg body weight (binahong group), sambiloto extract at dose of 500 mg/kg body weight (sambiloto group), and mixture extract at dose of 750 mg/kg body weight; 375 mg/kg body weight; and 187,5 mg/kg body weight. The test materials were administrated for 21 consecutive days orally. The result of this experiment showed that statistically both single and mixture extract could decrease blood glucose levels significantly ($P < 0,05$). The highest decrease of blood glucose levels was achieved by the mixture extract at dose of 750 mg/kg body weight with an average value of blood glucose level 121,36 mg/dl (14 days after treatment) and 85,37 mg/dl (21 days after treatment).

Keywords : Alloxan, *Andrographis paniculata* Nees, *Anredera cordifolia* (Ten.) Steenis, blood glucose levels, mixture of extract, white rats (*Rattus norvegicus* L.)

xiii + 80 pages : 12 pictures; 4 tables; 13 attachments

Bibliography : 71 (1965--2011)

DAFTAR ISI

HALAMAN JUDUL	i
HALAMAN PERNYATAAN ORISINALITAS	iii
HALAMAN PENGESAHAN	iv
KATA PENGANTAR	v
HALAMAN PERSETUJUAN PUBLIKASI KARYA ILMIAH	vii
ABSTRAK	viii
ABSTRACT	ix
DAFTAR ISI	x
DAFTAR GAMBAR	xii
DAFTAR TABEL	xii
DAFTAR LAMPIRAN	xiii
1. PENDAHULUAN	1
2. TINJAUAN PUSTAKA	6
2.1 Diabetes melitus (DM)	6
2.1.1 Klasifikasi penyakit DM	6
2.1.2 Kelainan fisiologis pada penderita penyakit DM	7
2.1.3 Komplikasi penyakit DM	9
2.1.4 Pengobatan penyakit DM	10
2.2 Pengaturan kadar glukosa darah	11
2.2.1 Glukosa darah berasal dari makanan, glukoneogenesis, dan glikogenolisis	11
2.2.2 Mekanisme hormonal dalam mengatur kadar glukosa darah ...	12
2.2.3 Peran beta (β)-endorfin dalam menurunkan kadar glukosa darah	16
2.2.4 Transpor glukosa melalui membran sel	17
2.3 Binahong (<i>Anredera cordifolia</i> (Ten.) Steenis)	19
2.3.1 Klasifikasi dan deskripsi binahong (<i>Anredera cordifolia</i> (Ten.) Steenis)	19
2.3.2 Kandungan kimia dan manfaat binahong (<i>Anredera cordifolia</i> (Ten.) Steenis)	21
2.4 Sambiloto (<i>Andrographis paniculata</i> Nees)	21
2.4.1 Klasifikasi dan deskripsi sambiloto (<i>Andrographis paniculata</i> Nees)	21
2.4.2 Kandungan kimia dan manfaat sambiloto (<i>Andrographis paniculata</i> Nees)	23
2.5 Ekstraksi	24
2.6 Aloksan	25
2.7 Tikus putih (<i>Rattus norvegicus</i> L.)	26
2.8 Metode pemeriksaan kadar glukosa darah secara enzimatik	27
2.9 Spektrofotometer	28

3. METODOLOGI PENELITIAN	29
3.1 Lokasi dan waktu penelitian	29
3.2 Bahan	29
3.2.1 Bahan uji	29
3.2.2 Hewan percobaan	29
3.2.3 Makanan dan minuman hewan percobaan	30
3.2.4 Bahan kimia	31
3.3 Peralatan	31
3.3.1 Pemeliharaan tikus putih (<i>Rattus norvegicus</i> L.)	31
3.3.2 Pembuatan ekstrak	31
3.3.3 Pembuatan larutan dan suspensi ekstrak	31
3.3.4 Induksi tikus putih (<i>Rattus norvegicus</i> L.) dengan aloksan sebagai diabetogen	32
3.3.5 Pencekakan tikus putih (<i>Rattus norvegicus</i> L.) secara oral	32
3.3.6 Pengambilan darah dan pengukuran kadar glukosa darah tikus putih (<i>Rattus norvegicus</i> L.)	32
3.4 Cara kerja	32
3.4.1 Rancangan penelitian	32
3.4.2 Pemeliharaan hewan percobaan	33
3.4.3 Pembuatan ekstrak	34
3.4.4 Induksi tikus putih (<i>Rattus norvegicus</i> L.) dengan aloksan sebagai diabetogen	35
3.4.5 Pembuatan larutan <i>Carboxy Methyl Cellulose</i> (CMC) 0,5% ...	36
3.4.6 Pembuatan suspensi campuran ekstrak	36
3.4.7 Perlakuan terhadap tikus putih (<i>Rattus norvegicus</i> L.)	37
3.4.8 Pengambilan darah	38
3.4.9 Analisis darah	38
3.4.10 Pengolahan dan analisis data	40
4. HASIL DAN PEMBAHASAN	41
4.1 Hasil	41
4.1.1 Kadar glukosa darah hari ke-0	41
4.1.2 Kadar glukosa darah hari ke-15	43
4.1.3 Kadar glukosa darah hari ke-22	45
4.2 Pembahasan	47
5. KESIMPULAN DAN SARAN	57
5.1 Kesimpulan	57
5.2 Saran	57
DAFTAR REFERENSI	58
LAMPIRAN	65

DAFTAR GAMBAR

Gambar 2.1.2a	Kelainan fisiologis pada penderita DM	8
Gambar 2.1.2b	Pembentukan benda - benda keton	9
Gambar 2.2.2a	Glukosa berlebih menstimulasi sekresi insulin oleh sel β pankreas	13
Gambar 2.2.2b	Peran hormon insulin dan glukagon terhadap kadar glukosa darah	15
Gambar 2.2.3a	Insulin mengaktivasi <i>glucose transporter</i>	17
Gambar 2.2.3b	Mekanisme dan macam-macam <i>glucose transporter</i> (GLUT)	18
Gambar 2.3.1	Binahong (<i>Anredera cordifolia</i> (Ten.) Steenis)	20
Gambar 2.4.2	Sambiloto (<i>Andrographis paniculata</i> Nees)	23
Gambar 4.2.1	Mekanisme andrografolida meningkatkan penggunaan glukosa oleh sel otot dan mengurangi glukoneogenesis pada hati	53

DAFTAR TABEL

Tabel 3.2.3	Komposisi dan bahan dasar pakan yang digunakan	30
Tabel 4.1.1	Kadar glukosa darah hari ke-0 tikus putih (<i>Rattus norvegicus</i> L.) jantan galur Sprague Dawley	41
Tabel 4.1.2	Kadar glukosa darah hari ke-15 tikus putih (<i>Rattus norvegicus</i> L.) jantan galur Sprague Dawley	43
Tabel 4.1.3	Kadar glukosa darah hari ke-22 tikus putih (<i>Rattus norvegicus</i> L.) jantan galur Sprague Dawley	45

DAFTAR LAMPIRAN

Lampiran 1	Sertifikat hasil identifikasi tanaman	65
Lampiran 2	Perhitungan dosis ekstrak	66
Lampiran 3	Perhitungan dosis pemberian aloksan secara intraperitoneal pada tikus putih (<i>Rattus norvegicus</i> L.) jantan.....	67
Lampiran 4	Uji normalitas Shapiro-Wilk terhadap data kadar glukosa darah hari ke-0	68
Lampiran 5	Uji homogenitas Levene terhadap data kadar glukosa darah hari ke-0	69
Lampiran 6	Uji nonparametrik Kruskal-Wallis terhadap data kadar glukosa darah hari ke-0	70
Lampiran 7	Uji normalitas Shapiro-Wilk terhadap data kadar glukosa darah hari ke-15	71
Lampiran 8	Uji homogenitas Levene terhadap data kadar glukosa darah hari ke-15	72
Lampiran 9	Uji nonparametrik Kruskal-Wallis terhadap data kadar glukosa darah hari ke-15	73
Lampiran 10	Uji normalitas Shapiro-Wilk terhadap data kadar glukosa darah hari ke-22	74
Lampiran 11	Uji homogenitas Levene terhadap data kadar glukosa darah hari ke-22	75
Lampiran 12	Uji analisis variansi (ANOVA) 1-faktor terhadap data kadar glukosa darah hari ke-22	76
Lampiran 13	Uji perbandingan berganda <i>Least Significant Difference</i> (LSD) terhadap data kadar glukosa darah hari ke-22	77

BAB 1 PENDAHULUAN

Diabetes melitus (DM) merupakan penyakit yang dicirikan oleh adanya keadaan hiperglikemia, yaitu peningkatan kadar glukosa darah yang melebihi kadar normal. Faktor genetis, gangguan hormonal, sensitivitas reseptor insulin, dan perubahan gaya hidup seperti pola makan yang tidak sehat merupakan penyebab penyakit DM (Handoko & Suharto 1995: 470). Penyakit DM menempati urutan kedua teratas sebagai penyakit penyebab kematian pada kelompok usia 45--54 tahun di daerah perkotaan di Indonesia (Depkes 2008: 1). Hal tersebut menjadikan Indonesia sebagai negara yang memiliki jumlah penderita DM keempat terbanyak di dunia, setelah India, Cina, dan Amerika Serikat (Wild *dkk.* 2004: 1051).

Gangguan sistem metabolik yang dialami penderita DM dapat menyebabkan tidak terpenuhinya kebutuhan energi, sehingga penderita mudah merasa lapar, haus, dan letih (Tierney *dkk.* 2000: 1156). Hal tersebut perlu mendapat penanganan karena dapat mengurangi tingkat produktivitas penderita dan dapat menimbulkan komplikasi penyakit lainnya. Komplikasi akut dan kronik yang dapat terjadi adalah ketoasidosis, penyakit kardiovaskular, stroke, retinopati, polineuropati, nefropati, dan gangren (Soewondo 2007: 66--69).

Berbagai cara dapat dilakukan untuk mengurangi gangguan metabolik pada penderita DM, di antaranya dengan menjaga pola makan dan mengonsumsi obat hipoglikemik oral (OHO) sintetik (Tjay & Rahardja 2007: 738). Obat sintetik tersebut dapat mengendalikan kadar glukosa darah penderita DM dengan baik, namun konsumsi dalam jangka waktu lama akan menimbulkan efek samping, seperti hipoglikemia akut, kerusakan ginjal, kerusakan hati, dan asidosis laktat (Murray *dkk.* 2003: 208). Oleh karena itu, pemanfaatan bahan alam sebagai obat antidiabetes alami cenderung menjadi pilihan masyarakat (Tjay & Rahardja 2007: 751).

Obat alami dinilai lebih menguntungkan karena umumnya memiliki efek samping yang relatif lebih kecil dibandingkan obat sintetik. Penggunaan dua atau lebih bahan alam secara bersamaan juga diketahui sangat bermanfaat karena

memiliki efek holistik dalam menjaga kesehatan dan mengobati penyakit (Tjay & Rahardja 2007: 752). Terapi menggunakan campuran bahan alam tersebut umumnya telah lama dilakukan oleh masyarakat berdasarkan pengalaman empiris. Seiring perkembangan ilmu pengetahuan, terapi tersebut dikenal sebagai terapi *polyherbal*. Tiwari & Rao (2002: 7) menyatakan bahwa terapi *polyherbal* memiliki efek sinergis antara masing-masing zat yang terkandung dalam tanaman berkhasiat. Hal tersebut menguntungkan karena mampu meningkatkan kemampuan *therapeutic* dengan dosis dan efek samping yang sekecil mungkin.

Penelitian mengenai potensi campuran ekstrak tanaman sebagai bahan uji telah banyak dilakukan. Hasil penelitian Agoreyo *dkk.* (2008: 3950) menyebutkan bahwa pemberian campuran ekstrak *Hibiscus sabdariffa* dan *Zingiber officinale* mampu menurunkan kadar glukosa lebih optimal dibandingkan dengan pemberian ekstrak tunggal. Hasil penelitian Ebong *dkk.* (2008: 242) melaporkan bahwa penurunan kadar glukosa lebih optimal ditunjukkan oleh kelompok uji pemberian campuran ekstrak *Azadirachta indica* dan *Vernonia amygdalina* dibandingkan kelompok uji ekstrak tunggal.

Tanaman Indonesia yang terbukti berkhasiat sebagai obat antidiabetes alami di antaranya adalah binahong (*Anredera cordifolia* (Ten.) Steenis) dan sambiloto (*Andrographis paniculata* Nees). Kedua tanaman tersebut berpotensi sebagai bahan uji terapi *polyherbal*. Binahong (*Anredera cordifolia* (Ten.) Steenis) merupakan tanaman hias yang dikenal secara empiris dapat menyembuhkan penyakit tertentu. Penyakit tersebut di antaranya kerusakan ginjal, diabetes, pembengkakan jantung, muntah darah, tifus, stroke, penyembuhan luka, radang usus, sesak nafas, maag, asam urat, dan pembengkakan hati (Manoi 2009: 5). Sambiloto (*Andrographis paniculata* Nees) juga dimanfaatkan oleh masyarakat untuk mengobati penyakit tertentu, seperti diare, influenza, radang paru-paru, batuk rejan, tekanan darah tinggi, dan diabetes (Hariana 2006: 30--32).

Penelitian menggunakan campuran ekstrak tanaman binahong dan sambiloto sebagai obat antidiabetes alami belum pernah dilakukan. Kombinasi kedua ekstrak tersebut diharapkan dapat memberikan pengaruh yang lebih besar dalam penyembuhan diabetes. Selain itu, khasiat lain dari masing-masing

tanaman, misalnya kemampuan binahong dalam menyembuhkan luka diharapkan mampu memberi manfaat yang lebih bagi penderita diabetes. Hal tersebut terkait dengan komplikasi yang dihadapi penderita diabetes, yaitu jika terjadi luka pada kulit umumnya membutuhkan waktu penyembuhan yang relatif lebih lama dibandingkan waktu penyembuhan luka pada orang sehat (Corwin 2000: 553).

Hasil penelitian pendahuluan Badan Pengkajian dan Penerapan Teknologi (BPPT) (2008) menyatakan bahwa ekstrak etanol tanaman binahong (*Anredera cordifolia* (Ten.) Steenis) mampu menurunkan kadar glukosa darah tikus pada dosis 250 mg/kg bb. Hasil penelitian Kemila (2010: 56) menyebutkan bahwa flavonoid yang terkandung dalam infus daun binahong diduga berperan sebagai antioksidan yang menangkap radikal bebas dari zat penginduksi DM, yaitu aloksan. Aktivitas antioksidan tersebut diduga menjadi mekanisme dalam mengatasi efek kerja aloksan dan memengaruhi penurunan kadar glukosa darah tikus yang diinduksi aloksan.

Berdasarkan penelitian Rendon *dkk.* (2006: 24), pemberian senyawa triterpenoid yang diisolasi dari daun *Anredera cordifolia* (Ten.) Steenis juga mampu menstimulasi penurunan kadar glukosa darah tikus yang mengalami hiperglikemia. Menurut Lee & Thuong (2010: 51), senyawa triterpenoid yang terdapat dalam tanaman *Weigela subsessilis* berperan sebagai peniru insulin (insulinotropik) sehingga dapat berikatan dengan reseptor insulin. Hal tersebut mampu meningkatkan ambilan glukosa oleh sel otot tikus sehingga dapat menurunkan kadar glukosa darah yang berlebih.

Penelitian yang dilakukan oleh Yulinah (2001: 16) menunjukkan bahwa ekstrak etanol herba sambiloto pada kisaran dosis 0,5--2,0 g/kg bb mempunyai efek menurunkan kadar glukosa darah tikus. Subramanian *dkk.* (2008: 772) juga melaporkan bahwa ekstrak etanol sambiloto (*Andrographis paniculata* Nees) mempunyai efek antidiabetes pada dosis 500 mg/kg bb dan 1000 mg/kg bb yang diberikan selama 21 hari berturut-turut. Hasil penelitian Syahrin *dkk.* (2006: 167) menyatakan bahwa pemberian ekstrak etanol sambiloto selama 6 minggu pada tikus yang diinduksi streptozotocin mampu menurunkan kadar glukosa darah melalui perbaikan sel β pankreas. Perbaikan sel β pankreas selanjutnya mampu meningkatkan jumlah insulin yang disekresi. Hasil penelitian Syahrin *dkk.* (2006:

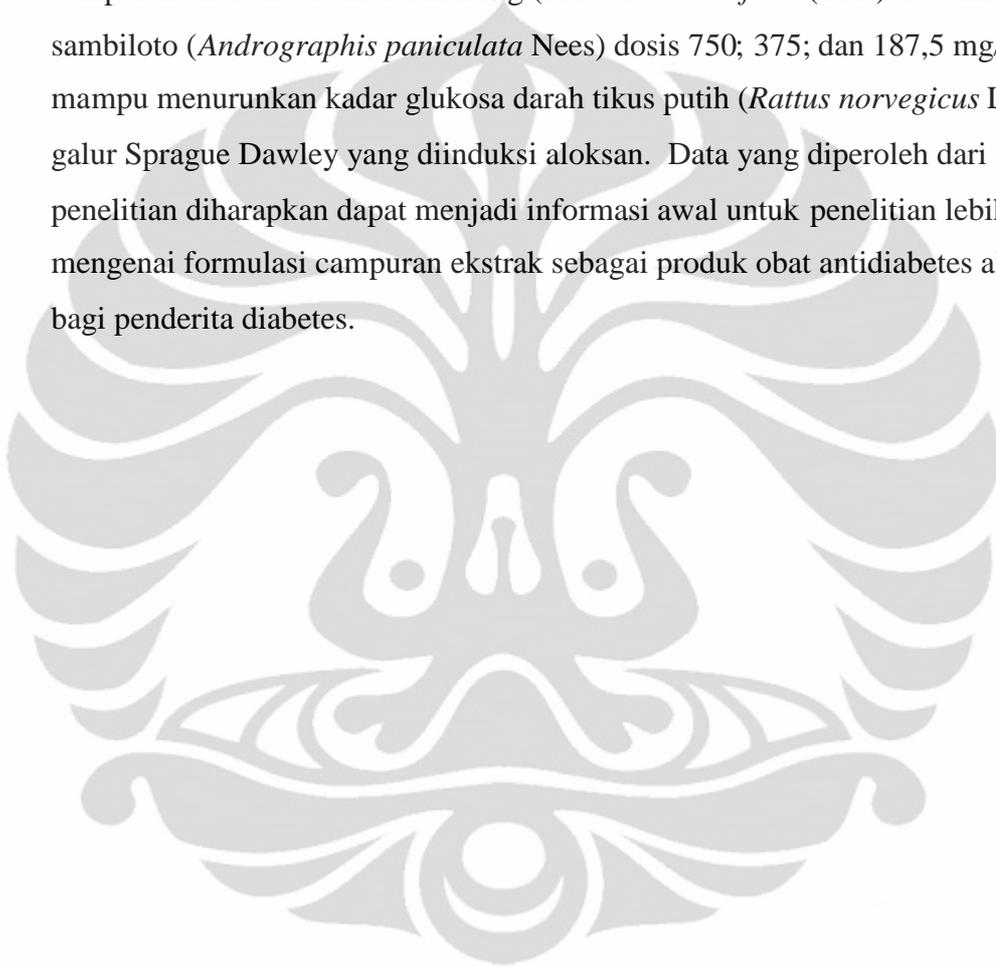
166) tersebut melaporkan adanya peningkatan kepadatan sel endokrin pada pankreas sebesar 15% pada kelompok perlakuan ekstrak sambiloto dibandingkan dengan kelompok kontrol negatif.

Kandungan sambiloto (*Andrographis paniculata* Nees) yang diduga berperan terhadap penurunan kadar glukosa darah adalah andrografolida (Santa 1996: 15; Rao 2006: 49). Menurut Liu & Cheng (2008: 5), andrografolida berperan dalam penurunan glukosa darah dengan mekanisme hormonal melalui aktivitas β -endorphin. Andrografolida mampu meningkatkan pengambilan glukosa oleh sel otot rangka dan mengurangi glukoneogenesis di hati sehingga dapat menurunkan kadar glukosa darah.

Dalam upaya pengembangan penelitian untuk menghasilkan produk antidiabetes alami dengan penggunaan dosis yang relatif lebih kecil dan diharapkan memiliki efek menurunkan kadar glukosa darah lebih baik, maka telah dilakukan penelitian mengenai campuran ekstrak tanaman binahong (*Anredera cordifolia* (Ten.) Steenis) dan sambiloto (*Andrographis paniculata* Nees) sebagai penurun kadar glukosa darah. Campuran ekstrak kedua tanaman tersebut diharapkan dapat menjadi obat antidiabetes alami yang lebih baik karena memiliki mekanisme yang berbeda dalam menurunkan kadar glukosa darah. Hal tersebut dapat terjadi karena adanya efek komplementer antara kedua ekstrak, yaitu dengan terstimulasinya pengambilan glukosa oleh sel otot, berkurangnya aktivitas glukoneogenesis di hati, tercukupinya kebutuhan antioksidan dalam tubuh penderita DM, dan meningkatnya sekresi insulin mampu meningkatkan penggunaan glukosa dari darah oleh sel-sel tubuh dan meningkatkan glikogenesis di hati sehingga tidak terjadi kondisi hiperglikemia (Murray *dkk.* 2003: 207; Sherwood 2001: 668).

Penentuan dosis yang digunakan dalam penelitian mengacu pada hasil penelitian Subramanian *dkk.* (2008: 772) dan penelitian pendahuluan Badan Pengkajian dan Penerapan Teknologi (BPPT) (2008). Dosis campuran ekstrak diperoleh dengan menjumlahkan dosis tunggal masing-masing ekstrak tanaman, yaitu dosis ekstrak binahong sebesar 250 mg/kg bb dan dosis ekstrak sambiloto sebesar 500 mg/kg bb. Penurunan dosis mengikuti pola $(1/2)^n$ sehingga diperoleh variasi dosis sebesar 750; 375; dan 187,5 mg/kg bb (Agoreyo *dkk.* 2008: 3950).

Penelitian bertujuan untuk mengetahui pengaruh pemberian campuran ekstrak tanaman binahong (*Anredera cordifolia* (Ten.) Steenis) dan sambiloto (*Andrographis paniculata* Nees) dosis 750; 375; dan 187,5 mg/kg bb terhadap kadar glukosa darah tikus putih (*Rattus norvegicus* L.) jantan galur Sprague Dawley yang diinduksi aloksan. Hipotesis yang diajukan adalah pemberian campuran ekstrak tanaman binahong (*Anredera cordifolia* (Ten.) Steenis) dan sambiloto (*Andrographis paniculata* Nees) dosis 750; 375; dan 187,5 mg/kg bb mampu menurunkan kadar glukosa darah tikus putih (*Rattus norvegicus* L.) jantan galur Sprague Dawley yang diinduksi aloksan. Data yang diperoleh dari penelitian diharapkan dapat menjadi informasi awal untuk penelitian lebih lanjut mengenai formulasi campuran ekstrak sebagai produk obat antidiabetes alami bagi penderita diabetes.



BAB 2 TINJAUAN PUSTAKA

2.1 DIABETES MELITUS (DM)

Diabetes melitus (DM) adalah penyakit gangguan metabolik yang dicirikan oleh keadaan hiperglikemia, yaitu peningkatan kadar glukosa darah melebihi kadar normal. Keadaan hiperglikemia dapat disebabkan oleh adanya gangguan hormonal, seperti defisiensi hormon insulin atau gangguan sensitivitas reseptor terhadap insulin (Handoko & Suharto 1995: 470; Tierney *dkk.* 2000: 1152). Tingginya kadar glukosa darah pada penderita DM dapat dideteksi melalui pengambilan darah atau melalui urin. Oleh karena itu, DM umumnya juga dikenal sebagai penyakit 'kencing manis' (Handoko & Suharto 1995: 470).

2.1.1 Klasifikasi penyakit DM

Penyakit Diabetes Melitus (DM) dapat diderita oleh semua golongan usia. Gejala dapat muncul secara tiba-tiba pada usia anak dan dewasa (Dalimartha 2004: 3). Penyakit DM secara umum dibagi menjadi 2 tipe, yaitu DM tipe 1 dan DM tipe 2.

2.1.1.1 Penyakit DM tipe 1

Penyakit DM tipe 1 disebut sebagai DM yang tergantung pada insulin eksogen, yaitu asupan insulin dari luar tubuh. Penyakit DM tipe 1 dicirikan oleh keadaan defisiensi insulin, yakni tidak terpenuhinya kebutuhan insulin oleh tubuh. Defisiensi insulin umumnya disebabkan oleh destruksi sel β pankreas karena serangan autoimun. Kerusakan sel β pankreas tersebut dapat mencapai sekitar 90%. Serangan autoimun dapat disebabkan oleh infeksi virus, misalnya gondongan (*mumps*), rubela, dan sitomegalovirus kronik, atau setelah pajanan obat atau toksin (Corwin 2000: 543).

Penanda adanya destruksi sel β pankreas adalah terbentuknya antibodi terhadap sel-sel pulau Langerhans (Corwin 2000: 543; Tjay & Rahardja 2007: 741). Antibodi terhadap sel β pankreas dinamakan ICA (*Islet Cell Antibody*). Reaksi antara sel β pankreas dengan ICA menyebabkan lisisnya sel β pankreas (Suyono 2005: 9). Hal tersebut berpengaruh pada kurangnya sekresi insulin, sehingga penderita DM tipe 1 mutlak membutuhkan asupan insulin eksogen (Zimmet *dkk.* 2001: 782).

2.1.1.2 Penyakit DM tipe 2

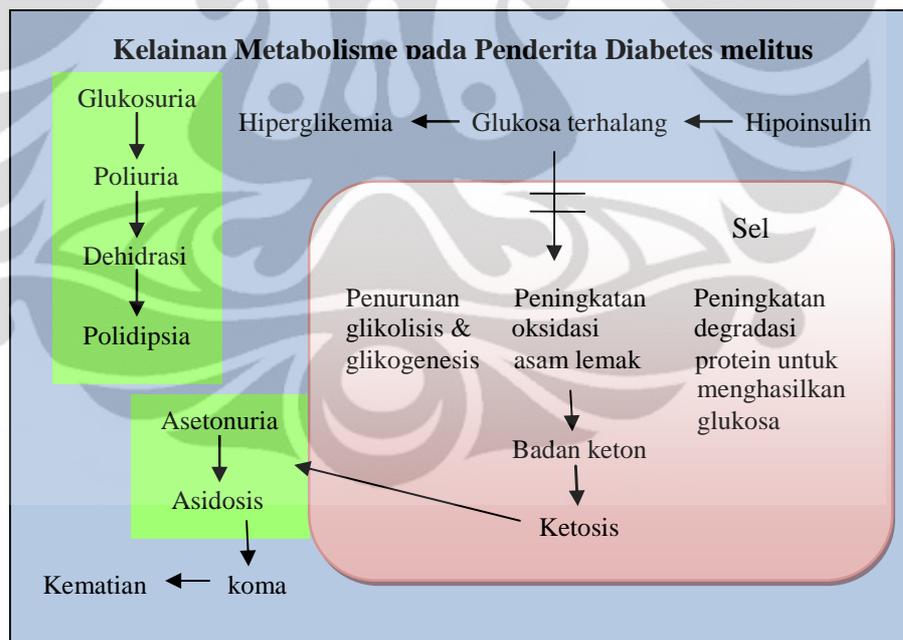
Penyakit DM tipe 2 disebut sebagai DM yang tidak tergantung pada insulin eksogen. Hal tersebut dikarenakan insulin masih dihasilkan oleh tubuh penderita DM. Penderita DM tipe 2 umumnya dapat mengontrol kadar glukosa darah dengan mengatur diet maupun konsumsi obat hipoglikemik oral (OHO). Penyebab DM tipe 2 adalah disfungsi insulin, yakni insulin tidak dapat bekerja dengan baik. Hal tersebut dapat disebabkan oleh resistensi insulin pada sel-sel tubuh, terutama sel otot dan adiposa (Corwin 2000: 544). Kadar insulin pada penderita DM tipe 2 tergolong normal, rendah, atau bahkan tinggi, namun tidak fungsional. Penderita DM tipe 2 umumnya juga disebabkan oleh keadaan obesitas (Zimmet *dkk.* 2001: 782; Tjay & Rahardja 2007: 742).

2.1.2 Kelainan fisiologis pada penderita penyakit DM

Dalam keadaan normal, sekitar 50% dari keseluruhan glukosa yang dikonsumsi akan mengalami metabolisme sempurna menjadi karbondioksida dan air, 5% diubah menjadi glikogen, dan selebihnya diubah menjadi lemak. Pada penderita DM, keseluruhan proses tersebut dapat terganggu karena glukosa tidak dapat masuk ke dalam sel jaringan tubuh. Oleh karena itu, glukosa hanya terakumulasi dalam darah sehingga umumnya energi diperoleh dari metabolisme protein dan lemak (Handoko & Suharto 1995: 468).

Keadaan hiperglikemia berpengaruh pada kemampuan ginjal dalam mereabsorpsi glukosa. Kadar glukosa pada penderita DM umumnya melebihi

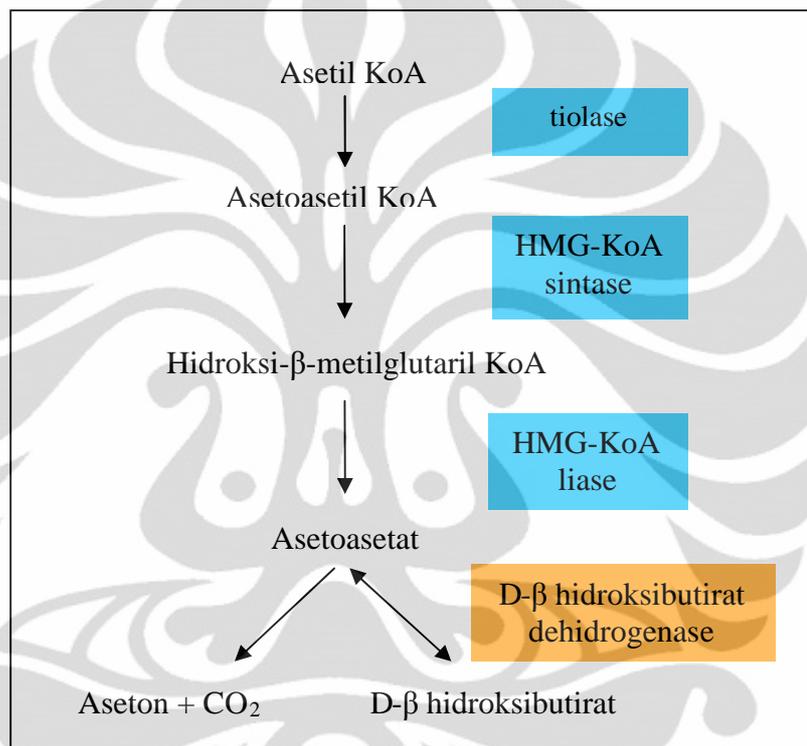
nilai ambang kemampuan ginjal untuk mereabsorpsi glukosa. Glukosa berlebih yang tidak tereabsorpsi selanjutnya akan diekskresi melalui urin. Hal tersebut menimbulkan keadaan glukosuria, yaitu urin yang mengandung glukosa (Murray *dkk.* 2003: 207). Pengeluaran glukosa tersebut memerlukan banyak air sehingga menstimulasi banyaknya jumlah urin. Hal tersebut menjadikan penderita DM memiliki gejala poliuria, yaitu banyak mengeluarkan urin. Poliuria umumnya dapat menyebabkan tubuh kekurangan elektrolit dan menimbulkan dehidrasi (kekurangan cairan). Dehidrasi tersebut diatasi oleh peningkatan rasa haus, dikenal dengan istilah polidipsia. Keadaan lain yang terjadi pada penderita DM adalah peningkatan rasa lapar (polifagia). Polifagia terjadi karena adanya rangsangan ke sistem syaraf pusat (hipotalamus) akibat kadar glukosa intraseluler yang rendah (Gambar 2.1.2a) (Handoko & Suharto 1995: 471; Thibodeau & Patton 2005: 365).



Gambar 2.1.2a Kelainan fisiologis pada penderita DM
[Sumber: Ophardt 2003: 1, diterjemahkan sesuai aslinya.]

Keadaan hiperglikemia dapat menyebabkan terjadinya peningkatan lipolisis dan terhambatnya lipogenesis. Hal tersebut terjadi karena pemenuhan energi pada penderita DM umumnya melalui metabolisme lemak. Peningkatan

lipolisis mengakibatkan adanya penimbunan asetil Ko-A yang selanjutnya diubah menjadi benda keton dalam jaringan (Gambar 2.1.2b). Benda keton yang berlebihan akan menyebabkan timbulnya keadaan ketosis dan berdampak pada penurunan pH darah. Keadaan tersebut ditandai dengan nafas penderita DM yang berbau aseton dan urin penderita DM menjadi asam (Tierney *dkk.* 2000: 1157; Tjay & Rahardja 2007: 740 & 741).



Gambar 2.1.2b Pembentukan benda-benda keton
[Sumber: Mitosciences 2010: 1, diterjemahkan sesuai aslinya.]

2.1.3 Komplikasi penyakit DM

Komplikasi yang terjadi pada penderita DM umumnya disebabkan oleh gangguan pada pembuluh darah besar (makroangiopati) dan pembuluh darah kecil (mikroangiopati) akibat kondisi hiperglikemia. Hiperglikemia juga menyebabkan peningkatan jumlah *reactive oxygen species* (ROS) dalam tubuh penderita DM. Peningkatan ROS dapat terjadi melalui beberapa mekanisme, di antaranya auto-oksidasi glukosa, glikasi protein, dan peroksidasi lipid. Hal tersebut dapat

menimbulkan kondisi *oxidative stress*, yakni ketidakseimbangan antara radikal yang dihasilkan dan sistem penangkapan radikal tersebut (*scavenging*). Sistem antioksidan pada tubuh penderita DM mengalami penurunan jumlah dan fungsi (Maritim *dkk.* 2003: 24 & 25; Moussa 2008: 226). Pengobatan yang tidak tepat atau tertunda atas keadaan tersebut akan menimbulkan berbagai komplikasi yang dapat menyerang organ-organ tubuh penting. Komplikasi yang dapat terjadi, diantaranya kebutaan, gagal ginjal, gagal jantung, *gangren* (pembusukan luka), dan gangguan pada otak sehingga menyebabkan koma (Dalimartha 2004: 3; Thibodeau & Patton 2005: 365; AgroMedia 2009: 1).

2.1.4 Pengobatan penyakit DM

Pengobatan penyakit DM dapat dilakukan dengan pemberian insulin eksogen atau OHO, yaitu obat-obatan yang mampu menurunkan kadar glukosa darah (Zimmet *dkk.* 2001: 782). Penggunaan obat tersebut umumnya efektif dan praktis, namun cenderung memberikan efek samping pada penggunaan dalam waktu yang lama. Dosis berlebih akan mengakibatkan komplikasi kronis yang lebih dini atau keadaan hipoglikemia berlebih (Dalimartha 2004: 33).

Pemberian insulin eksogen umumnya dilakukan terhadap penderita DM tipe 1. Hal tersebut dikarenakan adanya kerusakan sel β pankreas, sehingga insulin tidak dapat disekresi. Insulin eksogen dapat diberikan melalui injeksi subkutan atau intravena (Soewondo 2007: 44). Obat hipoglikemik oral (OHO) umumnya berupa tablet. Adapun kelompok OHO adalah golongan sulfonilurea dan biguanid sebagai berikut:

2.1.4.1 Sulfonilurea

Obat golongan sulfoniurea dapat menurunkan kadar glukosa darah dengan merangsang sel β pankreas untuk mensekresi insulin. Oleh karena itu, pankreas yang masih berfungsi merupakan syarat utama agar obat golongan tersebut bekerja efektif (Handoko & Suharto 1995: 476 & 477). Penggunaan obat sulfonilurea pada penderita obesitas perlu diantisipasi, karena mungkin kadar

insulinnya normal, namun tidak dapat digunakan secara efektif atau terjadi resistensi insulin. Contoh obat dari golongan sulfonilurea, diantaranya tolbutamid, klorpropamid, asetoheksamid, dan glibenklamid (Dalimartha 2004: 34; Tjay & Rahardja 2007: 752 & 753).

2.1.4.2 Biguanid

Obat golongan biguanid memberikan efek antidiabetes dengan cara memfasilitasi kerja insulin pada tempat reseptor perifer. Hal tersebut diketahui dapat meningkatkan kepekaan sel-sel tubuh terhadap insulin yang disekresi pankreas (Tjay & Rahardja 2007: 754). Obat golongan biguanid tidak merangsang peningkatan sekresi insulin, sehingga tidak menyebabkan hipoglikemia. Komplikasi yang dapat terjadi pada penggunaan biguanid adalah asidosis laktat. Contoh obat dari golongan biguanid adalah metformin (Handoko & Suharto 1995: 479 & 480; Dalimartha 2004: 35).

2.2 PENGATURAN KADAR GLUKOSA DARAH

Kadar glukosa darah orang (dewasa) normal adalah 70--110 mg/dl (gula darah puasa) dan kurang dari 140 mg/dl (gula darah *post prandial*, 2 jam setelah makan). Penderita penyakit DM umumnya memiliki kadar glukosa darah lebih dari 140 mg/dl (gula darah puasa) dan lebih dari 200 mg/dl (gula darah *post prandial*, 2 jam setelah makan) (Sutedjo 2007: 115).

2.2.1 Glukosa darah berasal dari makanan, glukoneogenesis, dan glikogenolisis

Sebagian besar karbohidrat yang dapat dicerna dalam makanan akhirnya akan membentuk glukosa. Karbohidrat adalah senyawa organik yang mengandung atom karbon, hidrogen, dan oksigen. Susunan kimia karbohidrat umumnya terdiri dari 3 atau lebih molekul karbon yang berikatan dengan hidrogen dan oksigen. Perbandingan jumlah molekul hidrogen dan oksigen di dalam karbohidrat adalah 2 molekul hidrogen dan 1 molekul oksigen (Murray *dkk.*

2003: 195). Karbohidrat diklasifikasikan menjadi beberapa kelompok, yaitu monosakarida, disakarida, oligosakarida, dan polisakarida. Sebagian besar karbohidrat tersebut mempunyai produk akhir dalam bentuk glukosa. Glukosa termasuk ke dalam kelompok monosakarida (Djojosoebagio 1995: 310).

Glukosa dapat dibentuk dari berbagai senyawa lain (selain karbohidrat) yang mengalami glukoneogenesis. Glukoneogenesis umumnya terlaksana untuk memenuhi kebutuhan tubuh atas glukosa pada saat karbohidrat tidak tersedia dalam jumlah yang cukup pada makanan. Glukoneogenesis merupakan proses pembentukan glukosa dari sumber nonkarbohidrat, misalnya asam amino, laktat, dan gliserol (Murray *dkk.* 2003: 195). Tempat-tempat utama terjadinya glukoneogenesis adalah hati, ginjal, dan di dalam epitelium usus. Hal tersebut dikarenakan adanya enzim-enzim yang berperan dalam glukoneogenesis, misalnya enzim piruvat karboksilase dan glukosa-6-fosfatase (Djojosoebagio 1995: 317 & 318). Glukosa darah juga dapat berasal dari glikogen dalam hati yang kemudian mengalami glikogenolisis. Glikogenolisis merupakan proses penguraian glikogen menjadi glukosa (Murray *dkk.* 2003: 205).

2.2.2 Mekanisme hormonal dalam mengatur kadar glukosa darah

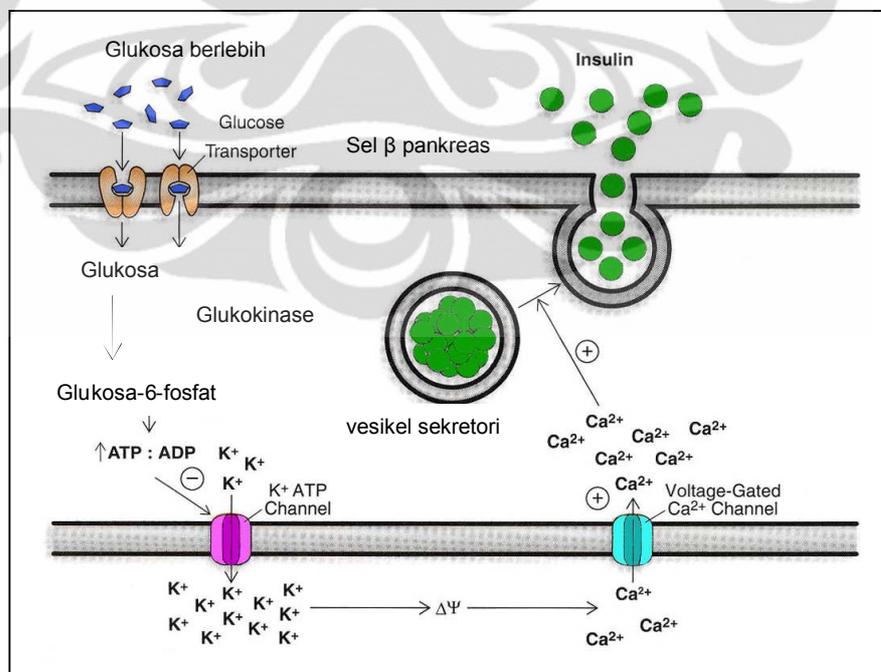
Proses mempertahankan kadar glukosa darah agar tetap stabil merupakan salah satu mekanisme homeostasis. Homeostasis diartikan sebagai keadaan kesetimbangan tubuh yang dinamis. Laju penyerapan glukosa oleh pembuluh darah maupun laju pengeluaran glukosa dari plasma darah umumnya diatur oleh hormon-hormon yang dihasilkan oleh kelenjar endokrin. Kelenjar-kelenjar endokrin yang berperan dalam pengaturan kadar glukosa darah dan metabolisme karbohidrat di antaranya adalah kelenjar pankreas, kelenjar hipofisis bagian anterior, dan kelenjar adrenal (Hadley 2000: 9).

Insulin merupakan hormon yang dihasilkan oleh sel β pulau Langerhans pankreas. Hormon tersebut disekresikan ke dalam darah sebagai reaksi langsung terhadap keadaan hiperglikemia. Insulin meningkatkan mekanisme difusi terfasilitasi glukosa ke dalam sel-sel tubuh yang tergantung insulin. Sekresi insulin menstimulasi pergerakan *glucose transporter* menuju membran plasma.

Apabila sekresi insulin berkurang, sebagian *glucose transporter* akan dikembalikan ke simpanan intrasel (Murray *dkk.* 2003: 202).

Sel-sel pulau Langerhans dapat dilewati dengan bebas oleh glukosa melalui *glucose transporter* (GLUT) 2, dan selanjutnya glukosa akan mengalami fosforilasi oleh enzim glukokinase. Glukosa darah akan mengalami glikolisis, siklus asam sitrat dan pembentukan *adenosine triphosphate* (ATP). Peningkatan konsentrasi ATP akan menutup saluran K^+ yang sensitif terhadap ATP sehingga menyebabkan depolarisasi membran sel β pulau Langerhans pankreas. Keadaan tersebut akan meningkatkan aliran masuk Ca^{2+} sehingga terjadi peningkatan kadar Ca^{2+} di dalam sel β pulau Langerhans pankreas yang akan menstimulasi pelepasan insulin (Gambar 2.2.2a) (Murray *dkk.* 2003: 202 & 203).

Insulin terdiri dari dua rantai polipeptida yang berbeda, yaitu rantai A dan rantai B. Kedua rantai tersebut dihubungkan oleh dua jembatan disulfida. Insulin berperan dalam menurunkan kadar glukosa darah dengan cara memfasilitasi difusi glukosa ke dalam sel-sel tubuh, terutama sel hepar, otot, dan jaringan adiposa (Djojosoebagio 1995: 302 & 303).

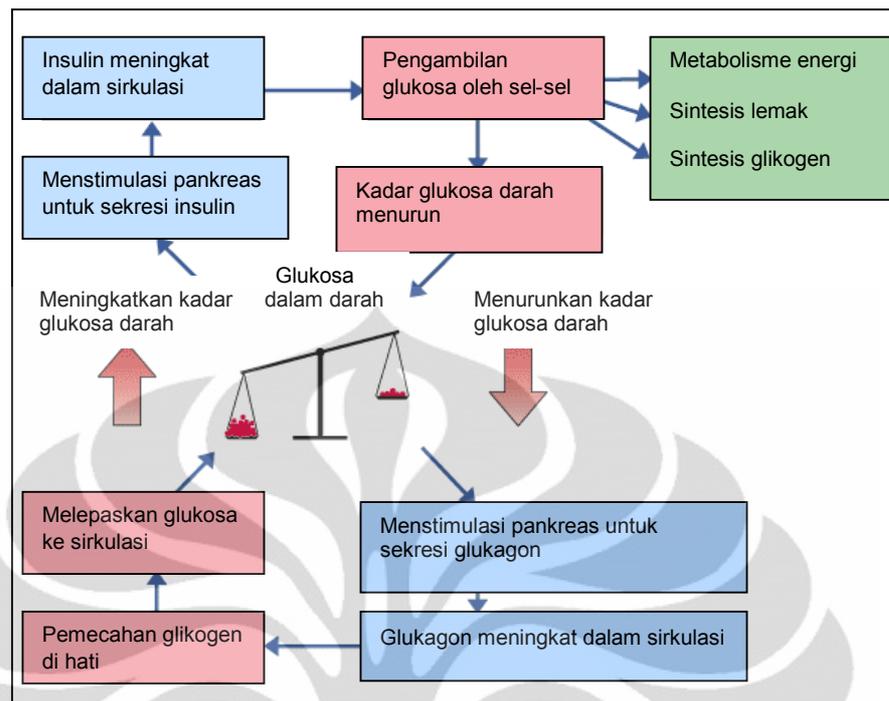


Gambar 2.2.2a Glukosa berlebih menstimulasi sekresi insulin oleh sel β pankreas

[Sumber: Trinity 2009: 1, diterjemahkan sesuai aslinya.]

Peran lain dari insulin adalah merangsang glikogenesis (pembentukan glikogen) dan menghambat glikogenolisis (penguraian glikogen menjadi glukosa). Insulin juga dapat menurunkan pengeluaran glukosa oleh hati dengan menghambat glukoneogenesis (pembentukan glukosa dari lemak, protein, dan senyawa selain karbohidrat lainnya). Hal tersebut berkaitan dengan efek insulin pada lemak dan protein. Insulin mendorong pembentukan asam lemak menjadi trigliserida dan menghambat terjadinya lipolisis (penguraian lemak). Efek insulin pada protein adalah insulin meningkatkan sintesis protein dengan menurunkan kadar asam amino dalam darah. Insulin menstimulasi transportasi aktif asam amino dari darah ke dalam otot dan jaringan lain (Sherwood 2001: 667 & 668).

Glukagon dihasilkan oleh sel α pulau Langerhans pankreas. Sekresi hormon glukagon dirangsang oleh keadaan hipoglikemia, yaitu penurunan kadar glukosa dalam darah. Oleh karena itu, glukagon berperan dalam meningkatkan kadar glukosa dalam darah (Gambar 2.2.2b). Hormon glukagon menstimulasi glikogenolisis dengan mengaktifkan enzim fosforilase. Glukagon meningkatkan glukoneogenesis dari asam amino dan laktat dengan menghasilkan cAMP (*cyclic Adenosine Monophosphate*). Konsentrasi cAMP tersebut mengaktifkan protein kinase yang kemudian mengaktifkan enzim fruktosa 2,6 bisfosfatase yang berperan dalam proses glukoneogenesis (Murray *dkk.* 2003: 198).



Gambar 2.2.2b Peran hormon insulin dan glukagon terhadap kadar glukosa darah

[Sumber: Trinity 2009: 1, diterjemahkan sesuai aslinya.]

Kelenjar hipofisis anterior mensekresi hormon yang cenderung menaikkan kadar glukosa darah. Hormon tersebut adalah hormon pertumbuhan dan *Adrenocorticotropic Hormon* (ACTH). Sekresi hormon – hormon tersebut dirangsang oleh keadaan hipoglikemia. Hormon pertumbuhan mengurangi pengambilan glukosa di jaringan tertentu, misalnya otot. Hal tersebut dikarenakan hormon pertumbuhan memobilisasi asam lemak bebas dari jaringan adiposa ke hati sehingga meningkatkan proses glukoneogenesis (Hadley 2000: 388).

Glukokortikoid disekresi oleh korteks adrenal dan berperan dalam metabolisme karbohidrat. Glukokortikoid mampu menstimulasi peningkatan glukoneogenesis. Hal tersebut disebabkan adanya peningkatan katabolisme protein di jaringan, peningkatan ambilan asam amino oleh hati, dan peningkatan aktivitas enzim transaminase serta enzim lainnya yang berhubungan dengan glukoneogenesis di hati. Selain itu, glukokortikoid menghambat penggunaan glukosa di jaringan ekstrahepatik. Glukokortikoid bekerja secara antagonistik terhadap insulin (Hadley 2000: 371; Murray *dkk.* 2003: 203).

Epinefrin disekresi oleh medula adrenal sebagai akibat dari rangsangan yang menimbulkan stres (ketakutan, kegembiraan, perdarahan, hipoksia, dan hipoglikemia). Epinefrin berperan untuk meningkatkan kadar glukosa darah. Epinefrin menstimulasi proses glikogenolisis di hati. Epinefrin juga memiliki efek langsung terhadap proses lipolisis pada sel-sel lemak (Guyton & Hall 1997: 1231).

Endorfin disekresi oleh kelenjar pituitari, hipotalamus, dan kelenjar adrenal pada vertebrata (Ahmed *dkk.* 2010: 28--30; Liu & Cheng 2008: 2). Endorfin berperan dalam meningkatkan penggunaan glukosa oleh sel otot dan mengurangi glukoneogenesis pada hati (Liu & Cheng 2008: 2). Hal tersebut menstimulasi terjadinya penurunan kadar glukosa darah (Murray *dkk.* 2003: 198). Ada empat (4) jenis endorfin pada tubuh manusia, yaitu alfa (α), beta (β), gamma (γ), dan sigma (δ). Perbedaan antara keempat jenis endorfin tersebut adalah jumlah dan jenis asam amino yang menyusun tiap molekul masing--masing endorfin tersebut. β -endorfin diketahui sebagai jenis endorfin yang memiliki banyak peran dalam tubuh, termasuk berperan dalam perkembangan penanganan penyakit diabetes (Ahmed *dkk.* 2010: 28--30).

2.2.3 Peran beta (β)-endorfin dalam menurunkan kadar glukosa darah

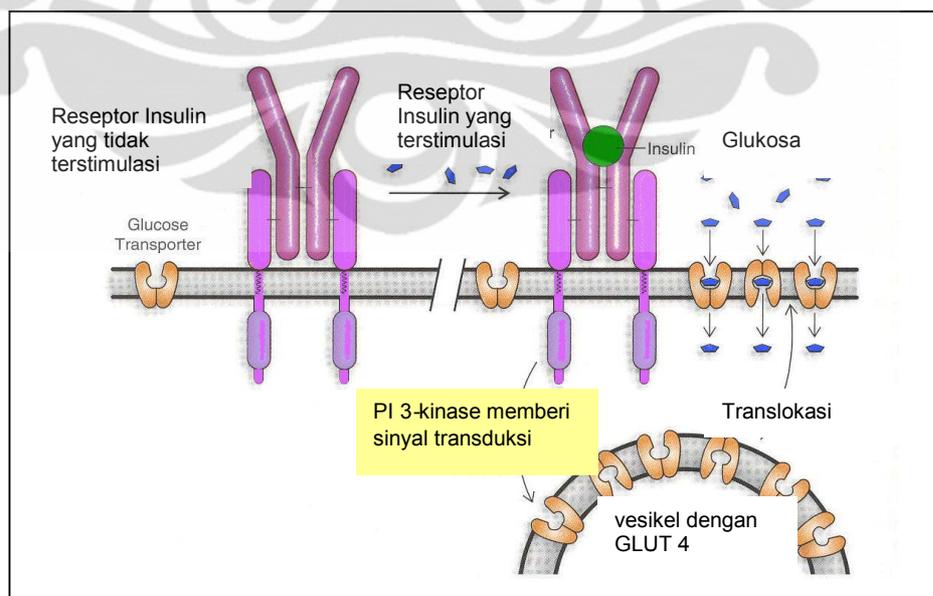
Keberadaan reseptor opioid tidak hanya terdapat di otak, melainkan juga terdapat di kelenjar adrenal, otot rangka, dan hati. Reseptor perifer tersebut dinamakan *opioid μ -receptors* (MOR). Menurut Liu & Cheng (2008: 2), aktivasi MOR dapat meningkatkan penggunaan glukosa oleh sel otot dan mengurangi glukoneogenesis pada hati, sehingga berperan dalam menurunkan kadar glukosa darah. Aktivasi MOR umumnya dilakukan oleh opioid yang berasal dari kelenjar adrenal, yaitu β -endorfin. Sekresi β -endorfin dari kelenjar adrenal merupakan respon dari aktivasi *α_1 -adrenoceptors* (α_1 -ARs).

α_1 -adrenoceptors (α_1 -ARs) merupakan reseptor yang terdiri dari protein G yang menginisiasi sinyal oleh bantuan *phospholipase C* (PLC). Enzim tersebut memungkinkan dihasilkannya *second messengers*, inositol-1,4,5-triphosphate (yang melepaskan Ca^{2+} dari intraseluler) dan *diacylglycerol* (DAG) (yang sinergis

bergabung dengan Ca^{2+} mengaktifkan *protein kinase C* (PKC). *Protein kinase C* (PKC) berperan dalam meningkatkan sekresi β -endorfin pada kelenjar adrenal. Sekresi β -endorfin yang bergantung pada aktivasi jalur PLC - PKC atau disebut *PLC – PKC dependent* terjadi pada jaringan perifer, misalnya otot rangka (Liu & Cheng 2008: 5 & 6).

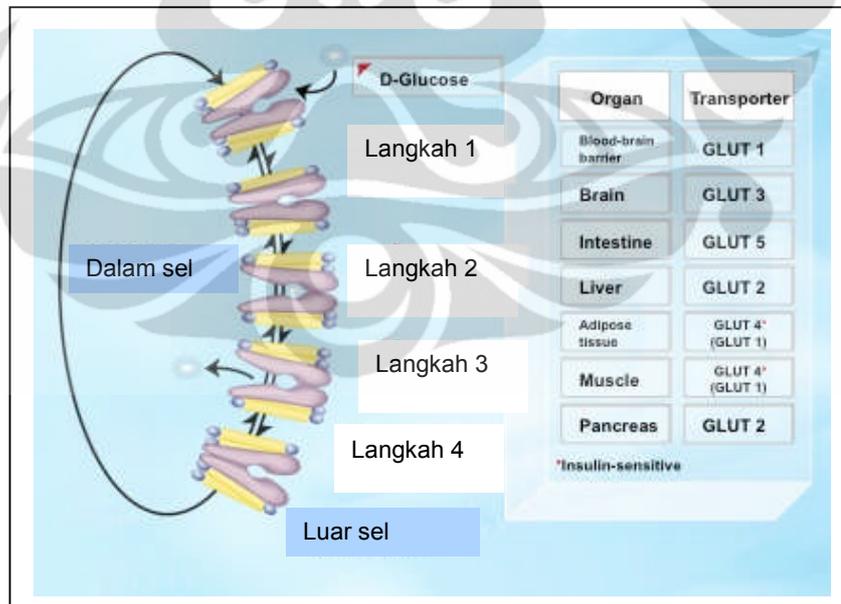
2.2.4 Transpor glukosa melalui membran sel

Sebelum glukosa dapat dipakai oleh sel-sel jaringan tubuh, glukosa harus ditranspor melalui membran sel masuk ke dalam sitoplasma sel. Akan tetapi, glukosa tidak dapat berdifusi melalui pori-pori membran sel secara langsung. Hal tersebut disebabkan oleh berat molekul glukosa yang melebihi berat maksimum partikel yang dapat melalui membran sel. Glukosa dapat masuk ke dalam sel dengan mekanisme difusi terfasilitasi. Sejumlah molekul-molekul protein pembawa (*carrier*) yang dapat bergabung dengan glukosa melakukan penetrasi melalui membran sel matriks lipid. Dalam bentuk ikatan tersebut, glukosa dapat diangkut oleh *carrier* dari satu sisi membran ke sisi lainnya dan kemudian dibebaskan ke dalam sel (Guyton & Hall 1997: 1065).



Gambar 2.2.3a Insulin mengaktifkan *glucose transporter*
[Sumber: Davidson College 2005: 1, diterjemahkan sesuai aslinya.]

Transpor masuknya glukosa ke dalam sel seperti pada otot, jaringan adiposa atau jaringan yang lain difasilitasi oleh *glucose transporter* (GLUT) pada membran sel. *Glucose transporter* (GLUT) tersebut teraktivasi oleh insulin (Gambar 2.2.3a). *Glucose transporter* diperlukan untuk memfasilitasi pengambilan glukosa dari darah masuk ke dalam sel. Masing-masing jenis jaringan mempunyai komposisi *glucose transporter* yang berlainan, berkaitan dengan karakteristik pengambilan glukosa oleh jaringan tersebut (Gambar 2.2.3b). Diketahui terdapat 7 macam *glucose transporter* (GLUT 1 sampai GLUT 7). GLUT 1 dan 3 terdapat di permukaan sel pada plasenta, otak, ginjal, dan organ yang lain. GLUT 4 berada dalam sitoplasma jika tidak tersedia insulin. GLUT 4 adalah transporter yang terdapat dalam otot dan jaringan adiposa. GLUT 2 terdapat pada sel β -pankreas dan hati. GLUT 5 terdapat pada intestinal. GLUT 6 fungsinya masih belum jelas, sedangkan GLUT 7 berfungsi sebagai *transporter* glukosa 6-fosfat dalam retikulum endoplasma yang terdapat di hati (Murray *dkk.* 2003: 202 & 203).



Gambar 2.2.3b Mekanisme dan macam-macam *glucose transporter* (GLUT)

[Sumber: Davidson College 2005: 1, diterjemahkan sesuai aslinya.]

2.3 BINAHONG (*Anredera cordifolia* (Ten.) Steenis)

2.3.1 Klasifikasi dan deskripsi binahong (*Anredera cordifolia* (Ten.) Steenis)

Klasifikasi binahong menurut taksonomi adalah sebagai berikut:

Dunia	: Plantae
Divisi	: Magnoliophyta
Kelas	: Magnoliopsida
Sub Kelas	: Hamamelidae
Bangsa	: Caryophyllales
Suku	: Basellaceae
Marga	: Anredera
Jenis	: <i>Anredera cordifolia</i> (Ten.) Steenis
Sinonim	: <i>Boussingaultia cordifolia</i> Ten.; <i>Boussingaultia gracilis</i> Miers; <i>Boussingaultia pseudobasselloides</i> Haum.

(Starr *dkk.* 2003: 1).

Binahong merupakan nama lokal daerah Jawa untuk tanaman *Anredera cordifolia* (Ten.) Steenis. Tanaman tersebut berasal dari Cina dan menyebar ke seluruh kawasan Asia Tenggara. Di Indonesia, tanaman binahong dikenal sebagai gendola yang sering digunakan sebagai penghias gapura taman (Manoi 2009: 3). Di Amerika dan Eropa, tanaman tersebut dikenal dengan nama *madeira vine* atau *mignonette vine* (Starr *dkk.* 2003: 1).

Binahong (*Anredera cordifolia* (Ten.) Steenis) termasuk tanaman menjalar yang memiliki ukuran panjang batang 3--6 m. Batang lunak dan berbentuk silindris, berwarna merah, saling membelit (Gambar 2.3.1), serta membentuk semacam umbi yang melekat di ketiak daun dengan bentuk tidak beraturan dan bertekstur kasar. Daun binahong (*Anredera cordifolia* (Ten.) Steenis) merupakan daun tunggal, tangkai daun berukuran pendek, daun dan tangkai daun berwarna hijau. Bentuk helaian daun menyerupai jantung dengan ukuran panjang daun 1--11 cm dan lebar 0,8--8 cm. Helaian daun memiliki ujung runcing, pangkal berlekuk, tepi rata, permukaan licin, serta daging daun tipis lunak (Starr *dkk.* 2003: 2; Manoi 2009: 4).

Bunga binahong (*Anredera cordifolia* (Ten.) Steenis) tergolong bunga majemuk berbentuk tandan. Helaian mahkota bunga berwarna krem keputih-putihan berjumlah lima helai dan tidak berlekatan, panjang helai mahkota 0,5--1 cm, serta berbau harum. Perbanyakan dapat dilakukan secara generatif, yaitu dengan biji, namun lebih umum dikembangbiakan secara vegetatif, yaitu dengan rimpang (Starr *dkk.* 2003: 2; Manoi 2009: 4).



Gambar 2.3.1 Binahong (*Anredera cordifolia* (Ten.) Steenis): (a) = tanaman binahong menjalar; (b) = terdapat semacam umbi di setiap ketiak daun; (c) = panjang daun 3--4 cm; (d) = lebar daun 3--4 cm

[Sumber: dokumentasi pribadi.]

2.3.2 Kandungan kimia dan manfaat binahong (*Anredera cordifolia* (Ten.) Steenis)

Data penelitian ilmiah mengenai kandungan kimia binahong (*Anredera cordifolia* (Ten.) Steenis) menunjukkan adanya kandungan flavonoid, saponin, triterpenoid, dan minyak atsiri pada daun binahong (Manoi 2009: 4). Penelitian Abou *dkk.* (2007: 15) tentang uji aktivitas biologis tanaman binahong melaporkan bahwa tanaman tersebut berpotensi sebagai anti hiperlipidemik, anti inflamasi, analgesik, dan antipiretik. Hasil penelitian Rendon *dkk.* (2006: 24) dan Kemila (2010: 56) menyatakan bahwa binahong memiliki efek antidiabetes, yaitu dapat menurunkan kadar glukosa darah. Manfaat lain dari binahong di antaranya berkhasiat dalam penyembuhan penyakit tifus, sesak nafas, maag, asam urat, pembengkakan hati, radang usus, gangguan pada ginjal, dan penyembuhan luka (Manoi 2009: 5)

2.4 SAMBILOTO (*Andrographis paniculata* Nees)

2.4.1 Klasifikasi dan deskripsi sambiloto (*Andrographis paniculata* Nees)

Klasifikasi sambiloto menurut taksonomi adalah sebagai berikut:

Dunia	: Plantae
Divisi	: Magnoliophyta
Kelas	: Magnoliopsida
Bangsa	: Scrophulariales
Suku	: Acanthaceae
Marga	: <i>Andrographis</i>
Jenis	: <i>Andrographis paniculata</i> Nees

(Heyne 1987: 1756)

Sambiloto merupakan nama lokal masyarakat Indonesia untuk tanaman *Andrographis paniculata* Nees. Tanaman *Andrographis paniculata* Nees tumbuh di India, Semenanjung Malaya, dan hampir di seluruh Indonesia. Tanaman

tersebut umumnya tumbuh di tempat terbuka, di kebun, di tepi sungai, pada tanah gembur pada ketinggian 1--7 m di atas permukaan laut (Depkes 1989: 256).

Sambiloto termasuk ke dalam suku Acanthaceae, yaitu tanaman herba berakar tunggang dengan tinggi sekitar 0,5--0,8 m (Heyne 1987: 1756). Batang sambiloto berbentuk segi empat, berwarna hijau, dan memiliki percabangan yang banyak. Daun sambiloto (*Andrographis paniculata* Nees) merupakan daun tunggal dan berbentuk lanset. Helaian daun sambiloto memiliki ujung dan pangkal daun runcing, serta tepi yang rata. Letak daun sambiloto umumnya berhadapan bersilang (Gambar 2.4.1). Panjang helaian daun sambiloto berukuran 3--12 cm, dengan lebar 1--4 cm, dan permukaan atas daun berwarna hijau tua sedangkan permukaan bawah berwarna hijau muda (Backer & Bakhuizen van den Brink Jr. 1965: 574).

Tanaman sambiloto (*Andrographis paniculata* Nees) memiliki bunga majemuk tak terbatas yang berbentuk malai. Perhiasan bunga terdiri dari 5 helai daun kelopak dan 5 helai daun mahkota yang berlekatan. Panjang kelopak bunga sambiloto berukuran 3--4 mm, berwarna putih dengan garis ungu, dan zigomorf. Benang sari berjumlah 2 helai, tangkai sari bersatu dengan tabung korola. Bakal buah beruang 2 dengan 2 daun buah. Buah kotak sejati berbentuk jorong, dengan ukuran 1,5 cm x 0,5 cm. Biji berbentuk gepeng dan berwarna coklat muda (Backer & Bakhuizen van den Brink Jr. 1965: 574; Depkes 1989: 256).



Gambar 2.4.2 Sambiloto (*Andrographis paniculata* Nees): (a) = tinggi herba;
 (b) = letak daun berhadapan bersilang; (c) = panjang daun
 6--7 cm; (d) = lebar daun 2--3 cm
 [Sumber: dokumentasi pribadi.]

2.4.2 Kandungan kimia dan manfaat sambiloto (*Andrographis paniculata* Nees)

Daun dan batang sambiloto mengandung diterpenoid lakton, alkaloid, flavonoid, dan mineral (kalium, kalsium, natrium). Diterpenoid lakton pada daun dan batang sambiloto terdiri dari andrografolida (0,5--2,6%), 14-deoksi-11-oksoandrografolida (0,12%), 14-deoksi-11, 12-didehidroandrografolida (0,06%),

14-deoksiandrografolida (0,02%), dan neoandrografolida (0,005%). Seluruh diterpenoid lakton memiliki rasa yang sangat pahit, kecuali senyawa neoandrografolida (Santa 1996: 15). Flavonoid yang terkandung dalam tanaman sambiloto di antaranya monohydroxytrimethylflavones, dihydroxy-dimethoxyflavone, skullcaflavone, dan 5-hydroxy-7,8-dimethoxyflavone (Sandhar *dkk.* 2011: 27).

Hasil penelitian Yulinah (2001: 16), Subramanian *dkk.* (2008: 772), dan Dandu & Inamdar (2009: 50) melaporkan bahwa ekstrak etanol herba sambiloto mempunyai efek menurunkan glukosa darah. Sambiloto juga dimanfaatkan oleh masyarakat untuk mengobati penyakit diare, influenza, radang paru-paru, batuk rejan, dan tekanan darah tinggi (Hariana 2006: 30--32). Penelitian Trivedi & Rawal (2000: 289) menunjukkan bahwa sambiloto memiliki efek hepatoprotektif.

2.5 EKSTRAKSI

Ekstrak adalah sediaan kental yang diperoleh dengan mengekstraksi senyawa aktif dari simplisia nabati atau simplisia hewani menggunakan pelarut yang sesuai. Semua atau hampir semua pelarut tersebut kemudian diuapkan. Massa atau serbuk yang tersisa diperlakukan sedemikian hingga memenuhi baku standar yang telah ditetapkan (Ansel 1989: 605).

Ekstraksi adalah kegiatan menarik kandungan kimia yang dapat larut, sehingga terpisah dari bahan yang tidak dapat larut. Pelarut yang digunakan umumnya dalam bentuk cair. Simplisia yang diekstrak mengandung senyawa aktif yang dapat larut dan senyawa yang tidak dapat larut, seperti serat, karbohidrat, protein, dan lain-lain. Senyawa aktif yang terdapat dalam berbagai simplisia dapat digolongkan ke dalam golongan minyak atsiri, alkaloid, flavonoid, dan lain-lain. Struktur kimia yang berbeda-beda akan memengaruhi kelarutan dan stabilitas senyawa-senyawa tersebut terhadap pemanasan, udara, cahaya, logam berat, dan derajat keasaman. Dengan mengetahui senyawa aktif yang terkandung dalam simplisia, maka akan mempermudah pemilihan pelarut dan cara ekstraksi yang tepat. Beberapa metode ekstraksi yang sering digunakan, diantaranya maserasi, perkolasi, dan infundasi (Depkes 2000: 15--36).

Maserasi adalah proses pengekstrakan simplisia dengan menggunakan pelarut cair, dengan beberapa kali pengocokan atau pengadukan pada suhu ruangan (suhu kamar). Maserasi juga disebut dengan istilah maserasi kinetik, yaitu ekstraksi dengan melakukan pengadukan yang kontinu (terus-menerus). Remaserasi berarti dilakukan pengulangan penambahan pelarut setelah dilakukan penyaringan hasil maserasi (maserat) pertama, dan seterusnya (Depkes 2000: 10 & 11).

2.6 ALOKSAN

Keadaan diabetes atau hiperglikemia pada hewan percobaan dapat ditimbulkan melalui pemberian zat diabetogen, misalnya aloksan dan streptozocin. Zat-zat diabetogen tersebut umumnya diberikan secara parenteral. Aloksan merupakan zat diabetogen yang lazim digunakan dalam penelitian, karena dapat menimbulkan hiperglikemia yang permanen dalam waktu cepat, dua sampai tiga hari, dan dapat merusak sel β pankreas pada hewan percobaan (Lenzen 2008: 216).

Aloksan (2,4,5,6-tetraoxypyrimidine; 5,6-dioxyuracil) merupakan zat kimia yang tidak stabil dan hidrofilik. Aloksan memiliki selektivitas yang sangat tinggi, sehingga berperan penting dalam penelitian diabetes. Sifat diabetogenik aloksan telah diketahui dan dipublikasikan oleh Szkudelski (2001: 538), yang melaporkan adanya nekrosis spesifik pada pulau Langerhans.

Penelitian antidiabetes umumnya menggunakan aloksan monohidrat yang berupa bubuk berwarna putih dan mudah larut dalam air. Dosis aloksan yang umumnya digunakan dalam penelitian diabetes pada tikus adalah 65 mg/kg bb (secara intravena) dan 150 mg/kg bb (secara intraperitoneal atau subkutan). Pemberian aloksan disarankan dilakukan pada periode puasa (8-12 jam) (Szkudelski 2001: 538; Frode 2008: 115).

Aloksan mampu menginduksi keadaan diabetes dengan merusak sel β Langerhans melalui pembentukan oksigen reaktif. Pembentukan oksigen reaktif diawali dengan proses reduksi aloksan. Reduksi aloksan menghasilkan asam dialurat disertai adanya oksigen radikal yang kemudian berubah menjadi hidrogen

peroksida (H_2O_2). Target dari oksigen reaktif tersebut adalah DNA sel-sel β Langerhans. Kerusakan DNA tersebut menstimulasi rusaknya seluruh komponen sel-sel β Langerhans (Szkudelski 2001: 538 & 539; Lenzen 2008: 220 & 221).

Mekanisme lain dari aloksan adalah menimbulkan gangguan pada homeostatis kalsium intraseluler. Aloksan dapat meningkatkan konsentrasi ion kalsium pada sel β Langerhans. Hal tersebut menyebabkan influks kalsium dari cairan ekstraseluler. Influks tersebut mengakibatkan terjadinya depolarisasi sel β Langerhans, sehingga sekresi insulin meningkat dan secara signifikan memengaruhi sensitivitas insulin perifer (Szkudelski 2001: 540). Aloksan juga diduga berperan dalam menghambat glukokinase dalam proses metabolisme (Lenzen 2008: 219).

2.7 TIKUS PUTIH (*Rattus norvegicus* L.)

Hewan yang digunakan dalam penelitian adalah tikus putih (*Rattus norvegicus* L.) jantan galur Sprague Dawley. Hewan tersebut memiliki ciri-ciri antara lain: tubuh berwarna putih, mata berwarna merah, ukuran kepala kecil, dan panjang ekornya melebihi panjang tubuhnya (Malole & Pramono 1989: 104 & 105).

Klasifikasi tikus putih menurut taksonomi adalah sebagai berikut:

Dunia : Animalia
 Filum : Chordata
 Sub Filum : Vertebrata
 Kelas : Mamalia
 Bangsa : Rodentia
 Sub Bangsa : Myomorpha
 Suku : Muridae
 Marga : Rattus
 Jenis : *Rattus norvegicus* L.

(Chiasson 1975: 1)

Rattus norvegicus L. galur Sprague Dawley umumnya digunakan sebagai hewan uji dalam penelitian karena memiliki hubungan kekerabatan yang dekat dengan manusia, yakni termasuk ke dalam kelas mamalia. Oleh karena itu, tikus sering dijadikan model penelitian aplikasi kesehatan manusia karena terdapat persamaan fisiologis. Selain itu, sifat-sifat *Rattus norvegicus* L. galur Sprague Dawley telah diketahui dengan jelas, antara lain: mudah dipelihara dalam jumlah besar, cepat berkembang biak, dan tidak rentan terhadap infeksi bakteri dan virus (UW AUTP 2009: 4).

Data fisiologis *Rattus norvegicus* L. galur Sprague Dawley juga telah banyak diteliti dan umum diketahui. Berat badan tikus dewasa dapat mencapai 450--520 gram pada jantan dan 250--300 gram pada betina. Tikus memiliki masa produktif untuk berkembang biak selama lebih dari sembilan bulan atau sampai usia satu tahun, dan dapat hidup lebih dari tiga tahun (Malole & Pramono 1989: 104 & 105). Tikus umumnya jinak dan tidak melakukan perlawanan apabila dipegang dengan lembut. Tikus dapat hidup soliter ataupun berkelompok dalam suatu kandang. Tikus termasuk hewan nokturnal, karena lebih banyak melakukan aktivitas, seperti makan, minum, dan kawin pada malam hari dibandingkan pada siang hari (Wolfensohn & Lloyd 1998: 179). Kadar glukosa normal pada *Rattus norvegicus* L. adalah 50--135 mg/100 ml. Kadar glukosa di atas 200 mg/dl dinyatakan mengalami hiperglikemia atau diabetes (Carvalho *dkk.* 2003: 61).

2.8 METODE PEMERIKSAAN KADAR GLUKOSA DARAH SECARA ENZIMATIK

Metode pemeriksaan kadar glukosa secara enzimatik adalah metode pemeriksaan kadar glukosa menggunakan enzim-enzim yang bekerja secara spesifik pada glukosa. Metode tersebut memberi hasil yang relatif lebih tepat dibandingkan dengan metode lainnya. Metode enzimatik yang umumnya digunakan dalam penentuan kadar glukosa darah adalah metode glukosa oksidase (Plummer 1987: 175--182).

Glukosa oksidase merupakan enzim yang ditemukan dalam medium pertumbuhan *Penicillium notatum*. Enzim tersebut mengkatalisis oksidasi β -D-glucopyranose pada glukosa menjadi D-glucono-1,5-lactone dengan pembentukan

hidrogen peroksida. Enzim glukosa oksidase sangat spesifik terhadap β -D-glucopyranose. Peroksidase kemudian menyatukan gabungan reaksi dan mengkatalisis reaksi hidrogen peroksida dengan chromogen ABTS (2,2'-azino-di-[3-ethylbenzthiazoline]-6-sulphonate dan kemudian memberi warna yang terdeteksi pada gelombang cahaya 437 nm (Plummer 1987: 175--182).

2.9 SPEKTROFOTOMETER

Spektrofotometer merupakan alat yang digunakan untuk mengukur cahaya yang diserap oleh larutan sampel. Spektrofotometer terdiri dari beberapa bagian, yaitu sumber cahaya, monokromator (termasuk berbagai jenis filter, celah dan cermin), tempat untuk meletakkan sampel, detektor, dan alat pencatat. Perbandingan nilai serapan bahan uji dan bahan standar akan berbanding lurus dengan perbandingan konsentrasi bahan uji dan bahan standar. Pernyataan tersebut dapat ditulis sebagai berikut:

$$\frac{R_u}{R_s} = \frac{C_u}{C_s}$$

Keterangan: R_u = nilai serapan bahan uji
 R_s = nilai serapan bahan standar
 C_u = kadar bahan uji
 C_s = kadar bahan standar

(Boyer 1993: 152).

BAB 3 METODOLOGI PENELITIAN

3.1 LOKASI DAN WAKTU PENELITIAN

Penelitian dilakukan di Laboratorium Hewan dan Laboratorium Ekstraksi Farmakologi, Badan Pengkajian dan Penerapan Teknologi (BPPT) Serpong. Penelitian dilakukan selama 5 bulan (Juli 2010--November 2010).

3.2 BAHAN

3.2.1 Bahan uji

Bahan uji yang digunakan yaitu tanaman binahong (*Anredera cordifolia* (Ten.) Steenis) dan sambiloto (*Andrographis paniculata* Nees) yang diperoleh dari Balai Penelitian Tanaman Obat dan Aromatik-Bogor. Tanaman tersebut diidentifikasi di Herbarium Bogoriense, Balitbang Botani, Puslitbang Biologi, LIPI Bogor. Identifikasi tersebut dilakukan untuk mengetahui nama tanaman yang tepat. Hasil identifikasi dapat dilihat pada Lampiran 1. Masing-masing tanaman diekstraksi di Laboratorium Ekstraksi Farmakologi, BPPT Serpong.

3.2.2 Hewan percobaan

Hewan percobaan yang digunakan adalah 32 ekor tikus putih (*Rattus norvegicus* L.) jantan galur Sprague Dawley berumur 3--4 bulan dengan berat ± 200 --230 g yang diperoleh dari Badan Pengawas Obat dan Makanan Republik Indonesia (BPOM RI).

3.2.3 Makanan dan minuman hewan percobaan

Makanan yang diberikan untuk hewan percobaan berupa pelet yang dibuat oleh BPPT. Komposisi dan bahan dasar pakan dapat dilihat pada Tabel 3.2.3.

Minuman yang diberikan untuk hewan percobaan berupa air mineral dalam botol minum berpipet yang diletakkan di atas kandang.

Tabel 3.2.3 Komposisi dan bahan dasar pakan yang digunakan

Komposisi pakan	Persentase setiap 100 g (%)
Protein	10—12
Lemak	minimal 3
Serat	maksimal 7
Kadar Air	maksimal 13
Kadar Abu	maksimal 14
Kalsium	3,3—4
Fosfor	0,6--0,8

Bahan dasar pakan
Jagung kuning
Bungkil kacang kedelai
Bungkil kacang tanah
Tepung ikan
Tepung daging
Dedak padi
Pollard
Vitamin
Trace mineral dan antioksidan

[Sumber: Global Feed[®]]

3.2.4 Bahan kimia

Bahan kimia yang digunakan selama penelitian adalah etanol 96%, akuades, aloksan monohidrat [Sigma Aldrich[®]], akuabides, *Carboxy Methyl Cellulose* (CMC), *Glibenclamide*[®], reagen GOD [DiaSys[®]], *Ethylenediamine-tetraacetic Acid* (EDTA) [Sigma[®]], eter, alkohol teknis 70%, desinfektan [Bayclin[®]], dan sabun cuci [Sunlight[®]].

3.3 PERALATAN

3.3.1 Pemeliharaan tikus putih (*Rattus norvegicus* L.)

Peralatan yang digunakan meliputi kandang tikus berupa baki transparan dilengkapi tutup jeruji besi berukuran (50 x 40 x 30) cm³, *exhaust fan*, timbangan *digital* [AND[®]], lampu TL 20 watt [Philips[®]], dan botol minum berpipet.

3.3.2 Pembuatan ekstrak

Peralatan yang digunakan meliputi timbangan *digital* [AND[®]], oven [Binder[®]], alat penggiling (*grinder*) [Retsch[®]], alat destilasi, alat maserasi, corong, kertas saring [Whatman No.1[®]], *vaccum pump*, *rotary evaporator*, *beaker glass* [Iwaki[®]], erlenmeyer [Iwaki[®]], gelas ukur [Iwaki[®]], spatula, timbangan analitik [KERN[®]], dan *aluminium foil*.

3.3.3 Pembuatan larutan dan suspensi ekstrak

Peralatan yang digunakan meliputi timbangan analitik [KERN[®]], timbangan analitik [RADWAG[®]], erlenmeyer 500 ml [Iwaki[®]], spatula, batang pengaduk, gelas ukur [Iwaki[®]], erlenmeyer 50 ml [Iwaki[®]], mortar, *magnetic stirrer* dengan *hot plate* [Heidolph[®]], *sonicator* [Elmasonic[®]], dan *refrigerator* [SHARP[®]].

3.3.4 Induksi tikus putih (*Rattus norvegicus* L.) dengan aloksan sebagai diabetogen

Peralatan yang digunakan meliputi timbangan analitik [KERN[®]], erlenmeyer 25 ml [Iwaki[®]], jarum suntik, dan *disposable syringe* 1 ml dan 3 ml [Terumo[®]].

3.3.5 Pencekukan tikus putih (*Rattus norvegicus* L.) secara oral

Peralatan yang digunakan meliputi sonde lambung (*gavage needle*), *disposable syringe* 3 ml [Terumo[®]], dan sarung tangan.

3.3.6 Pengambilan darah dan pengukuran kadar glukosa darah tikus putih (*Rattus norvegicus* L.)

Peralatan yang digunakan meliputi tabung Eppendorf 1,5 ml, pipa kapiler hematokrit [Marienfeld[®]], kuvet spektrofotometer [PLASTIBRAND[®]], *sentrifugator* [MIKRO 22 R[®]], mikro pipet 10 μ l dan 1000 μ l [BioRad[®]], tip mikro pipet, spektrofotometer [Genesys[®]], sarung tangan, dan kertas label.

3.4 CARA KERJA

3.4.1 Rancangan penelitian

Penelitian yang dilakukan bersifat eksperimental menggunakan rancangan acak lengkap (RAL). Perlakuan dilakukan secara acak dengan delapan kelompok perlakuan dan empat ulangan. Jumlah ulangan untuk setiap perlakuan ditentukan berdasarkan rumus Freederer, yaitu: $(t-1)(n-1) \geq 15$ dengan t adalah jumlah perlakuan dan n adalah jumlah ulangan (Hanafiah 1997: 6).

Kelompok-kelompok perlakuan terdiri dari:

- a. Kelompok kontrol normal (KK1): kelompok tikus putih (*Rattus norvegicus* L.) yang tidak diinduksi aloksan, diberi larutan CMC 0,5% (oral) dengan volume yang disesuaikan dengan berat badan selama 21 hari berturut-turut.

- b. Kelompok kontrol negatif (KK2): kelompok tikus putih (*Rattus norvegicus* L.) jantan yang diinduksi aloksan (intraperitoneal), diberi larutan CMC 0,5% (oral) dengan volume yang disesuaikan dengan berat badan selama 21 hari berturut-turut.
- c. Kelompok kontrol positif (KK3): kelompok tikus putih (*Rattus norvegicus* L.) jantan yang diinduksi aloksan (intraperitoneal), diberi obat *Glibenclamide*[®] dosis 0,45 mg/kg bb (oral) selama 21 hari berturut-turut.
- d. Kelompok perlakuan binahong (KPB): kelompok tikus putih (*Rattus norvegicus* L.) jantan yang diinduksi aloksan (intraperitoneal), diberi suspensi ekstrak binahong dosis 250 mg/kg bb (oral) selama 21 hari berturut-turut.
- e. Kelompok perlakuan sambiloto (KPS): kelompok tikus putih (*Rattus norvegicus* L.) jantan yang diinduksi aloksan (intraperitoneal), diberi suspensi ekstrak sambiloto dosis 500 mg/kg bb (oral) selama 21 hari berturut-turut.
- f. Kelompok perlakuan campuran ekstrak dosis 1 (KPC1): kelompok tikus putih (*Rattus norvegicus* L.) jantan yang diinduksi aloksan (intraperitoneal), diberi suspensi campuran ekstrak dosis 750 mg/kg bb (oral) selama 21 hari berturut-turut.
- g. Kelompok perlakuan campuran ekstrak dosis 2 (KPC2): kelompok tikus putih (*Rattus norvegicus* L.) jantan yang diinduksi aloksan (intraperitoneal), diberi suspensi campuran ekstrak dosis 375 mg/kg bb (oral) selama 21 hari berturut-turut.
- h. Kelompok perlakuan campuran ekstrak dosis 3 (KPC3): kelompok tikus putih (*Rattus norvegicus* L.) jantan yang diinduksi aloksan (intraperitoneal), diberi suspensi campuran ekstrak dosis 187,5 mg/kg bb (oral) selama 21 hari berturut-turut.

3.4.2 Pemeliharaan hewan percobaan

Sebanyak 32 ekor tikus putih (*Rattus norvegicus* L.) jantan dipelihara dalam kandang, yang dibagi menjadi 8 kelompok. Masing-masing kelompok terdiri dari 4 ekor tikus putih (*Rattus norvegicus* L.) yang dipilih secara acak dari masing-masing perlakuan, yaitu KK1, KK2, KK3, KPB, KPS, KPC1, KPC2 dan

KPC3. Masing-masing tikus putih (*Rattus norvegicus* L.) jantan diberi tanda dengan menggunakan tinta spidol pada bagian ekor. Pemberian tanda tersebut bertujuan agar dapat dibedakan antara individu yang satu dengan individu yang lain. Tanda dapat diberikan pada salah satu bagian tubuh tikus putih (*Rattus norvegicus* L.) seperti ekor, punggung, dan kaki (Harmita & Radji 2004: 77).

Tikus putih (*Rattus norvegicus* L.) diaklimatisasi terlebih dahulu selama 7 hari sebelum diberi perlakuan. Aklimatisasi yang dilakukan bertujuan untuk membiasakan tikus putih (*Rattus norvegicus* L.) terhadap lingkungan yang baru. Pada tahap aklimatisasi, dilakukan pengamatan keadaan umum seperti kesehatan hewan dan penimbangan berat badan setiap empat hari sekali. Keberhasilan tahap aklimatisasi terlihat dari bertambahnya berat badan masing-masing tikus putih (*Rattus norvegicus* L.) (Malole & Pramono 1989: 32).

Makanan berupa pelet diberikan sebanyak 20 g/ekor/hari. Makanan tersebut diletakkan di atas kandang, sedangkan minuman tikus putih (*Rattus norvegicus* L.) berupa air mineral yang diberikan melalui tempat minum berpipet secara *ad libitum* (tanpa batas). Kandang dibersihkan dua kali dalam seminggu, dicuci dengan cara direndam dalam larutan disinfektan, kemudian dibilas dengan air, dan dikeringkan. Kandang tikus putih diberi alas berupa serutan kayu. Alas kandang tersebut diganti setiap hari (ACEC 1999: 2). Kandang tikus putih diletakkan pada rak-rak dalam ruangan berukuran 4x5 m² dengan suhu ruang 21--22° C dan kelembaban 50%. Ruangan diterangi cahaya lampu TL 20 watt selama 12 jam setiap hari. Pertukaran udara dalam ruangan dibantu dengan *exhaust fan*.

3.4.3 Pembuatan ekstrak

Ekstrak adalah sediaan kental yang diperoleh dengan mengekstraksi senyawa aktif dari simplisia nabati atau simplisia hewani menggunakan pelarut yang sesuai. Semua atau hampir semua pelarut tersebut kemudian diuapkan. Massa atau serbuk yang tersisa diperlakukan sedemikian hingga memenuhi baku yang telah ditetapkan (Depkes 2000: 9). Pelarut yang digunakan adalah etanol

destilat 96%. Pembuatan ekstrak dilakukan di Laboratorium Ekstraksi, BPPT Serpong.

Pembuatan ekstrak diawali dengan menyediakan daun binahong dan herba sambiloto. Masing-masing sampel tersebut dicuci bersih kemudian dikeringkan, selanjutnya digiling hingga menjadi serbuk. Serbuk yang dihasilkan kemudian ditimbang. Serbuk tersebut diekstraksi secara terpisah (berdasarkan jenis tanaman masing-masing), namun keduanya sama-sama menggunakan etanol sebagai pelarut. Etanol yang digunakan sebelumnya telah didestilasi untuk menjaga kemurniannya dari benda-benda pengotor.

Metode ekstraksi yang dilakukan adalah maserasi menggunakan pelarut etanol destilat. Maserasi merupakan proses pengekstrakan simplisia yang menggunakan pelarut dengan beberapa kali pengocokan atau pengadukan pada temperatur ruangan (kamar) (Depkes 2000: 10 & 11). Perbandingan massa simplisia dan pelarut adalah 1: 10, artinya 1 kg serbuk daun dicampur dengan 10 liter etanol.

Maserasi dilakukan selama 18 jam, sesuai dengan prosedur penelitian pendahuluan BPPT. Setelah 18 jam, filtrat hasil maserasi dipisahkan dari ampasnya melalui penyaringan menggunakan kertas saring, dibantu dengan *vaccum pump* agar lebih cepat. Filtrat yang telah tertampung kemudian dipisahkan dari zat pelarut dengan cara diuapkan, menggunakan alat *rotary evaporator*. Hasilnya adalah berupa ekstrak kental, kemudian disimpan dalam *refrigerator* untuk mempertahankan kualitasnya, jika tidak langsung digunakan.

3.4.4 Induksi tikus putih (*Rattus norvegicus* L.) dengan aloksan sebagai diabetogen

Tikus putih (*Rattus norvegicus* L.) yang digunakan dalam penelitian ditimbang berat badannya untuk menentukan banyaknya volume pemberian aloksan, kemudian diinjeksikan aloksan dosis 100 mg/kg bb secara intraperitoneal. Volume pemberian aloksan yaitu 0,5 ml/100 g bb tikus putih (*Rattus norvegicus* L.). Berdasarkan penelitian pendahuluan mengenai optimasi dosis aloksan, dosis 100 mg/kg dengan jumlah volume pemberian tersebut diketahui mampu memberikan efek hiperglikemia.

Aloksan dilarutkan dalam akuabides dingin. Pemberian aloksan dilakukan dengan memperhatikan suhu larutan aloksan. Suhu dipertahankan mendekati 0° C karena aloksan stabil pada suhu tersebut. Pemberian aloksan dilakukan pada periode puasa (8-- 12 jam) (Frode 2008: 115). Kadar glukosa darah hari ke-0 diukur pada hari keempat setelah induksi aloksan. Tikus putih (*Rattus norvegicus* L.) yang memiliki kadar glukosa di atas 200 mg/dl dinyatakan mengalami diabetes dan dapat digunakan sebagai hewan percobaan uji anti diabetes (Carvalho *dkk.* 2003: 61).

3.4.5 Pembuatan larutan *carboxy methyl cellulose* (CMC) 0,5%.

Bubuk CMC sebanyak 0,5 g dilarutkan dalam labu Erlenmeyer 100 ml yang berisi 50 ml akuades. Larutan yang terbentuk kemudian dihomogenkan dengan menggunakan *magnetic stirrer* selama ± 10 menit, lalu ditambahkan akuades hingga volume 100 ml.

3.4.6 Pembuatan suspensi campuran ekstrak

Pembuatan suspensi ekstrak binahong dengan dosis 250 mg/kg bb diperoleh dengan cara memasukkan 250 mg ekstrak kental ke dalam erlenmeyer 50 ml, kemudian ditambahkan larutan CMC 0,5% hingga volume 10 ml. Campuran tersebut dihomogenkan dengan *sonicator* dan batang pengaduk selama ± 10 menit sampai terbentuk suspensi.

Suspensi ekstrak sambiloto dosis 500 mg/kg bb, campuran ekstrak dosis 750 mg/kg bb, 375 mg/kg bb, dan 187,5 mg/kg bb dibuat dengan cara yang sama. Masing-masing ekstrak kental berturut-turut 500 mg, 750 mg, 375 mg, dan 187,5 mg dimasukkan ke dalam masing-masing erlenmeyer 50 ml, kemudian ditambahkan larutan CMC 0,5% hingga volume mencapai 10 ml. Campuran tersebut dihomogenkan dengan *sonicator* dan batang pengaduk selama ± 10 menit sampai terbentuk suspensi.

Campuran ekstrak kental binahong dan sambiloto sebelumnya sudah dihomogenkan dalam satu wadah. Banyaknya masing-masing ekstrak, yaitu

ekstrak binahong dan sambiloto, yang dicampurkan secara berturut-turut adalah 20 g dan 40 g. Jumlah tersebut merupakan hasil perhitungan estimasi kebutuhan pemberian ekstrak selama masa perlakuan (21 hari). Perhitungan stok campuran ekstrak berdasarkan perbandingan dosis ekstrak binahong dan sambiloto, yaitu secara berturut-turut 250 mg/kg bb dan 500 mg/kg bb. Kedua ekstrak tersebut dihomogenkan dalam mortar yang telah disterilisasi, kemudian disimpan dalam wadah bersih.

Rincian penetapan dosis campuran ekstrak adalah sebagai berikut: campuran dosis 750 mg/kg bb merupakan hasil kombinasi dari 250 mg/kg bb ekstrak binahong dengan 500 mg/kg bb ekstrak sambiloto. Campuran dosis 375 mg/kg bb merupakan hasil kombinasi dari 125 mg/kg bb ekstrak binahong dengan 250 mg/kg bb ekstrak sambiloto. Campuran dosis 187,5 mg/kg bb merupakan hasil kombinasi dari 62,5 mg/kg bb ekstrak binahong dengan 125 mg/kg bb ekstrak sambiloto.

3.4.7 Perlakuan terhadap tikus putih (*Rattus norvegicus* L.)

Tikus putih (*Rattus norvegicus* L.) diinduksi dengan aloksan (kecuali kontrol normal) hingga mengalami hiperglikemia, kemudian dilakukan pemberian bahan uji (ekstrak tanaman) satu kali dalam sehari selama 21 hari berturut-turut. Pemberian bahan uji dilakukan pada waktu yang sama setiap harinya, yaitu pada siang hari (sekitar pukul 11.00--12.00 WIB). Konsistensi waktu pemberian bahan uji dilakukan untuk meniadakan variasi faktor waktu pemberian bahan uji terhadap hasil penelitian. Bahan uji diberikan secara oral dengan menggunakan sonde lambung. Kelompok normal (KK1) dan kelompok kontrol negatif (KK2) hanya diberikan larutan CMC 0,5%. Volume pencekokan larutan CMC 0,5% disesuaikan dengan berat badan tikus putih (*Rattus norvegicus* L.). Kelompok kontrol positif (KK3) diberikan larutan obat *Glibenclamide* dosis 0,45 mg/kg bb (Kemila 2010: 27). Kelompok perlakuan (KPB, KPS, KPC1, KPC2, dan KPC3) diberikan larutan suspensi ekstrak sesuai dosis yang telah ditentukan. Volume pencekokan disesuaikan dengan berat badan tikus putih (*Rattus norvegicus* L.), yaitu 1 ml suspensi untuk 100 g berat badan (Ngatidjan 1991: 152). Sebagai

contoh, berat badan seekor tikus putih (*Rattus norvegicus* L.) adalah 200 g, maka suspensi ekstrak yang diberikan adalah sebanyak 2 ml. Perhitungannya adalah $200 \text{ g} \times 1 \text{ ml}/100 \text{ g} = 2 \text{ ml}$. Pencekokan dilakukan selama 21 hari berturut-turut.

3.4.8 Pengambilan darah

Pengambilan darah dilakukan untuk analisis kadar glukosa darah. Pengambilan darah dilakukan pada hari ke-0, ke-15, dan hari ke-22. Pengambilan darah pada hari ke-0 dilakukan pada hari ke-4 setelah induksi aloksan, sebelum masa perlakuan pemberian bahan uji. Pengambilan darah pada hari ke-15 dilakukan setelah pemberian bahan uji selama 14 hari. Pengambilan darah pada hari ke-22 dilakukan setelah pemberian bahan uji selama 21 hari. Tikus putih (*Rattus norvegicus* L.) dipuasakan selama ± 12 jam sebelum pengambilan sampel darah. Hal tersebut bertujuan untuk mendapatkan kadar glukosa darah yang stabil (Atangwho *dkk.* 2007: 144). Pengambilan darah dilakukan melalui pembuluh darah vena mata (*orbital plexus venosus*) menggunakan pipa kapiler. Cara tersebut digunakan karena jumlah darah yang diperoleh cukup banyak (0,5--6 ml), selain itu hal tersebut juga dapat mencegah kemungkinan sel darah mengalami lisis (ACEC 1999: 3 & 4). Darah ditampung dalam tabung eppendorf berukuran 1,5 ml yang telah diberikan EDTA terlebih dahulu. Darah yang diambil dari masing-masing tikus putih (*Rattus norvegicus* L.) adalah sebanyak 1,5 ml. Darah yang diperoleh kemudian disentrifugasi dengan kecepatan 10.000 rpm selama 10 menit. Supernatan yang berupa plasma darah dipindahkan ke dalam tabung eppendorf yang baru dengan menggunakan mikro pipet.

3.4.9 Analisis darah

Pemeriksaan kadar glukosa dilakukan dengan menggunakan metode enzimatis, dengan pereaksi *Glucose Oxidative Diasys*[®] – *Phenyl Aminoantipirin* (GOD-PAP). Pemeriksaan dilakukan terhadap plasma darah menggunakan reagen kit *DiaSys*[®]. Metode enzimatis adalah metode pemeriksaan kadar glukosa menggunakan enzim-enzim yang bekerja secara spesifik pada glukosa. Metode

tersebut memberi hasil yang relatif lebih tepat dibandingkan dengan metode lainnya, seperti metode oksidasi-reduksi dan metode kondensasi (o-toluidin). Metode enzimatik yang umumnya digunakan dalam penentuan kadar glukosa darah adalah metode glukosa oksidase (Plummer 1987: 175).

Pengukuran kadar glukosa darah didahului dengan cara kalibrasi spektrofotometer dengan menggunakan blanko, sehingga tertera nilai 0,000 pada layar monitor spektrofotometer. Menurut Kaplan & Pesce (1996: 424), blanko berperan sebagai kontrol pencegah adanya kesalahan pembacaan nilai serapan dari sampel yang akan diukur kadar glukosanya. Sampel sebanyak 10 μ l dimasukkan ke dalam kuvet, kemudian ditambahkan reagen glukosa sebanyak 1000 μ l. Campuran tersebut diinkubasi selama 20 menit, kemudian diukur dengan spektrofotometer.

Prinsip kerja metode enzimatik meliputi reaksi sebagai berikut: glukosa oksidase (GOD) mengkatalisis oksidasi glukosa sehingga terbentuk hidrogen peroksida (H_2O_2), yang dengan adanya peroksidase (POD), bereaksi dengan 4-amino-antypirine dan 2,4-dichlorophenol membentuk kuinonimin. Jumlah zat warna merah (kuinonimin) yang terjadi sebanding dengan konsentrasi glukosa. Warna tersebut terdeteksi pada gelombang cahaya 500 nm (Plummer 1987: 175). Kadar glukosa darah dapat dihitung dengan rumus sebagai berikut:

$$C = \frac{A \text{ Sampel}}{A \text{ Standar}} \times C \text{ Standar}$$

Keterangan:	C	= Kadar glukosa sampel (mg/dl)
	C Standar	= Kadar glukosa standar (DiaSys [®]) (mg/dl)
	A Sampel	= Serapan spektrofotometer sampel
	A Standar	= Serapan spektrofotometer standar (DiaSys [®])

3.4.10 Pengolahan dan analisis data

Analisis data penelitian dilakukan dengan menggunakan pendekatan statistik karena penelitian bersifat eksperimental. Data kadar glukosa hari ke-0, ke-15, dan hari ke-22 masing-masing diolah menggunakan program komputer *Statistical Products and Service Solution* (SPSS) versi 17.0 for Windows. Kesimpulan hasil analisis diperoleh dengan membandingkan nilai taraf nyata (α) dengan nilai probabilitas (P) yang merupakan hasil komputasi SPSS (Trihendradi 2009: 110).

Analisis data dilakukan dengan menggunakan uji normalitas Shapiro-Wilk dan uji homogenitas Levene. Uji normalitas dan homogenitas tersebut bertujuan untuk mengetahui variansi data yang telah didapat. Data yang tidak memenuhi salah satu atau kedua syarat homogenitas dan normalitas, maka selanjutnya data tersebut diuji dengan analisis nonparametrik Kruskal-Wallis. Uji Kruskal-Wallis dilakukan untuk mengetahui ada atau tidaknya pengaruh berbagai perlakuan terhadap kadar glukosa darah. Data yang terdistribusi normal dan bervariansi homogen selanjutnya diuji dengan analisis parametrik ANAVA 1-faktor (Sudjana 1992: 261; Alhusin 2002: 257--260).

Data kadar glukosa darah pada hari ke-0 tidak berdistribusi normal, namun bervariansi homogen. Data tersebut selanjutnya dianalisis dengan uji Kruskal-Wallis (Sudjana 1992: 261). Data kadar glukosa darah pada hari ke-15 berdistribusi normal, namun tidak bervariansi homogen. Data tersebut selanjutnya dianalisis dengan uji Kruskal-Wallis. Data kadar glukosa darah pada hari ke-22 berdistribusi normal dan bervariansi homogen. Data tersebut selanjutnya dianalisis dengan uji parametrik Analisis variansi (Anava) 1-faktor. Uji Anava bertujuan untuk mengetahui apakah terdapat perbedaan data kadar glukosa darah antar kelompok perlakuan. Perbedaan nyata pada hasil uji ANAVA 1-faktor selanjutnya dilihat pada uji perbandingan berganda LSD (*Least Significance Difference*). Uji LSD bertujuan untuk mengetahui perbedaan antar pasangan kelompok perlakuan (Trihendradi 2009: 119).

BAB 4 HASIL DAN PEMBAHASAN

4.1 HASIL

4.1.1 Kadar glukosa darah hari ke-0

Data hasil rerata kadar glukosa darah hari ke-0 kelompok kontrol normal (KK1), kelompok kontrol negatif (KK2), kelompok kontrol positif (KK3), kelompok perlakuan ekstrak binahong (KPB), kelompok perlakuan ekstrak sambiloto (KPS), kelompok perlakuan campuran ekstrak dosis 1 (KPC1), kelompok perlakuan campuran ekstrak dosis 2 (KPC2), dan kelompok perlakuan campuran ekstrak dosis 3 (KPC3) dapat dilihat pada Tabel 4.1.1. Diagram batang rerata kadar glukosa darah hari ke-0 dapat dilihat pada Gambar 4.1.1.

Tabel 4.1.1 Kadar glukosa darah hari ke-0 tikus putih (*Rattus norvegicus* L.) jantan galur Sprague Dawley (mg/dl)

Ulangan	Kadar Glukosa Darah Hari ke-0 (mg/dl)							
	KK1	KK2	KK3	KPB	KPS	KPC1	KPC2	KPC3
1	133,33	243,41	265,12	252,97	312,40	203,10	267,44	247,03
2	128,42	267,70	308,27	302,33	272,35	264,86	232,04	211,11
3	111,37	217,31	242,38	292,25	234,63	264,60	224,03	244,19
4	118,60	207,49	248,84	263,05	229,46	255,30	264,86	309,04
$\sum x$	491,72	935,91	1064,61	1110,60	1048,84	987,86	988,37	1011,37
X	122,93	233,98	266,15	277,65	262,21	246,97	247,09	252,84
SD	9,84	27,11	29,66	23,41	38,54	29,58	22,27	40,86

Keterangan:

KK1 = kelompok kontrol normal

KK2 = kelompok kontrol negatif

KK3 = kelompok kontrol positif (obat *Glibenclamide*[®])

KPB = kelompok perlakuan ekstrak binahong (dosis 250 mg/kg bb)

KPS = kelompok perlakuan ekstrak sambiloto (dosis 500 mg/kg bb)

KPC1 = kelompok perlakuan campuran ekstrak dosis 1 (dosis 750 mg/kg bb)

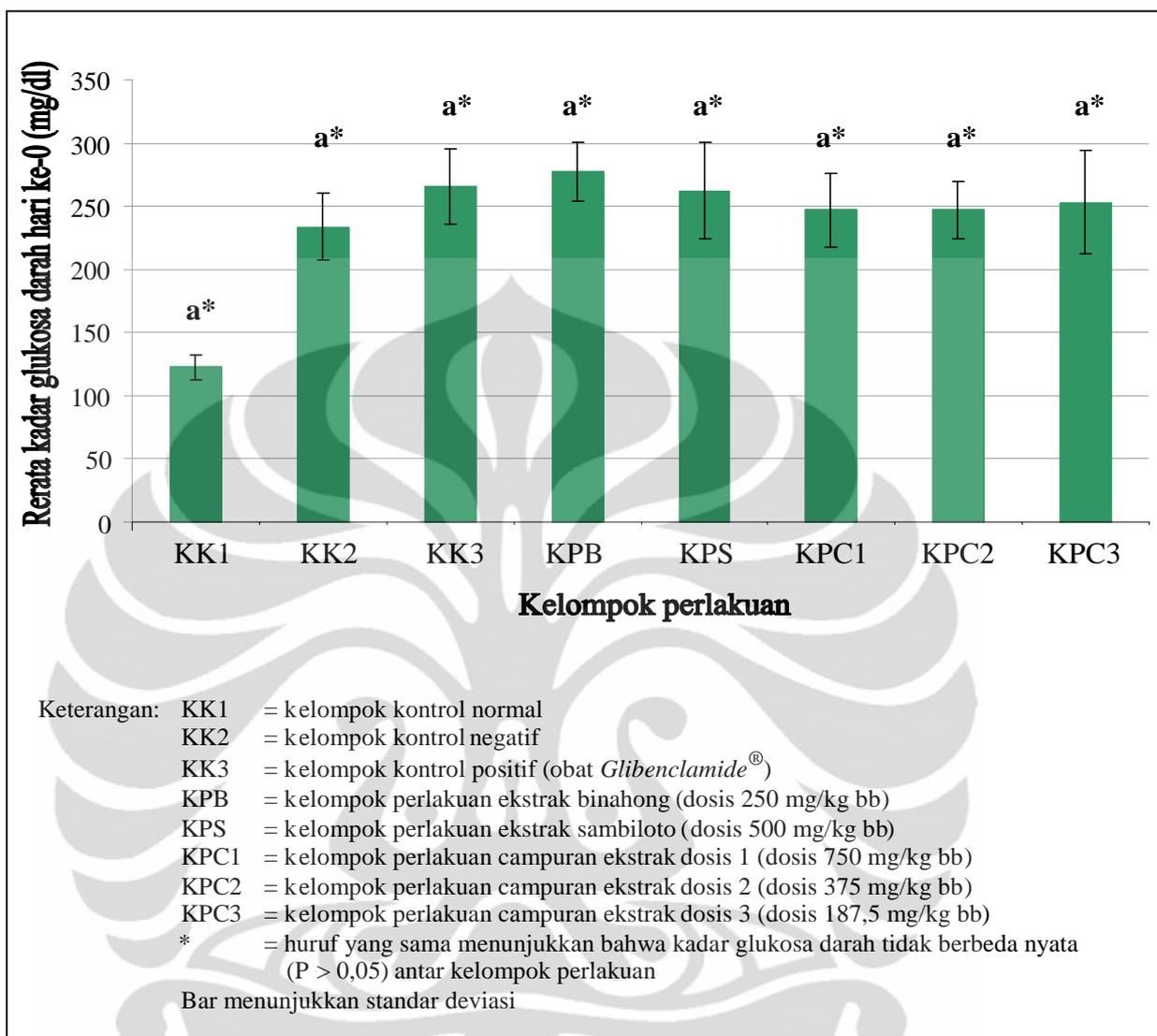
KPC2 = kelompok perlakuan campuran ekstrak dosis 2 (dosis 375 mg/kg bb)

KPC3 = kelompok perlakuan campuran ekstrak dosis 3 (dosis 187,5 mg/kg bb)

$\sum x$ = jumlah kadar glukosa darah hari ke-0

x = rerata kadar glukosa darah hari ke-0

SD = standar deviasi



Gambar 4.1.1 Diagram batang rerata kadar glukosa darah hari ke-0 tikus putih (*Rattus norvegicus* L.) jantan galur Sprague Dawley (mg/dl)

Hasil uji normalitas Shapiro-Wilk menunjukkan bahwa kadar glukosa darah hari ke-0 tidak berdistribusi normal dengan $\alpha = 0,05$ ($P < 0,05$; Lampiran 4). Hasil uji homogenitas Levene menunjukkan bahwa data tersebut bervariasi homogen dengan $\alpha = 0,05$ ($P > 0,05$; Lampiran 5). Hasil uji Kruskal-Wallis menunjukkan bahwa tidak terdapat perbedaan nyata terhadap kadar glukosa darah hari ke-0 antar kelompok perlakuan, dengan $\alpha = 0,05$ ($P > 0,05$; Lampiran 6).

4.1.2 Kadar glukosa darah hari ke-15

Data hasil rerata kadar glukosa darah hari ke-15 kelompok kontrol normal (KK1), kelompok kontrol negatif (KK2), kelompok kontrol positif (KK3), kelompok perlakuan ekstrak binahong (KPB), kelompok perlakuan ekstrak sambiloto (KPS), kelompok perlakuan campuran ekstrak dosis 1 (KPC1), kelompok perlakuan campuran ekstrak dosis 2 (KPC2), dan kelompok perlakuan campuran ekstrak dosis 3 (KPC3) dapat dilihat pada Tabel 4.1.2. Diagram batang rerata kadar glukosa darah hari ke-15 dapat dilihat pada Gambar 4.1.2.

Tabel 4.1.2 Kadar glukosa darah hari ke-15 tikus putih (*Rattus norvegicus* L.) jantan galur Sprague Dawley (mg/dl)

Ulangan	Kadar Glukosa Darah Hari ke-15 (mg/dl)							
	KK1	KK2	KK3	KPB	KPS	KPC1	KPC2	KPC3
1	112,13	261,73	129,11	128,84	128,84	119,14	131,27	127,76
2	122,91	257,14	97,57	135,58	127,49	115,09	138,54	134,5
3	115,63	238,27	138,81	144,2	133,96	138,54	116,17	179,25
4	127,49	226,42	88,95	143,4	128,84	112,67	126,15	113,21
$\sum x$	478,16	983,56	454,44	552,02	519,13	485,44	512,13	554,72
X	119,54	245,89	113,61	138,01	129,78	121,36	128,03	138,68
SD	6,95	16,48	24,09	7,24	2,86	11,76	9,40	28,47

Keterangan:

KK1 = kelompok kontrol normal

KK2 = kelompok kontrol negatif

KK3 = kelompok kontrol positif (obat *Glibenclamide*[®])

KPB = kelompok perlakuan ekstrak binahong (dosis 250 mg/kg bb)

KPS = kelompok perlakuan ekstrak sambiloto (dosis 500 mg/kg bb)

KPC1 = kelompok perlakuan campuran ekstrak dosis 1 (dosis 750 mg/kg bb)

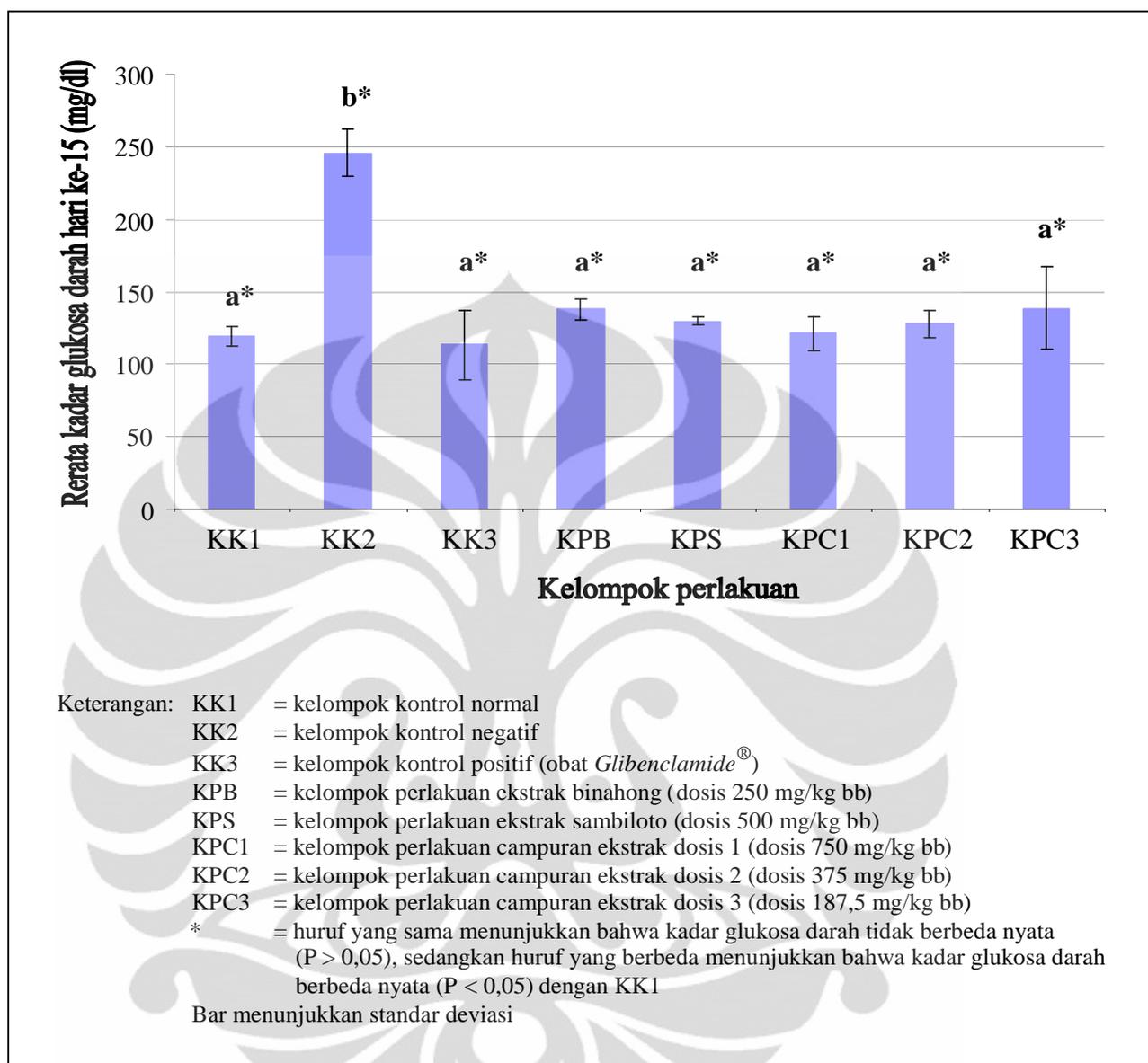
KPC2 = kelompok perlakuan campuran ekstrak dosis 2 (dosis 375 mg/kg bb)

KPC3 = kelompok perlakuan campuran ekstrak dosis 3 (dosis 187,5 mg/kg bb)

$\sum x$ = jumlah kadar glukosa darah hari ke-15

x = rerata kadar glukosa darah hari ke-15

SD = standar deviasi



Gambar 4.1.2 Diagram batang rerata kadar glukosa darah hari ke-15 tikus putih (*Rattus norvegicus* L.) jantan galur Sprague Dawley (mg/dl)

Hasil uji normalitas Shapiro-Wilk menunjukkan bahwa kadar glukosa darah hari ke-15 berdistribusi normal dengan $\alpha = 0,05$ ($P > 0,05$; Lampiran 7). Hasil uji homogenitas Levene menunjukkan bahwa data tersebut tidak bervariasi homogen dengan $\alpha = 0,05$ ($P < 0,05$; Lampiran 8). Hasil uji Kruskal-Wallis menunjukkan bahwa terdapat pengaruh campuran ekstrak binahong (*Anredera cordifolia* (Ten.) Steenis) dan sambiloto (*Andrographis paniculata* Nees) terhadap

kadar glukosa darah hari ke-15 antar kelompok perlakuan dengan $\alpha = 0,05$ ($P < 0,05$; Lampiran 9).

4.1.3 Kadar glukosa darah hari ke-22

Data hasil rerata kadar glukosa darah hari ke-22 kelompok kontrol normal (KK1), kelompok kontrol negatif (KK2), kelompok kontrol positif (KK3), kelompok perlakuan ekstrak binahong (KPB), kelompok perlakuan ekstrak sambiloto (KPS), kelompok perlakuan campuran ekstrak dosis 1 (KPC1), kelompok perlakuan campuran ekstrak dosis 2 (KPC2), dan kelompok perlakuan campuran ekstrak dosis 3 (KPC3) dapat dilihat pada Tabel 4.1.3. Diagram batang rerata kadar glukosa darah hari ke-22 dapat dilihat pada Gambar 4.1.3.

Tabel 4.1.3 Kadar glukosa darah hari ke-22 tikus putih (*Rattus norvegicus* L.) jantan galur Sprague Dawley (mg/dl)

Ulangan	Kadar Glukosa Darah Hari ke-22 (mg/dl)							
	KK1	KK2	KK3	KPB	KPS	KPC1	KPC2	KPC3
1	87,79	255,22	84,48	111,45	106,62	84,48	121,12	118,83
2	90,84	222,39	74,05	103,05	101,02	83,46	103,82	137,15
3	90,59	219,34	102,29	106,36	101,27	100,25	109,41	116,28
4	98,98	187,79	81,42	95,93	76,59	73,28	108,4	104,83
$\sum x$	368,2	884,74	342,24	416,79	385,5	341,47	442,75	477,09
X	92,05	221,19	85,56	104,20	96,38	85,37	110,69	119,27
SD	4,82	27,56	11,98	6,50	13,44	11,14	7,37	13,38

Keterangan:

KK1 = kelompok kontrol normal

KK2 = kelompok kontrol negatif

KK3 = kelompok kontrol positif (obat *Glibenclamide*[®])

KPB = kelompok perlakuan ekstrak binahong (dosis 250 mg/kg bb)

KPS = kelompok perlakuan ekstrak sambiloto (dosis 500 mg/kg bb)

KPC1 = kelompok perlakuan campuran ekstrak dosis 1 (dosis 750 mg/kg bb)

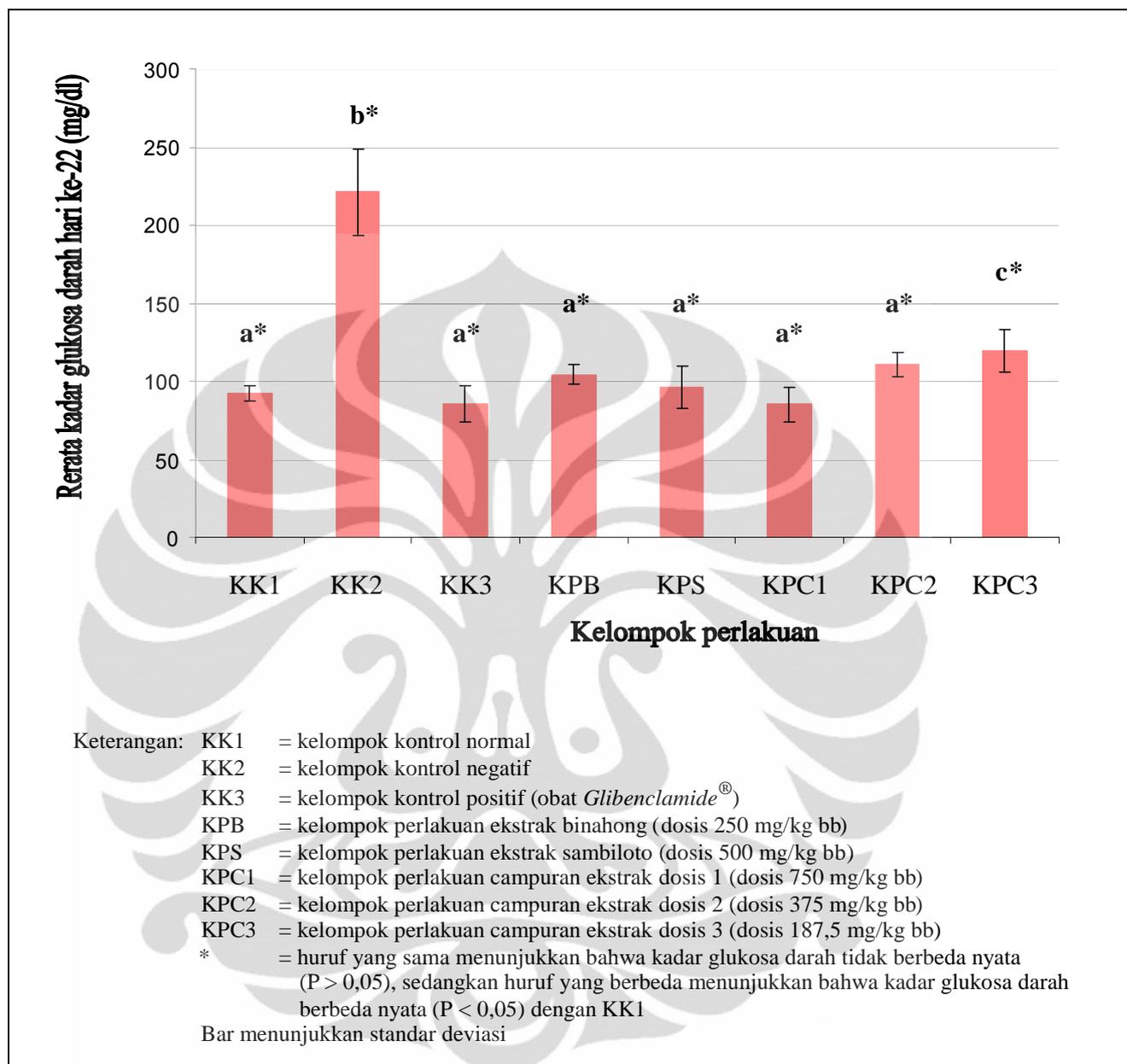
KPC2 = kelompok perlakuan campuran ekstrak dosis 2 (dosis 375 mg/kg bb)

KPC3 = kelompok perlakuan campuran ekstrak dosis 3 (dosis 187,5 mg/kg bb)

$\sum x$ = jumlah kadar glukosa darah hari ke-22

\bar{x} = rerata kadar glukosa darah hari ke-22

SD = standar deviasi



Gambar 4.1.3 Diagram batang rerata kadar glukosa darah hari ke-22 tikus putih (*Rattus norvegicus* L.) jantan galur Sprague Dawley (mg/dl)

Hasil uji normalitas Shapiro-Wilk menunjukkan bahwa kadar glukosa darah hari ke-22 berdistribusi normal dengan $\alpha = 0,05$ ($P > 0,05$; Lampiran 10). Hasil uji homogenitas Levene menunjukkan bahwa data tersebut bervariasi homogen dengan $\alpha = 0,05$ ($P > 0,05$; Lampiran 11). Hasil uji ANAVA 1-faktor menunjukkan bahwa terdapat pengaruh campuran ekstrak binahong (*Anredera*

cordifolia (Ten.) Steenis) dan *sambiloto* (*Andrographis paniculata* Nees) terhadap kadar glukosa darah hari ke-22 dengan $\alpha = 0,05$ ($P < 0,05$; Lampiran 12). Hasil uji perbandingan berganda LSD dengan $\alpha = 0,05$ ($P < 0,05$) terhadap kadar glukosa darah hari ke-22 menunjukkan bahwa terdapat perbedaan nyata antara KK1, KK3, KPB, KPS, KPC1, KPC2, dan KPC3 dengan KK2; KPC3 dengan KK1; KPC3 dengan KPS; KPC2 dan KPC3 dengan KK3; KPC2 dan KPC3 dengan KPC1 (Lampiran 13).

4.2 PEMBAHASAN

Pengambilan data kadar glukosa darah pada hari ke-0 bertujuan untuk mengetahui kadar glukosa darah sebelum dilakukan pemberian ekstrak. *Rattus norvegicus* L. yang memiliki kadar glukosa darah melebihi 200 mg/dl dipilih sebagai hewan percobaan (Tabel 4.1.1), kemudian dikelompokkan ke dalam kelompok percobaan secara acak. Pengukuran dan seleksi awal tersebut dilakukan untuk memastikan bahwa semua hewan percobaan yang digunakan dalam penelitian sudah dalam keadaan hiperglikemia sehingga dapat mengurangi variasi antar individu. Penelitian sebelumnya, Carvalho *dkk.* (2003: 61) menyatakan bahwa *Rattus norvegicus* L. telah mengalami hiperglikemia jika kadar glukosa darah mencapai lebih dari 200 mg/dl. Oleh karena itu, *Rattus norvegicus* L. yang memiliki kadar glukosa darah kurang dari 200 mg/dl (kecuali pada kelompok kontrol normal) tidak digunakan sebagai hewan percobaan dalam uji antidiabetes.

Selain ditandai dengan kadar glukosa darah yang melebihi 200 mg/dl, *Rattus norvegicus* L. yang telah mengalami keadaan hiperglikemia pada penelitian juga menunjukkan gejala-gejala seperti glukosuria, poliuria, dan polidipsia. Hal tersebut sesuai dengan teori yang menyatakan bahwa penderita DM umumnya memiliki gejala glukosuria, yaitu urin yang mengandung glukosa. Selain itu, penderita DM cenderung lebih banyak mengeluarkan urin (poliuria) dan mengalami peningkatan rasa haus (polidipsia) dibandingkan dengan orang sehat (Handoko & Suharto 1995: 471).

Data kadar glukosa darah pada hari ke-0 dibutuhkan untuk mengetahui seragam atau tidaknya kondisi kadar glukosa darah awal hewan percobaan yang akan digunakan dalam penelitian (Lampiran 5). Menurut Malole & Pramono (1989: 5), penggunaan sampel uji yang seragam dapat mengurangi bias pada data hasil penelitian. Keadaan yang seragam tersebut dapat diperoleh dengan melakukan pemilihan hewan percobaan berdasarkan galur, jenis kelamin, umur, dan berat badan yang sama, juga termasuk kadar glukosa darah yang berada dalam rentang yang dekat atau sama.

Kondisi hiperglikemia yang dialami hewan percobaan pada penelitian disebabkan oleh induksi aloksan. Dosis aloksan yang digunakan adalah 100 mg/kg bb. Penetapan dosis tersebut berdasarkan hasil orientasi yang dilakukan sebelum penelitian berlangsung. Aloksan merupakan agen diabetogen (zat yang mengakibatkan diabetes) yang memiliki sifat selektif dalam merusak sel β Langerhans pankreas. Menurut Szkudelski (2001: 538 & 539), pemberian aloksan dapat menimbulkan kondisi hiperglikemia yang permanen dalam waktu cepat, yaitu dua sampai tiga hari. Hal tersebut sesuai dengan data kadar glukosa darah hari ke-0 penelitian, yakni 28 ekor *Rattus norvegicus* L. yang diinduksi aloksan menunjukkan kondisi hiperglikemia pada hari keempat setelah pemberian aloksan.

Menurut Szkudelski (2001: 538 & 539), keadaan hiperglikemia yang disebabkan oleh aloksan diawali oleh pembentukan *reactive oxygen species* (ROS) yang bersifat toksik, yaitu radikal superoksida dan hidrogen peroksida. *Reactive oxygen species* (ROS) tersebut merupakan hasil reduksi aloksan di dalam sel β pankreas (Szkudelski 2001: 538 & 539; Lenzen 2008: 220 & 221). DNA sel-sel β pulau Langerhans merupakan target *reactive oxygen species* (ROS) tersebut. Kerusakan DNA kemudian menstimulasi terjadinya nekrosis dan apoptosis pada sel-sel β Langerhans. Kerusakan atau kematian sebagian sel β pulau Langerhans menyebabkan penurunan jumlah insulin yang disekresi (Lenzen 2008: 221). Berkurangnya jumlah insulin tersebut kemudian menghambat transportasi glukosa ke sel-sel tubuh sehingga menimbulkan penimbunan glukosa dalam darah (Hadley 2000: 251).

Hasil rerata kadar glukosa darah *Rattus norvegicus* L. yang diinduksi aloksan pada hari ke-0 berkisar antara $233,98 \pm 27,11$ mg/dl hingga $277,65 \pm 23,41$ mg/dl, sedangkan rerata kadar glukosa darah kelompok kontrol normal sebesar $122,93 \pm 9,84$ mg/dl (Gambar 4.1.1). Hal tersebut sesuai dengan teori bahwa kadar glukosa darah normal pada *Rattus norvegicus* L. adalah 50--135 mg/100 ml (Carvalho *dkk.* 2003: 61). Berdasarkan data kadar glukosa hari ke-0, disimpulkan bahwa kadar glukosa darah *Rattus norvegicus* L. yang diinduksi aloksan terlihat cenderung seragam. Kesimpulan tersebut diperkuat dengan hasil uji nonparametrik Kruskal-Wallis dengan $\alpha = 0,05$ ($P > 0,05$) yang menunjukkan bahwa tidak terdapat perbedaan nyata terhadap kadar glukosa darah antar kelompok perlakuan (Lampiran 6).

Berdasarkan Gambar 4.1.1, KK1 terlihat cenderung berbeda dengan kelompok lainnya. Hal tersebut ditunjukkan oleh rerata kadar glukosa darah pada KK1, yaitu sebesar 122,93 mg/dl, tidak mengalami hiperglikemia. Oleh karena itu, Gambar 4.1.1 mendeskripsikan bahwa perbedaan nyata tidak terlihat pada data kadar glukosa darah hari ke-0, khususnya pada data rerata kadar glukosa darah kelompok perlakuan yang diinduksi aloksan.

Data kadar glukosa darah selanjutnya diperoleh setelah 14 dan 21 hari perlakuan pemberian ekstrak bahan uji. Pengambilan darah dilakukan pada hari ke-15 dan hari ke-22 pemberian ekstrak. Rerata kadar glukosa darah *Rattus norvegicus* L. jantan pada hari ke-15 mulai dari yang terkecil hingga yang terbesar adalah $113,61 \pm 24,09$ mg/dl (KK3); $119,54 \pm 6,95$ mg/dl (KK1); $121,36 \pm 11,76$ mg/dl (KPC1); $128,03 \pm 9,40$ mg/dl (KPC2); $129,78 \pm 2,86$ mg/dl (KPS); $138,01 \pm 7,24$ mg/dl (KPB); $138,68 \pm 28,47$ mg/dl (KPC3); dan $245,89 \pm 16,48$ mg/dl (KK2) (Tabel 4.1.2). Rerata kadar glukosa darah *Rattus norvegicus* L. jantan pada hari ke-22 mulai dari yang terkecil hingga yang terbesar adalah $85,37 \pm 11,14$ mg/dl (KPC1); $85,56 \pm 11,98$ mg/dl (KK3); $92,05 \pm 4,82$ mg/dl (KK1); $96,38 \pm 13,44$ mg/dl (KPS); $104,20 \pm 6,50$ mg/dl (KPB); $110,69 \pm 7,37$ mg/dl (KPC2); $119,27 \pm 13,38$ mg/dl (KPC3); dan $221,19 \pm 27,56$ mg/dl (KK2) (Tabel 4.1.3).

Berdasarkan data hasil penelitian pada Tabel 4.1.1, Tabel 4.1.2, dan Tabel 4.1.3, kadar glukosa darah *Rattus norvegicus* L. pada kelompok kontrol normal (KK1) tidak ada yang melebihi 200 mg/dl. Kelompok kontrol normal (KK1)

terdiri dari individu-individu *Rattus norvegicus* L. sehat yang memiliki kadar glukosa darah normal. Kelompok tersebut digunakan sebagai pembanding terhadap perubahan kadar glukosa darah yang terjadi pada kelompok perlakuan lainnya (KK2, KK3, KPB, KPS, KPC1, KPC2, dan KPC3). Kadar glukosa darah normal sangat dibutuhkan oleh tubuh karena glukosa mempunyai peranan penting dalam fisiologis tubuh. Glukosa merupakan sumber utama penghasil energi bagi tubuh. Perubahan yang terjadi pada kadar glukosa darah menunjukkan adanya gangguan dalam proses metabolisme dalam tubuh (Guyton & Hall 1997: 1234).

Kelompok kontrol normal (KK1) merupakan kelompok yang tidak diberi bahan uji ekstrak, namun diberi larutan *Carboxy Methyl Cellulose* (CMC) 0,5% selama masa perlakuan. Tujuan pemberian CMC 0,5% adalah agar setiap individu pada penelitian memperoleh perlakuan (suspensi CMC 0,5%) yang sama sehingga mengurangi bias pada penelitian. Pemberian CMC 0,5% pada KK1 juga dimaksudkan untuk memastikan bahwa CMC 0,5% tidak menjadi faktor yang memengaruhi kadar glukosa darah *Rattus norvegicus* L.. Menurut Murray *dkk.* (2003: 109), CMC tidak dapat dicerna oleh mamalia karena tidak terdapatnya enzim yang mampu menghidrolisis selulosa pada mamalia sehingga kadar glukosa darah dapat dikatakan tidak dipengaruhi oleh CMC.

Berdasarkan data hasil penelitian pada Tabel 4.1.1, Tabel 4.1.2, dan Tabel 4.1.3, kadar glukosa darah kelompok kontrol negatif (KK2) terlihat berbeda dibandingkan dengan kadar glukosa darah kelompok perlakuan yang lainnya. *Rattus norvegicus* L. pada KK2 terlihat cenderung mengalami peningkatan kadar glukosa darah. Hal tersebut terjadi karena KK2 tidak mendapatkan perlakuan terapi untuk menurunkan kadar glukosa darah. Oleh karena itu, hingga hari terakhir pengamatan (hari ke-22), KK2 masih menunjukkan kondisi hiperglikemia. Hal tersebut membuktikan bahwa aloksan mampu menimbulkan kondisi hiperglikemia yang permanen melalui nekrosis spesifik pada sel-sel β Langerhans pankreas (Szkudelski 2001: 538).

Pemberian campuran ekstrak selama 14 hari berturut-turut menunjukkan adanya pengaruh nyata terhadap kadar glukosa darah *Rattus norvegicus*. Hal tersebut dapat dilihat pada Tabel 4.1.2 dan Gambar 4.1.2, serta hasil uji Kruskal-Wallis dengan $\alpha = 0,05$ ($P < 0,05$) (Lampiran 9). Pada Tabel 4.1.2 terlihat bahwa

pemberian campuran ekstrak dosis 750; 375; dan 187,5 mg/kg bb selama 14 hari berturut-turut mampu menurunkan kadar glukosa darah *Rattus norvegicus* yang diinduksi aloksan.

Data kadar glukosa darah hari ke-15 memperlihatkan nilai rerata kadar glukosa darah pada KPC1 dan KPC2 lebih rendah dibandingkan KPB dan KPS. Hal tersebut menunjukkan bahwa kemampuan campuran ekstrak terlihat cenderung lebih efektif dari ekstrak tunggal dalam menurunkan kadar glukosa darah. Penurunan dosis masing-masing ekstrak tanaman yang terdapat pada KPC2 ternyata mampu memberikan pengaruh terhadap penurunan kadar glukosa darah *Rattus norvegicus* L. lebih baik daripada KPB dan KPS. Interaksi yang saling mendukung antara senyawa-senyawa bioaktif yang terkandung dalam masing-masing ekstrak dimungkinkan menjadi faktor dalam menurunkan kadar glukosa darah lebih baik.

Berdasarkan data kadar glukosa darah pada hari ke-22 yang tertera pada Tabel 4.1.3 dan Gambar 4.1.3, serta hasil uji ANAVA dengan $\alpha = 0,05$ ($P < 0,05$) (Lampiran 13), diketahui bahwa terdapat perbedaan nyata pada rerata kadar glukosa darah pada hari ke-22 antara KPC3 dengan KK1; KPC3 dengan KPS; KPC2 dan KPC3 dengan KK3; KPC2 dan KPC3 dengan KPC1; dan KPC1 dengan KPC2 dan KPC1 dengan KPC3. Penurunan dosis pada campuran ekstrak terlihat masih berpotensi sebagai penurun kadar glukosa darah, walaupun rerata kadar glukosa darah pada KPC2 dan KPC3 pada hari ke-22 terlihat lebih besar dibandingkan dengan ekstrak tunggal, yaitu KPB dan KPS. Dosis masing-masing ekstrak yang terdapat pada KPC2 dan KPC3 dimungkinkan mengandung jumlah senyawa-senyawa aktif yang berperan menurunkan kadar glukosa darah tersebut lebih sedikit dibandingkan KPC3.

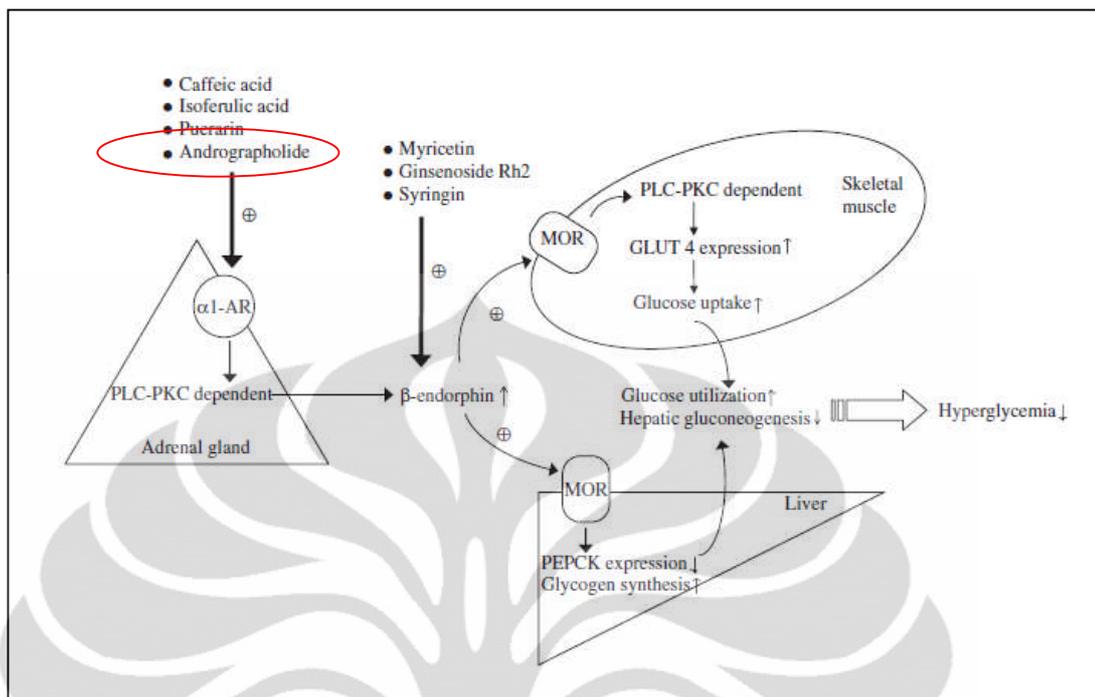
Gambar 4.1.3 juga menunjukkan bahwa meskipun rerata kadar glukosa darah pada KPC3 = $119,27 \pm 13,38$ mg/dl masih lebih tinggi dibandingkan KK3 = $85,56 \pm 11,98$ mg/dl dan KK1 = $92,05 \pm 4,82$ mg/dl, namun KPC3 mampu mendekati nilai rerata kadar glukosa darah pada kelompok ekstrak tunggal. Kelompok ekstrak tunggal yang dimaksud adalah KPB = $104,20 \pm 6,50$ mg/dl dan KPS = $96,38 \pm 13,44$ mg/dl. Hal tersebut menunjukkan bahwa dosis terkecil pada campuran ekstrak, yaitu KPC3 merupakan dosis efektif dalam menurunkan kadar

glukosa darah secara lebih baik. Hal tersebut sesuai dengan teori terapi *polyherbal* yang menyatakan bahwa terapi *polyherbal* menguntungkan karena mampu meningkatkan kemampuan *therapeutic* dengan dosis dan efek samping yang sekecil mungkin (Tiwari & Rao 2002: 7).

Penurunan kadar glukosa darah pada kelompok perlakuan campuran ekstrak cenderung lebih baik dibandingkan dengan kelompok perlakuan ekstrak binahong (KPB) maupun kelompok perlakuan sambiloto (KPS) (Tabel 4.1.3). Hal tersebut diduga terjadi karena adanya interaksi yang saling mendukung antara senyawa-senyawa bioaktif yang terdapat dalam binahong dan sambiloto. Penelitian-penelitian sebelumnya membuktikan bahwa senyawa aktif dalam ekstrak sambiloto yang mempunyai aktivitas penurun glukosa darah adalah andrografolida (Rao 2006: 49; Liu & Cheng 2008:5).

Andrografolida merupakan senyawa golongan diterpen lakton. Menurut Liu & Cheng (2008: 5), andrografolida berperan dalam penurunan glukosa dengan mekanisme hormonal melalui aktivitas β -endorphin yang menjadikan otot rangka dan hati sebagai organ target. Andrografolida mampu meningkatkan pengambilan glukosa oleh sel otot rangka dan mengurangi glukoneogenesis di hati sehingga dapat menurunkan kadar glukosa darah dapat terkendali.

Penelitian sebelumnya (Liu & Cheng 2008: 2--6) menjelaskan bahwa mekanisme kerja andrografolida diawali dengan aktivasi reseptor $\alpha 1$ -AR ($\alpha 1$ -adrenoreseptor) yang terdapat pada kelenjar adrenal. Terstimulasinya $\alpha 1$ -AR bertanggung jawab dalam meningkatnya pelepasan β -endorphin yang kemudian berikatan *opioid μ -receptors* (MOR) (Gambar 4.2.1). MOR yang teraktivasi kemudian menstimulasi penggunaan glukosa oleh sel otot dan mengurangi glukoneogenesis pada hati, sehingga kadar glukosa darah yang berlebih dapat ditekan.



Gambar 4.2.1 Mekanisme andrografolida meningkatkan penggunaan glukosa oleh sel otot dan mengurangi glukoneogenesis pada hati [Sumber: Liu & Cheng 2008: 6.]

Selain Andrografolida, terdapat senyawa triterpenoid yang berperan dalam penurunan kadar glukosa darah. Senyawa triterpenoid tersebut terdapat pada ekstrak etanol binahong. Senyawa tersebut diketahui dapat menstimulasi pengambilan glukosa oleh sel otot. Hal tersebut menurut Lee & Thuong (2010: 51) dikarenakan triterpenoid berperan sebagai insulin (insulinotropik), sehingga mampu berikatan dengan reseptor insulin. Reseptor insulin yang teraktivasi kemudian menstimulasi *glucose transporter* untuk memfasilitasi masuknya molekul glukosa darah ke dalam sel tubuh, terutama sel otot (Murray *dkk.* 2003: 202 & 203).

Mekanisme penurunan kadar glukosa darah juga diduga dipengaruhi oleh adanya senyawa flavonoid yang terkandung dalam binahong dan sambiloto. Mekanisme tersebut belum sepenuhnya dipahami, namun terdapat beberapa mekanisme yang diduga berperan dalam penurunan kadar glukosa darah oleh peran antioksidan. Menurut Kemila (2010: 56), flavonoid berperan sebagai agen antioksidan yang memperbaiki sel β pankreas yang rusak akibat radikal bebas sehingga dapat meningkatkan sekresi insulin. Selain itu, peran flavonoid sebagai

antioksidan alami diduga mampu menangani komplikasi akibat keadaan hiperglikemia seperti, autooksidasi glukosa, glikasi protein, dan peroksidasi lipid yang selanjutnya dapat meningkatkan pembentukan senyawa oksigen reaktif yang umum dikenal dengan *reactive oxygen species* (ROS) (Mshelia 2004: 57 & 58).

Menurut Ebadi (2002: 454), senyawa aktif yang juga berperan dalam menurunkan kadar glukosa darah adalah saponin. Ekstrak etanol binahong diketahui mengandung senyawa tersebut sehingga dimungkinkan saponin yang terkandung dalam binahong turut serta berperan dalam meningkatkan kemampuan *therapeutic* campuran ekstrak binahong dan sambiloto sebagai antidiabetes alami. Penelitian Kambouche *dkk.* (2009: 5592 & 5593) melaporkan bahwa fraksi saponin dari tanaman *Anabasis articulata* (Forssk) Moq (Chenopodiaceae) menunjukkan kemampuan menurunkan kadar glukosa darah yang tidak berbeda nyata dengan kelompok hewan uji yang diberi perlakuan *Glibenclamide*[®].

Menurut Ebadi (2002: 454 & 455), saponin memiliki aktivitas sebagai penurun kadar glukosa yang sama seperti mekanisme kerja obat hipoglikemik oral (OHO) golongan sulfonilurea. Hal tersebut sesuai dengan penelitian Kambouche *dkk.* (2009: 5592 & 5593) yang menggunakan *Glibenclamide*[®] sebagai kontrol positif. Mekanisme kerja sulfonilurea adalah menghambat *channel* K-ATPase sehingga aliran kalium (K^+) ke luar sel menjadi terganggu. Terganggunya aliran kalium tersebut menyebabkan terjadinya depolarisasi membran sel β pankreas, sehingga *channel* Ca-ATPase terbuka dan ion kalsium (Ca^+) mengalir masuk ke sitoplasma (Ebadi 2002: 454; Murray *dkk.* 2003: 202 & 203). Keberadaan ion kalsium tersebut mengaktifkan enzim kalmodulin dalam sel sehingga terjadi eksositosis insulin dari vesikel untuk disekresikan ke luar sel (Djojosoebagio 1995: 302 & 303; Murray *dkk.* 2003: 202 & 203).

Ketersediaan insulin dalam tubuh sangat diperlukan, terutama pada individu yang mengalami hiperglikemia. Hal tersebut berkaitan dengan peranan insulin dalam menurunkan kadar glukosa darah dengan cara memfasilitasi difusi glukosa ke dalam sel-sel tubuh, terutama sel hepar, otot, dan jaringan adiposa (Djojosoebagio 1995: 302 & 303). Insulin juga merangsang glikogenesis (pembentukan glikogen) dan menghambat glikogenolisis (penguraian glikogen

menjadi glukosa) sehingga kadar glukosa darah dapat terkendali menuju keadaan normal (Sherwood 2001: 667 & 668).

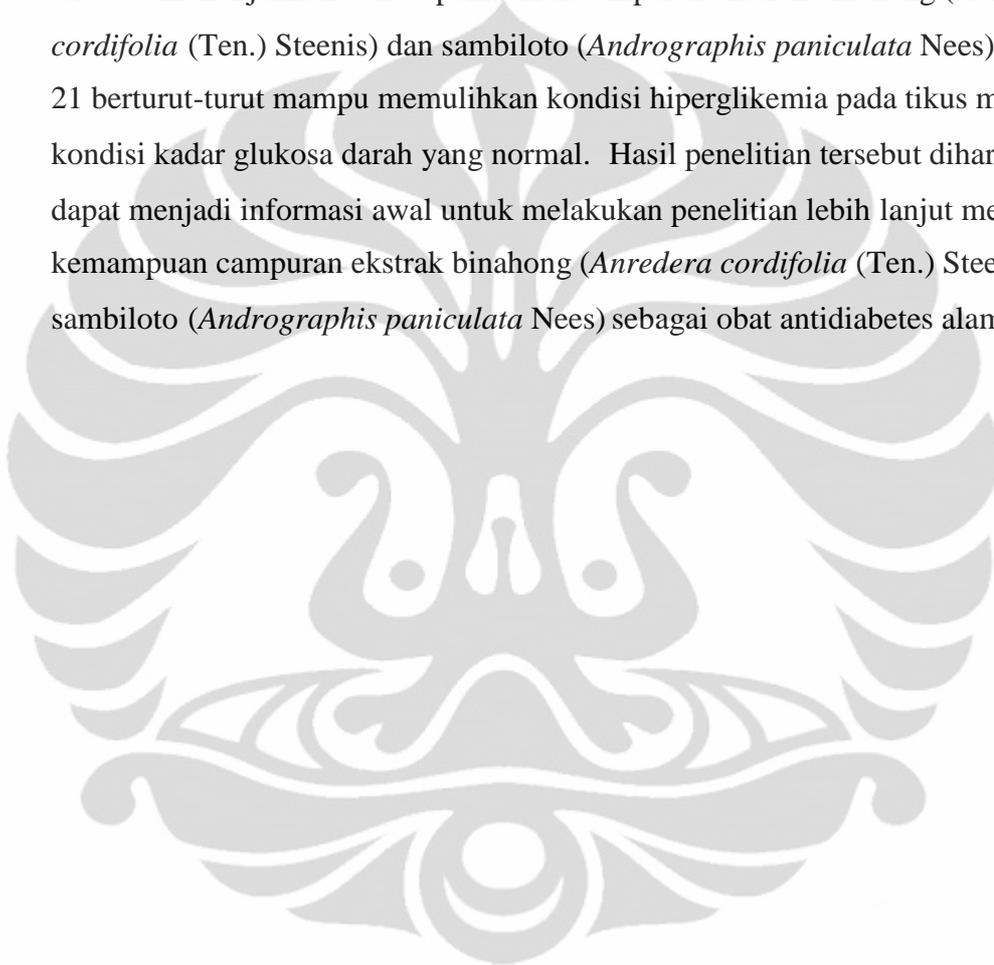
Persentase penurunan rerata kadar glukosa darah hari ke-15 pada KPB, KPS, KPC1, KPC2, dan KPC3 terhadap KK2 adalah 43,87%, 47,22%, 50,64%, 47,93%, dan 43,60%. Persentase penurunan rerata kadar glukosa darah hari ke-22 pada KPB, KPS, KPC1, KPC2, dan KPC3 terhadap KK2 adalah 52,89%, 56,43%, 61,40%, 49,96%, dan 46,08%. Persentase penurunan kadar glukosa darah pada KPC1 terlihat lebih besar dibandingkan dengan persentase penurunan kadar glukosa darah pada KPC2 maupun KPC3. Hal tersebut dikarenakan, dosis pada KPC1 lebih besar, sehingga jumlah senyawa-senyawa aktif yang berperan sebagai penurun glukosa diduga lebih banyak dibandingkan pada KPC2 dan KPC3.

Rerata kadar glukosa darah hari ke-15 pada KPC1 adalah 121,36 mg/dl. Nilai tersebut lebih besar dibandingkan dengan kadar glukosa darah pada KK1, yaitu 119,54 mg/dl. Rerata kadar glukosa darah hari ke-15 pada KPC2 dan KPC3 masing-masing adalah 128,03 mg/dl dan 138,68 mg/dl. Kedua nilai tersebut juga lebih besar dibandingkan dengan kadar glukosa darah pada KK1, namun nilai pada KPC2 berada di bawah kadar glukosa darah pada KPB dan KPS, yaitu 138,01 mg/dl dan 129,78 mg/dl. Data tersebut menunjukkan kemampuan penurun glukosa darah pada KPC2 lebih tinggi dibandingkan ekstrak tunggal masing-masing tanaman (KPB dan KPS).

Rerata kadar glukosa darah hari ke-22 pada KPC1 adalah 85,37 mg/dl. Nilai tersebut dibandingkan dengan kadar glukosa darah pada KK1 sebesar 92,05 mg/dl. Rerata kadar glukosa darah hari ke-22 pada KPC2 dan KPC3 masing-masing adalah 110,69 mg/dl dan 119,27 mg/dl. Persentase penurunan kadar glukosa darah dari dosis 750 mg/kg bb ke 187,5 mg/kg bb semakin kecil. Hal tersebut diduga karena penggunaan dosis campuran ekstrak pada KPC2 dan KPC3 dibawah dosis optimal masing-masing ekstrak.

Berdasarkan hasil penelitian dapat disimpulkan bahwa ketiga dosis campuran ekstrak, yaitu KPC1, KPC2, dan KPC3 mampu menurunkan kadar glukosa darah tikus putih (*Rattus norvegicus* L.) yang diinduksi aloksan. Semua kelompok perlakuan memiliki pola yang sama, baik pada data kadar glukosa darah hari ke-15 maupun hari ke-22, dalam menurunkan kadar glukosa darah.

Pemberian campuran ekstrak selama 14 dan 21 hari cenderung masih dalam batas aman karena tidak menimbulkan kondisi hipoglikemia (rendahnya kadar glukosa darah dibandingkan kadar glukosa darah normal). Nilai rerata kadar glukosa darah KPC1, KPC2, dan KPC3 pada hari ke-22 berada pada nilai kadar glukosa darah normal, yaitu berkisar 50--135 mg/100 ml (Carvalho *dkk.* 2003: 61). Hal tersebut menunjukkan bahwa pemberian campuran ekstrak binahong (*Anredera cordifolia* (Ten.) Steenis) dan sambiloto (*Andrographis paniculata* Nees) selama 21 berturut-turut mampu memulihkan kondisi hiperglikemia pada tikus menjadi kondisi kadar glukosa darah yang normal. Hasil penelitian tersebut diharapkan dapat menjadi informasi awal untuk melakukan penelitian lebih lanjut mengenai kemampuan campuran ekstrak binahong (*Anredera cordifolia* (Ten.) Steenis) dan sambiloto (*Andrographis paniculata* Nees) sebagai obat antidiabetes alami.



BAB 5

KESIMPULAN DAN SARAN

5.1 KESIMPULAN

Berdasarkan hasil penelitian yang telah dilakukan untuk menguji pengaruh campuran ekstrak tanaman binahong (*Anredera cordifolia* (Ten.) Steenis) dan sambiloto (*Andrographis paniculata* Nees) terhadap kadar glukosa darah tikus putih (*Rattus norvegicus* L.) jantan yang diinduksi aloksan diperoleh kesimpulan sebagai berikut:

1. Pemberian campuran ekstrak tanaman binahong (*Anredera cordifolia* (Ten.) Steenis) dan sambiloto (*Andrographis paniculata* Nees) dengan dosis 750; 375; dan 187,5 mg/kg bb mampu menurunkan kadar glukosa darah tikus putih (*Rattus norvegicus* L.) jantan.
2. Penurunan kadar glukosa darah yang mendekati normal pada hari ke-15 (KK1 = 119,54 mg/dl) terdapat pada campuran ekstrak dosis 750 mg/kg bb (KPC1) dengan persentase penurunan terbesar yaitu mencapai 50,64%.
3. Penurunan kadar glukosa darah yang mendekati normal pada hari ke-22 (KK1 = 92,05 mg/dl) terdapat pada campuran ekstrak dosis 750 mg/kg bb (KPC1) dengan persentase penurunan terbesar yaitu mencapai 61,40%.

5.2 SARAN

Perlu dilakukan penelitian mengenai toksisitas pengaruh campuran ekstrak tanaman binahong (*Anredera cordifolia* (Ten.) Steenis) dan sambiloto (*Andrographis paniculata* Nees) terhadap tikus diabet dan penelitian tentang pengaruh pemberian campuran ekstrak tersebut terhadap organ hati, pankreas, dan ginjal. Hal tersebut diperlukan untuk mendapatkan informasi yang lebih lengkap yang mendukung manfaat dan keamanan campuran ekstrak tanaman binahong (*Anredera cordifolia* (Ten.) Steenis) dan sambiloto (*Andrographis paniculata* Nees) sebagai antidiabetes alami yang aman bagi kesehatan.

DAFTAR REFERENSI

- Abou, Z.A.H.S., F.M. Soliman, A.A. Sleem & M.N.R. Mitry. 2007. Phytochemical and Bio-activity Investigations of The Aerial Parts of *Anredera cordifolia* (Ten.) Steenis. *Bulletin of the National Research Centre (Egypt)*. **32**(1): 1--33.
- ACEC (=Animal Care and Ethic Committee). 1999. Blood collection in rodent and rabbit. 9 hlm.
<http://www.newcastle.edu.au/research/animal/revision/acec29.pdf>: 9 Juni 2010, pk. 10.00 WIB.
- Agoreyo, F.O., B.O. Agoreyo & M.N. Onuorah. 2008. Effect of aqueous extracts of *Hibiscus sabdariffa* and *Zingiber officinale* on blood cholesterol and glucose levels of rats. *African Journal of Biotechnology* **7**(21): 3949--3951.
- AgroMedia. 2009. Diagnosa dan Medis Diabetes Mellitus. 1 hlm.
<http://www.agromedia-pustaka.com> . 9 Juni 2010, pk. 10.00 WIB.
- Ahmed, A.A. 2010. Endorphins and diabetes mellitus. *Middle East Journal of Family Medical* **8**(1): 28--32.
- Alhusin, S. 2002. *Aplikasi statistik praktis dengan menggunakan SPSS 10 for windows*. J & J Learning, Yogyakarta: xii + 383 hlm.
- Ansel, H.C. 1989. *Pengantar bentuk sediaan farmasi*. Terj. dari *Introduction to pharmaceutical dosage forms*. Jakarta: xi + 893 hlm.
- Atangwho, I.J., P.E. Ebong, M.U. Eteng, E.U. Eyong & A.U. Obi. 2007. Effect of *Vernonia amygdalina* Del leaf on kidney function of diabetic rats. *International Journal of Pharmacology* **3**(2): 143--148.
- Backer, C.A. & R.C.B. Van De Brink Jr. 1965. *Flora of java*. Vol II, The Rijksherbarium, Leyden: (72) + 641 hlm.
- Boyer, R.I. 1993. *Modern experimental biochemistry*. 2nd ed. The Benjamin/Cummings Publishing Company Inc., Redwood City: xix + 555 hlm.
- Carvalho, E.N., N.A.S. Carvalho & L.M. Ferreira. 2003. Experimental model of

- induction of *Diabetes mellitus* in rats. *Acta Cir Bras* **18**: 60--63.
- Chiasson, R.B. 1975. *Laboratory anatomy of the white rat*. 3rd ed. University of Arizona. W.M.C. Brown Company Publishers, Dubuque, Iowa: vii + 85 hlm.
- Corwin, E.J. 2000. *Buku saku patofisiologi*. Terj. dari *Handbook of pathophysiology*. oleh Brahm U. Pendit. Penerbit Buku Kedokteran EGC, Jakarta: vi + 696 hlm.
- Dalimartha, S. 2004. *Ramuan tradisional untuk pengobatan diabetes mellitas*. Cet ke-9. Penebar Swadaya, Jakarta: xii + 112 hlm.
- Dandu, A.M. & N.M. Inamdar. 2009. Evaluation of beneficial effects of antioxidant properties of aqueous leaf extract of *Andrographis paniculata* in STZ-induced diabetes. *Pakistan Journal Pharmacology Science* **22**(1): 49--52.
- Davidson College. 2005. Insulin. 1 hlm. <http://www.davidson-college.edu>. 9 Maret 2011, pk. 10.25 WIB.
- Depkes. 1989. *Vademekum bahan obat alam*. Depkes RI. Jakarta: ii + 411 hlm.
- Depkes. 2000. *Parameter standar umum ekstrak tumbuhan obat*. Depkes RI. Jakarta: ii + 68 hlm.
- Depkes. 2008. Tahun 2030 Prevalensi Diabetes Mellitus di Indonesia Mencapai 21,3 Juta Orang. 1 hlm. <http://www.depkes.go.id/index.php/berita/press-release/414-tahun-2030-prevalensi-diabetes-melitus-di-indonesia-mencapai-213-juta-orang.html>. 9 Juni 2010, pk. 09.30 WIB.
- Djojosoebagio. 1995. *Fisiologi kelenjar endokrin*. Penerbit UI-Press, Jakarta: v + 501 hlm.
- Ebadi, M. S. 2002. *Pharmacodynamic basis of herbal medicine*. CRC Press LLC, Boca Raton: xxviii + 726 hlm.
- Ebong, P.E., I.J. Atangwho, E.U. Eyong & G.E. Egbung. 2008. The antidiabetic efficacy of combined extracts from two continental plants: *Azadirachta indica* (A. Juss) (Neem) and *Vernonia amygdalina* (Del.) (African Bitter Leaf). *American Journal of Biochemistry and Biotechnology* **4**(3): 239--244.

- Frode, T.S. & Y.S. Medeiros. 2008. Animals models to test drugs with potential antidiabetic activity. *Journal of Ethnopharmacology* **115**: 173--183.
- Guyton, A.C. & J.E. Hall. 1997. *Buku ajar fisiologi kedokteran*. Ed. ke-9. Terj. dari: *Text book of medical Physiology*, oleh Setiawan, I. Penerbit Buku Kedokteran EGC, Jakarta: 1 + 1428 hlm.
- Hadley, M.E. 2000. *Endocrinology*. 5th ed. Prentice Hall Inc., London: xxii + 585 hlm.
- Hanafiah, A.K. 1997. *Rancangan percobaan: Teori dan aplikasi*. Ed. ke-2. Penerbit PT Raja Grafindo Persada, Jakarta: xii + 238 hlm.
- Handoko, T. & B. Suharto. 1995. Insulin, glukagon dan antidiabetik oral. *Dalam*: Ganishwara, S. G. (Ed.). *Farmakologi dan terapi*. Ed. Ke-4. Bagian Farmakologi FK-UI, Jakarta: 467--481.
- Hariana, A. 2006. *Tumbuhan obat dan khasiatnya seri 3*. Penebar Swadaya, Jakarta: 1--171 hlm.
- Harmita & M. Radji. 2004. *Buku ajar analisis hayati*. Departemen Farmasi FMIPA-UI, Depok: vi + 185 hlm.
- Heyne, K. 1987. *Tumbuhan berguna Indonesia II*. Jilid 3. Yayasan Sarana Wana Jaya, Jakarta: xxi + 1852 hlm.
- Kambouche, N., B. Merah, A. Derdour, S. Bellahouel, J. Bouayed, A. Dicko, C. Younos & R. Soulimani. 2009. Hypoglycemic and antihyperglycemic effects of *Anabasis articulata* (Forssk) Moq (Chenopodiaceae), an Algerian medicinal plant. *African Journal of Biotechnology* **8**(20): 5589--5594.
- Kaplan, L.A. & A.J. Pesce. 1996. *Clinical chemistry: Theory, analysis and correlation*. Mosby Year Book, St. Louis: xvii + 1211 hlm.
- Kemila, M. 2010. Uji aktivitas antidiabetes mellitus infus daun binahong (*Anredera cordifolia* (Tenore) Steen) pada tikus putih jantan. Skripsi S1 Jurusan Farmasi FMIPA-UII, Yogyakarta: iv + 55 hlm.
- Lee, M.S. & P.T. Thuong. 2010. Stimulation of glucose uptake by triterpenoids from *Weigela subsessilis*. *Phytotherapy Research* **24**: 49--53.
- Lenzen, S. 2008. The mechanism of alloxan- and streptozotocin-induced diabetes. *Diabetologia* **51**: 216--226.

- Liu, I.M. & J.T. Cheng. 2008. Mediation of endogenous β -endorphin in the plasma glucose-lowering action of herbal products observed in type 1-like diabetic rats. *eCAM*: 1--9.
- Malole, M.B.M. & C.S.U. Pramono. 1989. *Penggunaan hewan-hewan percobaan di laboratorium*. Departemen Pendidikan dan Kebudayaan Institut Pertanian Bogor, Bogor: vii + 161 hlm.
- Manoi, F. 2009. Binahong (*Anredera cordifolia*) sebagai Obat. *Warta Penelitian dan Pengembangan Tanaman Industri* **15**(1): 3--5.
- Maritim, A.C., R.A. Sanders & J.B. Watkins III. 2003. Diabetes, oxidative stress, and antioxidants. *J. Biochem Molecular Toxicology* **17**(1): 24--38.
- Mitosciences. 2010. Ketosis. 1 hlm.
http://www.mitosciences.com/ketogenesis_pathway.jpg. 9 Maret 2011, pk. 10.20 WIB.
- Moussa, S.A. 2008. Oxidative stress in Diabetes mellitus. *Romanian Journal Biophysiology* **18**(3): 225--236.
- Mshelia, D. S. 2004. Role of free radicals in pathogenesis of diabetes nephropathy. *Annals of African Medicine* **3**(2): 55--62.
- Murray, R.K., D.K. Granner, P.A. Mayes & V.W. Rodwell. 2003. *Biokimia harper*. Ed. 25. Terj. dari *Harper's biochemistry*, oleh Andry, H. Penerbit Buku Kedokteran EGC, Jakarta: ix + 883 hlm.
- Ngatidjan. 1991. *Petunjuk laboratorium: Metode laboratorium dalam toksikologi*. Pusat Antar Universitas Bioteknologi, Yogyakarta UGM: x + 283 hlm.
- Ophardt, C.E. 2003. Diabetes-Errors of Metabolism. Virtual ChemBook. 1 hlm.
<http://www.elmhurst.edu/~chm/vchembook/624diabetes.html>.
9 Maret 2011, pk. 10.20 WIB.
- Plummer, D.T. 1987. *An introduction to practical biochemistry*. Mc Graw-Hill, New York: xx + 332 hlm.
- Rao, N. K. 2006. Anti-hyperglycemic and renal protective activities of *Andrographis paniculata* roots chloroform extract. *Iranian Journal of Pharmacology & Therapeutics (IJPT)* **5**: 47--50.

- Rendon, A., J. Manuel, G. Luis & Javier. 2006. Compositions comprising natural products for the treatment of diabetes. *Bibliographic Information, SciFinder* 7(1): 26--43.
- Sandhar, H.K., B. Kumar, S. Prasher, P. Tiwari, M. Salhan & P. Sharma. 2011. A review of phytochemistry and pharmacology of flavonoids. *Internationale Pharmaceutica Scientia* 1(1): 25--41.
- Santa, I. G. P. 1996. Studi taksonomi sambiloto *Andrographis paniculata* (Burm. F.) Ness. *Warta Tumbuhan Obat Indonesia* 3(1): 14--15.
- Sherwood, L. 2001. *Fisiologi manusia: dari sel ke sistem*. Ed.2. Terj. dari *Human physiology from cells to systems*, oleh Brahm U. Pendit. Penerbit Buku Kedokteran EGC, Jakarta: xvi + 739 hlm.
- Soewondo, P. 2007. *Hidup sehat dengan diabetes*. Balai Penerbit FK-UI, Jakarta: ii + 114 hlm.
- Starr, F., K. Starr & L. Loope. 2003. *Anredera cordifolia* Madeira vine. *United States Geological Survey--Biological Resources Division Haleakala Field Station*: 1--6.
- Subramanian, R. 2008. Effect of Andrographolide and Ethanol Extract of *Andrographis paniculata* on Liver Glycolytic, Gluconeogenic, and Lipogenic Enzymes in a Type 2 Diabetic Rat Model. *Pharmaceutical Biology* 46: 772--780.
- Sudjana. 1992. *Metode statistika*. Ed ke-5. Penerbit Tarsito, Bandung: x + 508 hlm.
- Sutedjo, A.Y. 2007. *Buku saku mengenal penyakit melalui hasil pemeriksaan laboratorium*. Ed. Revisi. Amara Books, Yogyakarta: v + 235 hlm.
- Suyono, S. 2005. Patofisiologi Diabetes Melitus. *Dalam: Soegondo, S. dkk.* (eds.). 2005. *Penatalaksanaan Diabetes Melitus Terpadu: Sebagai panduan penatalaksanaan diabetes melitus bagi dokter maupun edukator*. Cet ke-5. Balai Penerbit FK-UI, Jakarta: 7--15.
- Syahrin, A.S., S.S. Amrah, K.L.Chan, B.Y.Lim, N. Hasenan, J. Hasnan & S.S.J. Mohsin. 2006. Effect of Spray-Dried Ethanolic Extract of *Andrographis paniculata* (Burm. F.) Nees on Streptozotocin – Induced Diabetic Female Rats. *International Journal Diabetes Development Countries*

26: 163--168.

- Szkudelski, T. 2001. The Mechanism of Alloxan and Streptozotocin Action in β Cells of the Rat Pancreas. *Physiology Research* (50): 536--546.
- Thibodeau, G. A. & K.T. Patton. 2005. *The human body health & disease*. Fourth Edition. Elsevier Mosby. United States of America: vii + 747 hlm.
- Tierney, L.M., S.J. McPhee & M.A. Papadakis. 2000. *Current medical diagnosis and treatment*. Mc Graw-Hill Companies, United States of America: xi + 1735 hlm.
- Tiwari, A. K. & J.M. Rao. 2002. Diabetes mellitus and multiple therapeutic approaches of phytochemicals: Present status and future prospects. *Current Science* 83(1): 30--38.
- Tjay, T. H. & K. Rahardja. 2007. *Obat-obat penting: khasiat, penggunaan, & efek-efek sampingnya*. Ed. Ke-6. Elex Media Komputindo Gramedia, Jakarta: vii + 969 hlm.
- Trihendradi, C. 2009. *7 langkah mudah melakukan analisis statistik menggunakan SPSS 17*. ANDI, Yogyakarta: x + 222 hlm.
- Trinity. 2009. Pancreatic Hormones and Metabolic Regulation. 1 hlm. <http://www.trinity.edu/lespey/bid3449/lectures/lectio/fig.11.15.jpg>. 9 Maret 2011, pk. 10.25 WIB.
- Trivedi, N. & U.M. Rawal. 2000. Hepatoprotective and toxicological evaluation of *Andrographis paniculata* on severe liver damage. *Indian Journal of Pharmacology* 32: 288--293.
- University of Washington Animal Use Training Program (UW AUTP). 2009. Animal use training session: Rat lab handout: 33 hlm. <http://depts.washington.edu/auts/index.html>. 12 Juni 2010, Pk. 20.00 WIB.
- Wild, S., G. Roglic, A. Geen, R. Sicree & H. King. 2004. Global Prevalence of Diabetes: Estimates for the year 2000 and projections for 2030. *Diabetes care* 27(5): 1047--1053.
- Wolfensohn, S. & M. Lioyd. 1998. *Handbook of laboratory animal management & welfa*. 2nd Ed. Blackneil Science, London: x + 334 hlm.
- Yulinah, E. 2001. Aktivitas Antidiabetika Ekstrak Etanol Herba Sambiloto (*Andrographis paniculata* Nees (Acanthaceae)). *JMS* 6(1): 13--20.

Zimmet, P., K. G. M. M. Alberti & J. Shaw. 2001. Global and Societal Implications of The Diabetes Epidemic. *Nature insight review articles* **414**(6865): 782--787.



Lampiran 1
Sertifikat hasil identifikasi tanaman



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, 3 November 2010

Nomor : *1347*/IPH.1.02/If.8/XI/2010
Lampiran : -
Perihal : Hasil identifikasi/determinasi Tumbuhan

Kepada Yth.
Bpk./Ibu/Sdr(i). Okvitasari Purbowati
NPM : 0606070125
Mhs. UI
Depok - 16424

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	Sambiloto	<i>Andrographis paniculata</i> Nees	Acanthaceae
2	Binahong	<i>Anredera cordifolia</i> (Ten.) Steenis	Basellaceae

Demikian, semoga berguna bagi Saudara.

Kepala Bidang Botani
Pusat Penelitian Biologi-LIPI,

Prof. Dr. Eko Baroto Walujo
NIP. 195111041975011001

D:\Ident 2010\Okvitasari Purbowati.doc\JJA-DG

Page 1 of 1

Lampiran 2 Perhitungan dosis ekstrak

Dosis yang digunakan berdasarkan penelitian Subramanian *dkk.* (2008: 772) dan penelitian pendahuluan Badan Pengkajian dan Penerapan Teknologi (BPPT), yaitu:

Dosis ekstrak binahong = 250 mg/kg bb

Dosis ekstrak sambiloto = 500 mg/kg bb

Dosis Campuran ekstrak = ekstrak binahong + ekstrak sambiloto
= 250 mg/kg bb + 500 mg/kg bb

Penurunan dosis mengikuti pola $(1/2)^n$ sehingga diperoleh variasi dosis sebesar 750; 375; dan 187,5 mg/kg bb (Agoreyo *dkk.* 2008: 3950).

Dosis 1 campuran ekstrak = ekstrak binahong + ekstrak sambiloto
= 250 mg/kg bb + 500 mg/kg bb

Dosis 2 campuran ekstrak = ekstrak binahong + ekstrak sambiloto
= 125 mg/kg bb + 250 mg/kg bb

Dosis 3 campuran ekstrak = ekstrak binahong + ekstrak sambiloto
= 62,5 mg/kg bb + 125 mg/kg bb

Ekstrak dilarutkan dalam larutan CMC 0,5%, dengan volume pemberian bahan uji (ekstrak) masing-masing tikus putih (*Rattus norvegicus* L.) secara oral adalah sebanyak 1 ml/100 g bb tikus putih (*Rattus norvegicus* L.)

Lampiran 3
Perhitungan dosis pemberian aloksan secara intraperitoneal pada tikus putih
(*Rattus norvegicus* L.) jantan

Berdasarkan Malole & Pramono (1989: 152), volume maksimal suntikan secara intraperitoneal adalah 1 ml/100 gr bb.

Dosis aloksan yang digunakan = 100 mg/kg bb = 10 mg/100 g bb

Hewan uji yang diinduksi = 28 ekor

Serbuk aloksan untuk 28 ekor = $[28 + (10\% \times 28)] \times 10 \text{ mg}$
= 308 mg ~ 0,308 g

Pelarut akuabides yang dibutuhkan = $308 \text{ mg} / 10 \text{ mg} \times 0,5 \text{ ml} = 15,4 \text{ ml}$

Pembuatan larutan aloksan = 0,308 g serbuk aloksan dilarutkan dalam 15,4 ml akuabides.

Volume penyuntikan masing-masing tikus (ml) = $\text{bb tikus (g)} / 100 \text{ g} \times 0,5 \text{ ml}$

Lampiran 4
Uji normalitas Shapiro-Wilk terhadap data kadar glukosa darah hari ke-0

Tujuan:

Untuk mengetahui normalitas distribusi data kadar glukosa darah hari ke-0

Hipotesis:

H_0 : Data kadar glukosa darah hari ke-0 berdistribusi normal

H_a : Data kadar glukosa darah hari ke-0 tidak berdistribusi normal

Taraf nyata:

Nilai α yang digunakan adalah $\alpha = 0,05$

Kriteria pengujian:

Jika $P < 0,05$; maka H_0 ditolak

Jika $P > 0,05$; maka H_0 diterima

Hasil perhitungan:

Perlakuan	Shapiro-Wilk		
	Statistik	Db	Probabilitas (P)
KK1	0,962	4	0,794
KK2	0,948	4	0,702
KK3	0,872	4	0,308
KPB	0,915	4	0,507
KPS	0,899	4	0,425
KPC1	0,737	4	0,029
KPC2	0,837	4	0,187
KPC3	0,917	4	0,521

Kesimpulan:

Data kadar glukosa darah hari ke-0 tidak berdistribusi normal

Lampiran 5
Uji homogenitas Levene terhadap data kadar glukosa darah hari ke-0

Tujuan:

Untuk mengetahui homogenitas variansi data kadar glukosa darah hari ke-0

Hipotesis:

H_0 : Data kadar glukosa darah hari ke-0 bervariasi homogen

H_a : Data kadar glukosa darah hari ke-0 tidak bervariasi homogen

Taraf nyata:

Nilai α yang digunakan adalah $\alpha = 0,05$

Kriteria pengujian:

Jika $P < 0,05$; maka H_0 ditolak

Jika $P > 0,05$; maka H_0 diterima

Hasil perhitungan:

Uji Levene	db1	Db2	Probabilitas (P)
0,899	7	24	0,523

Nilai $P = 0,523$; Jika $P > 0,05$; maka H_0 diterima

Kesimpulan:

Data kadar glukosa darah hari ke-0 bervariasi homogen

Lampiran 6
Uji nonparametrik Kruskal-Wallis terhadap data kadar glukosa darah hari ke-0

Tujuan:

Untuk mengetahui ada atau tidaknya perbedaan yang nyata terhadap kadar glukosa darah antar kelompok perlakuan hari ke-0

Hipotesis:

H_0 : Tidak ada perbedaan nyata terhadap kadar glukosa darah antar kelompok perlakuan pada hari ke-0

H_a : Ada perbedaan nyata terhadap kadar glukosa darah antar kelompok perlakuan pada hari ke-0

Taraf nyata:

Nilai α yang digunakan adalah $\alpha = 0,05$

Kriteria pengujian:

Jika $P < 0,05$; maka H_0 ditolak

Jika $P > 0,05$; maka H_0 diterima

Hasil perhitungan:

	KGD hari ke-0
Chi-Square	13,308
Db	7
P	0,065

Nilai $P = 0,065$; Jika $P > 0,05$; maka H_0 diterima

Kesimpulan:

Tidak ada perbedaan nyata terhadap kadar glukosa darah antar kelompok perlakuan pada hari ke-0

Lampiran 7
Uji normalitas Shapiro-Wilk terhadap data kadar glukosa darah hari ke-15

Tujuan:

Untuk mengetahui normalitas distribusi data kadar glukosa darah hari ke-15

Hipotesis:

H_0 : Data kadar glukosa darah hari ke-15 berdistribusi normal

H_a : Data kadar glukosa darah hari ke-15 tidak berdistribusi normal

Taraf nyata:

Nilai α yang digunakan adalah $\alpha = 0,05$

Kriteria pengujian:

Jika $P < 0,05$; maka H_0 ditolak

Jika $P > 0,05$; maka H_0 diterima

Hasil perhitungan:

Perlakuan	Shapiro-Wilk		
	Statistik	Db	Probabilitas (P)
KK1	0,957	4	0,757
KK2	0,922	4	0,548
KK3	0,897	4	0,416
KPB	0,893	4	0,399
KPS	0,808	4	0,117
KPC1	0,821	4	0,145
KPC2	0,993	4	0,972
KPC3	0,890	4	0,381

Kesimpulan:

Data kadar glukosa darah hari ke-15 berdistribusi normal

Lampiran 8
Uji homogenitas Levene terhadap kadar glukosa darah hari ke-15

Tujuan:

Untuk mengetahui homogenitas variansi data kadar glukosa darah hari ke-15

Hipotesis:

H_0 : Data kadar glukosa darah hari ke-15 bervariasi homogen

H_a : Data kadar glukosa darah hari ke-15 tidak bervariasi homogen

Taraf nyata:

Nilai α yang digunakan adalah $\alpha = 0,05$

Kriteria pengujian:

Jika $P < 0,05$; maka H_0 ditolak

Jika $P > 0,05$; maka H_0 diterima

Hasil perhitungan:

Uji Levene	db1	db2	Probabilitas (P)
3,852	7	24	0,006

Nilai $P = 0,006$; Jika $P < 0,05$; maka H_0 ditolak

Kesimpulan:

Data kadar glukosa darah hari ke-15 tidak bervariasi homogen

Lampiran 9
Uji nonparametrik Kruskal-Wallis terhadap data kadar glukosa darah hari ke-15

Tujuan:

Untuk mengetahui ada atau tidaknya pengaruh campuran ekstrak binahong (*Anredera cordifolia* (Ten.) Steenis) dan sambiloto (*Andrographis paniculata* Nees) terhadap kadar glukosa darah hari ke-15 antar kelompok perlakuan

Hipotesis:

H_0 : Tidak ada pengaruh campuran ekstrak binahong (*Anredera cordifolia* (Ten.) Steenis) dan sambiloto (*Andrographis paniculata* Nees) terhadap kadar glukosa darah hari ke-15 antar kelompok perlakuan

H_a : Ada pengaruh campuran ekstrak binahong (*Anredera cordifolia* (Ten.) Steenis) dan sambiloto (*Andrographis paniculata* Nees) terhadap kadar glukosa darah hari ke-15

Taraf nyata:

Nilai α yang digunakan adalah $\alpha = 0,05$

Kriteria pengujian:

Jika $P < 0,05$; maka H_0 ditolak

Jika $P > 0,05$; maka H_0 diterima

Hasil perhitungan:

	KGD hari ke-15
Chi-Square	16,672
Db	7
P	0,020

Nilai $P = 0,020$; Jika $P < 0,05$; maka H_0 ditolak

Kesimpulan: :

Ada pengaruh campuran ekstrak binahong (*Anredera cordifolia* (Ten.) Steenis) dan sambiloto (*Andrographis paniculata* Nees) terhadap kadar glukosa darah hari ke-15 antar kelompok perlakuan

Lampiran 10
Uji normalitas Shapiro-Wilk terhadap data kadar glukosa darah hari ke-22

Tujuan:

Untuk mengetahui normalitas distribusi data kadar glukosa darah hari ke-22

Hipotesis:

H_0 : Data kadar glukosa darah hari ke-22 berdistribusi normal

H_a : Data kadar glukosa darah hari ke-22 tidak berdistribusi normal

Taraf nyata:

Nilai α yang digunakan adalah $\alpha = 0,05$

Kriteria pengujian:

Jika $P < 0,05$; maka H_0 ditolak

Jika $P > 0,05$; maka H_0 diterima

Hasil perhitungan:

Perlakuan	Shapiro-Wilk		
	Statistik	Db	Probabilitas (P)
KK1	0,857	4	0,249
KK2	0,963	4	0,800
KK3	0,921	4	0,543
KPB	0,991	4	0,963
KPS	0,789	4	0,084
KPC1	0,940	4	0,657
KPC2	0,893	4	0,396
KPC3	0,954	4	0,739

Kesimpulan:

Data kadar glukosa darah hari ke-22 berdistribusi normal

Lampiran 11
Uji homogenitas Levene terhadap kadar glukosa darah hari ke-22

Tujuan:

Untuk mengetahui homogenitas variansi data kadar glukosa darah hari ke-22

Hipotesis:

H_0 : Data kadar glukosa darah hari ke-22 bervariasi homogen

H_a : Data kadar glukosa darah hari ke-22 tidak bervariasi homogen

Taraf nyata:

Nilai α yang digunakan adalah $\alpha = 0,05$

Kriteria pengujian:

Jika $P < 0,05$; maka H_0 ditolak

Jika $P > 0,05$; maka H_0 diterima

Hasil perhitungan:

Uji Levene	Db1	db2	Probabilitas (P)
1,027	7	24	0,438

Nilai $P = 0,438$; Jika $P > 0,05$; maka H_0 diterima

Kesimpulan:

Data kadar glukosa darah hari ke-22 bervariasi homogen

Lampiran 12
Uji analisis variansi (ANOVA) 1-faktor terhadap data kadar glukosa darah
hari ke-22

Tujuan:

Untuk mengetahui ada atau tidaknya pengaruh campuran ekstrak binahong (*Anredera cordifolia* (Ten.) Steenis) dan sambiloto (*Andrographis paniculata* Nees) terhadap kadar glukosa darah hari ke-22 antar kelompok perlakuan

Hipotesis:

H_0 : Tidak ada pengaruh campuran ekstrak binahong (*Anredera cordifolia* (Ten.) Steenis) dan sambiloto (*Andrographis paniculata* Nees) terhadap kadar glukosa darah hari ke-22 antar kelompok perlakuan

H_a : Ada pengaruh campuran ekstrak binahong (*Anredera cordifolia* (Ten.) Steenis) dan sambiloto (*Andrographis paniculata* Nees) terhadap kadar glukosa darah hari ke-22

Taraf nyata:

Nilai α yang digunakan adalah $\alpha = 0,05$

Kriteria pengujian:

Jika $P < 0,05$; maka H_0 ditolak

Jika $P > 0,05$; maka H_0 diterima

Hasil perhitungan:

	Jumlah kuadrat	Df	Kuadrat tengah	F	Probabilitas (P)
Antar kelompok	56174,696	7	8024,957	42,610	0,000
Dalam kelompok	4520,026	24	188,334		
Total	60694,722	31			

Nilai $P = 0,000$; Jika $P < 0,05$; maka H_0 ditolak

Kesimpulan:

Ada pengaruh campuran ekstrak binahong (*Anredera cordifolia* (Ten.) Steenis) dan sambiloto (*Andrographis paniculata* Nees) terhadap kadar glukosa darah hari ke-22 antar kelompok perlakuan

Lampiran 13
Uji perbandingan berganda *Least Significant Difference* (LSD) terhadap data kadar glukosa darah hari ke-22

Tujuan:

Untuk mengetahui ada tidaknya perbedaan nyata terhadap kadar glukosa darah hari ke-22 antara pasangan kelompok perlakuan

Hipotesis:

H_0 : Tidak ada perbedaan nyata terhadap kadar glukosa darah hari ke-22 antara pasangan kelompok perlakuan

H_a : Ada perbedaan nyata terhadap kadar glukosa darah hari ke-22 antara pasangan kelompok perlakuan

Taraf nyata:

Nilai α yang digunakan adalah $\alpha = 0,05$

Kriteria pengujian:

Jika $P < 0,05$; maka H_0 ditolak

Jika $P > 0,05$; maka H_0 diterima

Hasil perhitungan:

Perlakuan (I)	Perlakuan (J)	Selisih Mean (I-J)	SE	P	Interval kepercayaan 95%	
					Batas bawah	Batas atas
KK1	KK2	-129,13500	9,70398	0,000*	-149,1630	-109,1070
	KK3	6,49000	9,70398	0,510	-13,5380	26,5180
	KPB	-12,14750	9,70398	0,223	-32,1755	7,8805
	KPS	-4,32500	9,70398	0,660	-24,3530	15,7030
	KPC1	6,68250	9,70398	0,498	-13,3455	26,7105
	KPC2	-18,63750	9,70398	0,067	-38,6655	1,3905
	KPC3	-27,22250	9,70398	0,010*	-47,2505	-7,1945
KK2	KK1	129,13500	9,70398	0,000*	109,1070	149,1630
	KK3	135,62500	9,70398	0,000*	115,5970	155,6530
	KPB	116,98750	9,70398	0,000*	96,9595	137,0155
	KPS	124,81000	9,70398	0,000*	104,7820	144,8380
	KPC1	135,81750	9,70398	0,000*	115,7895	155,8455
	KPC2	110,49750	9,70398	0,000*	90,4695	130,5255
	KPC3	101,91250	9,70398	0,000*	81,8845	121,9405
KK3	KK1	-6,49000	9,70398	0,510	-26,5180	13,5380
	KK2	-135,62500	9,70398	0,000*	-155,6530	-115,5970
	KPB	-18,63750	9,70398	0,067	-38,6655	1,3905
	KPS	-10,81500	9,70398	0,276	-30,8430	9,2130
	KPC1	0,19250	9,70398	0,984	-19,8355	20,2205
	KPC2	-25,12750	9,70398	0,016*	-45,1555	-5,0995
	KPC3	-33,71250	9,70398	0,002*	-53,7405	-13,6845
KPB	KK1	12,14750	9,70398	0,223	-7,8805	32,1755
	KK2	-116,98750	9,70398	0,000*	-137,0155	-96,9595
	KK3	18,63750	9,70398	0,067	-1,3905	38,6655
	KPS	7,82250	9,70398	0,428	-12,2055	27,8505
	KPC1	18,83000	9,70398	0,064	-1,1980	38,8580
	KPC2	-6,49000	9,70398	0,510	-26,5180	13,5380
	KPC3	-15,07500	9,70398	0,133	-35,1030	4,9530

KPS	KK1	4,32500	9,70398	0,660	-15,7030	24,3530
	KK2	-124,81000	9,70398	0,000*	-144,8380	-104,7820
	KK3	10,81500	9,70398	0,276	-9,2130	30,8430
	KPB	-7,82250	9,70398	0,428	-27,8505	12,2055
	KPC1	11,00750	9,70398	0,268	-9,0205	31,0355
	KPC2	-14,31250	9,70398	0,153	-34,3405	5,7155
	KPC3	-22,89750	9,70398	0,027*	-42,9255	-2,8695
KPC1	KK1	-6,68250	9,70398	0,498	-26,7105	13,3455
	KK2	-135,81750	9,70398	0,000*	-155,8455	-115,7895
	KK3	-0,19250	9,70398	0,984	-20,2205	19,8355
	KPB	-18,83000	9,70398	0,064	-38,8580	1,1980
	KPS	-11,00750	9,70398	0,268	-31,0355	9,0205
	KPC2	-25,32000	9,70398	0,015*	-45,3480	-5,2920
	KPC3	-33,90500	9,70398	0,002*	-53,9330	-13,8770
KPC2	KK1	18,63750	9,70398	0,067	-1,3905	38,6655
	KK2	-110,49750	9,70398	0,000*	-130,5255	-90,4695
	KK3	25,12750	9,70398	0,016*	5,0995	45,1555
	KPB	6,49000	9,70398	0,510	-13,5380	26,5180
	KPS	14,31250	9,70398	0,153	-5,7155	34,3405
	KPC1	25,32000	9,70398	0,015*	5,2920	45,3480
	KPC3	-8,58500	9,70398	0,385	-28,6130	11,4430
KPC3	KK1	27,22250	9,70398	0,010*	7,1945	47,2505
	KK2	-101,91250	9,70398	0,000*	-121,9405	-81,8845
	KK3	33,71250	9,70398	0,002*	13,6845	53,7405
	KPB	15,07500	9,70398	0,133	-4,9530	35,1030
	KPS	22,89750	9,70398	0,027*	2,8695	42,9255
	KPC1	33,90500	9,70398	0,002*	13,8770	53,9330
	KPC2	8,58500	9,70398	0,385	-11,4430	28,6130

Keterangan:

(*) $P < 0,05$: ada perbedaan nyata antara kelompok perlakuan

Kesimpulan:

Terdapat perbedaan nyata terhadap kadar glukosa darah hari ke-22 antara pasangan kelompok: KK1, KK3, KPB, KPS, KPC1, KPC2, dan KPC3 dengan KK2; KPC3 dengan KK1; KPC3 dengan KPS; KPC2 dan KPC3 dengan KK3; KPC2 dan KPC3 dengan KPC1.

