



UNIVERSITAS INDONESIA

**UJI EFEK HIPOGLIKEMIK EKSTRAK ETANOL 70% BUAH
OYONG (*Luffa acutangula* (L.) Roxb.) TERHADAP MENCIT
YANG DIBEBANI GLUKOSA**

SKRIPSI

**TAN, JENIFER LAURENSIUS
0806315622**

**FAKULTAS MATEMATIKA DAN ILMU PENGETAHUAN ALAM
PROGRAM STUDI FARMASI
DEPOK
JULI 2012**



UNIVERSITAS INDONESIA

**UJI EFEK HIPOGLIKEMIK EKSTRAK ETANOL 70% BUAH
OYONG (*Luffa acutangula* (L.) Roxb.) TERHADAP MENCIT
YANG DIBEBANI GLUKOSA**

SKRIPSI

Diajukan sebagai salah satu syarat untuk memperoleh gelar sarjana farmasi

**TAN, JENIFER LAURENSIUS
0806315622**

**FAKULTAS MATEMATIKA DAN ILMU PENGETAHUAN ALAM
PROGRAM STUDI FARMASI
DEPOK
JULI 2012**

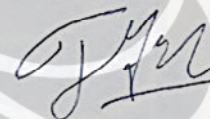
ii

HALAMAN SURAT PERNYATAAN BEBAS PLAGIARISME

Saya yang bertanda tangan di bawah ini dengan sebenarnya menyatakan bahwa skripsi ini saya susun tanpa tindakan plagiarisme sesuai dengan peraturan yang berlaku di Universitas Indonesia.

Jika di kemudian hari ternyata saya melakukan plagiarisme, saya akan bertanggung jawab sepenuhnya dan menerima sanksi yang dijatuhkan oleh Universitas Indonesia kepada saya.

Depok, 2 Juli 2012



Tan, Jenifer Laurensius

HALAMAN PERNYATAAN ORISINALITAS

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

Nama : Tan, Jenifer Laurensius

NPM : 0806315622

Tanda Tangan : 




Tanggal : 2 Juli 2012

HALAMAN PENGESAHAN

Skripsi ini diajukan oleh :
Nama : Tan, Jenifer Laurensius
NPM : 0806315622
Program Studi : Farmasi
Judul Skripsi : Uji Efek Hipoglikemik Ekstrak Etanol 70% Buah
Oyong (*Luffa acutangula* (L.) Roxb.) Terhadap
Mencit yang dibebani Glukosa

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

DEWAN PENGUJI

Pembimbing : Santi Purna Sari S.Si., M.Si ()
Penguji I : Dra. Juheini Amin, M.Si ()
Penguji II : Dr. Berna Elya, M.Si ()

Ditetapkan di : Depok
Tanggal : 6 Juli 2012

KATA PENGANTAR

Puji syukur penulis panjatkan kepada Tuhan Yang Maha Esa karena atas berkat dan rahmat-Nya, penulis dapat menyelesaikan skripsi ini. Penulisan skripsi ini dilakukan dalam rangka memenuhi salah satu syarat untuk mencapai gelar Sarjana Farmasi pada Departemen Farmasi Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Indonesia.

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

1. Ibu Santi Purna Sari S.Si., M.Si., selaku dosen pembimbing yang telah menyediakan waktu, bantuan, tenaga, pikiran, dan kesabarannya untuk mengarahkan penulis dalam penyusunan skripsi ini.
2. Bapak Dr. Arry Yanuar M.Si., selaku Pembimbing Akademik yang telah membantu memberikan bimbingan akademik selama masa pendidikan di Farmasi.
3. Ibu Prof. Dr. Yahdiana Harahap, M.S., selaku Ketua Departemen Farmasi atas bantuannya selama ini.
4. Ibu Dr. Berna Elya, M.Si., selaku Koordinator Pendidikan atas segala bantuan dan saran selama ini.
5. Seluruh staf pengajar dan karyawan Departemen Farmasi FMIPA UI, yang telah membantu sepanjang proses perkuliahan dan penelitian.
6. Teman-teman yang bekerja keras bersama sepanjang semester ini di laboratorium Farmakologi, juga teman-teman angkatan 2008 atas bantuan motivasi dan semangat sepanjang penelitian.
7. Orang tua yang senantiasa memberikan dukungan moril dan finansial selama penelitian dan perkuliahan.
8. Semua pihak yang tidak dapat disebutkan namanya satu per satu atas segala bantuan baik secara langsung maupun tidak langsung kepada penulis selama penulisan dan penyusunan skripsi ini.

Akhir kata, penulis berharap Tuhan Yang Maha Esa berkenan membalas segala kebaikan semua pihak yang telah membantu. Semoga skripsi ini membawa manfaat bagi pengembangan ilmu.

Penulis

2012



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

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

Nama : Tan, Jenifer Laurensius
NPM : 0806315622
Program Studi : Farmasi
Departemen : Farmasi
Fakultas : Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam
Jenis karya : Skripsi

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

Uji Efek Hipoglikemik Ekstrak Etanol 70% Buah Oyong (*Luffa acutangula* (L.) Roxb.) Terhadap Mencit yang dibebani Glukosa


beserta perangkat yang ada (jika diperlukan). Dengan Hak Bebas Royalti Noneksklusif ini Universitas Indonesia berhak menyimpan, mengalih-media/formatkan, mengelola dalam bentuk pangkalan data (database), merawat, dan 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 : 2 Juli 2012

Yang menyatakan



(Tan, Jenifer Laurensius)

ABSTRAK

Nama : Tan, Jenifer Laurensius
Program Studi : Farmasi
Judul : Uji Efek Hipoglikemik Ekstrak Etanol 70% Buah Oyong (*Luffa acutangula* (L.) Roxb.) Terhadap Mencit yang dibebani Glukosa

Luffa acutangula (L.) Roxb. merupakan tumbuhan yang telah diteliti akan potensi aktivitas antidiabetesnya di luar Indonesia dan secara empiris telah digunakan di Indonesia. Tujuan penelitian ini adalah untuk meneliti efek hipoglikemik ekstrak etanol 70% buah oyong terhadap mencit yang dibebani glukosa. Ekstrak etanol buah oyong diskriminasi kandungan fitokimianya dan distandardisasi melalui ciri organoleptik, kadar fenolat total, kadar abu total dan kadar abu tidak larut dalam asam, serta susut pengeringan. Dua puluh lima ekor mencit galur *ddY* dikelompokkan menggunakan rancangan acak sederhana menjadi 5 kelompok, yaitu kontrol induksi glukosa, kontrol metformin (sebagai kontrol pembanding), dan 3 kelompok ekstrak etanol buah oyong (13,35; 26,69; dan 53,38 mg/20 g bb mencit). Setelah dipuasakan selama 16 jam, semua mencit diberikan bahan uji yang sesuai lalu dibebani glukosa monohidrat sebesar 2,2 g/kg bb mencit. Kadar glukosa darah diukur setelah puasa, tiga puluh menit setelah pemberian bahan uji, dan berturut-turut pada menit ke-30, 60, 90, dan 120 setelah pemberian glukosa menggunakan glukometer *AccuChek Advantage II*. Pemberian ekstrak etanol buah oyong dengan dosis 26,69 dan 53,38 mg/20 g bb mencit dapat menurunkan kadar glukosa darah yang bermakna pada menit ke-60 dan 90 setelah pemberian glukosa dengan persentase penurunan kadar glukosa darah sebesar 16-18%.

Kata Kunci : efek hipoglikemik, glukometer, *Luffa acutangula* (L.) Roxb., metformin, oyong.
xv+96 halaman : 18 gambar; 12 tabel; 11 lampiran
Daftar Acuan : 52 (1989-2012)

ABSTRACT

Name : Tan, Jenifer Laurensius
Program Study : Pharmacy
Title : Hypoglycemic Effect of 70% Ethanol Extract of Ridged Gourd Fruit (*Luffa acutangula* (L.) Roxb.) in Glucose Loaded Mice

Luffa acutangula (L.) Roxb. is a plant which has been screened for its antidiabetic potential outside Indonesia and widely used in Indonesia. The aim of this study was to investigate the hypoglycemic effect of 70% ethanol extract of ridged gourd in glucose loaded mice. The extract was screened for its phytochemical constituents and standardized through organoleptic characteristic, total phenolic content, total ash value and acid insoluble ash value, and loss on drying. Using simple randomized design, twenty five *ddY* mice were divided into 5 groups: glucose induced control, metformin control (as a comparison), and 3 ridged gourd fruit extract groups (13,35; 26,69; and 53,38 mg/20 g b.w. mouse). After being fasted for 16 hours, all mice were administered with test samples and loaded with glucose monohydrate (2,2 g/kg b.w. mouse). Blood glucose concentration was measured after fasting, thirty minutes after administration, and subsequently at 30, 60, 90, and 120 minutes after glucose load using glucometer *AccuChek Advantage II*. Administration of the extract at dose level of 26,69 and 53,38 mg/20 g b.w. mouse were able to lower blood glucose concentration significantly at 60 and 90 minutes after glucose load with blood glucose concentration lowering percentage about 16-18%.

Key Words : glucometer, hypoglycemic effect, *Luffa acutangula* (L.) Roxb., metformin, ridged gourd.
xv+96 pages : 18 pictures; 12 tables; 11 appendixes
Bibliography : 52 (1989-2012)

DAFTAR ISI

HALAMAN JUDUL	ii
HALAMAN SURAT PERNYATAAN BEBAS PLAGIARISME	iii
HALAMAN PERNYATAAN ORISINALITAS	iv
HALAMAN PENGESAHAN	v
KATA PENGANTAR	vi
HALAMAN PERNYATAAN PERSETUJUAN PUBLIKASI TUGAS AKHIR UNTUK KEPENTINGAN AKADEMIS	viii
ABSTRAK	ix
ABSTRACT	x
DAFTAR ISI	xi
DAFTAR GAMBAR	xiii
DAFTAR TABEL	xiv
DAFTAR LAMPIRAN	xv
1. PENDAHULUAN	1
1.1 Latar Belakang	1
1.2 Perumusan Masalah dan Ruang Lingkup	2
1.3 Jenis Penelitian dan Metode yang Digunakan	2
1.4 Tujuan Penelitian	3
1.5 Hipotesis	3
2. TINJAUAN PUSTAKA	4
2.1 Oyong (<i>Luffa acutangula</i> (L.) Roxb.)	4
2.2 Teknologi Ekstraksi	6
2.3 Mutu Ekstrak	8
2.4 Standardisasi Bahan Obat Alam	10
2.5 Diabetes Melitus	15
2.6 Model Hewan Uji dalam Pengujian Efek Antidiabetes	19
2.7 Metode Pengukuran Kadar Glukosa Darah	23
3. METODE PENELITIAN	27
3.1 Lokasi Penelitian	27
3.2 Bahan	27
3.3 Peralatan	28
3.4 Cara Kerja	28
4. HASIL DAN PEMBAHASAN	39
4.1 Rendemen Ekstrak Etanol 70% Buah Oyong	39
4.2 Skrining Fitokimia Kualitatif Ekstrak Etanol 70% Buah Oyong	39
4.3 Standardisasi Ekstrak Etanol 70% Buah Oyong	43
4.4 Efek Ekstrak Etanol 70% Buah Oyong pada Kadar Glukosa Darah Mencit	44

5. KESIMPULAN DAN SARAN	51
5.1 Kesimpulan	51
5.2 Saran	51
DAFTAR ACUAN	52



DAFTAR GAMBAR

Gambar 2.1.	Tumbuhan Oyong (<i>Luffa acutangula</i> (L.) Roxb.)	57
Gambar 2.2.	Skema Reaksi yang Terjadi Dalam Strip Uji	25
Gambar 3.1.	Glukometer <i>AccuChek Advantage II</i>	58
Gambar 4.1.	Hasil Identifikasi Alkaloid	58
Gambar 4.2.	Hasil Identifikasi Glikosida	59
Gambar 4.3.	Hasil Identifikasi Antrakuinon	59
Gambar 4.4.	Hasil Identifikasi Saponin Ekstrak dan Pembanding.....	59
Gambar 4.5.	Hasil Identifikasi Fenol	60
Gambar 4.6.	Hasil Identifikasi Tanin	60
Gambar 4.7.	Hasil Identifikasi Flavonoid	61
Gambar 4.8.	Hasil Identifikasi Terpen	61
Gambar 4.9.	Ekstrak Etanol 70% Buah Oyong	62
Gambar 4.10.	Spektrum Serapan Larutan Standar Asam Galat 500,4 mg/L dalam Etanol 70% yang Telah Direaksikan dengan Reagen Folin-Ciocalteu	63
Gambar 4.11.	Kurva Kalibrasi Larutan Standar Asam Galat pada Berbagai Konsentrasi	64
Gambar 4.12.	Grafik Kadar Glukosa Darah Rata-Rata Seluruh Kelompok Uji pada Masing-Masing Waktu	45
Gambar 4.13.	Grafik Kadar Glukosa Darah Rata-Rata Kelompok Oyong Dosis 1, Kontrol Induksi glukosa, dan Kontrol Metformin pada Masing-Masing Waktu	64
Gambar 4.14.	Grafik Kadar Glukosa Darah Rata-Rata Kelompok Oyong Dosis 2, Kontrol Induksi glukosa, dan Kontrol Metformin pada Masing-Masing Waktu	65
Gambar 4.15.	Grafik Kadar Glukosa Darah Rata-Rata Kelompok Oyong Dosis 3, Kontrol Induksi glukosa, dan Kontrol Metformin pada Masing-Masing Waktu	65

DAFTAR TABEL

Tabel 3.1.	Berat Badan Mencit Selama Masa Aklimatisasi	66
Tabel 3.2.	Pembagian Kelompok Hewan Uji	36
Tabel 3.3.	Perlakuan Tiap Waktu Seluruh Kelompok Hewan Uji	37
Tabel 4.1.	Hasil Skrining Fitokimia Kualitatif Ekstrak Etanol 70% Buah Oyong.....	39
Tabel 4.2.	Serapan Larutan Asam Galat pada Berbagai Konsentrasi dalam Etanol 70% Setelah Direaksikan dengan Reagen Folin-Ciocalteu	67
Tabel 4.3.	Penetapan Kadar Fenolat Total dalam Sampel Menggunakan Spektrofotometer UV-Vis pada Panjang Gelombang 740 nm	67
Tabel 4.4.	Penetapan Susut Pengerinan Sampel	67
Tabel 4.5.	Penetapan Kadar Abu Total dalam Sampel	68
Tabel 4.6.	Penetapan Kadar Abu Tidak Larut Asam dalam Sampel	68
Tabel 4.7.	Kadar Glukosa Darah Mencit dari Seluruh Kelompok Uji pada Masing-Masing Waktu	68
Tabel 4.8.	Kadar Glukosa Darah Rata-Rata Mencit dari Seluruh Kelompok Uji pada Masing-Masing Waktu	44
Tabel 4.9.	Hasil Perhitungan Persentase Penurunan Kadar Glukosa Darah	49

DAFTAR LAMPIRAN

Lampiran 1.	Hasil Determinasi Tumbuhan Oyong	70
Lampiran 2.	Sertifikat Analisis Glukosa Monohidrat	71
Lampiran 3.	Sertifikat Analisis Metformin HCl	72
Lampiran 4.	Pembuatan Sediaan Uji	73
Lampiran 5.	Perhitungan Kadar Fenolat Total	74
Lampiran 6.	Uji Statistik terhadap Kadar Glukosa Darah Seluruh Kelompok Uji Sebelum Perlakuan (T_0)	75
Lampiran 7.	Uji Statistik terhadap Kadar Glukosa Darah Seluruh Kelompok Uji 30 menit Setelah Perlakuan (T_{30})	77
Lampiran 8.	Uji Statistik terhadap Kadar Glukosa Darah Seluruh Kelompok Uji 30 menit Setelah Pemberian Glukosa (T_{g30}) ...	81
Lampiran 9.	Uji Statistik terhadap Kadar Glukosa Darah Seluruh Kelompok Uji 60 menit Setelah Pemberian Glukosa (T_{g60}) ...	85
Lampiran 10.	Uji Statistik terhadap Kadar Glukosa Darah Seluruh Kelompok Uji 90 menit Setelah Pemberian Glukosa (T_{g90}) ...	89
Lampiran 11.	Uji Statistik terhadap Kadar Glukosa Darah Seluruh Kelompok Uji 120 menit Setelah Pemberian Glukosa (T_{g120})	93

BAB 1

PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

Diabetes melitus merupakan suatu penyakit kronis dengan ciri utama hiperglikemia. Tipe diabetes melitus yang paling umum terjadi adalah diabetes melitus tipe 2 dengan angka kejadian 85% dari semua pasien diabetes (Susanto, Nesse, Dijkstra, Agustina, Vissink, dan Abbas, 2010). Menurut World Health Organization (2011), sekurang-kurangnya 171 juta orang di dunia menderita diabetes melitus pada tahun 2000. Angka ini tampaknya akan meningkat minimal sebanyak dua kali lipatnya pada tahun 2030 dengan jumlah kematian sekitar 3,2 juta setiap tahunnya yang disebabkan oleh komplikasi akibat menderita diabetes melitus. Di dunia, Indonesia menduduki peringkat keempat dalam hal negara dengan jumlah penderita diabetes melitus terbanyak di dunia. Secara epidemiologi, diperkirakan bahwa pada tahun 2030 prevalensi diabetes melitus di Indonesia mencapai 21,3 juta orang (Wild, Roglic, Green, Sicree, dan King, 2004). Tingginya prevalensi diabetes melitus di Indonesia ini mendorong untuk dilakukannya usaha-usaha penelitian untuk mengembangkan terapi yang sudah ada ataupun menemukan agen terapi baru yang lebih unggul baik dari segi efektivitas, maupun dari segi ekonomi serta lebih aman.

WHO merekomendasikan penggunaan obat herbal dalam pencegahan dan pengobatan penyakit, terutama penyakit kronis (Sari, 2006). Di Indonesia, penggunaan obat herbal untuk mengatasi masalah kesehatan bukanlah hal yang baru. Salah satu aplikasi obat herbal yang seringkali digunakan masyarakat adalah sebagai agen hipoglikemik atau antidiabetes. Berbagai tumbuhan telah ditemukan memiliki aktivitas antidiabetes, termasuk diantaranya adalah oyong (*Luffa acutangula* (L.) Roxb.). Tumbuhan oyong sangat dikenal akan buahnya yang berharga sangat ekonomis dan mudah ditemukan di Indonesia. Secara empiris, buah oyong diketahui memiliki berbagai efek terapi dan salah satunya adalah dapat menurunkan kadar glukosa darah (Azza, 2011). Secara umum, kandungan kimia dari oyong adalah karbohidrat, karoten, lemak, protein, berbagai asam amino, flavonoid, dan saponin (Jyothi, Ambathi, dan Jyothi, 2010).

Penelitian terhadap oyong telah cukup banyak dilakukan di luar Indonesia dan menyatakan benar bahwa tumbuhan ini memiliki aktivitas antidiabetes, yaitu pada daun (Quanico, Amor, dan Perez, 2008) dan buah (Priyanka S. Patil, Patel, dan Bhavsar, 2010; Pimple, Kadam, dan M.J. Patil, 2011). Dosis ekstrak etanol buah oyong sebesar 200 mg/kg bb tikus ditemukan memiliki aktivitas antidiabetes yang signifikan pada model hewan uji yang diinduksi diabetes dengan aloksan. Aktivitas antidiabetes yang signifikan mulai terjadi pada jam keempat sejak tikus diinduksi diabetes (Priyanka S. Patil, Patel, dan Bhavsar, 2010).

Sekalipun berbagai bagian dari tumbuhan oyong telah diteliti di luar Indonesia, tidak berarti aktivitas yang telah ditemukan pasti akan sama pada berbagai bagian dari tumbuhan oyong yang ada di Indonesia. Hal ini disebabkan oleh dipengaruhinya mutu ekstrak tumbuhan oleh berbagai faktor seperti lingkungan tempat tumbuh, penambahan bahan pendukung pertumbuhan, waktu panen, penanganan pasca panen, teknologi ekstraksi, dan teknologi pengentalan ekstrak (Saifudin, Rahayu, dan Teruna, 2011). Penelitian terhadap tumbuhan oyong yang telah dilakukan di Indonesia masih terbatas pada daging bijinya. Menurut penelitian tersebut, ditemukan bahwa ekstrak etanol dari daging biji oyong memiliki efek menurunkan kadar glukosa darah pada hewan uji (Adnyana, Sigit, Samuels, dan Srani, 2007). Penemuan ini mendorong peneliti untuk menguji apakah efek yang sama juga ditemukan pada buah oyong seperti yang telah ditemukan oleh para peneliti di luar Indonesia (Priyanka S. Patil, Patel, dan Bhavsar, 2010; Pimple, Kadam, dan M.J. Patil, 2011).

1.2 Perumusan Masalah dan Ruang Lingkup

Masalah yang diangkat dalam penelitian adalah apakah ekstrak etanol 70% buah oyong dapat menurunkan kadar glukosa darah. Ruang lingkup penelitian ini adalah Fitokimia-Farmakologi Eksperimental.

1.3 Jenis Penelitian dan Metode yang Digunakan

Jenis penelitian yang dilakukan adalah penelitian eksperimental. Metode yang digunakan dalam penelitian ini adalah skrining fitokimia secara kualitatif dan penetapan kadar fenolat total secara spektrofotometri serta tes toleransi

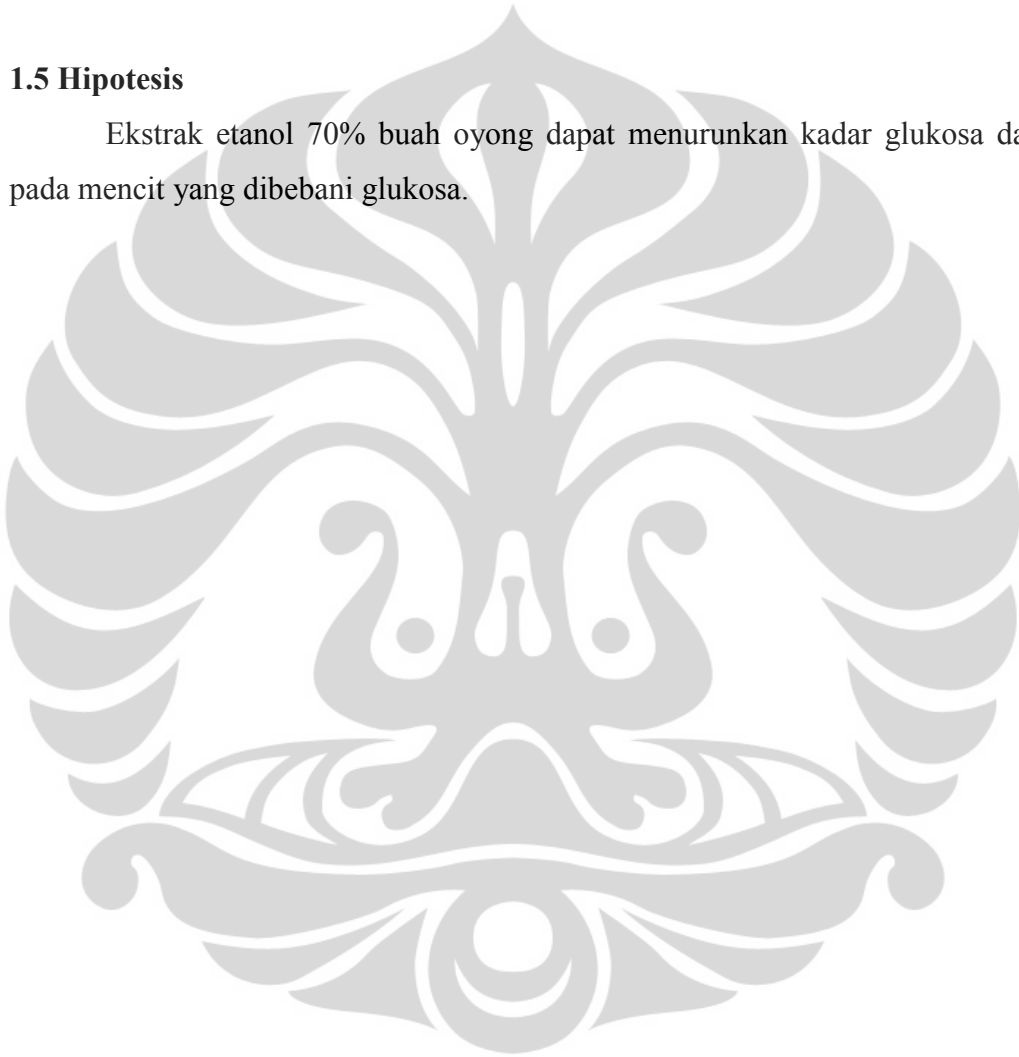
glukosa oral dengan pengukuran kadar glukosa darah secara enzimatik menggunakan glukometer.

1.4 Tujuan Penelitian

Penelitian ini bertujuan untuk meneliti efek hipoglikemik ekstrak etanol 70% buah oyong terhadap mencit yang dibebani glukosa.

1.5 Hipotesis

Ekstrak etanol 70% buah oyong dapat menurunkan kadar glukosa darah pada mencit yang dibebani glukosa.



BAB 2 TINJAUAN PUSTAKA

2.1 Oyong (*Luffa acutangula* (L.) Roxb.)

2.1.1 Klasifikasi (Kartesz, 2000)

Klasifikasi tumbuhan oyong adalah sebagai berikut.

Dunia	: Plantae
Subdunia	: Tracheobionta
Superdivisi	: Spermatophyta
Divisi	: Magnoliophyta
Kelas	: Magnoliopsida
Subkelas	: Dilleniidae
Bangsa	: Violales
Suku	: Cucurbitaceae
Marga	: <i>Luffa</i> Mill.
Jenis	: <i>Luffa acutangula</i> (L.) Roxb.

2.1.2 Nama Daerah dan Nama Asing (Departemen Kesehatan Republik Indonesia, 1989; Soladoye dan Adebisi, 2004)

Oyong dikenal juga dengan nama jingi (Melayu) atau timput (Palembang) di Sumatra serta dengan nama emes atau kimput (Sunda) atau kacur di Jawa. Berbeda dengan masyarakat di pulau Jawa dan Sumatra, masyarakat di pulau Maluku mengenal oyong dengan nama petola atau benggala. Dalam bahasa Inggris, oyong disebut dengan *ridged gourd* atau *angled loofah* atau *chinese okra*.

2.1.3 Morfologi (Soladoye dan Adebisi, 2004; Kalaskar dan Surana, 2010)

Tumbuhan oyong adalah tumbuhan memanjat dengan batang bersisi lima yang berbulu dan bersulur. Daunnya berbentuk orbikular dengan warna hijau pucat, memiliki ukuran 10-25 cm, dan bersudut lima hingga tujuh. Bunganya berwarna kuning pucat, bersifat uniseksual, dan berdiameter 5-9 cm dengan dasar bunga berbentuk seperti kerucut terbalik (*receptacle tube obconic*) yang semakin ke atas semakin terbuka dengan panjang 0,5 cm serta berlobus triangular

sepanjang 1-1,5 cm. Buah oyong memiliki bentuk seperti tongkat pemukul (*club-shaped*) dengan ukuran panjang 15-50 cm dan lebar 5-10 cm serta memiliki biji yang banyak di dalamnya. Ciri khas dari buah oyong adalah buah ini memiliki 10 garis longitudinal pada permukaannya, bermula dari dasar hingga ke puncak dari buah. Apabila sudah masak, buah oyong akan berwarna hijau tua hingga hijau kekuningan. Biji oyong umumnya berbentuk elips dengan panjang mencapai 1,5 cm dan berwarna hitam. Foto tumbuhan oyong dapat dilihat pada Gambar 2.1.

2.1.4 Kandungan Kimia (Jyothi, Ambathi, dan Jyothi, 2010)

Kandungan kimia umumnya dari oyong adalah karbohidrat, karoten, lemak, protein, berbagai asam amino, flavonoid, dan saponin. Buah oyong mengandung senyawa pahit yang disebut luffein. Bijinya mengandung minyak yang merupakan suatu gliserida dari asam palmitat, asam stearat, dan asam miristat. Suatu ribosom penginaktivasi peptida (*ribosome inactivating peptide*) dengan sekuens N-terminal yang disebut luffangulin berhasil diisolasi dari biji oyong, namun senyawa ini memiliki aktivitas inhibitor HIV-1 *reverse transcriptase* yang kurang signifikan. Senyawa pahit, kukurbitasin B, sebuah saponin asam, dan asam oleanolat juga telah berhasil diisolasi dari biji oyong.

2.1.5 Khasiat dan Kegunaan

Saat ini, oyong tidak hanya dikenal sebagai salah satu sayuran yang dijadikan bahan masakan oleh masyarakat Indonesia, tetapi juga dikenal sebagai tumbuhan obat yang memiliki berbagai khasiat yang diturunkan dari para leluhur. Bagian tumbuhan oyong yang seringkali dimanfaatkan masyarakat adalah daun, buah, dan bijinya. Daun oyong dimanfaatkan untuk menyembuhkan uremia dan amenorea. Buah oyong dimanfaatkan sebagai obat diabetes (Azza, 2011), radang usus, radang tenggorokan, radang kelenjar telinga, dan asma, serta melancarkan peredaran darah dan menambah volume air susu ibu. Biji oyong juga seringkali dimanfaatkan untuk menurunkan kadar glukosa darah dengan cara mengonsumsi 2 biji oyong setiap hari (Republika Newsroom, 2009).

Beberapa penelitian terkait dengan tumbuhan oyong telah dilakukan di Indonesia. Penelitian-penelitian tersebut menguji efek spermatisida dari biji oyong

(Purwaningsih dan Susmiarsih, 1998) dan buah oyong (Purwaningsih, 2000), efek penurunan kadar glukosa darah dari daging biji oyong (Adnyana, Sigit, Samuels, dan Srani, 2007), dan efek hepatoprotektif dari biji oyong (Adnyana, Rachmawati, dan Tadjudin, 2008). Hasil penelitian mengenai efek spermatisida dari biji dan buah oyong menunjukkan bahwa biji dan buah oyong benar memiliki efek spermatisida yang signifikan (dilihat dari penurunan motilitas dan viabilitas spermatozoa secara *in vitro*). Hasil penelitian mengenai efek hipoglikemik dan efek hepatoprotektif dari biji oyong juga menunjukkan bahwa biji oyong benar memiliki kedua efek ini secara signifikan.

2.2 Teknologi Ekstraksi (Departemen Kesehatan Republik Indonesia, 2000)

Ekstraksi adalah kegiatan penarikan kandungan kimia tertentu dengan pelarut yang sesuai sehingga terpisah dari bahan yang tidak dapat larut dalam pelarut tersebut. Tahap awal pembuatan ekstrak adalah pembuatan serbuk simplisia kering. Apabila telah diperoleh serbuk simplisia kering, maka selanjutnya dilakukan pemilihan pelarut yang sesuai. Beberapa faktor utama yang menjadi pertimbangan dalam pemilihan pelarut adalah selektivitas pelarut, kemudahan bekerja dengan pelarut, harga pelarut, pengaruh terhadap lingkungan, dan keamanan. Selain faktor-faktor tersebut, pemilihan pelarut juga harus mengikuti peraturan pemerintah yang menyatakan bahwa pelarut yang diperbolehkan adalah air dan etanol serta campurannya. Penggunaan campuran etanol-air lebih dipilih karena memiliki toksisitas yang lebih rendah dibandingkan dengan etanol absolut serta ekstrak yang dihasilkan lebih stabil dibandingkan dengan ekstrak air. Jenis pelarut lain seperti metanol, kloroform, heksana, aseton, dan toluen umumnya digunakan sebagai pelarut untuk tahap separasi dan tahap pemurnian (fraksinasi).

Ketika serbuk simplisia kering dan pelarut sudah disiapkan, maka ekstraksi dapat dilakukan. Setelah ekstraksi selesai dilakukan, pada beberapa penelitian dilanjutkan dengan proses separasi dan pemurnian untuk memisahkan senyawa yang tidak dikehendaki semaksimal mungkin tanpa mempengaruhi senyawa yang dikehendaki. Apabila telah diperoleh ekstrak yang dikehendaki, selanjutnya dilakukan pemekatan atau pengeringan ekstrak sehingga diperoleh

ekstrak kental atau ekstrak kering. Hasil penimbangan berat ekstrak ini dapat digunakan untuk menghitung rendemen ekstrak. Berikut ini akan dibahas beberapa metode ekstraksi yang menggunakan pelarut.

2.2.1 Cara Dingin

2.2.1.1 Maserasi

Maserasi adalah ekstraksi simplisia dengan cara mengocok atau mengaduk simplisia dengan pelarut selama beberapa kali pada suhu ruangan (kamar). Metode ini didasarkan pada prinsip pencapaian konsentrasi pada keseimbangan. Maserasi kinetik berarti dilakukan pengadukan yang kontinu, sedangkan remaserasi berarti dilakukan pengulangan penambahan pelarut setelah dilakukan penyaringan maserat pertama dan seterusnya.

2.2.1.2 Perkolasi

Perkolasi adalah ekstraksi dengan pelarut yang selalu baru hingga sempurna yang dilakukan pada suhu ruangan. Tahap-tahap dalam perkolasi adalah tahap pengembangan bahan, tahap maserasi antara, dan tahap perkolasi sesungguhnya (penetesan dan penampungan ekstrak) secara terus-menerus hingga diperoleh perkolat dengan jumlah 1-5 kali bahan.

2.2.2 Cara Panas

2.2.2.1 Refluks

Refluks adalah ekstraksi dengan pelarut pada titik didihnya selama waktu tertentu dengan jumlah pelarut yang terbatas dan relatif konstan selama ekstraksi dilakukan; ekstraksi dilakukan dengan adanya pendingin balik. Pada ekstraksi cara refluks umumnya dilakukan pengulangan proses pada residu pertama hingga 3-5 kali sehingga cara ekstraksi ini termasuk dalam proses ekstraksi sempurna.

2.2.2.2 Soxhlet

Soxhlet adalah ekstraksi menggunakan pelarut yang selalu baru dengan alat khusus sehingga terjadi ekstraksi kontinu dengan jumlah pelarut yang relatif konstan dengan adanya pendingin balik.

2.2.2.3 Digesti

Digesti adalah maserasi kinetik (dengan pengadukan kontinu) pada suhu yang lebih tinggi dari suhu ruangan (kamar), yaitu secara umum dilakukan pada suhu 40-50°C.

2.2.2.4 Infus

Infus adalah ekstraksi dengan pelarut air pada suhu penangas air. Bejana infus dicelupkan ke dalam penangas air mendidih bersuhu 96-98°C yang dijaga konstan selama waktu tertentu (15-20 menit).

2.2.2.5 Dekok

Dekok adalah infus dengan waktu yang lebih lama (umumnya lebih dari 30 menit) dan suhu mencapai titik didih air.

2.3 Mutu Ekstrak (Departemen Kesehatan Republik Indonesia, 2000; Saifudin, Rahayu, dan Teruna, 2011)

2.3.1 Faktor Biologi

Mutu ekstrak dipengaruhi oleh bahan asal, yaitu tumbuhan obat, dipandang dari segi biologi. Faktor biologi yang dapat mempengaruhi mutu ekstrak adalah sebagai berikut.

2.3.1.1 Identitas Spesies

Spesies tumbuhan dari sudut pandang keragaman hayati dapat dikonfirmasi hingga informasi genetik sebagai faktor interval untuk validasi spesies. Validasi spesies tumbuhan perlu dilakukan karena adanya kemungkinan beberapa tumbuhan obat yang memiliki ciri morfologi yang hampir sama, namun sesungguhnya berbeda spesies.

2.3.1.2 Lokasi Tumbuhan Asal

Lokasi berarti faktor eksternal, yaitu lingkungan (tanah dan atmosfer) dimana tumbuhan berinteraksi, berupa energi (cuaca, suhu, cahaya) dan materi (air, senyawa organik, dan senyawa anorganik).

2.3.1.3 Periode Pemanenan Hasil Tumbuhan

Faktor ini merupakan dimensi waktu dari proses kehidupan tumbuhan, terutama metabolisme, sehingga menentukan kandungan kimia tumbuhan. Waktu panen yang tepat adalah saat senyawa tujuan mencapai kadar optimal dari proses biosintesis atau sebelum senyawa tersebut dibiotransformasi menjadi senyawa lain.

2.3.1.4 Penyimpanan Bahan Tumbuhan

Faktor ini termasuk dalam faktor eksternal yang dapat diatur karena dapat mempengaruhi stabilitas bahan serta dapat mengakibatkan terjadinya kontaminasi (biotik dan abiotik).

2.3.1.5 Umur Tumbuhan dan Bagian yang Digunakan

Umur tumbuhan berkaitan erat dengan waktu panen hasil tumbuhan, yaitu panen dilakukan saat tumbuhan berumur tertentu ketika telah dihasilkan senyawa tujuan dengan kadar yang optimal. Hal penting yang perlu diketahui adalah setiap bagian dari suatu tumbuhan obat akan memiliki kandungan kimia yang berbeda. Hal ini disebabkan oleh perbedaan proses biosintesis yang terjadi di setiap bagian tumbuhan.

2.3.2 Faktor Kimia

Mutu ekstrak dipengaruhi oleh bahan asal, yaitu tumbuhan obatnya, dipandang dari segi kandungan kimianya. Faktor kimia yang mempengaruhi mutu ekstrak terbagi menjadi 2, yaitu faktor internal dan faktor eksternal.

2.3.2.1 Faktor Internal

Faktor internal adalah faktor kimia yang mempengaruhi mutu ekstrak terkait dengan kandungan kimia suatu bahan (tumbuhan obat) yang diekstraksi. Faktor internal meliputi jenis senyawa aktif, komposisi kualitatif senyawa aktif, komposisi kuantitatif senyawa aktif, dan kadar total rata-rata senyawa aktif dalam bahan.

2.3.2.2 Faktor Eksternal

Faktor eksternal adalah faktor kimia yang mempengaruhi mutu ekstrak terkait dengan usaha atau pengaruh eksternal terhadap bahan (tumbuhan obat) sehingga dapat dihasilkan ekstrak dengan kandungan kimia yang beragam. Faktor eksternal meliputi metode ekstraksi yang dipilih, perbandingan ukuran alat ekstraksi, sifat bahan, pelarut yang dipilih dalam ekstraksi, metode pengentalan atau pengeringan ekstrak yang dipilih, kandungan logam berat dalam bahan, dan kandungan pestisida dalam bahan.

2.4 Standardisasi Bahan Obat Alam (Departemen Kesehatan Republik Indonesia, 2000)

Obat tradisional atau jamu telah diakui keberadaannya baik di Indonesia, maupun di negara-negara lainnya sejak zaman dahulu. Di Indonesia, tumbuhan obat atau obat bahan alam digunakan untuk meningkatkan kesehatan (promotif), memulihkan kesehatan (rehabilitatif), pencegahan penyakit (preventif), dan penyembuhan (kuratif). Sekalipun keberadaan obat bahan alam belum dapat disetarakan dengan pelayanan pengobatan konvensional, harus disadari bahwa tidak semua masalah kesehatan dapat diatasi dengan pelayanan pengobatan konvensional (Badan Pengawas Obat dan Makanan Republik Indonesia, 2005). Mengingat pentingnya keberadaan obat bahan alam dalam bidang kesehatan ini, maka perlu dilakukan upaya penetapan standar mutu dan keamanan ekstrak tumbuhan obat.

Standardisasi obat bahan alam atau standardisasi obat herbal adalah rangkaian proses yang melibatkan berbagai metode analisis kimiawi berdasarkan data farmakologis dan analisis fisik serta mikrobiologi berdasarkan kriteria umum keamanan (toksikologi) terhadap suatu ekstrak tumbuhan obat. Tujuan dilakukannya standardisasi adalah untuk memberikan efikasi terukur secara farmakologis dan menjamin keamanan konsumen (Saifudin, Rahayu, dan Teruna, 2011). Standardisasi obat bahan alam meliputi parameter spesifik dan uji kandungan kimia ekstrak serta parameter nonspesifik. Parameter spesifik dan uji kandungan kimia ekstrak berkaitan dengan senyawa asli dari tumbuhan asal atau senyawa yang merupakan hasil perubahan dari senyawa asli yang dapat

mempengaruhi aktivitas farmakologis suatu ekstrak. Berbeda dengan parameter spesifik, parameter nonspesifik berkaitan dengan senyawa kontaminasi atau senyawa hasil interaksi kontaminasi dengan senyawa asli yang berpengaruh terhadap keamanan konsumen dan stabilitas.

2.4.1 Parameter Spesifik

2.4.1.1 Identitas

Parameter identitas mendeskripsikan nama ekstrak, nama latin tumbuhan, bagian tumbuhan yang digunakan, dan nama Indonesia tumbuhan serta senyawa identitas yang terkandung dalam ekstrak. Parameter identitas bertujuan memberikan identitas objektif dari nama dan senyawa identitas.

2.4.1.2 Organoleptik

Parameter organoleptik meliputi penggunaan pancaindra dalam mendeskripsikan bentuk, warna, bau, dan rasa dari ekstrak.

2.4.1.3 Senyawa Terlarut dalam Pelarut Tertentu

Prinsip dari parameter senyawa terlarut dalam pelarut tertentu adalah melarutkan ekstrak dengan pelarut tertentu untuk ditentukan jumlah solut yang identik dengan jumlah senyawa kandungan secara gravimetri. Parameter ini bertujuan untuk memberikan gambaran awal jumlah senyawa kandungan.

2.4.2 Metode Uji Kandungan Kimia Ekstrak

Pengujian kandungan kimia ekstrak merupakan penentuan kandungan kimia yang bertanggung jawab langsung terhadap aktivitas farmakologis tertentu secara kualitatif (penentuan kandungan kimia) dan secara kuantitatif (penentuan kadar senyawa kimia). Sesungguhnya, inti utama tujuan standardisasi ekstrak adalah penentuan kadar senyawa yang bertanggung jawab terhadap aktivitas farmakologi tumbuhan obat. Idealnya, senyawa marker adalah senyawa yang bertanggung jawab terhadap aktivitas farmakologi tumbuhan obat, namun kenyataannya tidak semua tumbuhan obat telah diketahui senyawa aktifnya. Oleh karena itu, dibuat beberapa kriteria lain mengenai senyawa marker, yaitu suatu

senyawa dapat disebut sebagai senyawa identitas bila memiliki salah satu kriteria di bawah ini (Saifudin, Rahayu, dan Teruna, 2011):

- a. Senyawa aktif, yaitu senyawa yang bertanggung jawab langsung terhadap aktivitas farmakologi tumbuhan obat.
- b. Senyawa utama, yaitu senyawa yang keberadaannya secara kuantitatif terbesar di dalam suatu tumbuhan obat meskipun belum pasti bertanggung jawab langsung terhadap aktivitas farmakologi tumbuhan obat.
- c. Senyawa identitas, yaitu senyawa yang khas, unik, dan eksklusif untuk suatu tumbuhan obat.
- d. Senyawa aktual, yaitu senyawa apapun asalkan terdapat di dalam tumbuhan obat yang dianalisis.

Selain menentukan kadar senyawa marker, pada pengujian kandungan kimia ekstrak juga ditentukan pola kromatogram sebelumnya dan kadar total golongan kandungan kimia.

2.4.2.1 Pola Kromatogram

Tujuan dari parameter pola kromatogram adalah untuk memberikan gambaran awal komposisi kandungan kimia berdasarkan pola kromatogram. Apabila telah diperoleh gambaran awal komposisi kandungan kimia ekstrak, maka standardisasi dilanjutkan dengan analisis kuantitatif lebih lanjut, yaitu penetapan kadar total golongan kandungan kimia atau penetapan kadar kandungan kimia tertentu.

2.4.2.2 Kadar Total Golongan Kandungan Kimia

Tujuan dari parameter kadar total golongan kandungan kimia adalah untuk memberikan informasi kadar golongan kandungan kimia sebagai parameter mutu ekstrak dalam kaitannya dengan efek farmakologis. Metode yang dipilih harus sudah teruji validitasnya, terutama selektivitas dan batas linieritas.

2.4.2.3 Kadar Kandungan Kimia Tertentu

Tujuan dari parameter kadar kandungan kimia tertentu adalah untuk memberikan data kadar kandungan kimia tertentu sebagai senyawa marker.

Instrumen yang dapat digunakan adalah densitometer, kromatografi gas, kromatografi cair kinerja tinggi, atau instrumen lain yang sesuai. Metode penetapan kadar harus diuji terlebih dahulu mengenai validitasnya, yaitu batas deteksi, selektivitas, linearitas, ketelitian, ketepatan, dan lain-lain.

2.4.3 Parameter Nonspesifik

2.4.3.1 Susut Pengerinan dan Bobot Jenis

Parameter susut pengerinan bertujuan untuk memberikan batasan maksimal tentang besarnya senyawa yang hilang pada proses pengerinan. Parameter bobot jenis bertujuan untuk memberikan batasan tentang besarnya massa per satuan volume yang merupakan parameter khusus ekstrak cair hingga ekstrak kental yang masih dapat dituang. Parameter susut pengerinan diperoleh dengan mengukur sisa zat setelah pengerinan pada suhu 105°C selama 30 menit atau hingga berat konstan. Parameter bobot jenis diperoleh dengan mengukur massa per satuan volume pada suhu ruangan dengan menggunakan piknometer atau alat lainnya.

2.4.3.2 Kadar Air

Pengukuran kandungan air yang berada di dalam ekstrak dapat dilakukan dengan cara titrasi, destilasi, atau gravimetri. Parameter kadar air bertujuan untuk memberikan batasan minimal atau rentang tentang besarnya kandungan air di dalam ekstrak.

2.4.3.3 Kadar Abu

Parameter kadar abu bertujuan untuk memberikan gambaran kandungan mineral internal dan eksternal yang berasal dari proses awal hingga terbentuknya ekstrak. Penetapan kadar abu dilakukan dengan memanaskan bahan pada suhu saat senyawa organik dan turunannya terdestruksi dan menguap sehingga tersisa unsur mineral dan anorganik.

2.4.3.4 Sisa Pelarut

Parameter sisa pelarut bertujuan untuk memberikan jaminan bahwa selama proses tidak meninggalkan sisa pelarut yang memang seharusnya tidak boleh ada. Pada ekstrak cair, parameter ini bertujuan untuk menunjukkan bahwa jumlah pelarut sesuai dengan yang ditetapkan.

2.4.3.5 Residu Pestisida

Parameter residu pestisida diperoleh dengan cara menentukan kandungan sisa pestisida yang mungkin saja pernah ditambahkan atau mengontaminasi bahan untuk pembuatan ekstrak. Parameter ini bertujuan untuk memberikan jaminan bahwa ekstrak tidak mengandung pestisida melebihi nilai yang ditetapkan karena dapat membahayakan kesehatan.

2.4.3.6 Cemaran Logam Berat

Parameter cemaran logam berat diperoleh dengan cara menentukan kandungan logam berat secara spektroskopi serapan atom atau lainnya yang lebih valid. Parameter ini bertujuan memberikan jaminan bahwa ekstrak tidak mengandung logam berat tertentu, seperti Hg, Pb, Cd, dan lain-lain, melebihi nilai yang ditetapkan karena dapat membahayakan kesehatan.

2.4.3.7 Cemaran Mikroba, Kapang, Khamir, dan Aflatoksin

Parameter cemaran mikroba, kapang, khamir, dan aflatoksin diperoleh dengan cara menentukan atau mengidentifikasi adanya mikroba yang patogen dan jamur secara analisis mikrobiologis serta adanya aflatoksin dengan KLT. Parameter ini bertujuan untuk memberikan jaminan bahwa ekstrak tidak boleh mengandung mikroba patogen dan tidak mengandung mikroba nonpatogen serta jamur melebihi batas yang ditetapkan karena dapat berpengaruh pada stabilitas ekstrak dan dapat membahayakan kesehatan.

2.5 Diabetes Melitus

2.5.1 Definisi (Price dan Wilson, 2002)

Diabetes melitus adalah gangguan metabolisme yang secara genetis dan klinis termasuk heterogen dengan manifestasi berupa hilangnya toleransi karbohidrat. Diabetes melitus ditandai dengan hiperglikemia pada kadar glukosa darah puasa dan kadar glukosa darah postprandial. Pada kondisi yang telah berat, hiperglikemia yang terjadi dapat disertai dengan aterosklerosis, kelainan vaskular mikroangiopati, dan neuropati. Pasien dengan kelainan toleransi glukosa ringan dapat tetap berisiko mengalami komplikasi metabolik diabetes.

2.5.2 Diagnosis (American Diabetes Association, 2011; Price dan Wilson, 2002; Goldstein et al., 2004)

Diagnosis diabetes melitus dapat ditegakkan berdasarkan penemuan gejala-gejala klasik diabetes dan hiperglikemia yang ditunjukkan dengan pengukuran kadar glukosa darah sewaktu ≥ 200 mg/dL. Diagnosis diabetes melitus juga dapat dilakukan berdasarkan pengukuran kadar glukosa darah puasa dan tes toleransi glukosa oral. Kadar glukosa darah puasa ≥ 126 mg/dL menunjukkan hasil positif diabetes melitus. Pada tes toleransi glukosa oral, kadar glukosa darah ≥ 200 mg/dL setelah 2 jam dan minimal satu kali antara 0 hingga 2 jam setelah pasien mengonsumsi 75 g glukosa menunjukkan hasil positif diabetes melitus. Pada tahun 2009, IDF (*The International Diabetes Federation*) merekomendasikan tes HbA1c untuk menegakkan diagnosis diabetes melitus dengan ketetapan nilai HbA1c $\geq 6,5\%$ menunjukkan hasil positif diabetes melitus. Tes lain yang dapat dilakukan untuk mengetahui kadar glukosa darah dan untuk diagnosis DM adalah tes keton urin dan tes glukosa urin.

2.5.3 Klasifikasi (Price dan Wilson, 2002)

Gangguan toleransi glukosa diklasifikasikan menjadi 4 macam, yaitu diabetes melitus tipe 1, diabetes melitus tipe 2, diabetes gestasional, dan diabetes tipe khusus lainnya. Dua kategori lain dari toleransi glukosa abnormal adalah gangguan toleransi glukosa dan gangguan kadar glukosa darah puasa. Kedua kategori ini belum dapat disebut sebagai keadaan diabetes melitus, namun pasien-

pasien yang termasuk dua kategori ini memiliki risiko terhadap diabetes melitus yang lebih tinggi daripada masyarakat umum.

2.5.3.1 Diabetes Melitus Tipe 1

Diabetes melitus tipe 1 adalah penyakit autoimun yang ditentukan secara genetik dengan gejala-gejala yang pada akhirnya menuju proses bertahap merusak imunologik sel-sel yang memproduksi insulin. Diabetes melitus tipe 1 sebelumnya dikenal sebagai tipe *juvenile onset* dan merupakan diabetes tipe dependen insulin yang dapat muncul pada semua tingkat usia dengan insiden yang terjadi sebanyak 30.000 kasus baru setiap tahunnya. Diabetes melitus tipe 1 dapat dibagi dalam 2 subtipe, yaitu autoimun (akibat disfungsi autoimun dengan kerusakan sel-sel beta pankreas) dan idiopatik (tanpa bukti adanya autoimun dan tidak diketahui sumbernya). Pada tingkat yang lebih berat, sel-sel beta pankreas telah dirusak semuanya sehingga terjadi insulinopenia dan semua kelainan metabolik yang berkaitan dengan defisiensi insulin.

2.5.3.2 Diabetes Melitus Tipe 2

Diabetes Melitus tipe 2 sebelumnya dikenal sebagai diabetes melitus tipe dewasa atau tipe onset maturitas. Berbeda dengan diabetes melitus tipe 1, diabetes melitus tipe 2 merupakan diabetes melitus tipe nondependen insulin dengan insiden yang terjadi sebesar 650.000 kasus baru setiap tahunnya. Sekitar 80% pasien dengan diabetes melitus tipe 2 mengalami obesitas sehingga obesitas seringkali dikaitkan dengan penyakit ini.

2.5.3.3 Diabetes Gestasional

Diabetes gestasional mempengaruhi 4% dari semua kehamilan. Faktor risiko terjadinya diabetes gestasional adalah usia tua, etnik, obesitas, riwayat keluarga, multiparitas, dan riwayat diabetes gestasional terdahulu. Oleh karena terjadi peningkatan sekresi berbagai hormon yang dapat mempengaruhi toleransi glukosa, maka kehamilan adalah suatu keadaan diabetogenik. Wanita hamil harus menjalani diagnosis untuk diabetes selama usia kehamilan 24-28 minggu.

2.5.3.4 Diabetes Tipe Khusus Lain

Diabetes melitus dapat disebabkan oleh faktor-faktor lain, seperti kelainan genetik dalam sel beta pankreas, kelainan genetik pada kerja insulin yang menyebabkan sindrom resistensi insulin berat dan akantosis nigrikan. Penyakit pada eksokrin pankreas yang menyebabkan pankreatitis, penyakit endokrin seperti sindrom Cushing dan akromegali, obat-obat yang bersifat toksik terhadap sel-sel beta pankreas, dan infeksi juga dapat menyebabkan diabetes melitus.

2.5.4 Manifestasi Klinis (Price dan Wilson, 2002; Sukandar, Andrajati, Sigit, Adnyana, Setiadi, dan Kusnandar, 2009)

Manifestasi klinis diabetes melitus berkaitan dengan konsekuensi metabolik akibat defisiensi insulin. Pasien-pasien dengan defisiensi insulin tidak dapat mempertahankan kadar glukosa darah puasa yang normal dan toleransi glukosa setelah makan karbohidrat. Apabila kondisi hiperglikemia menjadi berat dan melebihi ambang kemampuan ginjal untuk mereabsorpsi glukosa yang terfiltrasi, maka dapat terjadi glikosuria. Keberadaan glukosa di dalam urin akan mengakibatkan diuresis osmotik yang dapat meningkatkan pengeluaran urin (poliuria) dan timbul rasa haus (polidipsia). Rasa lapar yang semakin besar (polifagia) mungkin akan timbul sebagai akibat kehilangan kalori.

Pasien dengan diabetes melitus tipe 1 umumnya akan memiliki tubuh yang kurus dan menunjukkan gejala yang luar biasa dari polidipsia, poliuria, penurunan berat badan, polifagia, dan rasa lemah yang terjadi selama beberapa hari atau beberapa minggu. Pasien juga dapat mengalami ketoasidosis serta dapat meninggal bila tidak segera mendapatkan terapi. Berbeda dengan pasien diabetes melitus tipe 1, pasien diabetes melitus tipe 2 tidak mengalami penurunan berat badan secara signifikan dan mungkin tidak menunjukkan gejala apapun. Diagnosis hanya dapat dilakukan berdasarkan pemeriksaan darah di laboratorium serta hasil tes toleransi glukosa. Gejala-gejala seperti polidipsia, poliuria, dan rasa lemah hanya terjadi pada kondisi hiperglikemia berat. Ketoasidosis jarang terjadi pada pasien diabetes melitus tipe 2 karena defisiensi insulin yang terjadi tidak bersifat absolut.

2.5.5 Terapi Nonfarmakologi (Price dan Wilson, 2002)

Terapi nonfarmakologi untuk diabetes melitus adalah diet dan latihan fisik. Rencana diet pada pasien diabetes melitus bertujuan untuk mengatur jumlah kalori yang dikonsumsi setiap hari. Jumlah kalori yang disarankan bervariasi dan bergantung pada kebutuhan apakah untuk mempertahankan atau menurunkan atau meningkatkan berat badan. Rencana diet harus dikonsultasikan terlebih dahulu dengan ahli gizi berdasarkan riwayat diet pasien, gaya hidup, latar belakang budaya, dan aktivitas fisik.

Latihan fisik bertujuan untuk mempermudah transpor glukosa ke dalam sel-sel dan meningkatkan kepekaan terhadap insulin. Rencana latihan fisik untuk pasien diabetes melitus harus disusun dengan teliti, terutama pada pasien yang menerima terapi insulin. Pada individu sehat, pelepasan insulin menurun saat individu melakukan latihan fisik sehingga tidak terjadi kondisi hipoglikemia. Keadaan demikian tidak terjadi pada pasien yang memperoleh terapi insulin karena kadar insulin dalam darah tidak mengalami penurunan dan dapat terjadi kondisi hipoglikemia pada pasien tersebut. Oleh karena itu, perlu dilakukan penyesuaian waktu dalam rencana latihan fisik agar pasien dapat meningkatkan pengontrolan kadar glukosa darah.

2.5.6 Terapi Farmakologi

2.5.6.1 Terapi Diabetes Melitus Tipe 1 (American Diabetes Association, 2011)

Terapi intensif dengan insulin kerja singkat dan insulin kerja sedang (tiga atau lebih injeksi per hari atau infus insulin subkutan) dapat memperbaiki kondisi hiperglikemia dan memberikan prognosis yang baik. Sekalipun dapat meningkatkan kualitas mikrovaskular, terapi insulin yang intensif pada beberapa pasien yang memiliki risiko tinggi mengalami hipoglikemia dapat mengakibatkan hipoglikemia yang berat. Untuk mengantisipasi hal ini, dapat digunakan insulin kerja cepat atau insulin kerja panjang. Pada saat menggunakan insulin prandial, perlu dilakukan penyesuaian penggunaan insulin dengan asupan karbohidrat, kadar glukosa darah sebelum makan, dan latihan fisik.

2.5.6.2 Terapi Diabetes Melitus Tipe 2 (Diabetes UK, 2011; Price dan Wilson, 2002)

Pasien-pasien dengan gejala awal diabetes melitus tipe 2 sesungguhnya dapat mempertahankan kadar glukosa darah normal hanya dengan menjalankan rencana diet dan latihan fisik saja. Akan tetapi, pada perkembangannya perlu dianjurkan penggunaan obat-obat hipoglikemik oral ketika kadar glukosa darah tidak dapat dipertahankan hanya dengan diet dan latihan fisik. Obat-obat hipoglikemik oral yang dapat digunakan adalah pensensitif insulin (*insulin enhacer*) dan peningkat sekresi insulin (*insulin secretagogue*). Dua tipe dari golongan pensensitif insulin adalah biguanid dan tiazolidindion, sedangkan contoh dari golongan peningkat sekresi insulin adalah sulfonilurea dan DPP-4 inhibitor atau gliptin.

Metformin yang merupakan suatu biguanid bekerja dengan cara menurunkan produksi glukosa hepatic, menurunkan absorpsi glukosa pada usus, dan meningkatkan ambilan glukosa pada jaringan perifer. Tiazolidindion, seperti rosiglitazon, bekerja dengan cara meningkatkan kepekaan insulin perifer dan menurunkan produksi glukosa hepatic. Sulfonilurea, seperti gliburid dan glipizid, bekerja dengan cara merangsang fungsi sel-sel beta pankreas untuk meningkatkan sekresi insulin. Gliptin, seperti sitagliptin dan vildagliptin, bekerja dengan cara menghambat DPP-4 yang merupakan suatu enzim yang dapat menghancurkan hormon inkretin yang merupakan hormon pembantu tubuh memproduksi insulin dan menurunkan produksi glukosa hepatic. Obat lainnya yang dapat digunakan untuk menurunkan kadar glukosa darah adalah golongan alfa glukosidase inhibitor yang bekerja dengan cara menghambat pencernaan kompleks karbohidrat.

2.6 Model Hewan Uji dalam Pengujian Efek Antidiabetes (Etuk, 2010)

Selama beberapa tahun, beberapa model hewan uji telah dikembangkan untuk pembelajaran diabetes melitus atau untuk pengujian agen antidiabetes. Tiga model yang telah dikembangkan adalah induksi kimia, pembedahan (pankreatektomi), dan manipulasi genetik. Obat-obat penginduksi diabetes yang

telah digunakan adalah aloksan monohidrat, streptozotosin dengan atau tanpa nikotinamid, ferri nitrilotriasetat, ditizon, dan serum antiinsulin.

2.6.1 Model Hewan Uji Normoglikemik

Hewan uji sehat dapat digunakan untuk menguji agen hipoglikemik oral. Metode ini masih valid untuk digunakan dan dapat menguji efek obat pada hewan uji tanpa adanya aktivitas perusakan pankreas. Agen hiperglikemik juga dapat dideteksi pada waktu yang bersamaan.

2.6.2 Model Hewan Uji yang Diberikan Asupan Glukosa secara Oral (TTGO)

Metode ini disebut juga sebagai metode induksi fisiologis diabetes melitus karena peningkatan kadar glukosa darah yang terjadi tidak disertai dengan kerusakan pankreas. Prosedur dari metode ini adalah hewan uji dipuasakan sepanjang malam lalu diberikan asupan glukosa oral (1-2,5 g/kg bb) dan kadar glukosa darah dimonitor selama waktu tertentu. Kelemahan dari metode ini adalah kondisi hiperglikemia yang terjadi lebih berfluktuasi dibandingkan dengan kondisi hiperglikemia yang dihasilkan oleh induksi aloksan monohidrat.

2.6.3 Model Penginduksian Diabetes Melitus secara Kimiawi

Beberapa agen penginduksi diabetes yang telah digunakan adalah aloksan monohidrat, streptozotosin, ferri nitrilotriasetat, ditizon, dan serum antiinsulin. Di antara semua agen penginduksi, streptozotosin (69%) dan aloksan monohidrat (31%) adalah dua agen yang paling sering digunakan. Kedua agen ini menginduksi diabetes ketika diberikan secara parenteral (IV, IP, atau SK). Dosis yang diperlukan untuk kedua agen ini untuk menginduksi diabetes bergantung pada spesies hewan uji, cara pemberian obat, dan status nutrisi (Federiuk, Casey, Quinn, Wood, dan Ward, 2004).

2.6.3.1 Model Streptozotosin

Streptozotosin adalah suatu derivat nitrosoarea glukopiranosin sintetik yang diisolasi dari hasil fermentasi *Streptomyces achromogenes* yang sesungguhnya merupakan antibiotik antitumor dan secara kimia terkait dengan nitrosoarea yang

digunakan pada kemoterapi kanker. Streptozotosin dapat digunakan untuk menginduksi diabetes melitus tipe dependen insulin ataupun diabetes melitus tipe nondependen insulin. Dosis tunggal streptozotosin dalam buffer sitrat steril (0,1 M; pH = 4,5) untuk menginduksi diabetes adalah 150 mg/kg bb untuk mencit dan 80 mg/kg bb untuk tikus yang diberikan IP. Diabetes akan terjadi secara bertahap dan dapat dideteksi setelah beberapa hari, biasanya 4 hari untuk mencit dan 7 hari untuk tikus. Kadar glukosa darah sebesar 180-500 mg/dL menyatakan bahwa induksi diabetes telah berhasil dilakukan.

Streptozotosin bekerja pada sel-sel beta pankreas dalam 3 tahap. Tahap pertama, yaitu 2 jam setelah injeksi, adalah terjadi hiperglikemia yang bersamaan dengan peningkatan kadar insulin dalam darah. Tahap kedua, yaitu 6 jam setelah tahap pertama, adalah terjadi hipoglikemia dengan kadar insulin dalam darah yang sangat tinggi. Tahap ketiga adalah terjadi hiperglikemia kembali dan penurunan kadar insulin dalam darah. Mekanisme kerja streptozotosin adalah sebagai berikut (Szkudelski, 2001).

- a. Streptozotosin masuk ke dalam sel-sel beta pankreas melalui transporter glukosa GLUT2. Streptozotosin sendiri dapat menghambat ekspresi GLUT2 sehingga terjadi penghambatan aksi diabetogenik dari streptozotosin.
- b. Streptozotosin mengalkilasi DNA sel-sel beta pankreas sehingga terjadi perubahan DNA yang akhirnya menginduksi kematian sel-sel beta pankreas.

Sekalipun streptozotosin merupakan obat penginduksi diabetes yang banyak digunakan, penggunaan streptozotosin memiliki beberapa kekurangan. Salah satu kekurangan dari penggunaan streptozotosin adalah pemulihan segera dari kadar glukosa darah yang tinggi akibat terjadinya insulinoma dan insiden tumor ginjal serta tumor hati akibat sifat onkogenik dari streptozotosin. Apabila terjadi hal demikian, maka akan terjadi penurunan kadar glukosa darah secara signifikan dan hewan uji tidak dapat digunakan sebagai model pembelajaran diabetes melitus ataupun pengujian agen antidiabetes.

2.6.3.2 Model Aloksan

Aloksan adalah suatu derivat urea yang dapat menyebabkan nekrosis selektif pada sel-sel beta pankreas. Pada pH netral dan suhu 37°C, aloksan

memiliki waktu paruh sebesar 1,5 menit. Pada suhu yang lebih rendah, waktu paruh aloksan dapat diperpanjang dan bila digunakan dosis diabetogenik, waktu dekomposisi aloksan tersebut cukup untuk mencapai pankreas dalam jumlah yang dibutuhkan untuk menimbulkan efek diabetogenik.

Aloksan dapat menghasilkan kondisi hiperglikemia dengan berbagai tingkat keparahan yang bergantung dosis. Kadar glukosa darah pada kondisi diabetes berat yang dihasilkan aloksan setara dengan yang dihasilkan metode pankreatektomi. Hal ini memungkinkan dosis aloksan yang dapat menginduksi diabetes berat dapat digunakan untuk pembelajaran terkait diabetes melitus tipe dependen insulin. Sebaliknya, dosis aloksan yang dapat menginduksi diabetes menengah dapat digunakan untuk pembelajaran terkait diabetes melitus tipe nondependen insulin. Dosis yang digunakan untuk menginduksi diabetes adalah 140-150 mg/kg bb (biasanya 150 mg/kg) yang diberikan dalam larutan 5% b/v akuades secara IP pada mencit atau tikus. Kadar glukosa darah lebih besar dari 150 mg/dL menyatakan bahwa induksi diabetes telah berhasil dilakukan.

Aloksan bekerja pada sel-sel beta pankreas dalam 4 tahap (Lenzen, 2008). Tahap pertama, yaitu 30 menit setelah injeksi aloksan, adalah terjadi peningkatan sekresi insulin dalam waktu singkat. Tahap kedua, yaitu 1 jam setelah injeksi aloksan, adalah fase hiperglikemik pertama yang ditunjukkan dengan terjadinya peningkatan kadar glukosa darah yang disertai dengan penurunan kadar insulin dalam darah selama 2-4 jam. Tahap ketiga, yaitu 4-8 jam setelah injeksi aloksan, adalah penurunan kadar glukosa darah kembali yang berlangsung selama beberapa jam sebagai akibat peningkatan kadar insulin dalam darah yang disebabkan oleh sekresi insulin yang diinduksi aloksan dan hancurnya membran sel-sel beta pankreas. Tahap keempat adalah terjadinya hiperglikemia permanen. Mekanisme kerja aloksan adalah sebagai berikut (Szkudelski, 2001).

- a. Aloksan masuk ke dalam sel-sel beta pankreas secara cepat melalui transporter glukosa GLUT2.
- b. Di dalam sel-sel beta pankreas, aloksan akan bereaksi dengan glukokinase yang mengakibatkan inaktivasi dari enzim tersebut (menyebabkan penghambatan sekresi insulin yang diinduksi oleh glukosa) dan tereduksinya aloksan. Asam dialurat akan terbentuk sebagai hasil dari reduksi aloksan dan

asam dialurat akan direoksidasi kembali menjadi aloksan disertai dengan pembentukan radikal superoksida yang dapat menyebabkan kerusakan DNA sel-sel beta pankreas.

2.7 Metode Pemeriksaan Kadar Glukosa Darah

Pengukuran kadar glukosa darah di laboratorium dapat dilakukan dengan 3 cara, yaitu metode reduksi, metode kondensasi, dan metode enzimatik (McMillin, 1990). Di antara ketiga metode tersebut, metode enzimatik adalah metode yang paling banyak digunakan untuk mengukur kadar glukosa darah dan pada perkembangannya, metode ini diaplikasikan pada alat pengukur kadar glukosa darah yang mudah dibawa, yaitu glukometer.

2.7.1 Metode Reduksi (McMillin, 1990)

Metode reduksi adalah metode terlama yang memanfaatkan sifat reduktor dari glukosa. Metode ini kurang spesifik karena dapat terjadi bias akibat keberadaan agen pereduksi kuat lainnya sehingga memberikan hasil pengukuran kadar glukosa darah yang terlalu tinggi. Sekalipun hal ini dapat diatasi dengan menambahkan tahap tertentu untuk meniadakan pengaruh agen pereduksi lainnya, metode ini tetap tidak dianjurkan dan sudah banyak ditinggalkan saat ini.

2.7.2 Metode Kondensasi (Dubowski, 2008)

Metode kondensasi merupakan metode yang termasuk dalam metode kolorimetri atau spektrofotometri. Prinsip dari metode ini adalah kondensasi glukosa dengan senyawa amin aromatik primer sehingga akan dihasilkan campuran berkesetimbangan antara glikosamin dan basa Schiff. Berbagai senyawa amin aromatis seperti anilin, benzidin, 2-aminobifenil, dan o-toluidin digunakan untuk bereaksi dengan glukosa dalam larutan asam asetat glasial membentuk derivat-derivat yang berwarna. Oleh karena permasalahan stabilitas dan ketersediaan bahan, maka pemakaian bahan hanya terbatas pada o-toluidin yang dapat bereaksi relatif selektif terhadap glukosa, menghasilkan warna hijau stabil.

Mekanisme reaksi yang terjadi pada metode kondensasi yang menggunakan o-toluidin adalah o-toluidin berkondensasi dengan gugus aldehid

dari glukosa membentuk campuran yang berkesetimbangan antara glikosamin dan basa Schiff. Reaksi selanjutnya menghasilkan suatu campuran kromogen hijau dengan panjang gelombang maksimum 630 nm. Intensitas warna memberikan sensitivitas yang tinggi. Pengukuran dapat dilakukan dengan menggunakan spektrofotometer UV-Vis.

2.7.3 Metode Enzimatik

Pengukuran kadar glukosa darah secara enzimatik dapat dilakukan dengan beberapa enzim, yaitu glukosa dehidrogenase, heksokinase, dan glukosa oksidase. Metode enzimatik untuk pengukuran kadar glukosa darah telah distandardisasi dengan baik sehingga dapat mengukur kadar glukosa darah lebih tepat dibandingkan dengan kedua metode sebelumnya. Di antara ketiga enzim yang dapat digunakan, metode enzimatik dengan glukosa dehidrogenase adalah metode yang paling sedikit digunakan (Sacks, *et al.*, 2011). Prinsip dari metode ini adalah pengukuran peningkatan NADH hasil reaksi oksidasi glukosa dan reduksi NAD^+ dengan bantuan glukosa dehidrogenase pada panjang gelombang 340 nm (Dohnal, Kalousova, dan Zima, 2010).

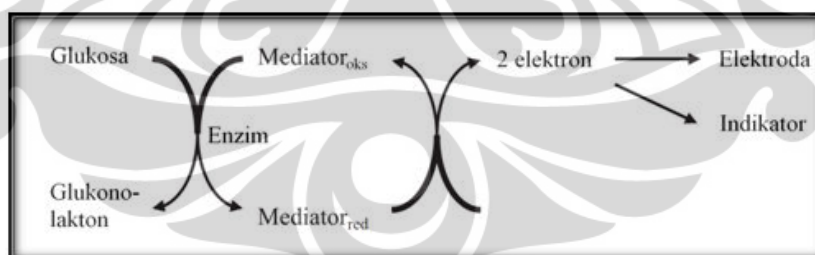
Dua enzim yang sering digunakan pada pengukuran kadar glukosa darah secara enzimatik adalah heksokinase dan glukosa oksidase. Mekanisme reaksi dari metode yang menggunakan heksokinase terbagi menjadi 2 tahap. Tahap pertama adalah glukosa akan bereaksi dengan ATP menghasilkan glukosa-6-fosfat dan ADP dengan bantuan heksokinase. Tahap kedua adalah reaksi oksidasi glukosa-6-fosfat dan reduksi NADP^+ menjadi 6-fosfoglukonat dan NADPH dengan bantuan glukosa-6-fosfat dehidrogenase. Peningkatan NADPH diukur pada panjang gelombang 340 nm (Dohnal, Kalousova, dan Zima, 2010).

Prinsip dari metode pengukuran kadar glukosa darah dengan glukosa oksidase adalah reaksi oksidasi glukosa yang dikatalisis glukosa oksidase menjadi asam glukonat dan hidrogen peroksida dilanjutkan dengan reduksi hidrogen peroksida menjadi air dan oksigen oleh peroksidase. Suatu aseptor oksigen, yaitu 4-aminofenazon, menerima oksigen dan bersama dengan fenol akan membentuk kromogen berwarna pink yang dapat diukur pada panjang gelombang 515 nm (World Health Organization, 2006).

2.7.3.1 Glukometer (Hones, Muller, dan SurrIDGE, 2008)

Glukometer adalah alat pengukur kadar glukosa darah secara enzimatik yang mudah dibawa. Pada strip glukometer sudah terkandung suatu oksidoreduktase bersama-sama dengan koenzim atau kofaktor atau enzim penyerta yang sesuai dan suatu mediator yang bergantung pada prinsip pengukuran yang dipilih (fotometri atau elektrokimia). Mediator biasanya merupakan suatu senyawa kimia organik atau anorganik kecil yang memiliki 2 bentuk, yaitu bentuk teroksidasi dan bentuk tereduksi, serta umumnya dapat bereaksi dengan cepat untuk mendonorkan atau menerima elektron. Mekanisme reaksi yang terjadi pada pengukuran kadar glukosa darah dengan glukometer adalah sebagai berikut.

- Oksidoreduktase akan mengatalisis reaksi oksidasi glukosa menjadi glukonolakton sehingga akan dilepaskan elektron akibat dari reaksi ini.
- Elektron yang dilepaskan akan ditransfer ke mediator, mengakibatkan terjadinya proses reduksi mediator dari bentuk teroksidasi menjadi bentuk tereduksinya.
- Mediator akan teroksidasi kembali dan mengirimkan elektron ke elektroda (pada pengukuran secara elektrokimia) atau ke indikator sehingga akan terbentuk warna tertentu (pada pengukuran secara fotometri).



[sumber: Hones, Muller, SurrIDGE, 2008, telah diolah kembali]

Gambar 2.2. Skema reaksi yang terjadi dalam strip uji

Salah satu contoh dari glukometer adalah glukometer *AccuChek Advantage II* dari Roche yang merupakan glukometer elektrokimia. Enzim yang digunakan adalah glukosa dehidrogenase-PQQ dengan mediator heksasianoferat (III) dan elektroda palladium. Mekanisme reaksi yang terjadi pada sistem mediator glukometer *AccuChek Advantage II* adalah sebagai berikut (Hill, 2005):

Universitas Indonesia

- a. Glukosa akan dioksidasi menjadi asam glukonat dengan bantuan glukosa dehidrogenase.
- b. Elektron yang dilepaskan akibat reaksi oksidasi glukosa diterima oleh mediator heksasianoferat (III) sehingga heksasianoferat (III) akan tereduksi menjadi heksasianoferat (II).
- c. Heksasianoferat (II) akan teroksidasi kembali menjadi heksasianoferat (III) sambil melepaskan elektron yang akan diterima oleh elektroda.

Metode pengukuran kadar glukosa darah dengan glukometer merupakan metode yang sering digunakan karena pengerjaannya cepat, mudah, dan hanya membutuhkan sedikit sampel darah. Selain itu, hasil pengukuran kadar glukosa darah yang diperoleh cukup akurat. Berikut ini adalah kriteria dari glukometer *AccuChek Advantage II* (Hill, 2005; Owiredo, Amegatcher, dan Amidu, 2009; Roche Diagnostics, 2006):

- a. Akurasi: Memenuhi kriteria ISO 15197:2003, yaitu sebanyak 95% hasil berada dalam rentang kurang lebih 15 mg/dL untuk pengukuran kadar glukosa darah kurang dari 75 mg/dL dan berada dalam rentang kurang lebih 20% untuk pengukuran kadar glukosa darah lebih dari 75 mg/dL.
- b. Keterulangan (SD/CV): 2 mg/dl atau 2%
- c. Limit deteksi: 10 mg/dl
- d. Kisaran pengukuran: Metode pengukuran linear dalam kisaran 10-600 mg/dL

BAB 3

METODE PENELITIAN

3.1 Lokasi Penelitian

Penelitian dilaksanakan di Laboratorium Farmakologi, Laboratorium Penelitian Fitokimia, Laboratorium Kimia Farmasi Analisis Kualitatif, dan Laboratorium Kimia Farmasi Analisis Kuantitatif Departemen Farmasi FMIPA UI selama lebih kurang 4 bulan dari bulan Februari sampai Mei 2012.

3.2 Bahan

3.2.1 Hewan Uji

Hewan uji yang digunakan pada penelitian ini adalah mencit jantan galur *ddY (Deutschland, Denken, Yoken)* berumur 6 minggu dengan berat badan 15-20 gram sebanyak 25 ekor. Hewan uji diperoleh dari Lembaga Ilmu Pengetahuan Indonesia (LIPI), Cibinong. Dalam penelitian ini, mencit betina tidak diikutsertakan karena dikhawatirkan siklus hormonalnya yang dapat mempengaruhi kadar glukosa darah. Hormon estrogen dan progesterin diketahui bersifat antagonis terhadap hormon insulin (Suherman, 2007).

3.2.2 Bahan Uji

Serbuk kering buah oyong muda (*Luffa acutangula* (L.) Roxb.) dari tumbuhan oyong berumur 3 bulan diperoleh dari Balai Penelitian Tumbuhan Obat dan Aromatik (Balittro), Bogor. Proses determinasi tumbuhan dilakukan di Lembaga Ilmu Pengetahuan Indonesia (LIPI), Cibinong. Hasil determinasi tumbuhan dapat dilihat pada Lampiran 1. Buah oyong yang dijadikan sebagai bahan uji memiliki panjang 25-30 cm dan berwarna hijau. Bagian buah oyong yang digunakan adalah dari kulit buah oyong hingga 5 mm dari kulit buah oyong.

3.2.3 Bahan Kimia dan Lain-Lain

Akuades, CMC, natrium klorida (Merck), etanol 70% (diperoleh dari etanol 96% yang diencerkan dengan akuades), asam klorida (Merck), asam sulfat (Merck), benzene (Merck), amonia (Merck), eter (Merck), asam galat (Merck),

natrium karbonat (Merck), metanol, etil asetat, lempeng KLT silika gel 60 F₂₅₄, glukosa monohidrat (Merck), metformin HCl (Clinisindo Laboratories), kertas saring Whatman nomor 41, kertas saring biasa. Sertifikat analisis glukosa monohidrat dan metformin HCl dapat dilihat pada Lampiran 2 dan Lampiran 3.

3.2.4 Perekasi

Larutan besi (III) klorida (Merck), larutan Mayer, larutan Dragendorf, larutan Bouchardat, larutan Molisch, serbuk magnesium (Merck), serbuk seng (Merck), larutan timbal (II) asetat (Merck), larutan gelatin 10%, asam asetat anhidrat (Merck), reagen Folin-Ciocalteu (Merck).

3.3 Peralatan

Evaporator (Buchi), alkoholmeter, shaker (KS 501 D), penangas air, desikator, lemari pendingin, bejana KLT, pipa kapiler, oven, tanur (Waberthrem), mikropipet (Socorex Swiss), spektrofotometer UV-Vis T80+ (PG Instruments), sonde lambung, timbangan analitik (Ohaus), timbangan hewan (Mettler Teledo), spuit (BD), pisau bedah (Braun), kandang khusus, glukometer (*AccuChek Advantage II*), dan alat-alat gelas.

3.4 Cara kerja

3.4.1 Persiapan Hewan Uji

Mencit diaklimatisasi selama 1 minggu di kandang hewan FMIPA UI. Aklimatisasi bertujuan untuk mengadaptasikan mencit dengan lingkungan baru dan meminimalkan efek stres pada mencit yang dapat mempengaruhi metabolisme dan akhirnya menimbulkan kesalahan pada hasil penelitian. Mencit diberi makanan dan minuman serta ditimbang berat badannya secara rutin. Mencit yang dapat digunakan adalah mencit sehat dengan ciri-ciri bulu tidak berdiri, berwarna putih bersih, mata jernih, bertingkah laku normal, mengalami peningkatan berat badan dalam batas tertentu yang diukur secara rutin. Data penimbangan berat badan mencit selama masa aklimatisasi dapat dilihat pada Tabel 3.1.

3.4.2 Penetapan Dosis

3.4.2.1 Glukosa Monohidrat

Dosis glukosa anhidrat untuk tes toleransi glukosa oral adalah 2 g/kg bb (Andrikopoulos, Blair, Deluca, Fam, dan Progetto, 2008). Oleh karena digunakan glukosa monohidrat, maka harus dilakukan konversi dosis berdasarkan berat molekul sehingga diperoleh dosis glukosa monohidrat sebesar 2,2 g/kg bb.

3.4.2.2 Ekstrak Etanol 70% Buah Oyong

Berdasarkan hasil penelitian yang pernah dilakukan, dosis ekstrak etanol buah oyong yang sudah dapat memberikan efek penurunan kadar glukosa darah tikus diabetes yang signifikan adalah 200 mg/kg bb tikus (Priyanka S. Patil, Patel, dan Bhavsar, 2010). Dosis ini dikonversikan berdasarkan konversi Paget dan Barnes, yaitu dosis untuk setiap 20 g bb mencit setara dengan 0,14 kali dosis 200 g bb tikus sehingga dosis yang digunakan adalah 5,6 mg/20 g bb mencit. Rendemen ekstrak etanol 70% kental yang pernah diteliti adalah 3,2% bb (Jadhav, Thakare, Suralkar, Deshpande, dan Naik, 2010). Dosis dan rendemen ekstrak ini kemudian disesuaikan dengan rendemen ekstrak etanol 70% kental buah oyong yang diteliti, yaitu sebesar 15,25%, sehingga didapatkan dosis kedua ekstrak etanol 70% buah oyong sebesar 26,69 mg/20 g bb mencit. Dosis kedua adalah kelipatan 2 dari dosis pertama, yaitu 13,35 mg/20 g bb mencit, dan dosis ketiga adalah kelipatan 2 dari dosis kedua, yaitu 53,38 mg/20 g bb mencit.

3.4.2.3 Metformin HCl

Pada manusia, metformin HCl diberikan dengan dosis sebesar 500 mg (Katzung, 2009). Dosis ini dikonversikan berdasarkan konversi Paget dan Barnes, yaitu dosis untuk setiap 20 g bb mencit setara dengan 0,0026 kali dosis manusia dan dikalikan faktor farmakokinetik 10 sehingga dosis yang digunakan adalah 13 mg/20 g bb mencit.

3.4.3 Persiapan Bahan

3.4.3.1 Larutan Glukosa Monohidrat 20%

Sebanyak 1,6 g glukosa monohidrat dilarutkan dalam akuades hingga 8 mL.

3.4.3.2 Larutan CMC 0,5%

CMC ditimbang sejumlah 0,15 g lalu dikembangkan dalam akuades bersuhu 60°C sebanyak 3 mL (20 kali berat CMC) selama kurang lebih 15 menit lalu dihomogenkan. Volume larutan dicukupkan hingga 30 mL kemudian dihomogenkan kembali.

3.4.3.3 Pembuatan Ekstrak Etanol 70% Buah Oyong

Serbuk kering buah oyong diekstraksi secara maserasi dengan etanol 70%. Sebanyak 500 g serbuk kering buah oyong ditimbang lalu dimasukkan ke dalam bejana. Serbuk dimaserasi dengan perbandingan pelarut 1:4 sehingga masing-masing bejana dimaserasi dengan pelarut sebanyak 2 L untuk tiap kali maserasi. Maserasi dilakukan selama 24 jam, yaitu selama 6 jam pertama dilakukan pengadukan dan selama 18 jam didiamkan, lalu dilakukan penyaringan dan maserat dikumpulkan. Maserasi dilakukan hingga maserat berubah warna. Maserat diuapkan dengan menggunakan evaporator pada suhu 40-60°C hingga volume ekstrak tetap. Ekstrak yang diperoleh ditampung dan diuapkan lebih lanjut dengan menggunakan penangas air pada suhu yang sama hingga diperoleh ekstrak kental yang sulit untuk dituang. Ekstrak yang diperoleh kemudian ditimbang untuk memperoleh rendemen ekstrak. Pembuatan sediaan uji ekstrak dapat dilihat pada Lampiran 4.

3.4.3.4 Suspensi Metformin HCl

Metformin HCl disuspensikan dengan konsentrasi 2,6% dalam larutan CMC 0,5%. Tiap 1 mL suspensi metformin HCl mengandung 26 mg metformin HCl.

3.4.4 Skrining Fitokimia Kualitatif Ekstrak Etanol 70% Buah Oyong

3.4.4.1 Identifikasi Alkaloid (Departemen Kesehatan Republik Indonesia, 1995)

Ekstrak dilarutkan dalam campuran 1 mL asam klorida 2N dan 9 mL akuades lalu dipanaskan di penangas air selama 2 menit. Selanjutnya, larutan bahan uji didinginkan dan disaring kemudian filtrat digunakan untuk identifikasi alkaloid dengan larutan pereaksi Dragendorf, Mayer, dan Bouchardat. Filtrat dibagi menjadi 3 bagian pada kaca arloji kemudian masing-masing bagian berturut-turut direaksikan dengan larutan pereaksi Dragendorf, Mayer, dan Bouchardat. Hal yang sama dilakukan dengan menggunakan pembanding, yaitu kinin HCl.

3.4.4.2 Identifikasi Glikosida (Departemen Kesehatan Republik Indonesia, 1995)

Ekstrak dihidrolisis dengan asam klorida 2N lalu didinginkan dan disaring kemudian filtratnya digunakan untuk tes Molisch. Filtrat ditambahkan larutan pereaksi Molisch di dalam tabung reaksi lalu diaduk dan dialirkan asam sulfat pekat melalui dinding tabung. Hal yang sama dilakukan dengan menggunakan pembanding, yaitu Centella Herba.

3.4.4.3 Identifikasi Antrakuinon (Tiwari, Kumar, Kaur, Kaur, dan Kaur, 2011)

Ekstrak dihidrolisis dengan asam klorida 2N lalu didinginkan dan disaring kemudian filtratnya digunakan untuk tes Borntrager termodifikasi. Filtrat ditambahkan larutan pereaksi besi (III) klorida lalu larutan dipanaskan di penangas air selama 5 menit. Larutan didinginkan dan diekstraksi dengan benzene dalam jumlah yang sama banyak. Lapisan benzene diambil dan ditambahkan amonia encer. Hal yang sama dilakukan dengan menggunakan pembanding, yaitu Rhei Radix

3.4.4.4 Identifikasi Saponin (Departemen Kesehatan Republik Indonesia, 1995)

Ekstrak ditambahkan 5 mL air panas di dalam tabung reaksi lalu didinginkan dan dikocok kuat-kuat selama 2 menit. Jika terbentuk buih yang mantap selama tidak kurang dari 10 menit setinggi 1-10 cm, selanjutnya

ditambahkan 1 tetes asam klorida 2N. Hal yang sama dilakukan dengan menggunakan pembanding, yaitu *Orthosiphonis Folium*.

3.4.4.5 Identifikasi Fenol (Tiwari, Kumar, Kaur, Kaur, dan Kaur, 2011)

Identifikasi fenol dilakukan dengan menambahkan sejumlah ekstrak yang telah dilarutkan dalam etanol 96% dengan 3-4 tetes larutan pereaksi besi (III) klorida. Hal yang sama dilakukan dengan menggunakan pembanding, yaitu *Theae Folium*.

3.4.4.6 Identifikasi Tanin (Tiwari, Kumar, Kaur, Kaur, dan Kaur, 2011)

Ekstrak dilarutkan dalam akuades panas lalu dikocok hingga homogen dan disaring kemudian filtrat digunakan untuk identifikasi tanin. Sebagian filtrat ditambahkan asam asetat encer hingga diperoleh kondisi asam ($\text{pH} = 3-6$) lalu ditambahkan larutan pereaksi timbal (II) asetat. Sisa filtrat ditambahkan dengan 5 tetes natrium klorida 10% dan dengan larutan gelatin 10%. Hal yang sama dilakukan dengan menggunakan pembanding, yaitu *Psidii Folium*.

Deteksi tanin dilakukan dengan menggunakan eluen etil asetat-metanol (7:3) dan pembanding *Theae Folium*. Sebagai larutan penampak bercak, digunakan larutan pereaksi besi (III) klorida. Ekstrak dilarutkan dalam etanol 96% lalu ditotolkan pada lempeng KLT dan dielus di dalam bejana KLT yang telah dijenuhkan terlebih dahulu dengan eluen hingga batas lempeng. Hasil elusi disemprotkan dengan larutan pereaksi besi (III) klorida.

3.4.4.7 Identifikasi Flavonoid (Departemen Kesehatan Republik Indonesia, 1995)

Identifikasi Flavonoid dilakukan dengan tes Shinoda. Sejumlah ekstrak dilarutkan dalam 1-2 mL etanol 96% dan ditambahkan 0,5 g serbuk seng serta 2 mL asam klorida 2 N, didiamkan selama 1 menit. Selanjutnya, ditambahkan 10 tetes asam klorida pekat. Untuk prosedur menggunakan serbuk magnesium, sejumlah ekstrak dilarutkan dalam 1-2 mL etanol 96% dan ditambahkan 0,1 g serbuk magnesium dan 10 tetes asam klorida pekat. Hal yang sama dilakukan dengan menggunakan pembanding, yaitu *Theae Folium*.

3.4.4.8 Identifikasi Terpen (Departemen Kesehatan Republik Indonesia, 1995)

Ekstrak ditambahkan 5 mL eter di dalam tabung reaksi lalu dikocok dan hasil diambil untuk dipindahkan ke plat tetes. Eter dibiarkan menguap lalu sisa penguapan yang diperoleh ditambahkan 2 tetes asam asetat anhidrat dan 1 tetes asam sulfat pekat. Hal yang sama dilakukan dengan menggunakan pembanding, yaitu *Caryophylli Flos*.

3.4.5 Standardisasi Ekstrak Etanol 70% Buah Oyong

3.4.5.1 Pengamatan organoleptik ekstrak (Departemen Kesehatan Republik Indonesia, 2000)

Pengamatan organoleptik ekstrak dilakukan dengan menggunakan pancaindra untuk mendeskripsikan bentuk, warna, bau, dan rasa dari ekstrak.

3.4.5.2 Penetapan Kadar Fenolat Total (Andayani, Lisawati, dan Maimunah, 2008)

Kadar fenolat total dalam ekstrak dinyatakan sebagai *Gallic Acid Equivalent (%)* dari kurva kalibrasi asam galat. Kurva kalibrasi dibuat dari hasil pengukuran serapan larutan asam galat berkonsentrasi 300 mg/L, 400 mg/L, 500 mg/L, 700 mg/L, dan 1000 mg/L.

a. Pembuatan Spektrum Serapan dan Kurva Kalibrasi Asam Galat

Sebanyak 125 mg asam galat ditimbang lalu ditambahkan etanol 70% hingga 25 mL sehingga diperoleh larutan induk berkonsentrasi 5 mg/mL. Selanjutnya, dari larutan induk dipipet 10 mL lalu diencerkan dengan etanol 70% hingga volume 50 mL sehingga diperoleh larutan induk kedua berkonsentrasi 1 mg/mL. Untuk membuat larutan asam galat dengan konsentrasi 300, 400, 500, dan 700 mg/L, maka dari larutan induk kedua dipipet 3, 4, 5, dan 7 mL lalu diencerkan dengan etanol 70% hingga volume 10 mL. Larutan berkonsentrasi 500 mg/L digunakan untuk membuat spektrum serapan lalu panjang gelombang maksimum yang diperoleh digunakan sebagai panjang gelombang maksimum pada pembuatan kurva kalibrasi dan penetapan kadar fenolat total ekstrak.

Larutan asam galat berkonsentrasi 300, 400, 500, 700, dan 1000 mg/L dipipet 0,2 mL lalu ditambahkan 15,8 mL akuades dan 1 mL Reagen Folin-Ciocalteu; larutan dikocok hingga homogen. Larutan didiamkan selama 8 menit lalu ditambahkan 3 mL larutan Na₂CO₃ 20%; larutan dikocok homogen. Larutan kembali didiamkan selama 2 jam pada suhu ruangan. Serapan diukur pada panjang gelombang maksimum lalu dibuat kurva kalibrasinya hubungan antara konsentrasi asam galat (mg/L) dengan absorbansi.

b. Penetapan Kadar Fenolat Total Ekstrak

Sebanyak 0,3 gram ekstrak ditimbang kemudian dilarutkan hingga 10 mL dengan etanol 70%. Larutan dipipet 0,2 mL dan ditambahkan 15,8 mL akuades serta 1 mL reagen Folin-Ciocalteu; larutan dikocok homogen. Larutan kembali didiamkan selama 8 menit kemudian ditambahkan 3 mL Na₂CO₃ 20% kedalam campuran dan larutan didiamkan selama 2 jam pada suhu ruangan. Serapan diukur dengan spektrofotometer UV-Vis pada panjang gelombang maksimum. Penetapan kadar dilakukan 3 kali dan hasil kadar fenolat yang diperoleh dinyatakan sebagai mg ekuivalen asam galat/g sampel segar.

3.4.5.3 Penetapan Susut Pengerinan (Departemen Kesehatan Republik Indonesia, 2000)

Sebanyak 1 g ekstrak ditimbang seksama lalu dimasukkan ke dalam botol timbang yang sebelumnya telah dipanaskan pada suhu 105°C selama 30 menit dan telah ditara. Sebelum ditimbang, ekstrak diratakan dalam botol timbang dengan menggunakan batang pengaduk hingga merupakan lapisan setebal kurang lebih 5-10 mm. Botol timbang dalam posisi tidak tertutup dimasukkan ke dalam oven lalu dikeringkan pada suhu 105°C hingga bobot tetap. Sebelum setiap pengeringan, botol timbang dalam posisi tertutup dibiarkan mendingin terlebih dahulu dalam desikator hingga suhu ruangan.

3.4.5.4 Penetapan Kadar Abu (Departemen Kesehatan Republik Indonesia, 2000)

a. Penetapan Kadar Abu

Sebanyak 2 g ekstrak ditimbang seksama lalu dimasukkan ke dalam krus silikat yang telah dipijarkan dan ditara serta diratakan. Kemudian, krus silikat dipijarkan perlahan-lahan hingga arang habis, didinginkan, dan ditimbang. Jika dengan cara ini arang tidak dapat dihilangkan, ditambahkan air panas lalu disaring melalui kertas saring bebas abu. Residu dan kertas saring dipijar dalam krus yang sama lalu filtrat dimasukkan ke dalam krus, diuapkan, dipijarkan hingga bobot tetap, dan ditimbang. Kadar abu dihitung terhadap bahan yang telah dikeringkan di udara.

b. Penetapan Kadar Abu Tidak Larut dalam Asam

Abu yang diperoleh pada penetapan kadar abu dididihkan dengan 25 mL asam sulfat encer selama 5 menit lalu didinginkan. Bagian yang tidak larut asam dikumpulkan lalu disaring melalui kertas saring bebas abu kemudian dicuci dengan air panas dan dipijarkan hingga bobot tetap lalu ditimbang. Kadar abu yang tidak larut dalam asam dihitung terhadap bahan yang telah dikeringkan.

3.4.6 Pelaksanaan Penelitian

3.4.6.1 Pengelompokkan Mencit

Pada penelitian ini digunakan 2 kelompok kontrol, yaitu kontrol induksi glukosa dan kontrol pembanding (metformin HCl). Kontrol induksi glukosa bertujuan untuk mengetahui kadar glukosa darah mencit yang tidak diberi bahan uji. Kontrol pembanding dengan metformin HCl bertujuan untuk melihat perbandingan pengaruh antara pemberian bahan uji dengan obat (metformin HCl) yang telah diketahui efektif dalam menurunkan kadar glukosa darah. Kelompok bahan uji dibuat dalam beberapa dosis untuk mengetahui dosis yang berpengaruh secara signifikan dalam menurunkan kadar glukosa darah.

Mencit-mencit yang sehat dikelompokkan menggunakan rancangan acak sederhana cara pengundian menjadi 5 kelompok perlakuan sehingga jumlah ulangan minimal tiap kelompok ditentukan berdasarkan rumus empiris Federer sebagai berikut (Jusman dan Halim, 2009).

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

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

$$4n - 4 \geq 15$$

$$4n \geq 19$$

$$n \geq 4,75$$

Keterangan :

t = jumlah kelompok

n = banyak sampel

Jadi jumlah mencit minimal dalam tiap kelompok adalah 5 ekor.

Tabel 3.2. Pembagian kelompok hewan uji

Kelompok	Perlakuan
1 (kontrol induksi glukosa)	Diberi larutan CMC 0,5% 0,5 mL/20 g bb kemudian dibebani glukosa monohidrat 2,2 g/kg bb
2 (kontrol metformin)	Diberi suspensi metformin HCl 13 mg/20 g bb kemudian dibebani glukosa monohidrat 2,2 g/kg bb
3 (oyong dosis 1)	Diberi suspensi ekstrak etanol 70% buah oyong dosis 13,35 mg/20 g bb kemudian dibebani glukosa monohidrat 2,2 g/kg bb
4 (oyong dosis 2)	Diberi suspensi ekstrak etanol 70% buah oyong dosis 26,69 mg/20 g bb kemudian dibebani glukosa monohidrat 2,2 g/kg bb
5 (oyong dosis 3)	Diberi suspensi ekstrak etanol 70% buah oyong dosis 53,38 mg/20 g bb kemudian dibebani glukosa monohidrat 2,2 g/kg bb

3.4.6.2 Pemberian Bahan Uji

Mencit dipuaskan terlebih dahulu selama 16 jam dengan tetap diberi air minum. Puasa dilakukan untuk memperoleh kadar glukosa darah puasa sebagai kadar glukosa darah awal serta untuk meminimalisir pengaruh dari zat-zat yang terdapat dalam makanan yang mungkin dapat mempengaruhi hasil penelitian. Selanjutnya, dilakukan pengambilan darah melalui vena ekor mencit dan diukur kadar glukosa darahnya sebagai kadar glukosa darah puasa awal (T_0) lalu masing-masing mencit segera diberi perlakuan. Setelah 30 menit pemberian perlakuan, sampel darah diambil kembali untuk pengukuran kadar glukosa darah setelah pemberian perlakuan (T_{30}). Selanjutnya, semua mencit tiap kelompok diberi larutan glukosa monohidrat. Pemberian bahan uji yang lebih awal dari pemberian glukosa bertujuan untuk memastikan bahwa bahan uji sudah mulai bekerja saat diberikan glukosa. Pengukuran kadar glukosa darah kembali dilakukan pada menit

ke-30, 60, 90, dan 120 setelah pemberian glukosa untuk melihat perubahan kadar glukosa darah yang terjadi setelah pemberian glukosa (T_{g30} , T_{g60} , T_{g90} , T_{g120}).

Tabel 3.3. Perlakuan tiap waktu seluruh kelompok hewan uji

Kelompok	Perlakuan			
	Setelah dipuasakan 16 jam	Setelah pengukuran kadar glukosa darah puasa awal	Setelah 30 menit pemberian perlakuan	Setelah 30 menit pemberian glukosa
1	Pengukuran kadar glukosa darah puasa awal (T_0)	Pemberian CMC 0,5% 0,5 mL/20 g bb	Pengukuran kadar glukosa darah setelah pemberian perlakuan (T_{30}) dilanjutkan dengan pemberian larutan glukosa monohidrat dosis 2,2 g/kg bb untuk semua mencit.	Pengukuran kadar glukosa darah (T_{g30}). Pengukuran kadar glukosa darah dilakukan kembali pada menit ke-60, 90, dan 120 setelah pemberian glukosa (T_{g60} , T_{g90} , T_{g120})
2		Pemberian suspensi metformin HCl 13 mg/20 g bb		
3		Pemberian suspensi ekstrak etanol 70% buah oyong dosis 13,35 mg/20 g bb		
4		Pemberian suspensi ekstrak etanol 70% buah oyong dosis 26,69 mg/20 g bb		
5		Pemberian suspensi ekstrak etanol 70% buah oyong dosis 53,38 mg/20 g bb		

Keterangan: 1= kontrol induksi glukosa, 2= kontrol metformin, 3= oyong dosis 1, 4= oyong dosis 2, 5= oyong dosis 3

3.4.6.3 Pengambilan Sampel Darah dan Penetapan Kadar Glukosa Darah

Mencit dimasukkan ke dalam kandang khusus sehingga mencit tidak dapat bergerak. Ekor mencit dibersihkan dengan kapas beralkohol 70% lalu dibuat torehan melintang dengan pisau bedah kemudian darah disentuh pada bagian jendela strip uji glukometer untuk penetapan kadar glukosa darah.

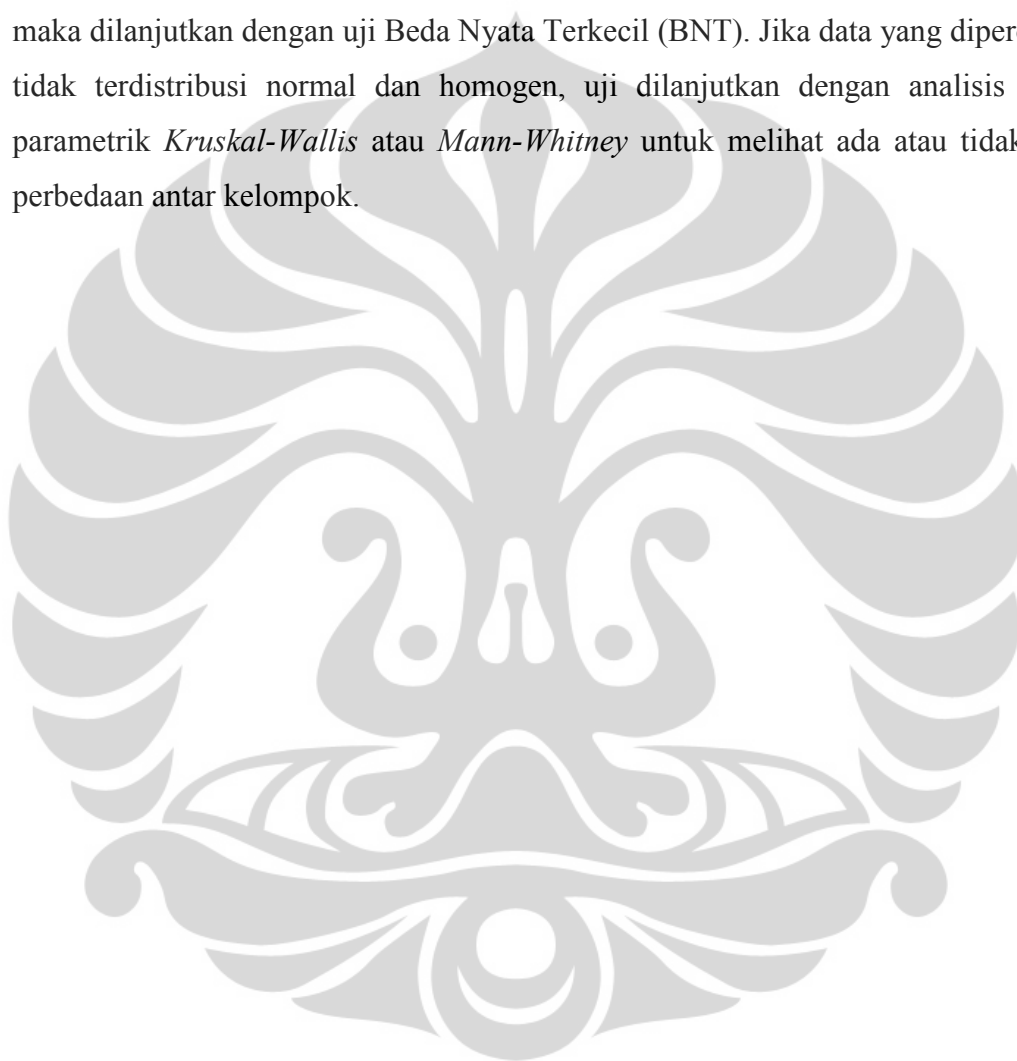
3.4.6.4 Perhitungan Persentase Penurunan Kadar Glukosa Darah

Persentase penurunan (%) dihitung dengan menggunakan rumus:

$$\% = \frac{\bar{x} \text{ kadar glukosa darah kontrol induksi glukosa} - \bar{x} \text{ kadar glukosa darah yang ingin dihitung}}{\bar{x} \text{ kadar glukosa darah kontrol induksi glukosa}} \times 100\%$$

3.4.6.5 Pengolahan Data

Data diolah secara statistik menggunakan SPSS 19. Analisis yang digunakan adalah uji distribusi normal (uji *Saphiro-Wilk*) dan uji homogenitas (uji *Levene*). Jika data yang diperoleh terdistribusi normal dan homogen, uji dilanjutkan dengan analisis varian satu arah (ANOVA) untuk melihat ada atau tidaknya perbedaan antar kelompok. Jika terdapat perbedaan yang signifikan, maka dilanjutkan dengan uji Beda Nyata Terkecil (BNT). Jika data yang diperoleh tidak terdistribusi normal dan homogen, uji dilanjutkan dengan analisis non parametrik *Kruskal-Wallis* atau *Mann-Whitney* untuk melihat ada atau tidaknya perbedaan antar kelompok.



BAB 4

HASIL DAN PEMBAHASAN

4.1 Rendemen Ekstrak Etanol 70% Buah Oyong

Berdasarkan hasil penelitian, rendemen ekstrak etanol 70% buah oyong yang diperoleh adalah 15,25% yang berarti dari 100 g simplisia kering buah oyong yang diekstraksi akan diperoleh 15,25 g ekstrak etanol 70% buah oyong.

4.2 Skrining Fitokimia Kualitatif Ekstrak Etanol 70% Buah Oyong

Hasil skrining fitokimia kualitatif ekstrak etanol 70% buah oyong menunjukkan adanya senyawa alkaloid, glikosida, fenol, tanin, dan flavonoid. Hasil skrining fitokimia kualitatif ekstrak etanol 70% buah oyong secara keseluruhan dapat dilihat pada Tabel 4.1.

Tabel 4.1. Hasil skrining fitokimia kualitatif ekstrak etanol 70% buah oyong

Identifikasi	Tes	Hasil	Keterangan
Alkaloid	Dragendorff	Terbentuk endapan jingga	Positif alkaloid
	Mayer	Tidak terbentuk endapan	
	Bouchardat	Terbentuk endapan coklat	
Glikosida	Molisch	Terbentuk cincin ungu	Positif Glikosida
Antrakuinon	Boritrager termodifikasi	Lapisan benzene berwarna kuning dan setelah ditambahkan amonia encer tidak terjadi perubahan warna	Negatif antrakuinon
Saponin	Busa	Tidak terbentuk busa mantap setinggi 1-10 cm	Negatif saponin
Fenol	FeCl ₃	Terbentuk warna biru hitam	Positif fenol
Tanin	Gelatin/NaCl	Tidak terbentuk endapan	Positif tanin
	Pb(CH ₃ COOH) ₂	Terbentuk endapan putih	
	KLT analitik	Terdapat bercak hitam dengan Rf= 0,57	
Flavonoid	Shinoda (Zn)	Terbentuk warna merah lemah	Positif flavonoid
	Shinoda (Mg)	Terbentuk warna merah lemah	
Terpen	Liebermann-Burchard	Tidak terjadi perubahan warna	Negatif terpen

4.2.1 Identifikasi Alkaloid

Alkaloid umumnya berada dalam bentuk garamnya yang mudah larut di dalam air. Sifat ini dimanfaatkan dalam proses identifikasi keberadaan alkaloid, yaitu penarikan alkaloid dengan larutan asam dari ekstrak tertentu dan selanjutnya direaksikan dengan beberapa reaksi pengendap. Ketika senyawa alkaloid direaksikan dengan larutan pereaksi Dragendorff maka akan terbentuk senyawa adisi yang tidak larut berwarna jingga, sedangkan bila direaksikan dengan larutan pereaksi Mayer akan terbentuk senyawa adisi yang tidak larut berwarna putih atau kuning. Larutan pereaksi Bouchardat akan bereaksi dengan senyawa alkaloid membentuk senyawa kompleks bebas yang kemudian membentuk endapan berwarna coklat hingga hitam. Berdasarkan hasil skrining ekstrak etanol 70% buah oyong, hasil positif diperoleh dengan menggunakan larutan pereaksi Dragendorff dan Bouchardat sehingga dapat dikatakan ekstrak etanol 70% buah oyong mengandung alkaloid. Hasil identifikasi alkaloid pada ekstrak dan pembanding dapat dilihat pada Gambar 4.1.

4.2.2 Identifikasi Glikosida

Pada proses identifikasi glikosida, dilakukan identifikasi terhadap keberadaan gula dengan tes Molisch. Proses hidrolisis dilakukan untuk memecah ikatan glikosida sehingga gula yang telah bebas dapat diidentifikasi dengan tes Molisch. Hasil positif ditunjukkan dengan terbentuknya cincin ungu pada tes Molisch. Pada proses identifikasi ekstrak etanol 70% buah oyong diperoleh hasil demikian sehingga dapat dikatakan ekstrak etanol 70% buah oyong mengandung suatu glikosida. Hasil identifikasi glikosida pada ekstrak dan pembanding dapat dilihat pada Gambar 4.2.

4.2.3 Identifikasi Antrakuinon

Tes Borntrager digunakan untuk mengidentifikasi keberadaan antrakuinon dalam suatu ekstrak. Pada penelitian ini, digunakan tes Borntrager termodifikasi yang perbedaannya dengan tes Borntrager umumnya adalah pada penambahan larutan pereaksi besi (III) klorida pada ekstrak yang telah dihidrolisis. Besi (III) klorida dapat membantu memecah ikatan glikosida pada antrakuinon C-glikosida

sehingga dapat dibebaskan aglikon antrakuinon dari bentuk glikosidanya. Aglikon antrakuinon dapat ditarik dengan pelarut benzene sehingga pada tes Borntrager, lapisan benzene akan berwarna kuning sebagai akibat tertariknya aglikon antrakuinon ke dalam lapisan benzene dan ketika ditambahkan amonia encer, akan dihasilkan warna merah pada lapisan amonia. Berdasarkan hasil skrining, ekstrak etanol 70% buah oyong tidak mengandung antrakuinon. Hasil identifikasi antrakuinon pada ekstrak dan pembanding dapat dilihat pada Gambar 4.3.

4.2.4 Identifikasi Saponin

Dalam cairan, saponin dapat membentuk busa setelah pengocokan dan busa bertahan. Berdasarkan hasil skrining, ekstrak etanol 70% buah oyong tidak mengandung saponin. Hasil identifikasi saponin pada ekstrak dan pembanding dapat dilihat pada Gambar 4.4.

4.2.5 Identifikasi Fenol

Keberadaan senyawa fenol dapat diidentifikasi dengan larutan pereaksi besi (III) klorida. Senyawa kompleks triariloksi hasil reaksi antara besi (III) klorida dengan senyawa fenol menghasilkan warna yang berbeda-beda. Berdasarkan hasil skrining, ekstrak etanol 70% buah oyong mengandung senyawa fenol. Hasil identifikasi fenol pada ekstrak dan pembanding dapat dilihat pada Gambar 4.5.

4.2.6 Identifikasi Tanin

Tanin memiliki kemampuan dalam menyambung-silangkan protein dan dapat mengendap dengan adanya logam berat sehingga jika bereaksi dengan protein dapat membentuk kopolimer mantap yang tidak larut di dalam air dan jika bereaksi dengan logam berat akan mengendap. Sifat ini kemudian dimanfaatkan dalam proses identifikasi keberadaan senyawa tanin dalam suatu ekstrak. Apabila suatu ekstrak mengandung tanin, maka ketika ekstrak tersebut direaksikan dengan larutan gelatin dan larutan natrium klorida akan menghasilkan endapan putih dan ketika direaksikan dengan larutan timbal (II) asetat dalam suasana asam akan menghasilkan endapan. Berdasarkan hasil skrining, hasil positif hanya

ditunjukkan pada tes dengan menggunakan larutan timbal (II) asetat. Hasil negatif pada tes menggunakan larutan gelatin dan larutan natrium klorida mungkin disebabkan oleh rendahnya konsentrasi tanin yang ada di dalam ekstrak sehingga endapan yang terbentuk sulit diamati. Untuk memastikan keberadaan tanin, maka dilakukan deteksi tanin dengan eluen etil asetat-metanol (7:3) dan pembanding *Theae Folium* serta larutan pereaksi besi (III) klorida untuk menampakkan bercak hasil elusi.

Hasil deteksi tanin yang diperoleh adalah terbentuknya bercak berwarna hitam setelah kromatogram hasil elusi disemprotkan dengan larutan pereaksi besi (III) klorida. Warna bercak yang dihasilkan pada hasil elusi ekstrak etanol 70% buah oyong sama dengan warna bercak yang dihasilkan pada hasil elusi pembanding. Berdasarkan hasil-hasil ini, dapat dikatakan bahwa ekstrak etanol 70% buah oyong mengandung tanin. Hasil identifikasi dan deteksi tanin pada ekstrak dan pembanding dapat dilihat pada Gambar 4.6.

4.2.7 Identifikasi Flavonoid

Tes Shinoda digunakan untuk mengidentifikasi keberadaan senyawa flavonoid di dalam suatu ekstrak. Serbuk logam seng atau magnesium dalam suasana asam akan menghasilkan reduktor hidrogen yang akan mereduksi flavonoid sehingga dapat membentuk kompleks berwarna dengan kelebihan logam. Hasil skrining flavonoid ekstrak etanol 70% buah oyong memberikan hasil warna merah lemah dengan kedua logam menandakan bahwa dalam ekstrak etanol 70% buah oyong terkandung senyawa flavonoid dalam konsentrasi yang rendah. Hasil identifikasi flavonoid pada ekstrak dan pembanding dapat dilihat pada Gambar 4.7.

4.2.8 Identifikasi Terpen

Terpen dapat diidentifikasi dengan tes Liebermann-Bouchard. Hasil positif ditunjukkan dengan terbentuknya warna merah-hijau-biru-violet. Berdasarkan hasil skrining, ekstrak etanol 70% buah oyong tidak mengandung senyawa terpen. Hasil identifikasi terpen pada ekstrak dan pembanding dapat dilihat pada Gambar 4.8.

4.3 Standardisasi Ekstrak Etanol 70% Buah Oyong

4.3.1 Organoleptik Ekstrak

Ekstrak Etanol 70% buah oyong yang diperoleh memiliki ciri-ciri organoleptik berupa cairan kental dan lengket berwarna coklat dan berbau aromatik serta berasa asam. Foto ekstrak etanol 70% buah oyong dapat dilihat pada Gambar 4.9.

4.3.2 Kadar Fenolat Total Ekstrak

Berdasarkan hasil pembuatan spektrum serapan larutan standar asam galat berkonsentrasi 500,4 mg/L (Gambar 4.10), maka panjang gelombang maksimum yang digunakan untuk pembuatan kurva kalibrasi dan penentuan kadar fenolat total ekstrak adalah 740 nm. Hasil pengukuran serapan larutan standar asam galat pada berbagai konsentrasi (Tabel 4.2) digunakan untuk membuat kurva kalibrasi (Gambar 4.11) dan akhirnya diperoleh persamaan kurva kalibrasi yang dapat dilihat pada Lampiran 5. Hasil penentuan kadar fenolat total ekstrak etanol 70% buah oyong dapat dilihat pada Tabel 4.3. Kadar fenolat total ekstrak etanol 70% buah oyong rata-rata adalah $19,22 \pm 0,30$ mg/g ekstrak dinyatakan sebagai asam galat.

4.3.3 Susut Pengerinan Ekstrak

Hasil penentuan susut pengerinan ekstrak etanol 70% buah oyong dapat dilihat pada Tabel 4.4. Susut pengerinan ekstrak etanol 70% buah oyong rata-rata adalah $23,79 \pm 0,66\%$.

4.3.4 Kadar Abu Ekstrak

4.3.4.1 Kadar Abu Total

Penentuan kadar abu berhubungan erat dengan kandungan mineral yang terdapat dalam suatu bahan, kemurnian serta kebersihan suatu bahan yang dihasilkan. Semakin tinggi kadar abu maka ada kemungkinan semakin kurang baik dalam hal pembuatan ekstrak. Hasil penentuan kadar abu total ekstrak etanol 70% buah oyong dapat dilihat pada Tabel 4.5. Kadar abu total ekstrak etanol 70% buah oyong rata-rata adalah $2,36 \pm 0,03\%$.

4.3.4.2 Kadar Abu Tidak Larut dalam Asam

Penentuan kadar abu tidak larut dalam asam berhubungan erat dengan kemampuan suatu ekstrak untuk dapat dicerna oleh tubuh (Muhammad, Saeed, Barkatullah, Ibrar, dan Khan, 2012). Keadaan saat abu dilarutkan di dalam pelarut asam menggambarkan keadaan saat ekstrak dicerna di dalam lambung yang memiliki suasana asam. Hasil penentuan kadar abu tidak larut dalam asam ekstrak etanol 70% buah oyong dapat dilihat pada Tabel 4.6. Penentuan kadar abu tidak larut dalam asam ekstrak etanol 70% buah oyong rata-rata adalah $0,52 \pm 0,16$ %.

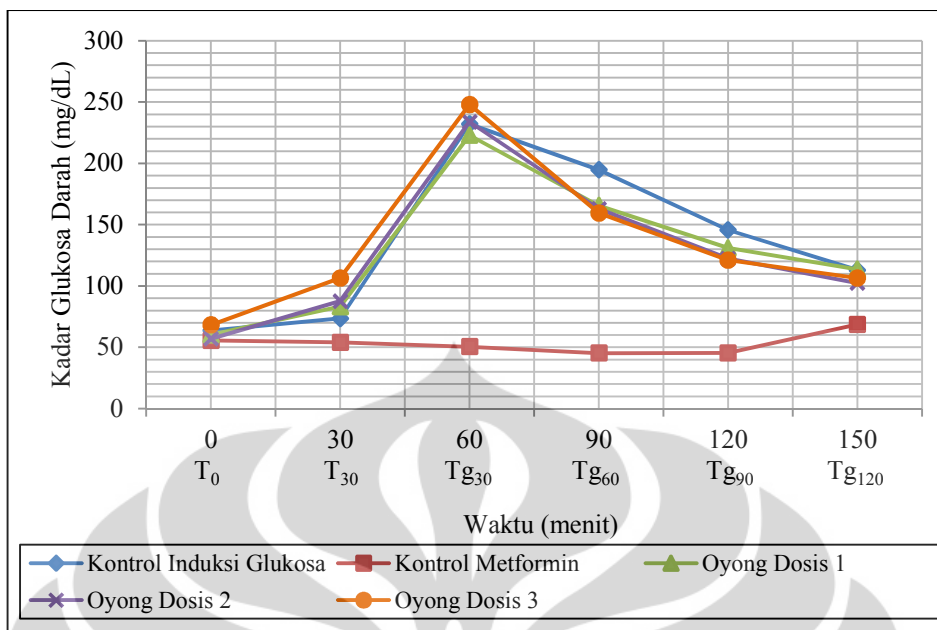
4.4 Efek Ekstrak Etanol 70% Buah Oyong terhadap Kadar Glukosa Darah Mencit

Data kadar glukosa darah mencit dari seluruh kelompok uji pada masing-masing waktu dapat dilihat pada Tabel 4.7. Semua data yang diperoleh terdistribusi normal dan homogen sehingga semua uji statistik yang digunakan adalah uji parametrik. Hasil uji statistik kadar glukosa darah seluruh kelompok uji pada masing-masing waktu dapat dilihat pada Lampiran 6-11.

Tabel 4.8. Kadar glukosa darah rata-rata mencit dari seluruh kelompok uji pada masing-masing waktu

Waktu	Kadar Glukosa Darah Rata-Rata \pm SD (mg/dL)				
	Kontrol Induksi glukosa	Kontrol Metformin	Oyong Dosis 1	Oyong Dosis 2	Oyong Dosis 3
T ₀	63,8 \pm 13,66	55,6 \pm 8,79	60,2 \pm 10,43	57 \pm 9,03	68,2 \pm 15,34
T ₃₀	73,6 \pm 18,25	54 \pm 4,90	83,2 \pm 17,57	87,6 \pm 12,60	106,4 \pm 11,93
Tg ₃₀	232,2 \pm 25,37	50,4 \pm 13,18	223 \pm 34,07	233,8 \pm 30,91	248 \pm 38,19
Tg ₆₀	194,8 \pm 23,10	45,2 \pm 7,22	165,6 \pm 32,15	162,8 \pm 18,58	159,4 \pm 28,80
Tg ₉₀	145,8 \pm 13,44	45,4 \pm 7,22	131 \pm 24,01	122,4 \pm 7,30	121 \pm 15,43
Tg ₁₂₀	113 \pm 8,57	68,6 \pm 13,90	113,6 \pm 22,78	102,4 \pm 20,47	106,4 \pm 9,56

Keterangan: T₀ = Kadar glukosa darah sebelum perlakuan, T₃₀ = Kadar glukosa darah 30 menit setelah perlakuan, Tg₃₀ = Kadar glukosa darah 30 menit setelah pemberian glukosa, Tg₆₀ = Kadar glukosa darah 60 menit setelah pemberian glukosa, Tg₉₀ = Kadar glukosa darah 90 menit setelah pemberian glukosa, Tg₁₂₀ = Kadar glukosa darah 120 menit setelah pemberian glukosa



Keterangan: T₀ = Kadar glukosa darah sebelum perlakuan, T₃₀ = Kadar glukosa darah 30 menit setelah perlakuan, T_{g30} = Kadar glukosa darah 30 menit setelah pemberian glukosa, T_{g60} = Kadar glukosa darah 60 menit setelah pemberian glukosa, T_{g90} = Kadar glukosa darah 90 menit setelah pemberian glukosa, T_{g120} = Kadar glukosa darah 120 menit setelah pemberian glukosa

Gambar 4.12. Grafik kadar glukosa darah rata-rata seluruh kelompok uji pada masing-masing waktu

4.4.1 Kadar Glukosa Darah Sebelum Perlakuan (T₀)

Hasil pengukuran kadar glukosa darah rata-rata pada T₀ memberikan hasil yang cukup beragam. Hal ini disebabkan oleh adanya variasi biologis sehingga sulit diperoleh kadar glukosa darah rata-rata T₀ yang tepat sama antar mencit yang berbeda. Setelah dilakukan pengujian statistik terhadap kadar glukosa darah puasa sebelum perlakuan (T₀), diketahui bahwa kadar glukosa darah puasa antara masing-masing kelompok tidak berbeda bermakna ($p > 0,05$). Hal ini terjadi karena seluruh hewan uji dipuasakan dengan waktu yang sama sebelum perlakuan, sehingga diperoleh kadar glukosa darah puasa yang kurang lebih sama untuk seluruh kelompok uji.

4.4.2 Kadar Glukosa Darah Setelah Perlakuan (T₃₀)

Pada T₃₀, terjadi peningkatan kadar glukosa darah pada kelompok kontrol induksi glukosa dan semua kelompok dosis oyong. Peningkatan kadar glukosa darah yang terjadi pada kelompok oyong semakin tinggi seiring dengan

peningkatan dosis pemberian ekstrak oyong. Hal ini mungkin disebabkan oleh adanya kandungan karbohidrat pada buah oyong yang ikut tersari pada saat pembuatan ekstrak. Setelah dilakukan pengujian statistik terhadap kadar glukosa darah setelah perlakuan, terdapat perbedaan yang bermakna pada kadar glukosa darah antara kelompok oyong dosis 3 dengan kelompok kontrol induksi glukosa, oyong dosis 1, dan oyong dosis 2 ($p < 0,05$). Sekalipun demikian, tidak terdapat perbedaan yang bermakna antara kelompok kontrol induksi glukosa dengan kelompok oyong dosis 1 dan 2. Pada kelompok kontrol metformin, tidak terjadi peningkatan kadar glukosa darah dan hal ini mengakibatkan terjadi perbedaan yang bermakna ($p < 0,05$) antara kelompok kontrol metformin dengan kontrol induksi glukosa dan semua kelompok dosis oyong.

4.4.3 Kadar Glukosa Darah 30 menit Setelah Pemberian Glukosa (T_{g30})

Pada T_{g30} , kembali terjadi peningkatan kadar glukosa darah pada kelompok kontrol induksi glukosa dan semua kelompok dosis oyong. Pada kelompok kontrol induksi glukosa peningkatan kadar glukosa mencapai rata-rata 232,2 mg/dL. Hal ini disebabkan karena pada menit ke-30 setelah pembebanan glukosa, sebagian besar glukosa sudah diabsorpsi dari saluran cerna dan masuk ke dalam pembuluh darah. Pada kelompok oyong, peningkatan kadar glukosa darah yang terjadi lebih tinggi dari kelompok kontrol induksi glukosa. Seiring dengan peningkatan dosis, diperoleh kadar glukosa darah yang lebih tinggi. Sekalipun demikian, tidak terdapat perbedaan yang bermakna di antara keempat kelompok tersebut ($p > 0,05$). Hal ini menunjukkan bahwa ekstrak etanol 70% buah oyong belum memberikan efek penurunan kadar glukosa darah pada menit ke-30 setelah pemberian glukosa.

Sebaliknya, pada kelompok kontrol metformin terjadi penurunan kadar glukosa darah. Setelah dilakukan pengujian statistik, terdapat perbedaan yang bermakna antara kelompok kontrol metformin dengan kelompok kontrol induksi glukosa dan semua kelompok dosis oyong ($p < 0,05$). Hal ini menunjukkan bahwa metformin HCl sudah memberikan efek penurunan kadar glukosa darah yang signifikan pada menit ke-30 setelah pemberian glukosa. Rendahnya kadar glukosa darah pada kelompok kontrol metformin mungkin disebabkan oleh faktor biologis

hewan uji, dalam hal ini adalah mencit, yang lebih peka terhadap efek hipoglikemik dari metformin HCl.

4.4.4 Kadar Glukosa Darah 60 menit Setelah Pemberian Glukosa (T_{g60})

Enam puluh menit setelah pemberian glukosa, kadar glukosa darah pada kelompok kontrol induksi glukosa sudah turun menjadi 194,8 mg/dL, sedangkan kadar glukosa darah pada kelompok oyong dosis 1, dosis 2 dan dosis 3 secara berturut-turut turun menjadi 165,6; 162,8; dan 159,4 mg/dL. Pada hasil ini, kadar glukosa darah pada masing-masing kelompok dosis oyong terlihat menjadi lebih rendah dibandingkan dengan kelompok kontrol induksi glukosa. Untuk mengetahui apakah perbedaan tersebut bermakna atau tidak, maka dilakukan uji statistik.

Hasil uji statistik ANOVA pada T_{g60} memberikan nilai $p < 0,05$ yang menunjukkan terdapat perbedaan yang bermakna antar kelompok. Setelah dilakukan uji BNT, terdapat perbedaan yang bermakna antara kadar glukosa darah pada kelompok oyong dosis 2 dan 3 dengan kelompok kontrol induksi glukosa ($p < 0,05$). Hal ini menunjukkan bahwa ekstrak etanol 70% buah oyong dosis 2 dan 3 telah memberikan efek penurunan kadar glukosa darah pada menit ke-60 setelah pemberian glukosa. Pada variasi dosis, diharapkan akan terjadi variasi dari efek penurunan glukosa darah. Uji BNT yang dilakukan menunjukkan bahwa tidak terdapat perbedaan yang bermakna sehingga dapat disimpulkan bahwa pemberian ekstrak etanol 70% buah oyong dengan dosis 2 dan 3 memiliki efek penurunan kadar glukosa darah yang sama pada menit ke-60 setelah pemberian glukosa.

Sampai saat ini, belum ada penelitian yang membuktikan mekanisme kerja dari buah oyong dalam menurunkan kadar glukosa darah. Penelitian yang sudah ada pada umumnya mengarah pada senyawa-senyawa flavonoid sebagai senyawa berkhasiat dari buah oyong (Sharma dan Arya, 2011). Jika dilihat dari hasil skrining fitokimia kualitatif ekstrak etanol 70% buah oyong, maka senyawa-senyawa yang diduga memberikan efek menurunkan kadar glukosa darah adalah alkaloid, fenol, dan flavonoid. Senyawa-senyawa flavonoid dan polifenol telah diketahui dapat mempengaruhi metabolisme karbohidrat pada berbagai tahap, yaitu pada absorpsi glukosa di saluran cerna, sekresi insulin, dan ambilan glukosa

pada jaringan perifer (Pandey dan Rizvi, 2009; Brahmachari, 2011). Senyawa flavonoid tertentu bahkan dapat bekerja seperti insulin (insulinomimetik) dalam menurunkan kadar glukosa darah. Senyawa alkaloid bekerja menurunkan kadar glukosa darah dengan cara menurunkan produksi glukosa hepatic dan absorpsi glukosa di saluran cerna serta meningkatkan ambilan glukosa pada jaringan perifer (Zhang, *et al.*, 2008; Bhavna Sharma, Salunke, Balomajumder, Daniel, dan Roy, 2010). Keberadaan senyawa-senyawa ini di dalam ekstrak etanol 70% buah oyong dapat membantu menurunkan kadar glukosa darah yang tinggi akibat beban glukosa yang diberikan.

4.4.5 Kadar Glukosa Darah 90 menit Setelah Pemberian Glukosa (Tg₉₀)

Pada Tg₉₀, kadar glukosa darah pada kelompok kontrol induksi glukosa mencapai 145,8 mg/dL, sedangkan pada kelompok dosis 1, dosis 2 dan dosis 3, kadar glukosa darah mencapai 131; 122,4; dan 121 mg/dL. Nilai pada masing-masing kelompok dosis masih lebih rendah dibandingkan dengan kelompok kontrol induksi glukosa. Hal ini menunjukkan bahwa ekstrak etanol 70% buah oyong masih memberikan efek penurunan kadar glukosa darah pada menit ke-90 setelah pemberian glukosa. Untuk mengetahui apakah perbedaan tersebut bermakna atau tidak, maka dilakukan uji statistik.

Hasil uji statistik ANOVA pada Tg₉₀ memberikan nilai $p < 0,05$ yang menunjukkan terdapat perbedaan yang bermakna antar kelompok. Berdasarkan uji BNT, kadar glukosa darah berbeda bermakna antara kelompok kontrol induksi glukosa dengan kelompok oyong dosis 2 dan 3 ($p < 0,05$), tetapi tidak bermakna dengan dosis 1 ($p > 0,05$). Uji BNT pada dosis 2 dan dosis 3 menunjukkan bahwa tidak terdapat perbedaan yang bermakna ($p > 0,05$). Oleh karena itu, dapat disimpulkan bahwa pada pada menit ke-90 setelah pemberian glukosa, dosis 2 dan dosis 3 ekstrak etanol 70% buah oyong masih memiliki efek yang sama dalam menurunkan kadar glukosa darah.

4.4.6 Kadar Glukosa Darah 120 menit Setelah Pemberian Glukosa (Tg₁₂₀)

Pada Tg₁₂₀, kadar glukosa darah pada kelompok kontrol induksi glukosa dan kelompok dosis 1, 2, dan 3 berada pada kisaran yang hampir sama, yaitu

sekitar 102,4-113,6 mg/dL. Setelah dilakukan uji normalitas dan homogenitas, diperoleh data yang terdistribusi normal dan homogen. Hasil uji statistik ANOVA pada Tg_{120} memberikan nilai $p < 0,05$ yang menunjukkan terdapat perbedaan yang bermakna antar kelompok. Setelah dilakukan uji BNT, diketahui bahwa perbedaan bermakna terdapat hanya pada kelompok kontrol pembanding dengan kelompok kontrol induksi glukosa dan semua kelompok dosis oyong. Antara kelompok kontrol induksi glukosa dan kelompok oyong dosis 1, 2, dan 3 tidak terdapat perbedaan yang bermakna ($p > 0,05$). Hal ini menunjukkan bahwa ekstrak etanol 70% buah oyong dosis 1, 2, dan 3 sudah tidak memiliki efek penurunan kadar glukosa darah pada menit ke-120 setelah pemberian glukosa.

4.4.7 Perhitungan Persentase Penurunan Kadar Glukosa Darah

Perhitungan persentase penurunan kadar glukosa darah dilakukan dengan membandingkan penurunan kadar glukosa darah kelompok oyong dosis 1, 2, dan 3 dengan kadar glukosa darah kelompok kontrol induksi glukosa. Perhitungan persentase penurunan kadar glukosa darah hanya dilakukan pada Tg_{60} dan Tg_{90} karena pada waktu-waktu tersebut diamati efek yang bermakna secara statistik.

Tabel 4.9. Hasil perhitungan persentase penurunan kadar glukosa darah

Waktu	Persentase Penurunan Kadar Glukosa Darah (%)			
	Kontrol Metformin	Oyong Dosis 1	Oyong Dosis 2	Oyong Dosis 3
Tg_{60}	76,80	14,80	16,43	18,17
Tg_{90}	68,86	10,15	16,05	17,01

Hasil perhitungan persentase penurunan kadar glukosa darah menunjukkan bahwa pada Tg_{60} dan Tg_{90} kelompok oyong memiliki nilai yang berbeda-beda. Dosis 3 lebih baik dibandingkan dengan dosis 2 dan dosis 2 lebih baik dibandingkan dengan dosis 1 pada Tg_{60} dan Tg_{90} dalam menurunkan kadar glukosa darah. Akan tetapi, uji statistik terhadap kadar glukosa darah di atas menunjukkan bahwa walaupun terdapat perbedaan persentase penurunan kadar glukosa darah, perbedaan ini tidak bermakna secara statistik. Berdasarkan

pembahasan-pembahasan ini, dapat disimpulkan bahwa pemberian ekstrak etanol 70% buah oyong dapat menurunkan kadar glukosa darah yang bermakna secara statistik pada menit ke-60 dan 90 setelah pemberian glukosa dengan dosis 26,69 dan 53,38 mg/20 g bb mencit.



BAB 5

KESIMPULAN DAN SARAN

5.1 Kesimpulan

Pemberian ekstrak etanol 70% buah oyong dengan dosis 26,69 dan 53,38 mg/20 g bb mencit dapat menurunkan kadar glukosa darah yang bermakna secara statistik pada menit ke-60 dan 90 setelah pemberian glukosa dengan persentase penurunan kadar glukosa darah sebesar 16-18%.

5.2 Saran

Penelitian lebih lanjut perlu dilakukan untuk mengetahui efek hipoglikemik ekstrak etanol 70% buah oyong pada model hewan uji diabetes melitus yang diinduksi aloksan atau streptozotisin yang lebih mewakili penyakit diabetes melitus. Penelitian untuk mengetahui senyawa aktif yang berperan beserta mekanismenya dalam menurunkan kadar glukosa darah juga perlu dilakukan.

DAFTAR ACUAN

- Adnyana, I Ketut, Rachmawati, H., dan Tadjudin, N.A. (2008). *Hepatoprotective activity of saponin fraction of oyong seeds (Luffa acutangula (L.) Roxb) on liver fibrocytic rat-induced with CCl₄*. Karya dipresentasikan di International Conference on Mathematics and Natural Sciences, Bandung.
- Adnyana, I. Ketut, Sigit, Joseph I., Samuels, Eveline C., dan Srani, Tennia P. (2007). Aktivitas antidiabetes dan profil keamanan ekstrak daging biji oyong (*Luffa acutangula L. Roxb*). *Jurnal Acta Pharmaceutica Indonesia*, 32 (2). Januari 5, 2012. <http://trial.fa.itb.ac.id/grant/lihat.php?j=2&id=57>
- American Diabetes Association. (2011). Standards of medical care in diabetes-2011. *Diabetes Care*, 34 (1), 11-61.
- Andayani, R., Lisawati, Y., dan Maimunah. (2008). Penentuan aktivitas antioksidan, kadar fenolat total, dan likopen pada buah tomat (*Solanum lycopersicum L.*). *Jurnal Sains dan Teknologi Farmasi*, 13 (1), 1-9.
- Andrikopoulos, Sofianos, Blair, Amy R., Deluca, Nadia, Fam, Barbara C., dan Proietto, Joseph. (2008). Evaluating the glucose tolerance test in mice. *American Journal of Physiology*, 295, E1323-E1332.
- Azza, Sauqina S. (2011). *Mencegah dan mengobati penyakit dengan sayuran*. Jakarta: Klik Publishing., 116.
- Badan Pengawas Obat dan Makanan Republik Indonesia. (2005). Standardisasi ekstrak tumbuhan obat Indonesia, salah satu tahapan penting dalam pengembangan obat asli Indonesia. *Info POM*, 6 (4), 1-5.
- Brahmachari, Goutam. (2011). Bio-flavonoids with Promising Antidiabetic Potentials: A Critical Survey. Dalam Vinod K. Tiwari dan Bhuwan B. Mishra (Ed.). *Opportunity, Challenge and Scope of Natural Products in Medicinal Chemistry* (hal 187-212). Kerala: Research Signpost., 204-205.
- Departemen Kesehatan Republik Indonesia. (1989). *Materia medika Indonesia jilid V*. Jakarta: Departemen Kesehatan RI., 319.
- Departemen Kesehatan Republik Indonesia. (1995). *Materia medika Indonesia jilid VI*. Jakarta: Departemen Kesehatan RI., 333-337.
- Departemen Kesehatan Republik Indonesia. (2000). *Parameter standar umum ekstrak tumbuhan obat*. Jakarta: Departemen Kesehatan RI., 7-11, 13-38.
- Diabetes UK (2011). *Different types of diabetes medication: DPP-4 inhibitors (gliptins)*. Januari 20, 2012. <http://www.diabetes.org.uk/Guide-to-diabetes/Treatments/Medication/Different-types-of-diabetes-medication/DPP-4-inhibitors-gliptins/>

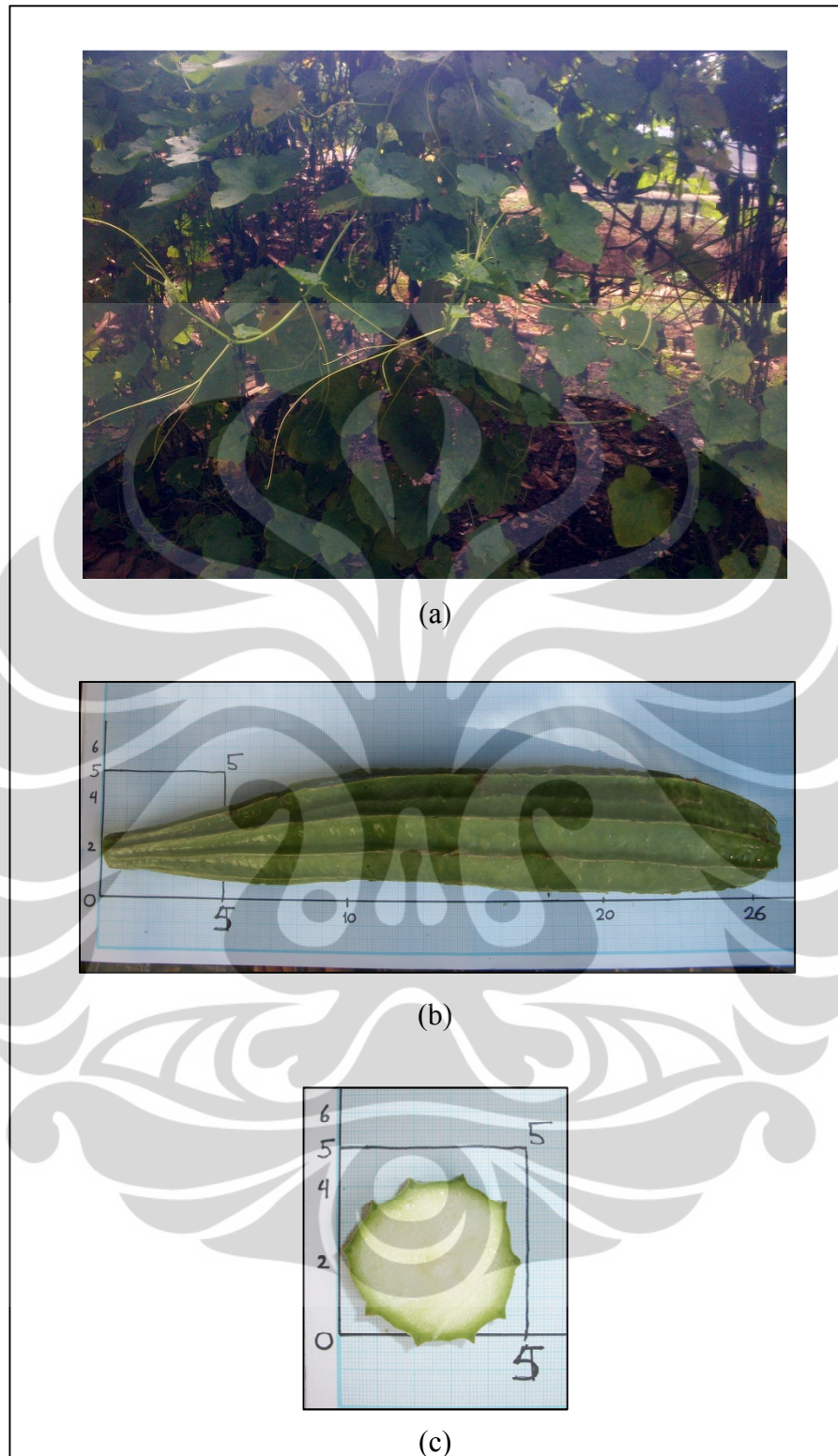
- Dubowski, Kurt M. (2008). An o-toluidine method for body-fluid glucose determination. *Clinical Chemistry*, 54 (11), 1919-1920.
- Etuk, E.U. (2010). Animals Models for studying diabetes mellitus. *Agriculture and Biology Journal of North America*, 1 (2), 130-134.
- Federiuk, Issac F., Casey, Heather M., Quinn, Matthew J., Wood, Michael D., dan Ward, W.K. (2004). Induction of type-1 diabetes mellitus in laboratory rats by use of alloxan: Route of administration, pitfalls, and insulin treatment. *Comparative Medicine*, 54 (3), 252-257.
- Goldstein, David E., et al. (2004). Tests of glycemia in diabetes. *Diabetes Care*, 27 (7), 1761-1773.
- Hill, Brian. (2005). Accu-Chek[®] Advantage: Electrochemistry for diabetes management. *Current Separations*, 21 (2), 45-48.
- Hones, J., Muller, P., dan Surridge, N. (2008). The technology behind glucose meters: Test strips. *Diabetes Technology and Therapeutics*, 10 (1), 10-26.
- Jadhav, Vishal B., Thakare, Vishnu N., Suralkar, Anupama A., Deshpande, Avinash D., Naik, Suresh R. (2010). Hepatoprotective activity of *Luffa acutangula* against CCl₄ and rifampicin induced liver toxicity in rats: A biochemical and histopathological evaluation. *Indian Journal of Experimental Biology*, 48, 822-829.
- Jusman, Sri Widia A. Dan Halim, Abdul. (2009). Oxidative stress in liver tissue of rat induced by chronic systemic hypoxia. *Makara Seri Kesehatan*, 13 (1), 34-38.
- Jyothi, V., Ambati, S., dan Jyothi, V.A. (2010). The Pharmacognostic, phytochemical and pharmacological profile of *Luffa acutangula*. *International Journal of Pharmacy and Technology*, 2 (4), 512-524.
- Kalaskar, Mohan G. dan Surana, Sanjay J. (2010). Pharmacognostic and phytochemical investigation of *Luffa acutangula* var. *Amara* fruits. *International Journal of PharmTech Research*, 2 (2), 1609-1614.
- Kartesz, John T. (2000). *Luffa acutangula* (L.) Roxb. Januari 8, 2012. PLANTS Database.
- Katzung, Bertram G., Masters, Susan B., dan Trevor, Anthony J. (2009). *Basic and Clinical Pharmacology*. (Ed. ke-11). New York: McGraw-Hill Medical., 946.
- Lenzen, S. (2008). The mechanisms of alloxan and streptozotocin-induced diabetes. *Diabetologia*, 51, 216-226.
- McMillin, J.M. (1990). Blood Glucose. Dalam H.K. Walker, W.D. Hall, dan J.W. Hurst (Ed.). *Clinical Methods: The History, physical, and Laboratory* (hal 662-665). (Ed. ke-3). Boston: Butterworths.,663.

- Muhammad, Naveed, Saeed, Muhammad, Barkatullah, Ibrar, Muhammad, dan Khan, Harron. (2012). Pharmacognostic Studies of *Viola betonicifolia*. *African Journal of Pharmacy and Pharmacology*, 6 (1), 43-47.
- Owiredu, W.K.B.A., Amegatcher, G., dan Amidu, N. (2009). Precision and accuracy of the three blood glucose meters: Accu-Chek Advantage, One Touch Horizon, and Sensocard. *Journal of Medical Sciences*, 9 (4), 185-193.
- Pandey, Kanti Bhooshan dan Rizvi, Syed Ibrahim. (2009). Plant Polyphenols as Dietary Antioxidants in Human Health and Disease. *Oxidative Medicine and Cellular Longevity*, 2 (5), 270-278.
- Patil, Priyanka S., Patel, M.M., Bhavsar, C.J. (2010). Comparative antidiabetic activity of some herbal plants extracts. *Pharma Science Monitor: An International Journal of Pharmaceutical Sciences*, 1 (1), 12-19.
- Pimple, B.P., Kadam, P.V., dan Patil, M.J. (2011). Antidiabetic and antihyperlipidemic activity of *Luffa acutangula* fruit extracts in streptozotocin induced NIDDM rats. *Asian Journal of Pharmaceutical and clinical research*, 4 (2), 156-163.
- Price, Sylvia A. Dan Wilson, Lorraine McCarty. (2002). *Patofisiologi Konsep Klinis Proses-Proses Penyakit* (Brahm U. Pendit, Huriawati Hartanto, Pita Wulansari, dan Dewi Asih Mahanani, Penerjemah.). (Ed. ke-6). Vol. 2. Jakarta: EGC Penerbit Buku Kedokteran., 1260-1265.
- Purwaningsih, Endang dan Susmiarsih, T. (1998). Efek spermatisida ekstrak biji oyong (*Luffa acutangula*, Roxb) terhadap motilitas viabilitas spermatozoa in vitro. *Jurnal Kedokteran YARSI*, 6 (3), 17-27. Januari 15, 2012. http://perpus.yarsi.ac.id/baru1/common.php?page=tampil_majalah_all&kode=6796
- Purwaningsih, Endang. (2000). Pengaruh pemberian ekstrak juice buah oyong muda tanpa biji (*Luffa acutangula* R) secara in vitro terhadap kualitas sperma. *Jurnal Kedokteran YARSI*, 8 (2), 70-74. Januari 15, 2012. http://perpus.yarsi.ac.id/baru1/common.php?page=tampil_majalah_all&kode=6276
- Quanico, Jusal P., Amor, Evangeline C., Perez, Grace G. (2008). Analgesic and hypoglycemic activities of *Bixa orellana*, *Kyllinga monocephala* and *Luffa acutangula*. *Philippine Journal of Science*, 137(1), 69-76.
- Republika Newsroom. (2009). *Oyong sebagai antidiabetes*. Januari 2, 2012. http://republika.co.id:8080/berita/70882/Oyong_Sebagai_Antidiabetes
- Roche Diagnostics. (2006). *Accuracy and precision performance of the Accu-Chek® Advantage and Accu-Chek® Comfort Curve system*. Maret 17, 2012. http://www.accu-chek-assist.ca/en_CA/act/en_CA/pdf/DC-ART-04774434002_ENWEB.pdf

- Sacks, David B., *et al.* (2011). Guidelines and recommendations for laboratory analysis in the diagnosis and management of diabetes mellitus. *Diabetes Care*, 34, 61-99.
- Saifudin, A., Rahayu, V., dan Teruna, Hilwan Y.. (2011). *Standardisasi Bahan Obat Alam*. Yogyakarta: Graha Ilmu), 13-18, 21-85.
- Sari, Lusita Oktora Ruma Kumala. (2006). Pemanfaatan obat tradisional dengan pertimbangan manfaat dan keamanannya. *Majalah Ilmu Kefarmasian*, 3 (1), 1-7.
- Sharma, Bhavna, Salunke, Rajani, Balomajumder, Chandrajeet, Daniel, Supriya, dan Roy, Partha. (2010). Anti-diabetic potential of alkaloid rich fraction from *Capparis decidua* on diabetic mice. *Journal of Ethnopharmacology*, 127 (2), 457-462.
- Sharma, Rohini dan Arya, Vikrant. (2011). A review on fruits having anti-diabetic potential. *Journal of Chemical and Pharmaceutical Research*, 3 (2), 204-212.
- Soladoye, M.O. dan Adebisi, A.A. (2004). *Luffa acutangula (L.) Roxb.* Januari 15, 2012. PROTA database.
- Suherman, Suharti K. (2007). Insulin dan antidiabetik oral. Dalam Sulistia Gan Gunawan, Rianto Setiabudy, Nafrialdi, dan Elysabeth (Ed.). *Farmakologi dan terapi* (hal 481-495). (Ed. ke-5). Jakarta: Departemen Farmakologi dan Terapeutik Fakultas Kedokteran Universitas Indonesia., 489.
- Sukandar, E.Y., Andrajati, R., Sigit, J.I., Adnyana, I Ketut., Setiadi, A.A.P., dan Kusnandar. (2008). *ISO Farmakoterapi*. Jakarta: PT. ISFI Penerbitan., 26-27.
- Susanto, H., Nesse, W., Dijkstra, Pieter U., Agustina, D., Vissink, A., dan Abbas, F. (2010). Periodontitis prevalence and severity in Indonesians with type 2 diabetes. *Journal of Periodontology*, 82 (4), 550-557.
- Szkudelski, T. (2001). The mechanism of alloxan and streptozotocin action in B cells of the rat pancreas. *Physiological Research*, 50, 536-546.
- Tiwari, P., Kumar, B., Kaur, M., Kaur, G., dan Kaur, H. (2011). Phytochemical screening and extraction: A review. *International Pharmaceutica Scientia*, 1 (1), 98-106.
- Wild, S., Roglic, G., Green, A., Sicree, R., dan King, H. (2004). Global prevalence of diabetes. *Diabetes Care*, 27 (5), 1047-1053.
- World Health Organization. (2006). *Glucose - Glucose Oxidase Method*. Januari 20, 2012. http://www.searo.who.int/en/Section10/Section17/Section53/Section481_1753.htm
- World Health Organization. (2011). *Diabetes*. Januari 2, 2012. <http://who.int/dietphysicalactivity/publications/facts/diabetes/en/>

Zhang Yifei, *et al.* (2008). Treatment of type 2 diabetes and dyslipidemia with the natural plant alkaloid berberine. *Journal of Clinical Endocrinology and Metabolism*, 93 (7), 2559-2565.



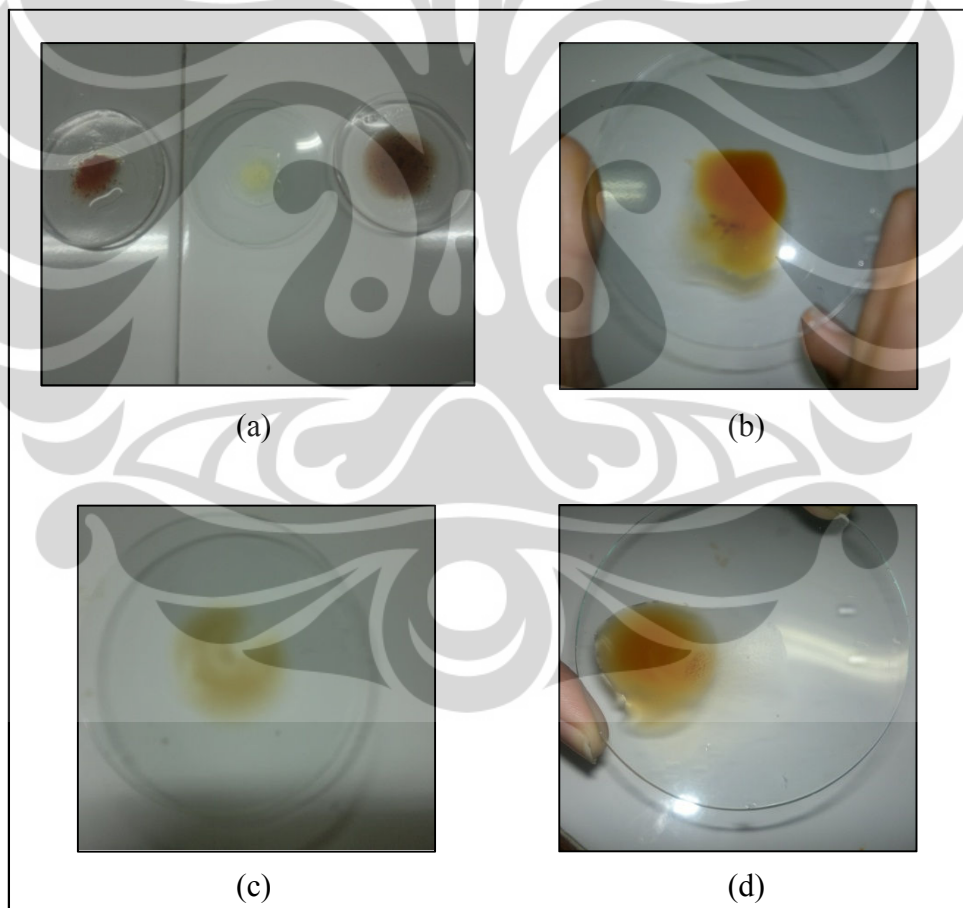


Keterangan: (a) Batang dan daun tumbuhan oyong; (b) Buah oyong; (c) Penampang melintang buah oyong

Gambar 2.1. Tumbuhan oyong (*Luffa acutangula* (L.) Roxb.)

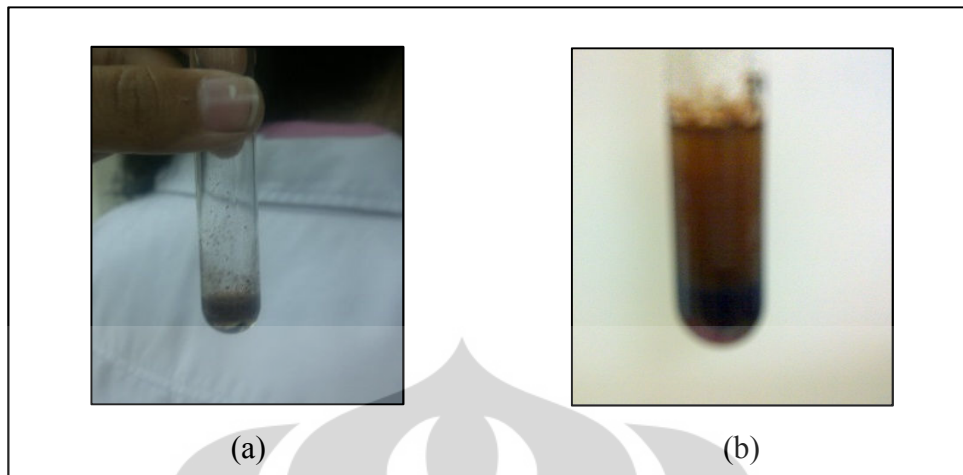


Gambar 3.1. Glukometer *AccuChek Advantage II*



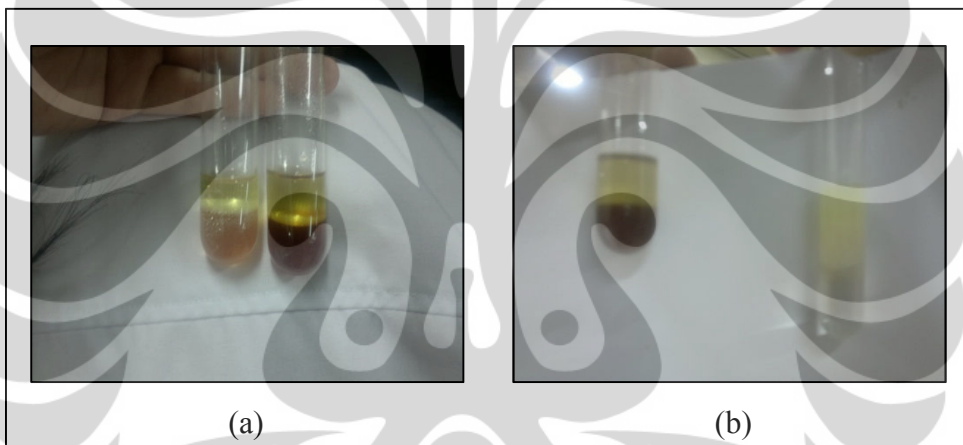
Keterangan: (a) Hasil reaksi (berturut-turut dari sebelah kiri ke kanan) Dragendorff, Mayer, dan Bouchardat pembanding; (b) Hasil reaksi Dragendorff ekstrak; (c) Hasil reaksi Mayer ekstrak; (d) Hasil reaksi Bouchardat ekstrak

Gambar 4.1. Hasil identifikasi alkaloid



Keterangan: (a) Hasil reaksi Molisch pembanding; (b) Hasil reaksi Molisch ekstrak

Gambar 4.2. Hasil identifikasi glikosida

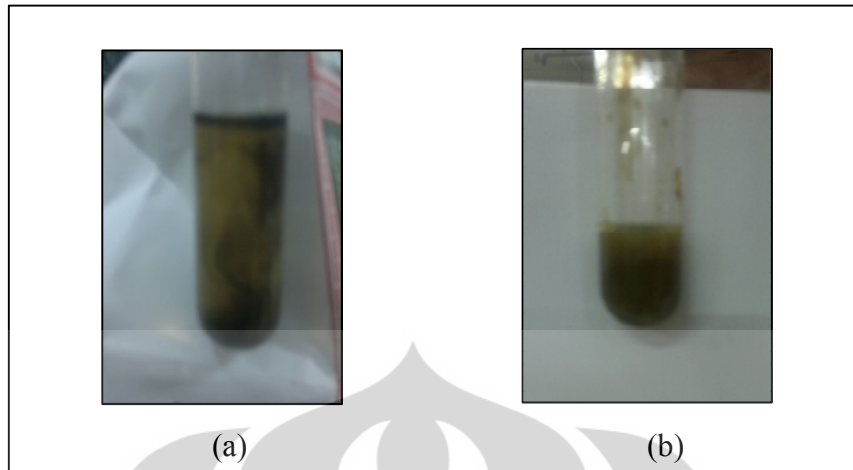


Keterangan: (a) Hasil reaksi Borntrager termodifikasi pembanding (berturut-turut dari sebelah kiri ke kanan) setelah ditambahkan amonia dan sebelum ditambahkan amonia; (b) Hasil reaksi Borntrager termodifikasi ekstrak (berturut-turut dari sebelah kiri ke kanan) sebelum ditambahkan amonia dan setelah ditambahkan amonia

Gambar 4.3. Hasil identifikasi antrakuinon

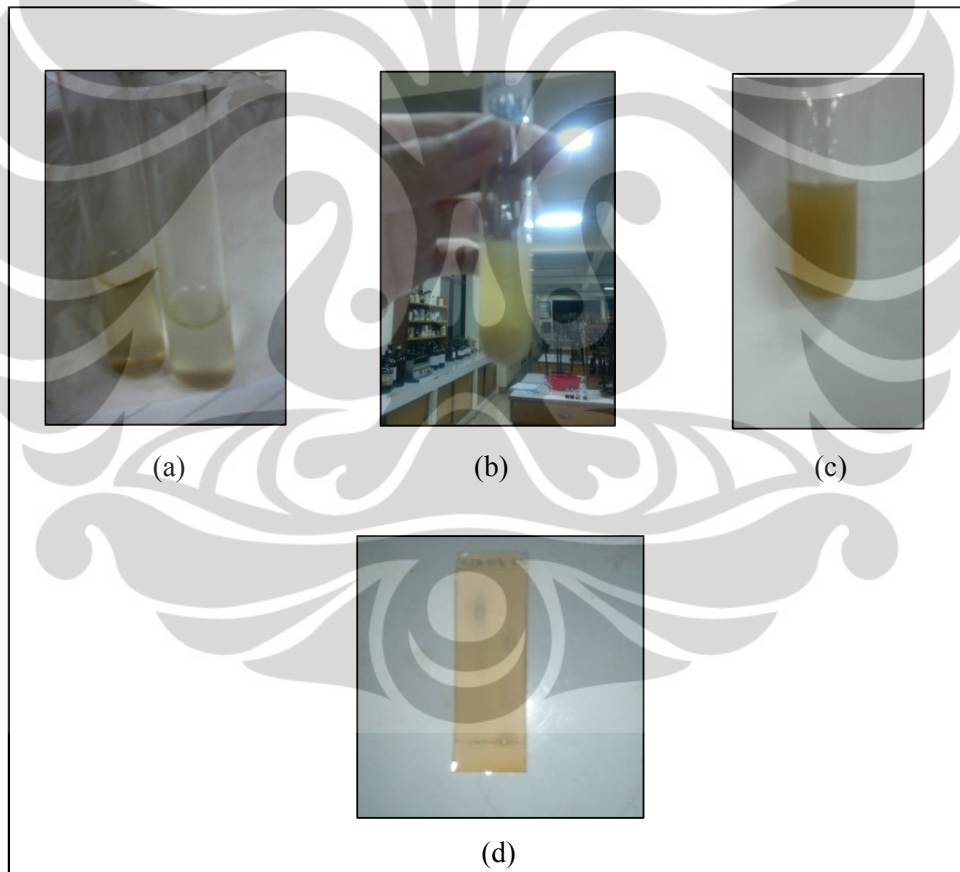


Gambar 4.4. Hasil identifikasi saponin (berturut-turut dari sebelah kiri ke kanan) ekstrak dan pembanding



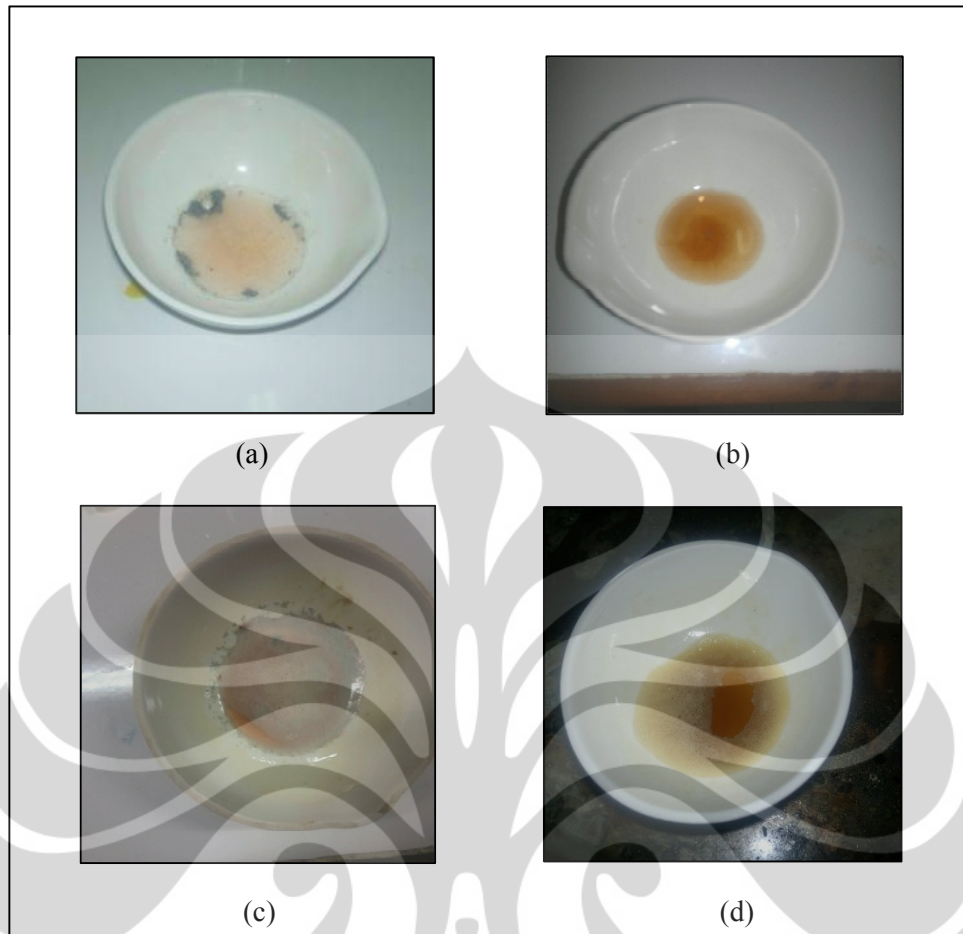
Keterangan: (a) Hasil reaksi besi (III) klorida dengan pembanding; (b) Hasil reaksi besi (III) klorida dengan ekstrak

Gambar 4.5. Hasil identifikasi fenol



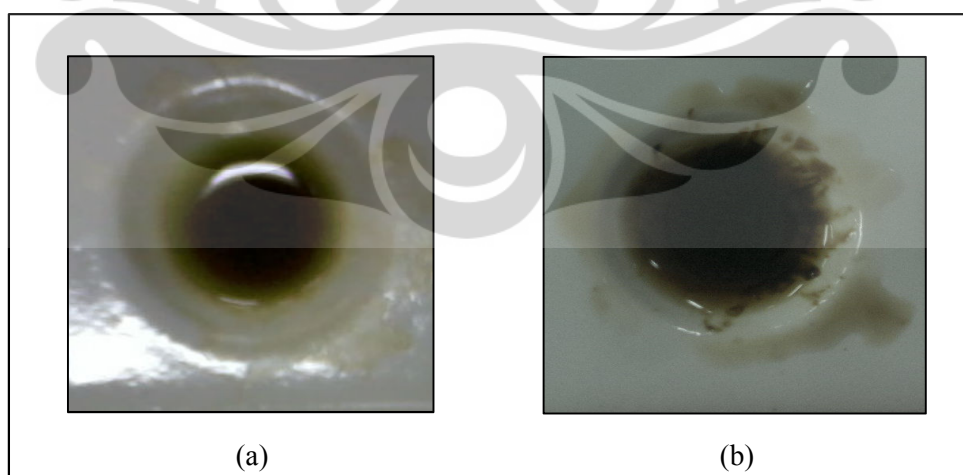
Keterangan: (a) Hasil reaksi (berturut-turut dari sebelah kiri ke kanan) timbal (II) asetat dan gelatin/NaCl dengan pembanding; (b) Hasil reaksi timbal (II) asetat dengan ekstrak; (c) Hasil reaksi gelatin/NaCl dengan ekstrak; (d) Hasil deteksi tanin dengan eluen etil asetat-metanol (7:3) pembanding (totolan sebelah kiri) dan ekstrak (totolan sebelah kanan)

Gambar 4.6. Hasil identifikasi tanin



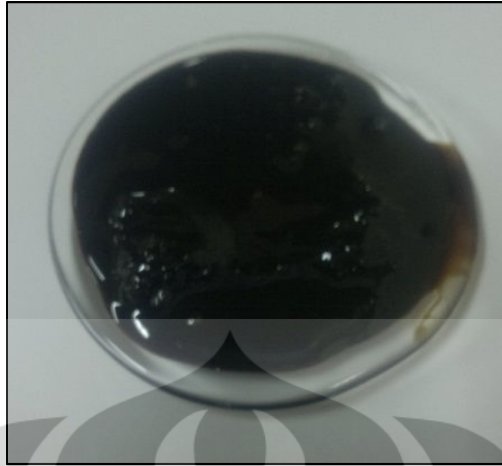
Keterangan: (a) Hasil reaksi Shinoda (dengan logam seng) pembanding; (b) Hasil reaksi Shinoda (dengan logam magnesium) pembanding; (c) Hasil reaksi Shinoda (dengan logam seng) ekstrak; (d) Hasil reaksi Shinoda (dengan logam magnesium) ekstrak

Gambar 4.7. Hasil identifikasi flavonoid

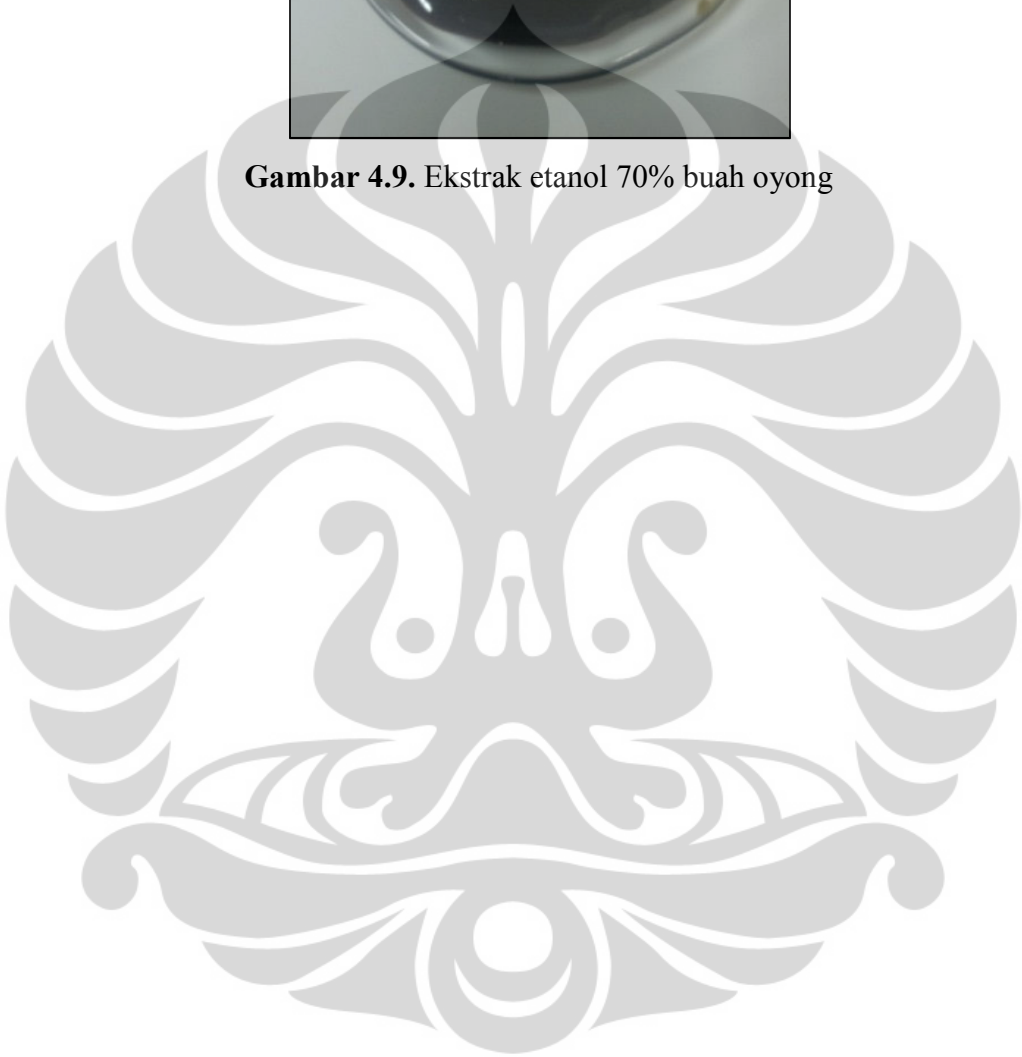


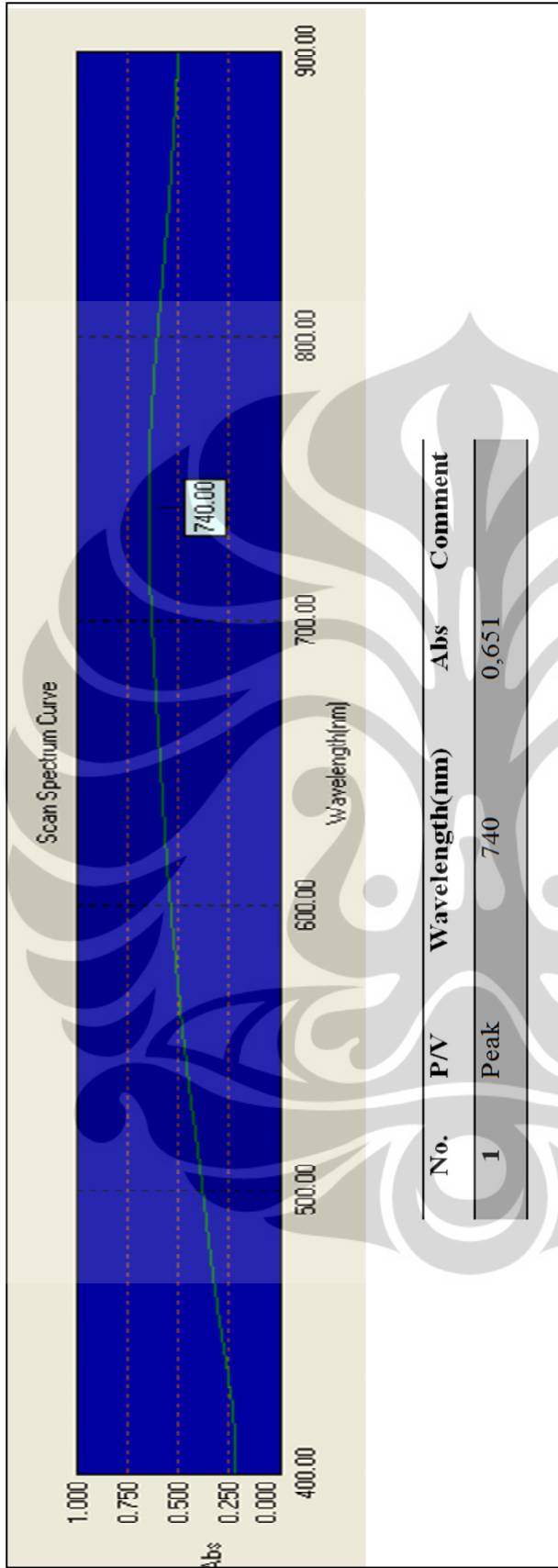
Keterangan: (a) Hasil reaksi Liebermann-Burchard pembanding; (b) Hasil reaksi Liebermann-Burchard ekstrak

Gambar 4.8. Hasil identifikasi terpen

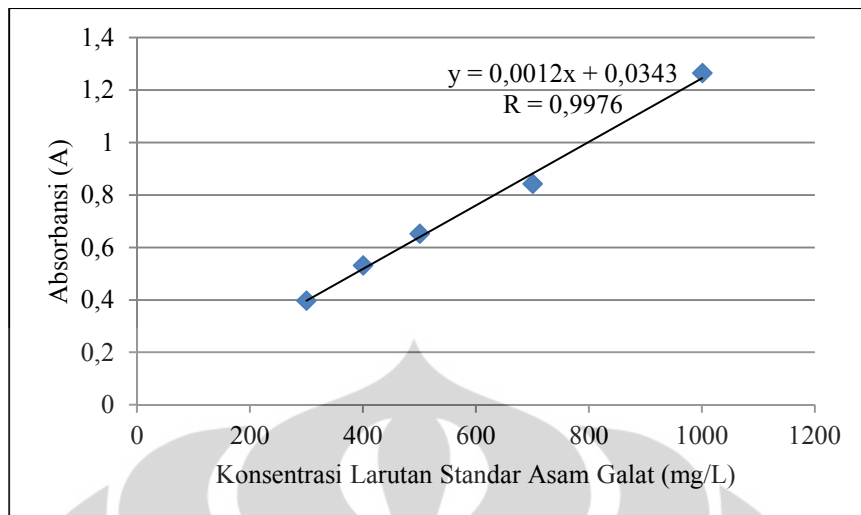


Gambar 4.9. Ekstrak etanol 70% buah oyong

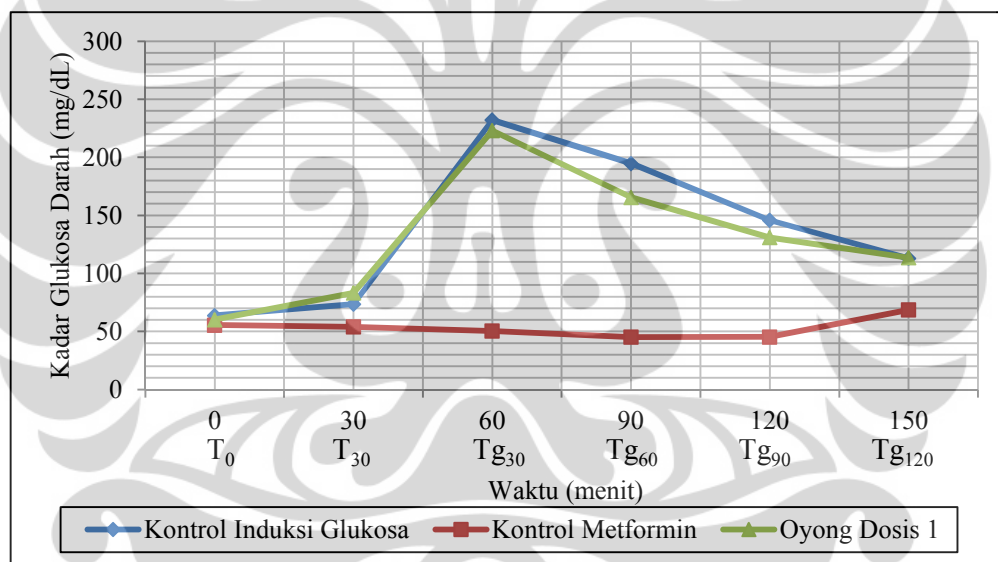




Gambar 4.10. Spektrum serapan larutan standar asam galat 500,4 mg/L dalam etanol 70% yang telah direaksikan dengan reagen Folin-Ciocalteu

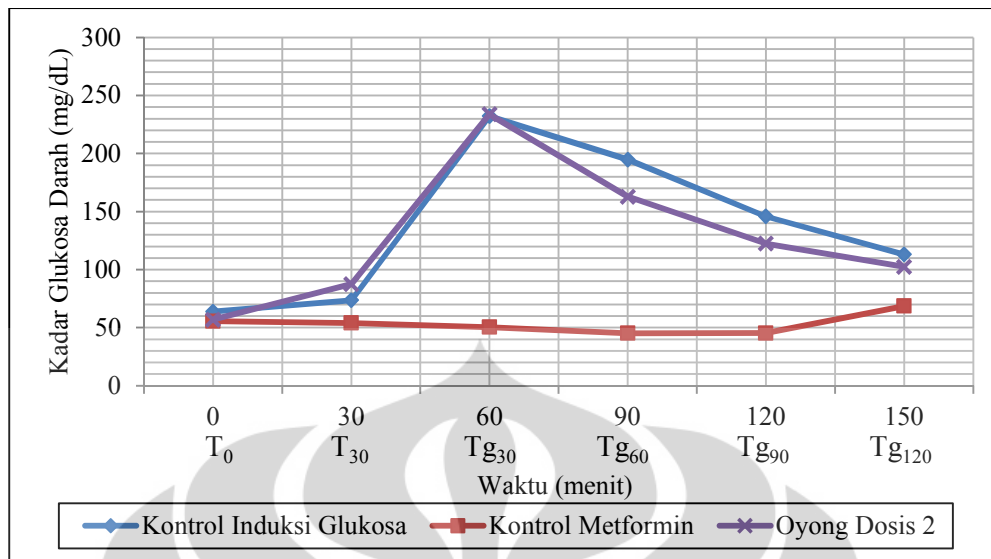


Gambar 4.11. Kurva kalibrasi larutan standar asam galat pada berbagai konsentrasi



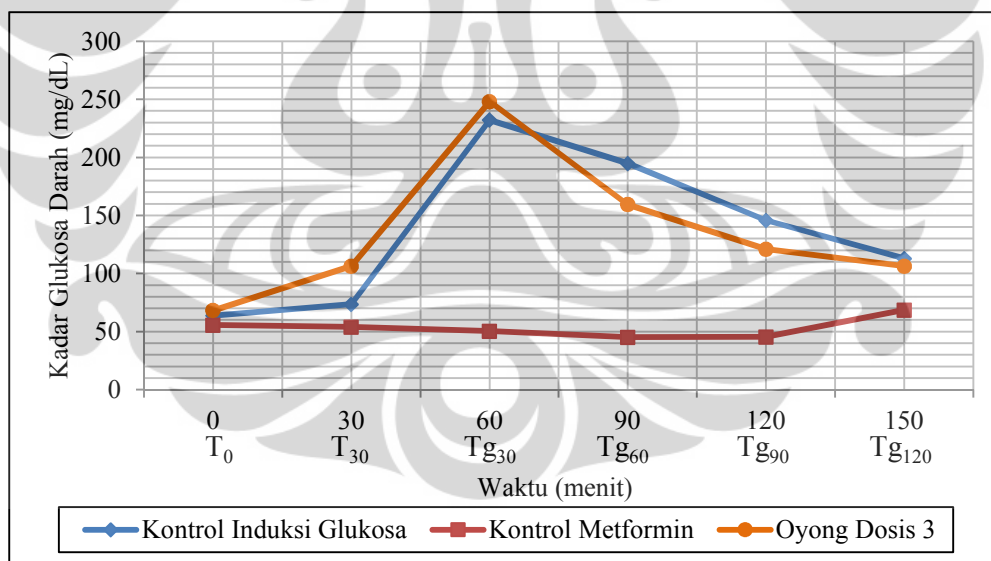
Keterangan: T₀ = Kadar glukosa darah sebelum perlakuan, T₃₀ = Kadar glukosa darah 30 menit setelah perlakuan, T_{g30} = Kadar glukosa darah 30 menit setelah pemberian glukosa, T_{g60} = Kadar glukosa darah 60 menit setelah pemberian glukosa, T_{g90} = Kadar glukosa darah 90 menit setelah pemberian glukosa, T_{g120} = Kadar glukosa darah 120 menit setelah pemberian glukosa

Gambar 4.13. Grafik kadar glukosa darah rata-rata kelompok oyong dosis 1, kontrol induksi glukosa, dan kontrol metformin pada masing-masing waktu



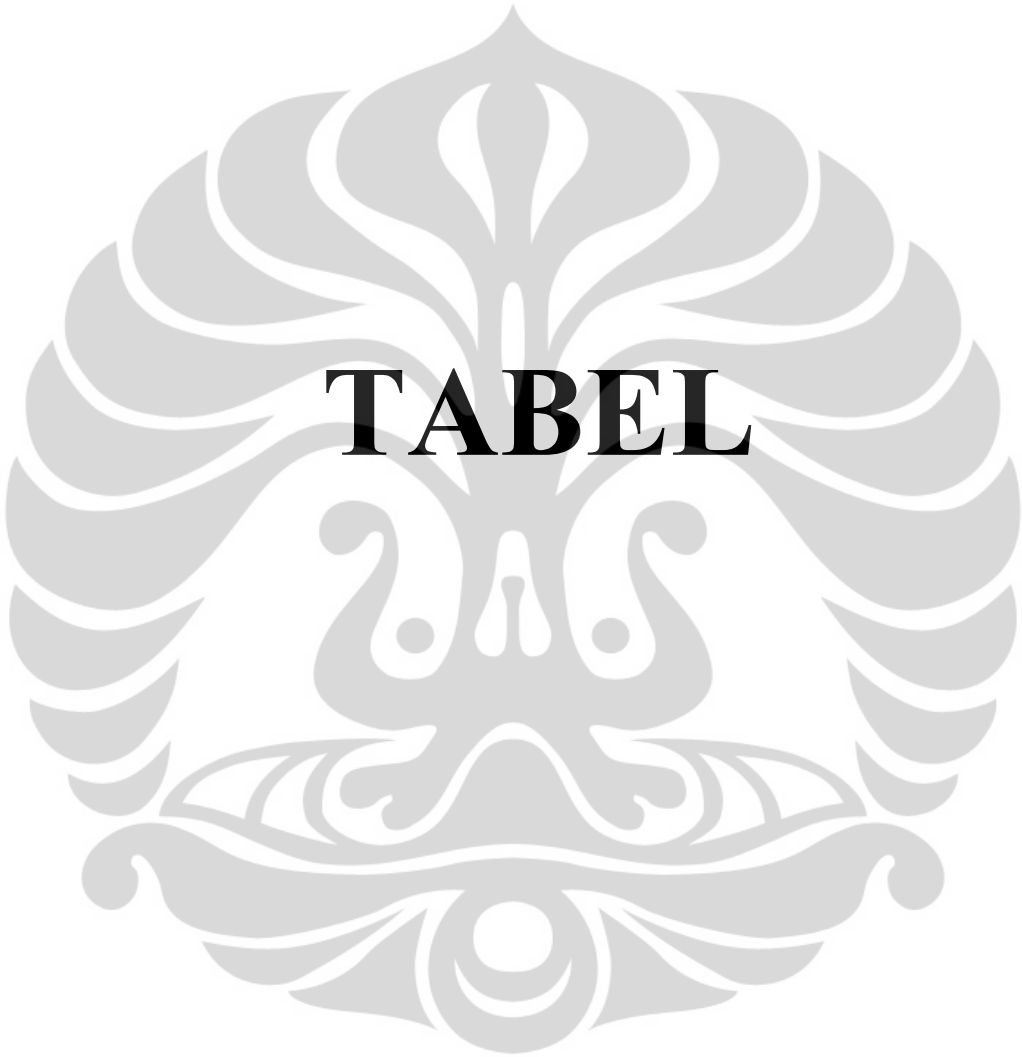
Keterangan: T₀ = Kadar glukosa darah sebelum perlakuan, T₃₀ = Kadar glukosa darah 30 menit setelah perlakuan, T_{g30} = Kadar glukosa darah 30 menit setelah pemberian glukosa, T_{g60} = Kadar glukosa darah 60 menit setelah pemberian glukosa, T_{g90} = Kadar glukosa darah 90 menit setelah pemberian glukosa, T_{g120} = Kadar glukosa darah 120 menit setelah pemberian glukosa

Gambar 4.14. Grafik kadar glukosa darah rata-rata kelompok oyong dosis 2, kontrol induksi glukosa, dan kontrol metformin pada masing-masing waktu



Keterangan: T₀ = Kadar glukosa darah sebelum perlakuan, T₃₀ = Kadar glukosa darah 30 menit setelah perlakuan, T_{g30} = Kadar glukosa darah 30 menit setelah pemberian glukosa, T_{g60} = Kadar glukosa darah 60 menit setelah pemberian glukosa, T_{g90} = Kadar glukosa darah 90 menit setelah pemberian glukosa, T_{g120} = Kadar glukosa darah 120 menit setelah pemberian glukosa

Gambar 4.15. Grafik kadar glukosa darah rata-rata kelompok oyong dosis 3, kontrol induksi glukosa, dan kontrol metformin pada masing-masing waktu



TABEL

Tabel 3.1. Berat badan mencit selama masa aklimatisasi

Mencit No	Berat Badan (g)						
	H1	H2	H3	H4	H5	H6	H7
1	18,4	20,6	20,6	21,1	21,6	22,8	23,6
2	18,6	20,8	20,7	21,6	21,4	22,7	22,2
3	20,3	22,6	22,6	22,8	22,9	24,0	24,7
4	16,0	18,9	19,1	20,0	19,5	21,8	22,3
5	15,4	16,9	17,3	18,6	19,2	20,5	21,2
6	16,4	20,2	19,2	20,2	20,3	22,6	21,9
7	18,1	21,1	21,6	21,9	21,8	24,0	23,8
8	19,9	21,5	21,5	23,1	24,1	25,7	25,6
9	15,5	18,4	18,2	19,5	19,4	21,4	22,2
10	14,9	16,4	16,8	16,7	16,5	19,0	19,4
11	16,6	19,8	19,8	20,1	20,8	21,1	21,4
12	15,8	18,9	19,2	20,0	19,1	21,0	21,3
13	20,0	23,2	22,8	24,1	23,8	25,2	25,0
14	17,5	20,8	20,9	20,2	21,0	23,0	23,8
15	18,2	19,6	20,1	21,7	20,7	22,2	22,3
16	18,0	20,0	20,4	21,1	20,8	22,1	22,9
17	18,4	20,3	19,0	19,7	19,4	21,6	20,8
18	20,5	22,6	23,6	23,7	23,0	24,8	25,7
19	20,4	21,6	22,4	21,8	24,0	24,5	24,6
20	14,7	16,6	17,0	17,8	18,4	19,6	19,6
21	15,9	18,1	17,9	18,4	18,0	19,7	19,8
22	17,6	20,8	20,8	21,4	21,8	23,7	23,6
23	19,0	18,4	20,6	21,9	21,8	23,1	24,0
24	20,6	18,9	19,1	20,2	20,2	24,6	24,1
25	15,3	17,0	16,6	17,9	17,8	18,4	18,7

Keterangan: H1 = Hari ke-1 masa aklimatisasi, H2 = Hari ke-2 masa aklimatisasi, H3 = Hari ke-3 masa aklimatisasi, H4 = Hari ke-4 masa aklimatisasi, H5 = Hari ke-5 masa aklimatisasi, H6 = Hari ke-6 masa aklimatisasi, H7 = Hari ke-7 masa aklimatisasi

Tabel 4.2. Serapan larutan asam galat pada berbagai konsentrasi dalam etanol 70% setelah direaksikan dengan reagen Folin-Ciocalteu

Konsentrasi Larutan Asam Galat (mg/L)	Absorbansi (A)
300,24	0,396
400,32	0,531
500,4	0,651
700,56	0,842
1000,8	1,263

Tabel 4.3. Penetapan kadar fenolat total dalam sampel menggunakan spektrofotometer UV-Vis pada panjang gelombang 740 nm

Berat Ekstrak yang Ditimbang (mg)	Absorbansi (A)	Konsentrasi Larutan Ekstrak (mg/L)	Kadar Fenolat Total (mg/g)
300,0	0,722	573,08	19,10
300,6	0,740	588,08	19,56
300,8	0,720	571,42	19,00
Rata-rata ± SD			19,22 ± 0,30

Tabel 4.4. Penetapan susut pengeringan sampel

Berat Ekstrak yang Ditimbang (g)	Berat Akhir (g)	Berat yang Hilang (g)	Susut Pengeringan (%)
1,3605	1,0360	0,3245	23,85
1,0883	0,8369	0,2514	23,10
1,4105	1,0661	0,3444	24,42
Rata-rata ± SD			23,79 ± 0,66

Tabel 4.5. Penetapan kadar abu total dalam sampel

Berat Ekstrak yang Ditimbang (g)	Berat Simplisia (g)	Berat Abu (g)	Kadar Abu Total (%)
2,4406	16,0039	0,3829	2,39
2,1324	13,9830	0,3278	2,34
2,2668	14,8643	0,3495	2,35
Rata-rata ± SD			2,36 ± 0,03

Tabel 4.6. Penetapan kadar abu tidak larut asam dalam sampel

Berat Ekstrak yang Ditimbang (g)	Berat Simplisia (g)	Berat Abu Tidak Larut Asam (g)	Kadar Abu Tidak Larut Asam (%)
2,4406	16,0039	0,1011	0,63
2,1324	13,9830	0,0555	0,40
Rata-rata ± SD			0,52 ± 0,16

Tabel 4.7. Kadar glukosa darah mencit dari seluruh kelompok uji pada masing-masing waktu

Kelompok	Hewan Uji	Kadar Glukosa Darah (mg/dL)					
		T ₀	T ₃₀	T ₃₀	T ₆₀	T ₉₀	T ₁₂₀
Kontrol Induksi Glukosa	1	49	59	197	204	139	102
	2	49	59	227	187	131	107
	3	72	81	251	201	167	123
	4	77	102	224	160	144	119
	5	72	67	262	222	148	114
Rata-rata ± SD		63,8 ± 13,66	73,6 ± 18,25	232,2 ± 25,37	194,8 ± 23,10	145,8 ± 13,44	113 ± 8,57
Kontrol Metformin	1	44	55	40	53	66	87
	2	49	61	51	41	43	78
	3	58	48	67	53	47	52
	4	63	55	59	38	41	61
	5	64	51	35	41	30	65
Rata-rata ± SD		55,6 ± 8,79	54 ± 4,90	50,4 ± 13,18	45,2 ± 7,22	45,4 ± 7,22	68,6 ± 13,90

Tabel 4.7. (lanjutan)

Oyong Dosis 1	1	59	70	189	127	125	129
	2	46	113	242	147	101	85
	3	58	74	253	187	156	143
	4	63	74	183	159	118	102
	5	75	85	248	208	155	109
Rata-rata ± SD		60,2 ± 10,43	83,2 ± 17,57	223 ± 34,07	165,6 ± 32,15	131 ± 24,01	113,6 ±22,78
Oyong Dosis 2	1	49	77	229	161	116	88
	2	47	91	254	145	121	108
	3	66	73	193	149	120	90
	4	57	104	220	192	120	136
	5	66	93	273	167	135	90
Rata-rata ± SD		57 ± 9,03	87,6 ±12,60	233,8 ± 30,91	162,8 ±18,58	122,4 ± 7,30	102,4 ± 20,47
Oyong Dosis 3	1	92	124	272	177	131	117
	2	55	112	297	174	137	106
	3	64	93	206	137	123	91
	4	56	102	215	121	97	110
	5	74	101	250	188	117	108
Rata-rata ± SD		68,2 ± 15,34	106,4 ± 11,93	248 ± 38,19	159,4 ±28,80	121 ± 15,43	106,4 ± 9,56

Keterangan: T_0 = Kadar glukosa darah sebelum perlakuan, T_{30} = Kadar glukosa darah 30 menit setelah perlakuan, Tg_{30} = Kadar glukosa darah 30 menit setelah pemberian glukosa, Tg_{60} = Kadar glukosa darah 60 menit setelah pemberian glukosa, Tg_{90} = Kadar glukosa darah 90 menit setelah pemberian glukosa, Tg_{120} = Kadar glukosa darah 120 menit setelah pemberian glukosa; kontrol induksi glukosa: diberikan CMC 0,5% 0,5 mL/20 g bb; kontrol metformin: diberikan suspensi metformin HCl 13 mg/20 g bb; oyong dosis 1: diberikan suspensi ekstrak etanol 70% buah oyong 13,35 mg/20 g bb; kontrol oyong dosis 2: diberikan suspensi ekstrak etanol 70% buah oyong 26,69 mg/20 g bb; oyong dosis 3: diberikan suspensi ekstrak etanol 70% buah oyong 53,38 mg/20 g bb



Lampiran 1. Hasil determinasi tumbuhan oyong



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, 11 April 2012

Nomor : SS3/IPH.1.02/If.8/IV/2012
 Lampiran : -
 Perihal : Hasil identifikasi/determinasi Tumbuhan

Kepada Yth.
 Bpk./Ibu/Sdr(i). Tan Jenifer L.,
 NPM : 0806315622
 Mhs. Univ. Indonesia
 Kampus 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	Oyong	<i>Luffa acutangula</i> (L.) Roxb.	Cucurbitaceae

Demikian, semoga berguna bagi Saudara.

Kepala Bidang Botani
 Pusat Penelitian Biologi-LIPI,

Dr. Joeni Setijoe Rahaioe
 NIP. 196706241993032004

Lampiran 2. Sertifikat analisis glukosa monohidrat

1.08346.9029 D(+)-Glucose monohydrate BP,DAB,Ph Eur,USP

Batch K26369246

	Spec. Values	Batch Values
Identity (IR-spectrum)	conforms	conforms
Appearance of solution	conforms	conforms
Acidity or alkalinity	conforms	conforms
Spec. rotation (α 20/D; 10 %; water; calc. on anhydrous substance)	+52.6 - +53.2 °	+52.7 °
Chloride (Cl)	≤ 0.005 %	≤ 0.005 %
Sulphate (SO ₄)	≤ 0.01 %	≤ 0.01 %
Sulfite (as SO ₂)	conforms	conforms
Heavy metals (as Pb)	≤ 0.0005 %	≤ 0.0005 %
As (Arsenic)	≤ 0.0001 %	≤ 0.0001 %
Ba (Barium)	conforms	conforms
Ca (Calcium)	≤ 0.01 %	≤ 0.01 %
Cu (Copper)	≤ 0.0025 %	≤ 0.0025 %
Pb (Lead)	≤ 0.00005 %	≤ 0.00005 %
Zn (Zinc)	≤ 0.0025 %	≤ 0.0025 %
Foreign sugars, soluble starch, dextrans	conforms	conforms
Sulfated ash	≤ 0.1 %	≤ 0.1 %
Water	7.5 - 9.5 %	8.3 %
Endotoxines	≤ 2.5 I.U./g	≤ 2.5 I.U./g
Microbiological test	conforms	conforms

Date of examination: 26.03.1999

Minimum shelf life: 31.03.2004


Corresponds to DAB, Ph Eur, BP, USP .

Dr. Lang

Analytical laboratory

This document has been produced electronically and is valid without a signature

Lampiran 3. Sertifikat analisis metformin HCl



A/7/A-5, MID.C Industrial Area
 Ahmednagar 414111
 (Maharashtra), INDIA
 Tel. : (91-241) 277329/277330/277359
 Fax : (91-241) 277251

CERTIFICATE OF ANALYSIS

Product:	Metformin Hydrochloride EP	A.R.NO. :	QFP / 18250
Batch No. :	AH-8-37871	Mfg. Date :	January 2008
Release Date :	29.02.08	Expiry Date:	December 2012

Sr. #	Test	Result	Specifications
1.	Appearance	White crystals	White crystals.
2.	Solubility	Complies	Freely soluble in water, slightly soluble in alcohol, practically insoluble in acetone and in methylene chloride.
3.	Identification B. Infrared Absorption	Complies	The Infrared absorption spectrum of sample should be concordant with spectrum of Metformin Hydrochloride working reference standard when dispersed in Potassium chloride.
	E. Reaction (a) of Chlorides	Complies	Gives the reaction (a) of chloride
4.	Appearance of solution	Complies	The solution should be 'clear' and not more intensely coloured than reference solution B.
5.	Related substances (By HPLC)		
	a) Cyanoguanidine	0.001 %	Not more than 0.02 %
	b) Highest unknown impurity	Not detected	Not more than 0.10 %
	c) Total impurities	0.001 %	Not more than 0.50 %
6.	Heavy metal	Less than 10 ppm	Not more than 10 ppm.
7.	Loss on drying	0.31 % w/w	Not more than 0.50 % w/w
8.	Sulphated ash	0.07 % w/w	Not more than 0.10 % w/w
9.	Assay (Titrimetric)	100.28 %	Between 98.5 % and 101.0 % of C ₇ H ₁₁ N ₅ .HCl calculated on dried basis
10.	Particle size (By Maivern)		
	90 % below	90 % below 95.58 micron	For information.
	50 % below	50 % below 49.85 micron	
	10 % below	10 % below 21.13 micron	

Conclusion : Product complies with the quality standard as per EP/BP specifications.

Date of Issue: 14.05.08

Prepared by *KDG* 14.05.08 Checked by *[Signature]* 14.05.08 Approved by *[Signature]* 14.05.08

DUPLICATE COPY

Corp. Office : Acme Plaza, Andheri-Kurla Road, Andheri (E), Mumbai 400 059, INDIA
 Tel. : (91-22) 28211286 / 28212128, 28210115 Fax : (91-22) 28211110, Tk. : 78249 SIP: III, Giam: (PH)25011

Lampiran 4. Pembuatan sediaan uji

Pembuatan sediaan uji dilakukan dengan membuat sediaan dosis 3, kemudian diencerkan menjadi dosis 1 dan dosis 2.

Dosis 3 sebesar 53,38 mg ekstrak etanol 70% buah oyong/20 g BB mencit.

Volume pemberian bahan uji ditetapkan sebesar 0,5 mL untuk mencit 20 g, maka untuk dosis 2 digunakan 0,25 mL dari dosis 3 dan untuk dosis 1 digunakan 0,125 mL dari dosis 3. Maka total volume dosis 3 yang harus dibuat:

$$(0,5+0,25+0,125) \times 5 \text{ ekor mencit per kelompok} = 4,375 \text{ mL} \sim 10 \text{ mL}$$

Maka untuk pembuatan 10 mL sediaan uji dosis 3:

$$\frac{10 \text{ mL}}{0,5 \text{ mL}} \times 53,38 \text{ mg ekstrak} = 1067,6 \text{ mg ekstrak}$$

Sebanyak 1067,6 mg ekstrak etanol 70% buah oyong ditimbang, kemudian dicukupkan volumenya dengan CMC 0,5% hingga 10 mL.

Dosis 2 dibuat dengan mengambil sediaan uji dosis 3 sebanyak 3 mL kemudian dicukupkan volumenya hingga 6 mL.

Dosis 1 dibuat dengan mengambil sediaan uji dosis 3 sebanyak 1,5 mL kemudian dicukupkan volumenya hingga 6 mL.

Lampiran 5. Perhitungan kadar fenolat total

Perhitungan kadar fenolat total ekstrak etanol 70% buah oyong dilakukan dengan menggunakan kurva kalibrasi. Sebagai standar, digunakan asam galat.

Spektrum serapan asam galat yang diperoleh memberikan hasil panjang gelombang maksimum pada panjang gelombang 740 nm (Gambar 4.3). Panjang gelombang ini digunakan untuk pembuatan kurva kalibrasi asam galat dan pengukuran serapan bahan uji. Persamaan kurva kalibrasi yang diperoleh adalah:

$$y = 0,0012x + 0,0343$$

Kadar fenolat total dihitung dengan rumus sebagai berikut.

$$\text{Kadar fenolat total} = \frac{\text{konsentrasi yang diperoleh dari kurva kalibrasi} \times 10 \text{ mL}}{\text{jumlah ekstrak yang ditimbang}}$$

Kadar fenolat total dinyatakan dalam mg ekuivalen asam galat/g sampel segar.

Lampiran 6. Uji statistik kadar glukosa darah seluruh kelompok uji sebelum perlakuan (T_0)

A. Uji Normalitas (Uji *Saphiro-Wilk*) pada Kadar Glukosa Darah Seluruh Kelompok pada T_0

Tujuan: Untuk mengetahui apakah data kadar glukosa darah seluruh kelompok pada T_0 terdistribusi normal atau tidak

Hipotesis : H_0 = Data kadar glukosa darah mencit terdistribusi normal

H_a = Data kadar glukosa darah mencit tidak terdistribusi normal

Pengambilan kesimpulan: $\alpha = 0,05$

H_0 diterima jika nilai signifikansi $\geq 0,05$

H_0 ditolak jika nilai signifikansi $< 0,05$

Tests of Normality

Kelompok	Shapiro-Wilk		
	Statistic	df	Sig.
Glukosa Kontrol Induksi Glukosa	.782	5	.057
Kontrol Metformin	.899	5	.404
Oyong Dosis 1	.965	5	.841
Oyong Dosis 2	.859	5	.224
Oyong Dosis 3	.890	5	.357

a. Lilliefors Significance Correction

*. This is a lower bound of the true significance.

Hasil: Nilai signifikansi $> \alpha$ untuk semua kelompok

Kesimpulan: H_0 diterima, data kadar glukosa darah seluruh kelompok uji pada T_0 terdistribusi normal

B. Uji Homogenitas (Uji *Levene*) pada Kadar Glukosa Darah Seluruh Kelompok pada T_0

Tujuan: Untuk mengetahui apakah data kadar glukosa darah seluruh kelompok pada T_0 bervariasi homogen atau tidak

Hipotesis: H_0 = Data kadar glukosa darah mencit bervariasi homogen

H_a = Data kadar glukosa darah mencit tidak bervariasi homogen

Lampiran 6. (lanjutan)

Pengambilan kesimpulan: $\alpha = 0,05$

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

Ho ditolak jika nilai signifikansi $< 0,05$

Test of Homogeneity of Variances

Glukosa

Levene Statistic	df1	df2	Sig.
1.120	4	20	.375

Hasil: Nilai signifikansi $> \alpha$

Kesimpulan: Ho diterima, data kadar glukosa darah pada seluruh kelompok uji pada T_0 bervariasi homogen

C. Uji ANOVA Satu Arah pada Kadar Glukosa Darah Antar Kelompok Uji pada T_0

Tujuan: Untuk mengetahui ada tidaknya perbedaan kadar glukosa darah yang bermakna antar kelompok hewan uji pada T_0

Hipotesis: Ho = Data kadar glukosa darah mencit tidak berbeda bermakna

Ha = Data kadar glukosa darah mencit berbeda bermakna

Pengambilan kesimpulan: $\alpha = 0,05$

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

Ho ditolak jika nilai signifikansi $< 0,05$

ANOVA

Glukosa

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	527.360	4	131.840	.956	.453
Within Groups	2757.600	20	137.880		
Total	3284.960	24			

Hasil: Nilai signifikansi $> \alpha$

Kesimpulan: Ho diterima, tidak terdapat perbedaan yang bermakna pada kadar glukosa darah antar kelompok uji pada T_0

Lampiran 7. Uji statistik kadar glukosa darah seluruh kelompok uji 30 menit setelah perlakuan (T₃₀)

A. Uji Normalitas (Uji *Saphiro-Wilk*) pada Kadar Glukosa Darah Seluruh Kelompok pada T₃₀

Tujuan: Untuk mengetahui apakah data kadar glukosa darah seluruh kelompok pada T₃₀ terdistribusi normal atau tidak

Hipotesis : Ho = Data kadar glukosa darah mencit terdistribusi normal

Ha = Data kadar glukosa darah mencit tidak terdistribusi normal

Pengambilan kesimpulan: $\alpha = 0,05$

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

Ho ditolak jika nilai signifikansi $< 0,05$

Tests of Normality

Kelompok	Shapiro-Wilk		
	Statistic	df	Sig.
Glukosa Kontrol Induksi Glukosa	.863	5	.238
Kontrol Metformin	.961	5	.816
Oyong Dosis 1	.790	5	.067
Oyong Dosis 2	.942	5	.682
Oyong Dosis 3	.950	5	.740

a. Lilliefors Significance Correction

*. This is a lower bound of the true significance.

Hasil: Nilai signifikansi $> \alpha$ untuk semua kelompok

Kesimpulan: Ho diterima, data kadar glukosa darah seluruh kelompok uji pada T₃₀ terdistribusi normal

B. Uji Homogenitas (Uji *Levene*) pada Kadar Glukosa Darah Seluruh Kelompok pada T₃₀

Tujuan: Untuk mengetahui apakah data kadar glukosa darah seluruh kelompok pada T₃₀ bervariasi homogen atau tidak

Hipotesis: Ho = Data kadar glukosa darah mencit bervariasi homogen

Ha = Data kadar glukosa darah mencit tidak bervariasi homogen

Lampiran 7. (lanjutan)

Pengambilan kesimpulan: $\alpha = 0,05$

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

Ho ditolak jika nilai signifikansi $< 0,05$

Test of Homogeneity of Variances

Glukosa

Levene Statistic	df1	df2	Sig.
1.615	4	20	.209

Hasil: Nilai signifikansi $> \alpha$

Kesimpulan: Ho diterima, data kadar glukosa darah pada seluruh kelompok uji pada T₃₀ bervariasi homogen

C. Uji ANOVA Satu Arah pada Kadar Glukosa Darah Antar Kelompok Uji pada T₃₀

Tujuan: Untuk mengetahui ada tidaknya perbedaan kadar glukosa darah yang bermakna antar kelompok hewan uji pada T₃₀

Hipotesis: Ho = Data kadar glukosa darah mencit tidak berbeda bermakna

Ha = Data kadar glukosa darah mencit berbeda bermakna

Pengambilan kesimpulan: $\alpha = 0,05$

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

Ho ditolak jika nilai signifikansi $< 0,05$

ANOVA

Glukosa

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	7386.560	4	1846.640	9.552	.000
Within Groups	3866.400	20	193.320		
Total	11252.960	24			

Hasil: Nilai signifikansi $< \alpha$

Kesimpulan: Ho ditolak, terdapat perbedaan yang bermakna pada kadar glukosa darah antar kelompok uji pada T₃₀

Lampiran 7. (lanjutan)

D. Uji Beda Nyata Terkecil pada Kadar Glukosa Darah Seluruh Kelompok Uji pada T₃₀

Tujuan: Untuk mengetahui antar kelompok yang mana saja terdapat perbedaan kadar glukosa darah yang bermakna pada T₃₀

Hipotesis: Ho = Data kadar glukosa darah mencit tidak berbeda bermakna

Ha = Data kadar glukosa darah mencit berbeda bermakna

Pengambilan kesimpulan: $\alpha = 0,05$

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

Ho ditolak jika nilai signifikansi $< 0,05$

Multiple Comparisons

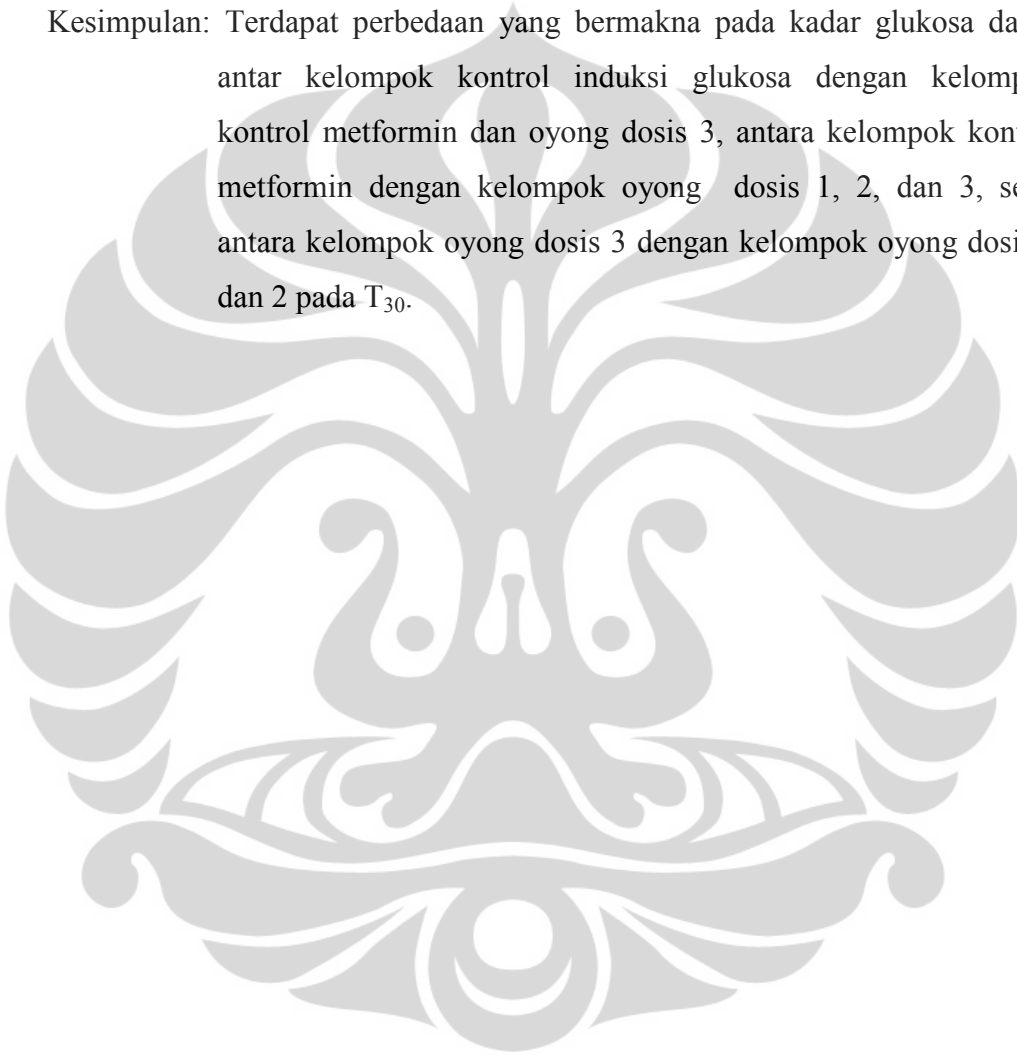
(I) Kelompok	(J) Kelompok	Mean Difference (I-J)	Std. Error	Sig.	95% Confidence Interval	
					Lower Bound	Upper Bound
Kontrol Induksi Glukosa	Kontrol Metformin	19.600*	8.794	.037	1.26	37.94
	Oyong Dosis 1	-9.600	8.794	.288	-27.94	8.74
	Oyong Dosis 2	-14.000	8.794	.127	-32.34	4.34
	Oyong Dosis 3	-32.800*	8.794	.001	-51.14	-14.46
Kontrol Metformin	Kontrol Induksi Glukosa	-19.600*	8.794	.037	-37.94	-1.26
	Oyong Dosis 1	-29.200*	8.794	.003	-47.54	-10.86
	Oyong Dosis 2	-33.600*	8.794	.001	-51.94	-15.26
	Oyong Dosis 3	-52.400*	8.794	.000	-70.74	-34.06
Oyong Dosis 1	Kontrol Induksi Glukosa	9.600	8.794	.288	-8.74	27.94
	Kontrol Metformin	29.200*	8.794	.003	10.86	47.54
	Oyong Dosis 2	-4.400	8.794	.622	-22.74	13.94
	Oyong Dosis 3	-23.200*	8.794	.016	-41.54	-4.86
Oyong Dosis 2	Kontrol Induksi Glukosa	14.000	8.794	.127	-4.34	32.34
	Kontrol Metformin	33.600*	8.794	.001	15.26	51.94
	Oyong Dosis 1	4.400	8.794	.622	-13.94	22.74
	Oyong Dosis 3	-18.800*	8.794	.045	-37.14	-.46
Oyong Dosis 3	Kontrol Induksi Glukosa	32.800*	8.794	.001	14.46	51.14
	Kontrol Metformin	52.400*	8.794	.000	34.06	70.74
	Oyong Dosis 1	23.200*	8.794	.016	4.86	41.54
	Oyong Dosis 2	18.800*	8.794	.045	.46	37.14

*. The mean difference is significant at the 0.05 level.

Lampiran 7. (lanjutan)

Hasil: Nilai signifikansi $< \alpha$ antara kelompok kontrol induksi glukosa dengan kelompok kontrol metformin dan oyong dosis 3, antara kelompok kontrol metformin dengan kelompok oyong dosis 1, 2, dan 3, serta antara kelompok oyong dosis 3 dengan kelompok oyong dosis 1 dan 2.

Kesimpulan: Terdapat perbedaan yang bermakna pada kadar glukosa darah antar kelompok kontrol induksi glukosa dengan kelompok kontrol metformin dan oyong dosis 3, antara kelompok kontrol metformin dengan kelompok oyong dosis 1, 2, dan 3, serta antara kelompok oyong dosis 3 dengan kelompok oyong dosis 1 dan 2 pada T_{30} .



Lampiran 8. Uji statistik kadar glukosa darah seluruh kelompok uji 30 menit setelah pemberian glukosa (Tg₃₀)

A. Uji Normalitas (Uji *Saphiro-Wilk*) pada Kadar Glukosa Darah Seluruh Kelompok pada Tg₃₀

Tujuan: Untuk mengetahui apakah data kadar glukosa darah seluruh kelompok pada Tg₃₀ terdistribusi normal atau tidak

Hipotesis : Ho = Data kadar glukosa darah mencit terdistribusi normal

Ha = Data kadar glukosa darah mencit tidak terdistribusi normal

Pengambilan kesimpulan: $\alpha = 0,05$

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

Ho ditolak jika nilai signifikansi $< 0,05$

Tests of Normality

Kelompok	Shapiro-Wilk		
	Statistic	df	Sig.
Glukosa Kontrol Induksi Glukosa	.960	5	.808
Kontrol Metformin	.962	5	.818
Oyong Dosis 1	.795	5	.074
Oyong Dosis 2	.985	5	.961
Oyong Dosis 3	.945	5	.700

a. Lilliefors Significance Correction

*. This is a lower bound of the true significance.

Hasil: Nilai signifikansi $> \alpha$ untuk semua kelompok

Kesimpulan: Ho diterima, data kadar glukosa darah seluruh kelompok uji pada Tg₃₀ terdistribusi normal

B. Uji Homogenitas (Uji *Levene*) pada Kadar Glukosa Darah Seluruh Kelompok pada Tg₃₀

Tujuan: Untuk mengetahui apakah data kadar glukosa darah seluruh kelompok pada Tg₃₀ bervariasi homogen atau tidak

Hipotesis: Ho = Data kadar glukosa darah mencit bervariasi homogen

Ha = Data kadar glukosa darah mencit tidak bervariasi homogen

Lampiran 8. (lanjutan)

Pengambilan kesimpulan: $\alpha = 0,05$

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

Ho ditolak jika nilai signifikansi $< 0,05$

Test of Homogeneity of Variances

Glukosa			
Levene Statistic	df1	df2	Sig.
1.931	4	20	.145

Hasil: Nilai signifikansi $> \alpha$

Kesimpulan: Ho diterima, data kadar glukosa darah pada seluruh kelompok uji pada Tg₃₀ bervariasi homogen

C. Uji ANOVA Satu Arah pada Kadar Glukosa Darah Antar Kelompok Uji pada Tg₃₀

Tujuan: Untuk mengetahui ada tidaknya perbedaan kadar glukosa darah yang bermakna antar kelompok hewan uji pada Tg₃₀

Hipotesis: Ho = Data kadar glukosa darah mencit tidak berbeda bermakna

Ha = Data kadar glukosa darah mencit berbeda bermakna

Pengambilan kesimpulan: $\alpha = 0,05$

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

Ho ditolak jika nilai signifikansi $< 0,05$

ANOVA

Glukosa					
	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	136803.440	4	34200.860	38.934	.000
Within Groups	17568.800	20	878.440		
Total	154372.240	24			

Hasil: Nilai signifikansi $< \alpha$

Kesimpulan: Ho ditolak, terdapat perbedaan yang bermakna pada kadar glukosa darah antar kelompok uji pada Tg₃₀

Lampiran 8. (lanjutan)

D. Uji Beda Nyata Terkecil pada Kadar Glukosa Darah Seluruh Kelompok Uji pada Tg₃₀

Tujuan: Untuk mengetahui antar kelompok yang mana saja terdapat perbedaan

kadar glukosa darah yang bermakna pada Tg₃₀

Hipotesis: Ho = Data kadar glukosa darah mencit tidak berbeda bermakna

Ha = Data kadar glukosa darah mencit berbeda bermakna

Pengambilan kesimpulan: $\alpha = 0,05$

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

Ho ditolak jika nilai signifikansi $< 0,05$

Multiple Comparisons

(I) Kelompok	(J) Kelompok	Mean Difference (I-J)	Std. Error	Sig.	95% Confidence Interval	
					Lower Bound	Upper Bound
Kontrol induksi glukosa	Kontrol Metformin	181.800*	18.745	.000	142.70	220.90
	Oyong Dosis 1	9.200	18.745	.629	-29.90	48.30
	Oyong Dosis 2	-1.600	18.745	.933	-40.70	37.50
	Oyong Dosis 3	-15.800	18.745	.409	-54.90	23.30
Kontrol Metformin	Kontrol Induksi Glukosa	-181.800*	18.745	.000	-220.90	-142.70
	Oyong Dosis 1	-172.600*	18.745	.000	-211.70	-133.50
	Oyong Dosis 2	-183.400*	18.745	.000	-222.50	-144.30
	Oyong Dosis 3	-197.600*	18.745	.000	-236.70	-158.50
Oyong Dosis 1	Kontrol Induksi glukosa	-9.200	18.745	.629	-48.30	29.90
	Kontrol Metformin	172.600*	18.745	.000	133.50	211.70
	Oyong Dosis 2	-10.800	18.745	.571	-49.90	28.30
	Oyong Dosis 3	-25.000	18.745	.197	-64.10	14.10
Oyong Dosis 2	Kontrol Induksi glukosa	1.600	18.745	.933	-37.50	40.70
	Kontrol Metformin	183.400*	18.745	.000	144.30	222.50
	Oyong Dosis 1	10.800	18.745	.571	-28.30	49.90
	Oyong Dosis 3	-14.200	18.745	.458	-53.30	24.90
Oyong Dosis 3	Kontrol Induksi glukosa	15.800	18.745	.409	-23.30	54.90
	Kontrol Metformin	197.600*	18.745	.000	158.50	236.70
	Oyong Dosis 1	25.000	18.745	.197	-14.10	64.10
	Oyong Dosis 2	14.200	18.745	.458	-24.90	53.30

*. The mean difference is significant at the 0.05 level.

Lampiran 8. (lanjutan)

Hasil: Nilai signifikansi $< \alpha$ antara kelompok kontrol induksi glukosa dengan kelompok kontrol metformin serta antara kelompok kontrol metformin dengan kelompok oyong dosis 1, 2, dan 3.

Kesimpulan: Terdapat perbedaan yang bermakna pada kadar glukosa darah antara kelompok kontrol induksi glukosa dengan kelompok kontrol metformin serta antara kelompok kontrol metformin dengan kelompok oyong dosis 1, 2, dan 3.



Lampiran 9. Uji statistik kadar glukosa darah seluruh kelompok uji 60 menit setelah pemberian glukosa (Tg₆₀)

A. Uji Normalitas (Uji *Saphiro-Wilk*) pada Kadar Glukosa Darah Seluruh Kelompok pada Tg₆₀

Tujuan: Untuk mengetahui apakah data kadar glukosa darah seluruh kelompok pada Tg₆₀ terdistribusi normal atau tidak

Hipotesis : Ho = Data kadar glukosa darah mencit terdistribusi normal

Ha = Data kadar glukosa darah mencit tidak terdistribusi normal

Pengambilan kesimpulan: $\alpha = 0,05$

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

Ho ditolak jika nilai signifikansi $< 0,05$

Tests of Normality

Kelompok	Shapiro-Wilk		
	Statistic	df	Sig.
Glukosa Kontrol Induksi Glukosa	.962	5	.820
Kontrol Metformin	.793	5	.071
Oyong Dosis 1	.975	5	.905
Oyong Dosis 2	.917	5	.510
Oyong Dosis 3	.885	5	.333

a. Lilliefors Significance Correction

*. This is a lower bound of the true significance.

Hasil: Nilai signifikansi $> \alpha$ untuk semua kelompok

Kesimpulan: Ho diterima, data kadar glukosa darah seluruh kelompok uji pada Tg₆₀ terdistribusi normal

B. Uji Homogenitas (Uji *Levene*) pada Kadar Glukosa Darah Seluruh Kelompok pada Tg₆₀

Tujuan: Untuk mengetahui apakah data kadar glukosa darah seluruh kelompok pada Tg₆₀ bervariasi homogen atau tidak

Hipotesis: Ho = Data kadar glukosa darah mencit bervariasi homogen

Ha = Data kadar glukosa darah mencit tidak bervariasi homogen

Lampiran 9. (lanjutan)

Pengambilan kesimpulan: $\alpha = 0,05$

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

Ho ditolak jika nilai signifikansi $< 0,05$

Test of Homogeneity of Variances

Glukosa			
Levene Statistic	df1	df2	Sig.
2.627	4	20	.065

Hasil: Nilai signifikansi $> \alpha$

Kesimpulan: Ho diterima, data kadar glukosa darah pada seluruh kelompok uji pada Tg_{60} bervariasi homogen

C. Uji ANOVA Satu Arah pada Kadar Glukosa Darah Antar Kelompok Uji pada Tg_{60}

Tujuan: Untuk mengetahui ada tidaknya perbedaan kadar glukosa darah yang bermakna antar kelompok hewan uji pada Tg_{60}

Hipotesis: Ho = Data kadar glukosa darah mencit tidak berbeda bermakna

Ha = Data kadar glukosa darah mencit berbeda bermakna

Pengambilan kesimpulan: $\alpha = 0,05$

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

Ho ditolak jika nilai signifikansi $< 0,05$

ANOVA

Glukosa					
	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	66935.360	4	16733.840	29.944	.000
Within Groups	11176.800	20	558.840		
Total	78112.160	24			

Hasil: Nilai signifikansi $< \alpha$

Kesimpulan: Ho ditolak, terdapat perbedaan yang bermakna pada kadar glukosa darah antar kelompok uji pada Tg_{60}

Lampiran 9. (lanjutan)

D. Uji Beda Nyata Terkecil pada Kadar Glukosa Darah Seluruh Kelompok Uji pada Tg₆₀

Tujuan: Untuk mengetahui antar kelompok yang mana saja terdapat perbedaan kadar glukosa darah yang bermakna pada Tg₆₀

Hipotesis: Ho = Data kadar glukosa darah mencit tidak berbeda bermakna

Ha = Data kadar glukosa darah mencit berbeda bermakna

Pengambilan kesimpulan: $\alpha = 0,05$

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

Ho ditolak jika nilai signifikansi $< 0,05$

Multiple Comparisons

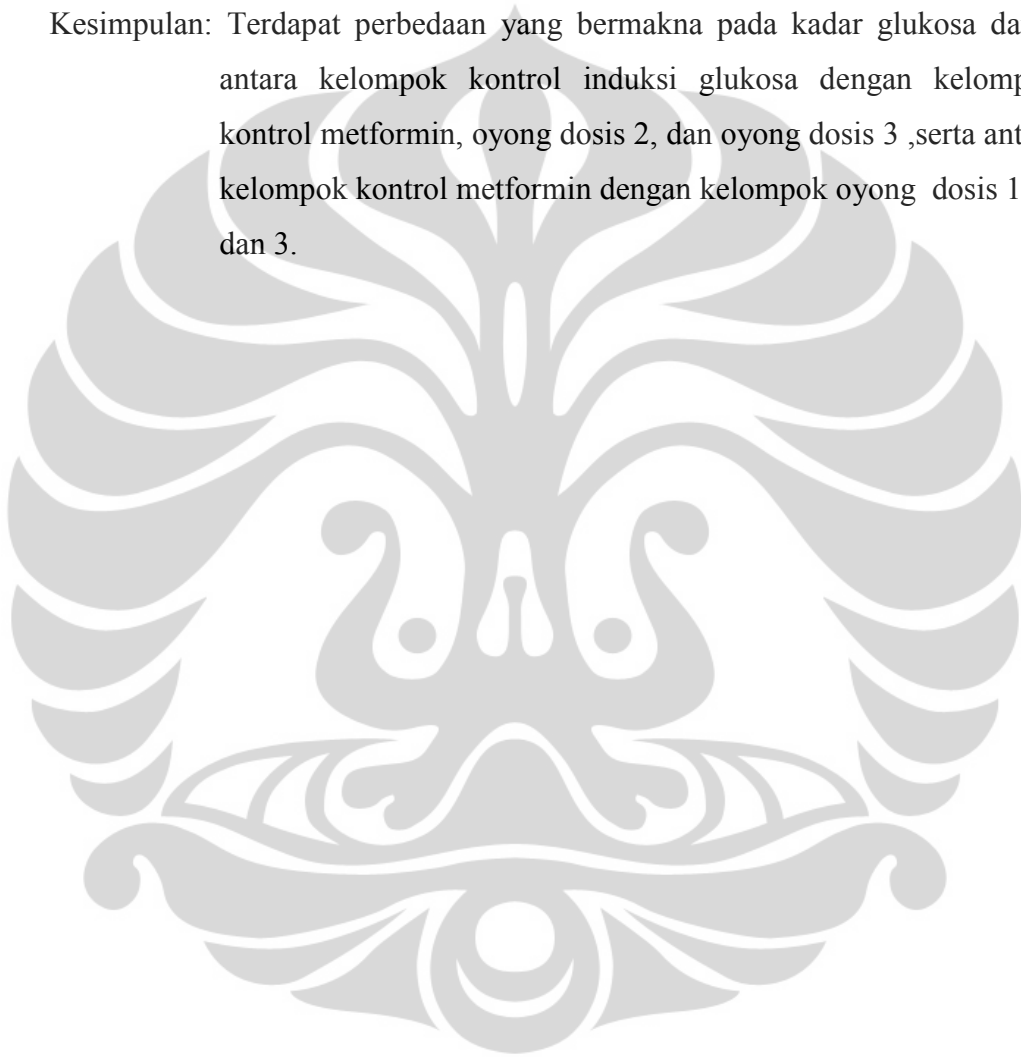
(I) Kelompok	(J) Kelompok	Mean Difference (I-J)	Std. Error	Sig.	95% Confidence Interval	
					Lower Bound	Upper Bound
Kontrol Induksi Glukosa	Kontrol Metformin	149.600*	14.951	.000	118.41	180.79
	Oyong Dosis 1	29.200	14.951	.065	-1.99	60.39
	Oyong Dosis 2	32.000*	14.951	.045	.81	63.19
	Oyong Dosis 3	35.400*	14.951	.028	4.21	66.59
Kontrol Metformin	Kontrol Induksi Glukosa	-149.600*	14.951	.000	-180.79	-118.41
	Oyong Dosis 1	-120.400*	14.951	.000	-151.59	-89.21
	Oyong Dosis 2	-117.600*	14.951	.000	-148.79	-86.41
	Oyong Dosis 3	-114.200*	14.951	.000	-145.39	-83.01
Oyong Dosis 1	Kontrol Induksi Glukosa	-29.200	14.951	.065	-60.39	1.99
	Kontrol Metformin	120.400*	14.951	.000	89.21	151.59
	Oyong Dosis 2	2.800	14.951	.853	-28.39	33.99
	Oyong Dosis 3	6.200	14.951	.683	-24.99	37.39
Oyong Dosis 2	Kontrol Induksi Glukosa	-32.000*	14.951	.045	-63.19	-.81
	Kontrol Metformin	117.600*	14.951	.000	86.41	148.79
	Oyong Dosis 1	-2.800	14.951	.853	-33.99	28.39
	Oyong Dosis 3	3.400	14.951	.822	-27.79	34.59
Oyong Dosis 3	Kontrol Induksi Glukosa	-35.400*	14.951	.028	-66.59	-4.21
	Kontrol Metformin	114.200*	14.951	.000	83.01	145.39
	Oyong Dosis 1	-6.200	14.951	.683	-37.39	24.99
	Oyong Dosis 2	-3.400	14.951	.822	-34.59	27.79

*. The mean difference is significant at the 0.05 level.

Lampiran 9. (lanjutan)

Hasil: Nilai signifikansi $< \alpha$ antara kelompok kontrol induksi glukosa dengan kelompok kontrol metformin, oyong dosis 2, dan oyong dosis 3, serta antara kelompok kontrol metformin dengan kelompok oyong dosis 1, 2, dan 3.

Kesimpulan: Terdapat perbedaan yang bermakna pada kadar glukosa darah antara kelompok kontrol induksi glukosa dengan kelompok kontrol metformin, oyong dosis 2, dan oyong dosis 3, serta antara kelompok kontrol metformin dengan kelompok oyong dosis 1, 2, dan 3.



Lampiran 10. Uji statistik kadar glukosa darah seluruh kelompok uji 90 menit setelah pemberian glukosa (Tg₉₀)

A. Uji Normalitas (Uji *Saphiro-Wilk*) pada Kadar Glukosa Darah Seluruh Kelompok pada Tg₉₀

Tujuan: Untuk mengetahui apakah data kadar glukosa darah seluruh kelompok pada Tg₉₀ terdistribusi normal atau tidak

Hipotesis : Ho = Data kadar glukosa darah mencit terdistribusi normal

Ha = Data kadar glukosa darah mencit tidak terdistribusi normal

Pengambilan kesimpulan: $\alpha = 0,05$

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

Ho ditolak jika nilai signifikansi $< 0,05$

Tests of Normality

Kelompok	Shapiro-Wilk		
	Statistic	df	Sig.
Glukosa Kontrol Induksi Glukosa	.942	5	.683
Kontrol Metformin	.934	5	.626
Oyong Dosis 1	.897	5	.395
Oyong Dosis 2	.777	5	.052
Oyong Dosis 3	.943	5	.688

a. Lilliefors Significance Correction

*. This is a lower bound of the true significance.

Hasil: Nilai signifikansi $> \alpha$ untuk semua kelompok

Kesimpulan: Ho diterima, data kadar glukosa darah seluruh kelompok uji pada Tg₉₀ terdistribusi normal

B. Uji Homogenitas (Uji *Levene*) pada Kadar Glukosa Darah Seluruh Kelompok pada Tg₉₀

Tujuan: Untuk mengetahui apakah data kadar glukosa darah seluruh kelompok pada Tg₉₀ bervariasi homogen atau tidak

Hipotesis: Ho = Data kadar glukosa darah mencit bervariasi homogen

Ha = Data kadar glukosa darah mencit tidak bervariasi homogen

Lampiran 10. (lanjutan)

Pengambilan kesimpulan: $\alpha = 0,05$

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

Ho ditolak jika nilai signifikansi $< 0,05$

Test of Homogeneity of Variances

Glukosa			
Levene Statistic	df1	df2	Sig.
2.117	4	20	.116

Hasil: Nilai signifikansi $> \alpha$

Kesimpulan: Ho diterima, data kadar glukosa darah pada seluruh kelompok uji pada T_{g90} bervariasi homogen

C. Uji ANOVA Satu Arah pada Kadar Glukosa Darah Antar Kelompok Uji pada T_{g90}

Tujuan: Untuk mengetahui ada tidaknya perbedaan kadar glukosa darah yang bermakna antar kelompok hewan uji pada T_{g90}

Hipotesis: Ho = Data kadar glukosa darah mencit tidak berbeda bermakna

Ha = Data kadar glukosa darah mencit berbeda bermakna

Pengambilan kesimpulan: $\alpha = 0,05$

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

Ho ditolak jika nilai signifikansi $< 0,05$

ANOVA

Glukosa					
	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	30609.440	4	7652.360	31.342	.000
Within Groups	4883.200	20	244.160		
Total	35492.640	24			

Hasil: Nilai signifikansi $< \alpha$

Kesimpulan: Ho ditolak, terdapat perbedaan yang bermakna pada kadar glukosa darah antar kelompok uji pada T_{g90}

Lampiran 10. (lanjutan)

D. Uji Beda Nyata Terkecil pada Kadar Glukosa Darah Seluruh Kelompok Uji pada Tg₉₀

Tujuan: Untuk mengetahui antar kelompok yang mana saja terdapat perbedaan

kadar glukosa darah yang bermakna pada Tg₉₀

Hipotesis: Ho = Data kadar glukosa darah mencit tidak berbeda bermakna

Ha = Data kadar glukosa darah mencit berbeda bermakna

Pengambilan kesimpulan: $\alpha = 0,05$

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

Ho ditolak jika nilai signifikansi $< 0,05$

Multiple Comparisons

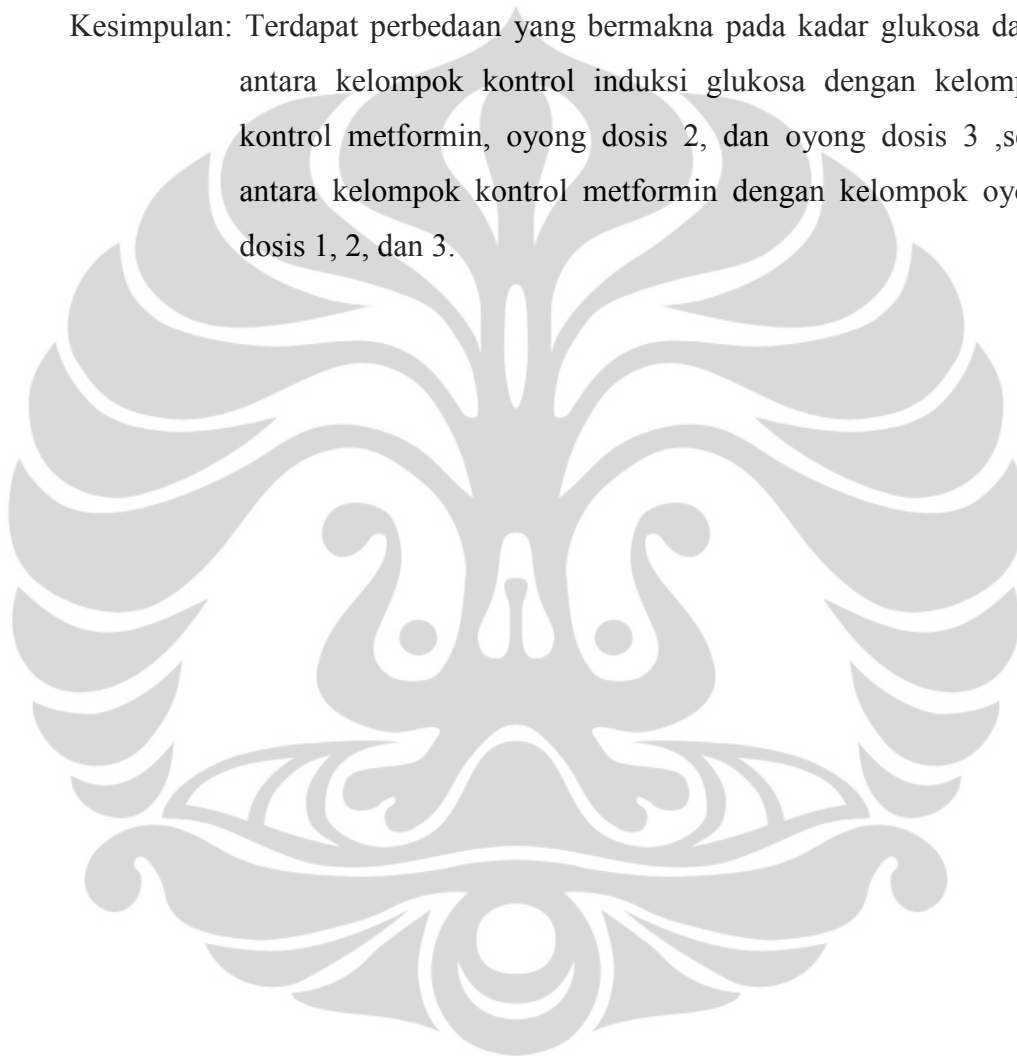
(I) Kelompok	(J) Kelompok	Mean Difference (I-J)	Std. Error	Sig.	95% Confidence Interval	
					Lower Bound	Upper Bound
Kontrol Induksi Glukosa	Kontrol Metformin	100.400*	9.883	.000	79.79	121.01
	Oyong Dosis 1	14.800	9.883	.150	-5.81	35.41
	Oyong Dosis 2	23.400*	9.883	.028	2.79	44.01
	Oyong Dosis 3	24.800*	9.883	.021	4.19	45.41
Kontrol Metformin	Kontrol Induksi Glukosa	-100.400*	9.883	.000	-121.01	-79.79
	Oyong Dosis 1	-85.600*	9.883	.000	-106.21	-64.99
	Oyong Dosis 2	-77.000*	9.883	.000	-97.61	-56.39
	Oyong Dosis 3	-75.600*	9.883	.000	-96.21	-54.99
Oyong Dosis 1	Kontrol Induksi Glukosa	-14.800	9.883	.150	-35.41	5.81
	Kontrol Metformin	85.600*	9.883	.000	64.99	106.21
	Oyong Dosis 2	8.600	9.883	.395	-12.01	29.21
	Oyong Dosis 3	10.000	9.883	.324	-10.61	30.61
Oyong Dosis 2	Kontrol Induksi Glukosa	-23.400*	9.883	.028	-44.01	-2.79
	Kontrol Metformin	77.000*	9.883	.000	56.39	97.61
	Oyong Dosis 1	-8.600	9.883	.395	-29.21	12.01
	Oyong Dosis 3	1.400	9.883	.889	-19.21	22.01
Oyong Dosis 3	Kontrol Induksi Glukosa	-24.800*	9.883	.021	-45.41	-4.19
	Kontrol Metformin	75.600*	9.883	.000	54.99	96.21
	Oyong Dosis 1	-10.000	9.883	.324	-30.61	10.61
	Oyong Dosis 2	-1.400	9.883	.889	-22.01	19.21

*. The mean difference is significant at the 0.05 level.

Lampiran 10. (lanjutan)

Hasil: Nilai signifikansi $< \alpha$ antara kelompok kontrol induksi glukosa dengan kelompok kontrol metformin, oyong dosis 2, dan oyong dosis 3, serta antara kelompok kontrol metformin dengan kelompok oyong dosis 1, 2, dan 3.

Kesimpulan: Terdapat perbedaan yang bermakna pada kadar glukosa darah antara kelompok kontrol induksi glukosa dengan kelompok kontrol metformin, oyong dosis 2, dan oyong dosis 3, serta antara kelompok kontrol metformin dengan kelompok oyong dosis 1, 2, dan 3.



Lampiran 11. Uji statistik kadar glukosa darah seluruh kelompok uji 120 menit setelah pemberian glukosa (Tg₁₂₀)

A. Uji Normalitas (Uji *Saphiro-Wilk*) pada Kadar Glukosa Darah Seluruh Kelompok pada Tg₁₂₀

Tujuan: Untuk mengetahui apakah data kadar glukosa darah seluruh kelompok pada Tg₁₂₀ terdistribusi normal atau tidak

Hipotesis : Ho = Data kadar glukosa darah mencit terdistribusi normal

Ha = Data kadar glukosa darah mencit tidak terdistribusi normal

Pengambilan kesimpulan: $\alpha = 0,05$

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

Ho ditolak jika nilai signifikansi $< 0,05$

Tests of Normality

Kelompok		Shapiro-Wilk		
		Statistic	df	Sig.
Glukosa	Kontrol Induksi Glukosa	.966	5	.850
	Kontrol Metformin	.969	5	.866
	Oyong Dosis 1	.979	5	.927
	Oyong Dosis 2	.784	5	.060
	Oyong Dosis 3	.912	5	.477

a. Lilliefors Significance Correction

*. This is a lower bound of the true significance.

Hasil: Nilai signifikansi $> \alpha$ untuk semua kelompok

Kesimpulan: Ho diterima, data kadar glukosa darah seluruh kelompok uji pada Tg₉₀ terdistribusi normal

B. Uji Homogenitas (Uji *Levene*) pada Kadar Glukosa Darah Seluruh Kelompok pada Tg₁₂₀

Tujuan: Untuk mengetahui apakah data kadar glukosa darah seluruh kelompok pada Tg₁₂₀ bervariasi homogen atau tidak

Hipotesis: Ho = Data kadar glukosa darah mencit bervariasi homogen

Ha = Data kadar glukosa darah mencit tidak bervariasi homogen

Lampiran 11. (lanjutan)

Pengambilan kesimpulan: $\alpha = 0,05$

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

Ho ditolak jika nilai signifikansi $< 0,05$

Test of Homogeneity of Variances

Glukosa			
Levene Statistic	df1	df2	Sig.
2.074	4	20	.122

Hasil: Nilai signifikansi $> \alpha$

Kesimpulan: Ho diterima, data kadar glukosa darah pada seluruh kelompok uji pada Tg_{120} bervariasi homogen

C. Uji ANOVA Satu Arah pada Kadar Glukosa Darah Antar Kelompok Uji pada Tg_{120}

Tujuan: Untuk mengetahui ada tidaknya perbedaan kadar glukosa darah yang bermakna antar kelompok hewan uji pada Tg_{120}

Hipotesis: Ho = Data kadar glukosa darah mencit tidak berbeda bermakna

Ha = Data kadar glukosa darah mencit berbeda bermakna

Pengambilan kesimpulan: $\alpha = 0,05$

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

Ho ditolak jika nilai signifikansi $< 0,05$

ANOVA

Glukosa					
	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	6917.200	4	1729.300	6.673	.001
Within Groups	5182.800	20	259.140		
Total	12100.000	24			

Hasil: Nilai signifikansi $< \alpha$

Kesimpulan: Ho ditolak, terdapat perbedaan yang bermakna pada kadar glukosa darah antar kelompok uji pada Tg_{120}

Lampiran 11. (lanjutan)

D. Uji Beda Nyata Terkecil pada Kadar Glukosa Darah Seluruh Kelompok Uji pada Tg₁₂₀

Tujuan: Untuk mengetahui antar kelompok yang mana saja terdapat perbedaan kadar glukosa darah yang bermakna pada Tg₁₂₀

Hipotesis: Ho = Data kadar glukosa darah mencit tidak berbeda bermakna

Ha = Data kadar glukosa darah mencit berbeda bermakna

Pengambilan kesimpulan: $\alpha = 0,05$

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

Ho ditolak jika nilai signifikansi $< 0,05$

Multiple Comparisons

(I) Kelompok	(J) Kelompok	Mean Difference (I-J)	Std. Error	Sig.	95% Confidence Interval	
					Lower Bound	Upper Bound
Kontrol Induksi Glukosa	Kontrol Metformin	44.400*	10.181	.000	23.16	65.64
	Oyong Dosis 1	-.600	10.181	.954	-21.84	20.64
	Oyong Dosis 2	10.600	10.181	.310	-10.64	31.84
	Oyong Dosis 3	6.600	10.181	.524	-14.64	27.84
Kontrol Metformin	Kontrol Induksi Glukosa	-44.400*	10.181	.000	-65.64	-23.16
	Oyong Dosis 1	-45.000*	10.181	.000	-66.24	-23.76
	Oyong Dosis 2	-33.800*	10.181	.003	-55.04	-12.56
	Oyong Dosis 3	-37.800*	10.181	.001	-59.04	-16.56
Oyong Dosis 1	Kontrol Induksi Glukosa	.600	10.181	.954	-20.64	21.84
	Kontrol Metformin	45.000*	10.181	.000	23.76	66.24
	Oyong Dosis 2	11.200	10.181	.284	-10.04	32.44
	Oyong Dosis 3	7.200	10.181	.488	-14.04	28.44
Oyong Dosis 2	Kontrol Induksi Glukosa	-10.600	10.181	.310	-31.84	10.64
	Kontrol Metformin	33.800*	10.181	.003	12.56	55.04
	Oyong Dosis 1	-11.200	10.181	.284	-32.44	10.04
	Oyong Dosis 3	-4.000	10.181	.699	-25.24	17.24
Oyong Dosis 3	Kontrol Induksi Glukosa	-6.600	10.181	.524	-27.84	14.64
	Kontrol Metformin	37.800*	10.181	.001	16.56	59.04
	Oyong Dosis 1	-7.200	10.181	.488	-28.44	14.04
	Oyong Dosis 2	4.000	10.181	.699	-17.24	25.24

*. The mean difference is significant at the 0.05 level.

Lampiran 11. (lanjutan)

Hasil: Nilai signifikansi $< \alpha$ antara kelompok kontrol induksi glukosa dengan kelompok kontrol metformin, serta antara kelompok kontrol metformin dengan kelompok oyong dosis 1, 2, dan 3.

Kesimpulan: Terdapat perbedaan yang bermakna pada kadar glukosa darah antara kelompok kontrol induksi glukosa dengan kelompok kontrol metformin, serta antara kelompok kontrol metformin dengan kelompok oyong dosis 1, 2, dan 3.

