

**PENGARUH KOMBINASI EKSTRAK AIR LIDAH BUAYA (*Aloe vera* L) DAN DAUN
STEVIA (*Stevia rebaudiana* Bertoni) TERHADAP AKTIVITAS ENZIM GLUTATION
PEROXIDASE DAN GAMBARAN HISTOPATOLOGI HATI PADA
TIKUS PUTIH JANTAN YANG DIINDUKSI ALOKSAN**




Oleh :

**Rine Larasati
20144306A**

**FAKULTAS FARMASI
UNIVERSITAS SETIA BUDI
SURAKARTA
2018**

**PENGARUH KOMBINASI EKSTRAK AIR LIDAH BUAYA (*Aloe vera* L) DAN DAUN
STEVIA (*Stevia rebaudiana* Bertoni) TERHADAP AKTIVITAS ENZIM GLUTATION
PEROXIDASE DAN GAMBARAN HISTOPATOLOGI HATI PADA
TIKUS PUTIH JANTAN YANG DIINDUKSI ALOKSAN**

SKRIPSI



*Diajukan untuk memenuhi salah satu syarat mencapai
derajat Sarjana Farmasi (S.Farm)
Program Studi Ilmu Farmasi pada Fakultas Farmasi
Universitas Setia Budi*

Oleh :

**Rine Larasati
20144306A**

**FAKULTAS FARMASI
UNIVERSITAS SETIA BUDI
SURAKARTA
2018**

PENGESAHAN SKRIPSI

berjudul:

**PENGARUH KOMBINASI EKSTRAK AIR LIDAH BUAYA (*Aloe vera* L) DAN
DAUN STEVIA (*Stevia rebaudiana* Bertoni) TERHADAP AKTIVITAS ENZIM
GLUTATION PEROXIDASE DAN GAMBARAN HISTOPATOLOGI HATI PADA
TIKUS PUTIH JANTAN YANG DIINDUKSI ALOKSAN**

Oleh :
Rine Larasati
20144306A

Dipertahankan di hadapan Panitia Penguji Skripsi
Fakultas Farmasi Universitas Setia Budi
Pada tanggal : 5 Juli 2018

Mengetahui,
Fakultas Farmasi
Universitas Setia Budi



Dekan,

Prof. Dr. RA. Getari, SU., MM., M.Sc., Apt.

Pembimbing.

Yane Dila Keswara, M. Sc., Apt.

Pembimbing Pendamping,

Dwi Ningsih, S. Si., M. Farm., Apt.

Penguji :

1. Dr. Gunawan Pamudji Widodo, M. Si., Apt.
2. Reslely Harjanti, M. Sc., Apt.
3. Fransiska Leviana, M. Sc., Apt.
4. Yane Dila Keswara, M. Sc., Apt.

HALAMAN PERSEMBAHAN



Bacalah dengan menyebut nama Tuhanmu

*Dia telah menciptakan manusia dari segumpal darah Bacalah, dan Tuhanmulah
yang maha mulia*

Yang mengajar manusia dengan pena,

Dia mengajarkan manusia apa yang tidak diketahuinya (QS: Al-'Alaq 1-5)

Maka nikmat Tuhanmu yang manakah yang kamu dustakan? (QS: Ar-Rahman13)

Yang berdoa tanpa usaha bagaikan pemanah tanpa busur (Ali Bin Abi Thalib)

Untuk ribuan tujuan yang harus dicapai, untuk jutaan impian yang akan dikejar,
untuk sebuah pengharapan, agar hidup jauh lebih bermakna, hidup tanpa mimpi
ibarat arus sungai. Mengalir tanpa tujuan. Teruslah belajar, berusaha, dan berdoa
untuk menggapainya.

Jatuh berdiri lagi. Kalah mencoba lagi. Gagal Bangkit lagi.

Never give up!

Sampai Allah SWT berkata “waktunya pulang”

Kupersembahkan karya ini untuk :

1. Allah SWT dengan rahmat dan kasih sayang – Nya sehingga penulis dapat menyelesaikan skripsi ini.
2. Ibu dan Bapak tercinta yang selalu memberikan semangat dan doa selama ini, dan selalu memberikan semuanya yang dibutuhkan penulis dalam penyusunan karya ini. Semoga Allah SWT selalu memberikan kesehatan kepada beliau.
3. Adik–adikku dan juga saudara-saudaraku yang lainnya yang tidak bisa disebutkan satu persatu yang selalu memberikan semangat dan motivasi untuk bisa lulus tepat waktu

4. Partner tugas akhirku “Mamardika Puteri Yuliani” terimakasih sudah memberikan sumbangan pemikiran, tenaga dan ide dengan menyelesaikan penelitian skripsi ini bersama-sama
5. Untuk teman-teman kosku (Kak Haps, Kak Dini, Irin, Sekar, Diyas, Susi, Mita, Dinta, In, Hera, Uul, Inem, Putri, Ikfa, Bintang, dan Yeni) yang telah memberikan semangat dan hiburan disaat lelah
6. Untuk teman semasa PPSP yang menemani hingga sekarang (Dian Novita, Mentari, Mamardika Putri, Amaliah Citra, Siti Imroa'tul, Oktaviani Dewi, Risna Permata Sari) terimakasih berkat kalian dunia perkuliahanku lebih berwarna.
7. Teman-teman S1 Farmasi angkatan 2014, terkhusus FKK 3 dan 2 terimakasih atas sharing ilmu pengetahuan dan berbagi canda tawa bersama.
8. Untuk Ibu Yane Dila Keswara., M.Sc., Apt. selaku pembimbing utama saya yang selalu memberikan motivasi serta ilmunya selama penyusunan karya ini
9. Untuk Ibu Dwi Ningsih, S.Si., M.Farm., Apt selaku pembimbing pendamping yang sudah membimbing dengan sabar selama penyusunan karya ini.
10. Agama, almamater, bangsa, dan negara Indonesiaku.

PERNYATAAN

Saya menyatakan bahwa skripsi ini adalah hasil pekerjaan saya sendiri dan tidak terdapat karya yang pernah diajukan untuk memperoleh gelar kesarjanaan di suatu Perguruan Tinggi dan sepanjang pengetahuan saya tidak terdapat karya atau pendapat yang pernah penulis atau diterbitkan oleh orang lain, kecuali yang secara tertulis diacu dalam naskah ini dan disebutkan dalam daftar pustaka.

Apabila skripsi ini merupakan jiplakan dari penelitian /karya ilmiah/skripsi orang lain, maka saya siap menerima sanksi, baik secara akademis maupun hukum.

Surakarta, Juli 2018



Rine Larasati

KATA PENGANTAR

Assalamualaikum Warohmatullahi Wabarokatuh

Alhamdulillah segala puji bagi Allah SWT yang telah memberikan nikmatnya dan karunianya niat-niat baik hamba-Nya dapat terlaksanakan, serta tak lupa semoga shalawat dan salam senantiasa tercurah kepada junjungan kita Nabi Muhammad SAW kepada keluarganya, sahabatnya, dan pengikutnya yang senantiasa berdiri atas sunnahnya, serta kepada seluruh umatnya hingga akhir zaman yang menjadikan sebagai uswatun hasanah, suritauladan yang baik sehingga memotivasi penulis dapat menyelesaikan skripsi dengan judul “Pengaruh Kombinasi Ekstrak Air Lidah Buaya (*Aloe Vera* L) Dan Daun Stevia (*Stevia Rebaudiana* Bertoni) Terhadap Enzim Glutation Peroxidase Dan Gambaran Histopatologi Hati Pada Tikus Putih Jantan Yang Diinduksi Aloksan”

Skripsi ini diajukan untuk memenuhi salah satu syarat mencapai derajat Sarjana Farmasi (S.Farm) pada Fakultas Farmasi Universitas Setia Budi Surakarta. Dalam penyusunannya skripsi ini penulis banyak mendapat bantuan, bimbingan, dorongan, serta doa dari berbagai pihak.

Oleh karena itu penulis menyampaikan terima kasih yang sebesar – besarnya kepada :

1. Dr. Djoni Tarigan, MBA selaku Rektor Universitas Setia Budi Surakarta
2. Prof. Dr. RA Oetari, SU, MM, M.Sc., Apt, selaku Dekan Fakultas Farmasi Universitas Setia Budi Surakarta
3. Yane Dila Keswara, M.Sc., Apt selaku dosen pembimbing utama
4. Dwi Ningsih, S.Si., M.Farm., Apt selaku dosen pembimbing pendamping
5. Dwi Ningsih, S.Si., M.Farm., Apt selaku dosen pembimbing akademik
6. Seluruh dosen Fakultas Farmasi Universitas Setia Budi Surakarta
7. Keluarga peneliti (Bapak Jaka Hermanto, Ibu Marlina, dan adik-adiku (Garin Fadillah Mahendra, Intan Ambarukmi, Muhammad Bayu Herlambang)
8. Teman-teman FKK angkatan 2014 terkhusus teori 3 dan 2 yang selalu berbagai ilmu selama ini
9. Untuk teman-teman kuliah (Mentari, Dian Novita, Siti Imro'atul, Oktaviani Dewi, Risna Permata Sari, Amaliah Citra, Mamardika Puteri)

10. Untuk teman-teman kos, semoga silaturahmi masih bisa terjalin

11. UPT-Lab dan Perpustakaan Universitas Setia Budi Surakarta

Semoga Allah SWT memberikan balasan yang lebih baik pada mereka semua dan semoga Allah SWT selalu memberikan kesehatan dan dilancarkan semua urusannya.

Penulis menyadari bahwa hasil penelitian ini jauh dari sempurna, namun penulis berharap hasil penelitian ini dapat bermanfaat bagi pihak lain yang berkepentingan

Wassalamualaikum Warrahmatullahi Wabarakatuh

Surakarta, Juli 2018

Penulis

DAFTAR ISI

	Halaman
HALAMAN JUDUL	i
PENGESAHAN SKRIPSI	ii
HALAMAN PERSEMBAHAN	iii
PERNYATAAN	v
KATA PENGANTAR	vi
DAFTAR ISI	viii
DAFTAR GAMBAR	xii
DAFTAR TABEL	xiii
DAFTAR LAMPIRAN.....	xiv
INTISARI.....	xv
ABSTRACT	xvi
BAB I PENDAHULUAN	1
A. Latar Belakang Masalah	1
B. Perumusan Masalah	6
C. Tujuan Penelitian	6
D. Manfaat Penelitian	7
BAB II TINJAUAN PUSTAKA.....	8
A. Tanaman Stevia (<i>Stevia rebaudiana</i>)	8
1. Sistematika tanaman.....	8
2. Habitat dan Morfologi Tanaman.....	8
3. Manfaat tanaman	9
3.1 Penurunan kadar gula darah.....	9
3.2 Penurunan tekanan darah.....	9
3.3 Antikanker	9
3.4 Penurunan berat badan	9
4. Kandungan kimia	9
B. Tanaman Lidah Buaya (<i>Aloe vera</i> L).....	10
1. Sistematika tanaman.....	10
2. Habitat dan morfologi tanman	10
3. Manfaat dan khasiat tanaman.....	11
4. Kandungan kimia	11

C.	Simplisia	11
1.	Pengertian simplisia	11
D.	Metode Ekstraksi Simplisia	12
1.	Pengertian ekstraksi.....	12
2.	Metode penyarian.....	12
2.1.	Metode maserasi.....	12
2.2.	Metode perkolasi	13
2.3.	Metode soxhletasi.....	13
2.4.	Metode infusa.....	13
2.5.	Metode refluks.....	13
2.6.	Metode dekoktasi.....	13
2.7.	Metode digesti. M.....	13
E.	Pelarut.....	14
F.	<i>Freeze-Drying</i>	14
G.	Antioksidan.....	15
1.	Penggolongan antioksidan	15
1.1.	Antioksidan primer.....	15
1.2.	Antioksidan sekunder.....	16
1.3.	Antioksidan tersier	16
H.	Glutation Peroksidase.....	16
I.	Diabetes Melitus	17
1.	Definisi Diabetes Melitus	17
2.	Klasifikasi Diabetes Mellitus	17
2.1.	DM tipe I.....	17
2.2.	DM tipe II.....	18
2.3.	DM Gestasional	18
2.4.	DM tipe lain	18
3.	Diagnosis Diabetes Mellitus	18
4.	Komplikasi Diabetes Mellitus.....	18
5.	Stres oksidatif pada diabetes.....	19
5.1.	Glikasi non enzimatik pada protein	19
5.2.	Jalur Polioliol-Sorbitol (Aldosa Reduktase).	20
5.3.	Autooksidasi Glukosa.....	20
J.	Pemeriksaan Glutation Peroksidase	20
K.	Aloksan.....	22
L.	Glibenklamid	23
M.	Histologi Hepar dan Fungsi Hepar.....	24
N.	Hewan Uji.....	25
1.	Sistematika tikus putih	25
2.	Karakteristik utama tikus putih.....	26
3.	Cara penanganan hewan uji	27
O.	Landasan Teori.....	27
P.	Hipotesis	30
Q.	Kerangka Pikir	30
BAB III METODE PENELITIAN.....		32

A. Populasi dan Sampel	32
B. Variabel Penelitian	32
1. Identifikasi variabel utama	32
2. Klasifikasi variabel utama	32
2.1. Variabel bebas	32
2.2. Variabel tergantung	32
2.3. Variabel terkendali	32
3. Definisi operasional variabel utama	33
C. Alat dan Bahan.....	33
1. Alat	33
2. Bahan.....	34
2.1 Bahan sampel.....	34
2.2 Bahan kimia	34
2.3 Hewan uji.....	34
D. Jalannya Penelitian.....	34
1. Determinasi tanaman	34
2. Pengambilan bahan	34
3. Pembuatan serbuk stevia	34
4. Pembuatan simplisia lidah buaya	35
5. Pembuatan ekstrak air serbuk daun stevia dan lidah buaya....	35
5.1 Ekstrak air serbuk daun stevia.	35
5.2. Ekstrak air daun lidah buaya.	35
6. Penetapan kadar kelembaban serbuk daun stevia	35
7. Penetapan kadar kelembaban jus daun lidah buaya	36
8. Identifikasi kandungan glikosida ekstrak daun stevia dengan uji tabung	36
9. Identifikasi kandungan kimia ekstrak lidah buaya dengan uji tabung	36
9.1. Uji alkaloid.....	36
9.2. Uji saponin.	36
10. Penetapan dosis dan pembuatan larutan	36
10.1. Larutan CMC 0.5%.....	36
10.2. Larutan Glibenklamid	37
10.3. Larutan aloksan monohidrat.....	37
10.4. Dosis aloksan.....	37
10.5. Dosis glibenklamid.	37
10.6. Ekstrak daun stevia	37
10.7. Ekstrak lidah buaya.....	37
10.8. Ekstrak kombinasi stevia dan lidah buaya.	37
11. Perlakuan hewan uji	37
12. Intervensi hewan uji	38
13. Pengambilan darah	39
14. Pengambilan organ.....	39
15. Perlakuan hewan uji pasca bedah.....	40
16. Pemeriksaan enzim glutation peroksidase	40
16.1. Pembuatan supernatant hati	40

16.2 Pengukuran aktivitas GPx	40
17. Pemeriksaan histopatologi	41
17.1. Fiksasi pertama	41
17.2. Pemotongan kasar	41
17.3. Fiksasi kedua	41
17.4. Pencucian	41
17.5. Proses dehidrasi	41
17.6. Perendaman dalam parafin cair	41
17.7. Pembuatan sediaan blok	41
17.8. Pemotongan organ	42
17.9. Pewarnaan jaringan	42
E. Analisis Data	44
BAB IV HASIL PENELITIAN DAN PEMBAHASAN	45
A. Determinasi Tanaman	45
1. Tanaman stevia	45
2. Tanaman lidah buaya	45
B. Pengumpulan Bahan	45
C. Pembuatan Ekstrak	45
1. Pembuatan ekstrak	45
2. Pengukuran kadar kelembaban serbuk daun stevia	46
3. Pengukuran kadar kelembapan jus lidah buaya	46
D. Identifikasi Senyawa dengan Uji Tabung	47
E. Hasil Pengukuran Aktivitas Enzim Gpx	47
F. Gambaran Histopatologi Hati	51
BAB V KESIMPULAN DAN SARAN	54
A. Kesimpulan	54
B. Saran	54
DAFTAR PUSTAKA	55
LAMPIRAN	65

DAFTAR GAMBAR

	Halaman
Gambar 1. <i>Stevia rebaudiana</i>	8
Gambar 2. Aloe vera (l.) Burm.....	10
Gambar 3. Struktur aloksan.....	22
Gambar 4. Struktur Glibenklamid	23
Gambar 5. Kerangka pikir penelitian.....	31
Gambar 6. Skema jalannya penelitian	43
Gambar 7. Aktivitas GPx (U/mg) pada seluruh kelompok perlakuan	48
Gambar 8. Hasil irisan melintang histopatologi sel hati	53

DAFTAR TABEL

	Halaman
Tabel 1. Pembuatan ekstrak stevia.....	46
Tabel 2. Pembuatan ekstrak lidah buaya.....	46
Tabel 3. Kadar kelembaban serbuk daun stevia	46
Tabel 4. Kadar kembaban jus lidah buaya	46
Tabel 5. Identifikasi senyawa	47
Tabel 6. Rata-rata hasil pengukuran aktivitas enzim GPx pada hati tikus.....	48
Tabel 7. Total nilai skorsing kerusakan sel pada gambaran histopatologi hati.....	52

DAFTAR LAMPIRAN

	Halaman
Lampiran 1. Hasil determinasi tanaman stevia.....	66
Lampiran 2. Surat determinasi lidah buaya.....	67
Lampiran 3. Surat etichal clearen	68
Lampiran 4. Surat keterangan praktikum.....	69
Lampiran 5. Foto daun stevia dan lidah buaya serta proses pembuatan serbuk dan jus	70
Lampiran 6. Proses pembuatan ekstrak.....	71
Lampiran 7. Identifikasi senyawa dengan uji tabung	72
Lampiran 8. Perlakuan hewan uji	73
Lampiran 9. Perhitungan rendemen ekstrak.....	74
Lampiran 10. Perhitungan dosis	75
Lampiran 11. Perhitungan kadar enzim GPx	81
Lampiran 12. Perhitungan skorsing kerusakan	82
Lampiran 13. Gambar hasil histopatologi hati	83
Lampiran 14. Hasil uji statistik <i>One Way Anova</i> kadar enzim GPx hati tikus.....	93
Lampiran 15. Hasil uji kerusakan hepar pada tikus menggunakan analisis <i>Kruskal-Wallis</i>	96
Lampiran 16. Hasil uji Mann-Whitney skor kerusakan kelompok perlakuan ekstrak dengan kelompok DM.....	98
Lampiran 17. Hasil uji Mann-Whitney skor kerusakan kelompok perlakuan ekstrak dengan kelompok glibenklamid.....	101

INTISARI

LARASATI, R., 2018, PENGARUH KOMBINASI EKSTRAK AIR LIDAH BUAYA (*Aloe vera* L) DAN DAUN STEVIA (*Stevia rebaudiana* Bertoni) TERHADAP ENZIM GLUTATION PEROXIDASE DAN GAMBARAN HISTOPATOLOGI HATI PADA TIKUS PUTIH JANTAN YANG DIINDUKSI ALOKSAN

Daun stevia (*Stevia rebaudiana* Bertoni) dan daun lidah buaya (*Aloe vera* L.) terbukti dapat menurunkan kadar glukosa darah diantaranya steviosida pada daun stevia dan senyawa alkaloid, saponin serta glikosida aloe emodin pada lidah buaya. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui kombinasi dari dua tanaman tersebut dapat meningkatkan aktivitas enzim glutation dan memperbaiki kerusakan pada hati.

Penelitian ini menggunakan 35 ekor tikus yang dibagi menjadi 7 kelompok. Kelompok I kontrol normal, II kontrol positif, III kontrol negatif, IV ekstrak daun stevia 400 mg/ kgBB, V ekstrak daun lidah buaya 400 mg/ kgBB, VI kombinasi ekstrak daun stevia 25%: ekstrak daun lidah buaya 75% , VII kombinasi ekstrak daun stevia 50%: ekstrak daun lidah buaya 50%. Pemberian dilakukan selama 14 hari secara peroral, setelah pemberian aloksan 140 mg/kgBB secara i.p. Pengamatan terhadap enzim glutation peroxidase dilakukan setelah perlakuan pemberian ekstrak dengan mengambil organ hati pada hewan uji.

Hasil perlakuan pada hewan uji memberikan efek peningkatan aktivitas GPx dan perbaikan kerusakan sel hati. Efek paling tinggi diperoleh pada ekstrak tunggal lidah buaya dan kombinasi stevia 25%: lidah buaya 75%, walaupun berbeda secara signifikan dengan kontrol positif glibenklamid.

Kata kunci : daun stevia, daun lidah buaya, GPx, histopatologi hati

ABSTRACT

Larasati, R., 2018, THE EFFECT OF ALOE VERA (*Aloe vera* L) And Stevia (*Stevia rebaudiana* Bertoni) LEAF WATER EXTRACTS ON GLUTATION PEROXIDASE ENZYME AND LIVER HISTOPATHOLOGY REPRESENTATION IN ALLOXAN-INDUCED MALE WHITE RAT.

Stevia (*Stevia rebaudiana* Bertoni) and aloe vera (*Aloe vera* L.) leaf can evidently lower blood glucose level, such as steviosida on stevia leaf and alkaloid compounds, saponins and aloe emodin glycosides in aloe vera. This study aims to determine the combination of these two plants can increase glutathione enzyme activity and repair damage to the liver.

This research employed 35 rats divided into 7 groups: I normal control, II positive control, III negative control, IV stevia leaf extract 400 mg/ kgBW, V aloe vera leaf extract 400 mg/ kgBW, VI combined stevia and aloe vera leaf extracts 25% : 75%, and VII combined stevia and aloe vera leaf extracts 50% : 50%. The administration of tested preparation was conducted per oral for 14 days after having been induced with alloxane 140 mg/kg BW. The observation on glutathione peroxidase enzyme was conducted after extract administration treatment by taking liver organ in tested animal.

The result of measurement on the improvement of glutathione peroxidase enzyme activity and repair of liver cell damage. The highest effect was obtained on a single extract of aloe vera and a combination of 25% stevia: aloe vera 75%, but its potential improvement was lower than positive control (glibenclamide).

Keywords: stevia leaves, aloe vera leaves, GPx, liver histopathology

BAB I

PENDAHULUAN

A. Latar Belakang Masalah

Diabetes melitus (DM) dikategorikan sebagai penyakit yang diakibatkan adanya kerusakan dari sekresi insulin, aksi insulin, ataupun keduanya (ADA 2006). Penyakit ini dapat dicirikan dengan terjadinya hiperglikemia (Nair *et al.* 2013). Hiperglikemia kronis dapat menyebabkan kerusakan, disfungsi berbagai macam organ khususnya mata, ginjal, saraf, jantung dan pembuluh darah (ADA 2006).

Diabetes melitus (DM) adalah suatu kumpulan gejala yang timbul pada seseorang yang disebabkan oleh karena adanya peningkatan kadar glukosa darah akibat penurunan sekresi insulin yang progresif. Diabetes melitus berhubungan dengan risiko aterosklerosis dan merupakan predisposisi untuk terjadinya kelainan mikrovaskular seperti retinopati, nefropati dan neuropati. Data Riskesdas dari Kemenkes RI (2013) menunjukkan bahwa proporsi diabetes di Indonesia pada tahun 2013 meningkat hampir dua kali lipat dibandingkan tahun 2007. Proporsi diabetes melitus di Indonesia sebesar 6,9 %, toleransi glukosa terganggu (TGT) sebesar 29,9% dan glukosa darah puasa (GDP) terganggu sebesar 36,6%. Proporsi penduduk di pedesaan yang menderita diabetes melitus hampir sama dengan penduduk di perkotaan. Prevalensi diabetes melitus meningkat dari 1,1 persen (2007) menjadi 2,1 persen (2013). (Kemenkes RI 2013)

Sel normal yang mempunyai sejumlah enzim pertahanan yang bereaksi sebagai antioksidan endogen seperti katalase dan glutathion peroksidase yang berperan dalam mendetoksifikasi radikal bebas dan mencegah kerusakan sel. Kerentanan suatu jaringan terhadap kerusakan oksidatif tergantung pada mekanisme pertahanan oksidatifnya, antara lain oleh aktivitas dan kandungan enzim antioksidan endogen. Pada keadaan patologik seperti diabetes melitus terjadi peningkatan stress oksidatif dalam tubuh yang akan meningkatkan pemakaian enzim intrasel sehingga menyebabkan penurunan aktivitas antioksidan endogen dalam tubuh. Adanya peningkatan suplai antioksidan dalam tubuh akan

membantu mengurangi resiko komplikasi pada penderita diabetes (Rahbani *et al.*1999). Asupan antioksidan dari luar tubuh dibutuhkan untuk membantu menangkal radikal bebas dalam tubuh (Nathan *et al.*2008)

Glutation peroksidase merupakan salah satu antioksidan enzimatik yang mencegah kerusakan sel yang disebabkan oleh radikal bebas dengan mengkatalisis berbagai hidroperoksida dan merupakan suatu protein yang berbentuk tetramer. Pada penderita diabetes menunjukkan penurunan vitamin E dan glutation (Setiawan & Suhartono 2005), kekurangan enzim GPx akan menyebabkan peningkatan jumlah *reactive oxygen species* (ROS), penurunan bioavailabilitas oksida nitrat (NO), disfungsi endotel dan aterosklerosis pada penderita diabetes mellitus (Stocker & keaney 2004). Glutation (GSH) dalam bentuk tereduksi terdapat dalam plasma manusia, intraseluler, dengan kemampuan sebagai antioksidan untuk menghambat radikal bebas dengan fungsi secara umum sebagai buffer redoks, dan kofaktor enzim GP_x (Kowluru *et al.*2001). Bukti terbaru mengungkapkan bahwa GSH berperan penting pada diabetes melitus (Barbagallo *et al.* 1999). Perubahan terhadap rasio GSH tereduksi/teroksidasi mempengaruhi respon sel β terhadap glukosa dan perbaikan aksi insulin, serta menurunkan aktivitas enzim GP_x (Barbagallo *et al.* 1999).

Pada keadaan diabetes terjadi aktivasi enzim glukoneogenesis di hepar yang dapat meningkatkan produksi glukosa sehingga memberikan kontribusi dalam peningkatan glukosa darah yang dapat memperparah keadaan diabetes (Sundaran *et al.* 2013). Keadaan diabetes yang ditandai dengan penurunan sensitivitas insulin pada glukosa merupakan penyebab utama NAFLD (*Non-Alcoholic Fatty Liver Disease*) karena dalam keadaan diabetes terjadi gangguan metabolisme glukosa dan lemak sehingga dalam keadaan kronik dapat mengakibatkan fibrosis, infiltrasi, nekroinflamasi, hingga penyakit hati akut (Marchesini *et al.* 2001)

Peningkatan jumlah kasus diabetes melitus dan komplikasi dari penyakit ini penting diperhatikan. Berbagai tatalaksana diperlukan untuk menurunkan glukosa darah kembali ke kadar yang normal, meliputi perubahan gaya hidup, peningkatan aktifitas fisik, modifikasi diet dan terapi farmakologis (Benzie &

Galor 2011). Pada dasarnya ada dua pendekatan dalam penatalaksanaan diabetes, yang pertama pendekatan tanpa obat dan yang kedua adalah pendekatan dengan obat. Dalam penatalaksanaan DM, langkah pertama yang harus dilakukan adalah penatalaksanaan tanpa obat berupa pengaturan diet dan olahraga. Apabila dengan langkah pertama ini tujuan penatalaksanaan belum tercapai, dapat dikombinasikan dengan langkah farmakologis berupa terapi insulin atau terapi obat hipoglikemik oral, atau kombinasi keduanya (Binfar 2005).

Sulfonilurea sejak tahun 1954-1956, telah ditemukan yang dapat meningkatkan sekresi insulin tetapi penggunaan obat hipoglikemik oral dan suntikan insulin memiliki berbagai efek samping seperti hipoglikemia, lipoatrofi, lipohipertrofi, asidosis laktat, gangguan gastrointestinal dan reaksi alergi (Suyono 2011). Penatalaksanaan DM dengan terapi obat dapat menimbulkan masalah-masalah terkait obat (*drug related problems*) yang dialami oleh penderita. Masalah terkait obat merupakan keadaan terjadinya ketidaksesuaian dalam pencapaian tujuan terapi sebagai akibat pemberian obat (Binfar 2005). Hal ini sangat mungkin terjadi apalagi jika penggunaannya tidak tepat, obat yang seharusnya menyembuhkan malah dapat menghancurkan tubuh (Utami 2013).

Masyarakat mulai memahami bahwa penggunaan tumbuhan berkhasiat obat sebenarnya bisa sejajar dan saling mengisi dengan pengobatan modern. Tidak jarang, penggunaan tumbuhan berkhasiat obat dengan berbagai alasan herbal dijadikan sebagai pilihan utama untuk pengobatan. Pengobatan herbal masih digunakan sebagai pengobatan utama di negara berkembang, yaitu sekitar 75-80% dari total jumlah penduduk, hal ini karena obat herbal lebih diterima dalam hal kebudayaan, lebih terjangkau, lebih sesuai didalam tubuh dan memiliki efek samping yang ringan. Beberapa tahun terakhir, pengobatan herbal di negara maju mulai meningkat (Musa *et al.* 2009).

Terapi modern untuk DM mulai dari modifikasi diet kemudian berlanjut ke antidiabetik oral dan insulin. Penggunaan terapi seperti sulfonilurea dan biguanid terbatas farmakokinetiknya dan efek samping. Komisi diabetes dunia, merekomendasikan penelitian lebih lanjut pengobatan DM menggunakan metode tradisional. Bahan alam dengan efek hipoglikemia juga terlibat dalam proses

pembentukan radikal bebas. Radikal bebas dapat menjadi faktor penyebab berbagai macam penyakit misalnya kanker, jantung koroner, arterosklerosis, dan penuaan dini. Tingginya kadar glukosa didalam tubuh serta adanya proses auto oksidasi pada hiperglikemia menjadi faktor meningkatnya radikal bebas (Petrus Rizky *et al* 2017).

Tanaman yang memiliki aktivitas sebagai antihiperglikemik adalah *Stevia rebaudiana* merupakan tanaman herbal yang berasal dari Amerika Selatan (Paraguay dan Brazil). *Stevia rebaudiana* mengandung senyawa diterpen glikosida. *Stevia* yang telah digunakan sebagai pemanis alami selama bertahun-tahun di berbagai negara, antara lain di negara-negara Amerika Selatan dan Jepang. Pemanis *stevia* yang berasal dari daun *Stevia rebaudiana* Bertoni merupakan tumbuhan perdu asli dari Paraguay yang digunakan sebagai pemanis alami non kalori (Geuns 2003).

Steviosida dan rebaudiosida-A adalah 2 macam komponen utama glikosida dalam *stevia* yang mempunyai rasa manis 200-300 kali sukrosa (Agarwal *et al.* 2010). Steviosida dalam tubuh bekerja dengan cara meningkatkan produksi hormon insulin dan sensitivitas reseptor terhadap insulin. Peningkatan hormon insulin menyebabkan berkurangnya kadar glukosa dalam darah. Senyawa ini menghambat penyerapan glukosa pada usus dan pembentukan glukosa di hati dengan mengubah aktivitas sejumlah enzim yang berperan dalam sintesis glukosa, sehingga kadar glukosa dalam plasma berkurang (Chatsudthipong & C. Muanprasat 2009). Terpen merupakan zat alami yang dihasilkan oleh tumbuhan *Stevia rebaudiana* yang mempunyai beberapa efek seperti antihiperglikemia (Paduch *et al.* 2007). Pengobatan diabetes dapat dilakukan dengan menggunakan antioksidan dalam penelitian yang dilakukan Widowati (2008) senyawa antioksidan sintetik maupun alami (dari berbagai tanaman) mampu mengontrol kadar glukosa dalam darah dan mencegah timbulnya komplikasi diabetes (Widowati2008).

Berdasarkan penelitian sebelumnya yang dilakukan oleh (Untari 2017) ekstrak etanol *stevia* dosis 200 mg/ 200g BB dapat menurunkan kadar gula darah

pada tikus. Penelitian tentang antioksidan pada daun stevia dengan nilai IC_{50} sebesar 8,02 $\mu\text{g/ml}$ juga dapat menurunkan kadar gula darah (Petrus Rizky *et al.* 2017). Hasil penelitian Chandra (2015) yang membandingkan ekstrak stevia dengan berbagai macam pelarut dan temperature ekstraksi *Stevia rebaudiana* menunjukkan pelarut etanol menghasilkan perolehan ekstrak paling tinggi, namun akuadestilata menghasilkan kadar steviosida dari ekstrak paling tinggi. Ekstrak air *Stevia rebaudiana* dengan dosis 400 mg/kg secara signifikan mengurangi FBS, trigliserida, MDA, ALT, kadar AST, dan aktivitas katalase normal pada tikus yang diobati dibandingkan dengan tikus diabetes. Stevia juga meningkatkan PPAR γ dan kadar mRNA insulin pada tikus dan memperbaiki kerusakan histopatologis pada tikus diabetes (Assei *et al.* 2016)

Tanaman lain yang memiliki aktivitas antidiabetes adalah lidah buaya mengandung komponen antioksidan seperti senyawa fenol, flavonoid, vitamin C dan vitamin E yang berperan dalam penurunan glukosa darah pada tikus yang diinduksi dengan aloksan. Selain itu, lidah buaya juga memiliki efek antihiperkolesterol dan antioksidatif (Hutabarat 2014). Lidah buaya (*Aloe vera* L.) mengandung lemak tak jenuh Arachidonic acid dan Phosphatidylcholine dalam jumlah relatif besar. Daun dan akar mengandung saponin dan flavonoid, disamping itu daunnya juga mengandung tanin dan polifenol. Kandungan yang lain barbaloin, iso barbaloin, aloe-emodin, aloenin, aloesin, aloin, aloe emodin, antrakinon, resin, polisakarida, kromium, inositol. Anthroquinone dan anthrone dalam lateks aloe dapat menghasilkan efek laksatif melalui peningkatan gerak peristaltik kolon. Gel *Aloe vera* L. mengandung mannose-phosphate, beta-1,4 acetylated mannan, glucomannans, alprogen glucoprotein dan Cglucosylchromone yang diduga mengandung efek hipoglikemik (Pradono 2011).

Hasil penelitian yang dilakukan oleh Hutabarat (2014) dosis efektif lidah buaya untuk menurunkan kadar gula darah adalah 250 mg/kgBB. Aktivitas antoksidasi lidah buaya dinyatakan sebagai kemampuan menangkap radikal bebas DPPH dan kemampuan menghambat peroksidasi lemak (FTC). Menurut Hu *et al.* (2003), aktivitas antioksidasi lidah buaya ditentukan oleh kandungan senyawa flavonoidnya. Antioksidan dalam gel lidah buaya merupakan senyawa flavonoid

seperti kaempferol, quercetin dan merycetin (Sultana & Anwar 2008 ; Agritech 2012) memiliki gugus O-hidroksi (katekol) yang dapat mendonorkan hidrogennya melalui ikatan hidrogen (Benavente-Garcia *et al.*1997 ; Agritech 2012). Interaksi yang terjadi antara gula dengan senyawa antioksidan dalam gel lidah buaya melalui ikatan hidrogen dengan sendirinya menurunkan aktivitas antioksidasi. Penelitian yang dilakukan Tin A. Khaing (2011) menjelaskan bahwa aktivitas antioksidan pada daging daun lidah buaya dengan pelarut etanol didapatkan nilai IC₅₀ sebesar 58,36 ppm dan tergolong dalam antioksidan kuat (Khaing 2011; Aji R.M.2014).

Interaksi kombinasi bahan aktif pada obat multi komponen sangat mungkin terjadi. Kombinasi antara bahan aktif dapat menunjukkan efek sinergis atau efek antagonis. Kombinasi yang menguntungkan tentu saja adalah kombinasi yang memiliki efek sinergis pada bahan aktif (Hilal *et al.* 2016). Lidah buaya dan stevia sama-sama memiliki aktivitas antioksidan dan penurunan gula darah, diharapkan dengan kombinasi dua jenis tanaman tersebut dapat menghasilkan mekanisme yang lebih lengkap sehingga dapat memberikan hasil yang lebih baik dari sediaan tunggalnya.

B. Perumusan Masalah

Perumusan masalah pada penelitian ini adalah:

Pertama, apakah kombinasi ekstrak daun stevia dan lidah buaya dapat meningkatkan aktivitas enzim glutathion peroksidase?

Kedua, berapakah dosis kombinasi ekstrak daun stevia dan lidah buaya untuk meningkatkan aktivitas enzim glutathion peroksidase?

Ketiga, apakah ekstrak kombinasi daun stevia dan lidah buaya dapat mencegah kerusakan pada sel hati?

C. Tujuan Penelitian

Tujuan penelitian ini adalah:

Pertama, untuk mengetahui kombinasi ekstrak daun stevia dan lidah buaya dapat meningkatkan aktivitas enzim glutathion peroksidase

Kedua, untuk mengetahui dosis kombinasi ekstrak daun stevia dan lidah buaya yang dapat meningkatkan aktivitas enzim glutathione peroxidase

Ketiga, untuk mengetahui kombinasi ekstrak daun stevia dan lidah buaya dapat mencegah kerusakan pada sel hati

D. Manfaat Penelitian

Manfaat penelitian ini diharapkan dapat digunakan sebagai masukan bagi masyarakat dan ilmu pengetahuan untuk pemanfaatan ekstrak daun stevia sebagai obat diabetes. Khususnya di bidang obat-obatan tradisional dapat digunakan sebagai masukan dalam pengembangan obat-obat fitofarmaka. Bagi peneliti diharapkan dapat memberikan bukti ilmiah tentang manfaat dari ekstrak daun stevia sebagai antidibetes.

BAB II TINJAUAN PUSTAKA

A. Tanaman Stevia (*Stevia rebaudiana*)

1. Sistematika tanaman

Tanaman stevia memiliki sistematika sebagai berikut :

Divisi/Devisio	: Spermatophyta
Sub divisi	: Angiospermae
Kelas	: Dicotyledone
Bangsa/Ordo	: Asterales
Suku/Familia	: Compositae
Marga/Genus	: Stevia
Spesies	: <i>Stevia rebaudiana</i> Bertoni M. (Depkes RI 2000)



Gambar 1. *Stevia rebaudiana* (Salas 2010)

2. Habitat dan Morfologi Tanaman

Tanaman stevia banyak terdapat di semak, semusim dengan tinggi 30-90 cm. batang stevia berbentuk bulat, berbulu, beruas, bercabang dan hijau. Stevia mempunyai daun tunggal, berhadapan, bulat telur, ujung tumpul, pangkal runcing, tepi rata, dengan panjang 2-4 cm, lebar 1-5 cm, pertulangan menyirip, berbulu, tangkai pendek dan hijau. Bagian bunga majemuk, bentuk malai, di ujung dan di ketiak daun, bentuk terompet, kelopak bentuk tabung, berbulu, berbagi lima, hijau, tangkai benang sari, dan tangkai putik pendek, kepala sari kuning, putik bentuk silindris, putih. Buahnya kotak, berambut, coklat. Biji berbentuk jarum, putih kotor, dengan akar yang tunggal, putih kotor. (Depkes. 2000)

3. Manfaat tanaman

3.1 Penurunan kadar gula darah. Berdasarkan penelitian steviosida dapat meningkatkan sekresi insulin dan sensitivitas insulin. Sensitivitas insulin ditingkatkan oleh senyawa dalam stevia yang dapat menghibisi ekspresi hepatik dari phosphoenol pyruvat karboksikinase, dengan menstimulasi sintesis glikogen hepatik. Komponen lain dalam stevia yaitu rebaudiosida A yang menstimulasi sekresi insulin. Steviosida juga dapat berperan dalam menaikkan sekresi insulin tetapi tidak menyebabkan insulinemia (Thomas & Glade 2010).

3.2 Penurunan tekanan darah. Stevia dapat menurunkan tekanan darah dan memberikan efek vasorelaksasi. Hasil penelitian ini telah dilakukan, menunjukkan stevia dapat menurunkan sistole dan diastole pada probandus (Thomas & Glade 2010).

3.3 Antikanker. Stevia dapat digunakan juga sebagai antikanker, dari senyawa pemanis diterpenoid pada daun stevia yaitu, steviosida, rebaudiosida A, rebaudiosida C, dulkosida pada induksi antigen virus muda Epstein Barr dengan tumor promotor. Dari hasil percobaan tersebut pemanis diterpenoid dapat menghambat induksi antigen virus muda Epstein Barr tetapi yang paling kuat yaitu steviosida (Konoshima dan Takasaki. 2002)

3.4 Penurunan berat badan. Stevia merupakan suplemen yang baik untuk menurunkan berat badan karena tidak berkalori. Stevia juga dapat menurunkan nafsu makan karena glikosida yang terkandung dalam stevia dapat mempengaruhi kinerja dari otak untuk mengontrol perasaan lapar (Elkins 1997).

4. Kandungan kimia

Daun dan akar *stevia rebaudiana* mengandung saponin, flavonoida, dan polifenol (Depkes RI. 2000). Daun stevia mengandung beberapa glikosida diterpen yaitu steviosida, rebaudiosida A, rebaudiosida B, rebaudiosida C, rebaudiosida D, rebaudiosida E, rebaudiosida F, dulkosida C, dulkosida A dan steviolbiosida. Selain itu stevia juga memiliki senyawa glikosida, kumarin, asam sinamat, fenilpropanoid, dan minyak essensial (Pande & Gupta 2013).

Stevia rebaudiana Bertoni memiliki kandungan senyawa an-organik seperti aluminium, mangan, fosfor, kalium, kalsium, kromium, kobalt, silicon,

besi, dan magnesium. Komponen lain yaitu protein, β -karoten, dan serat ini juga terdapat pada daun stevia rebaudiana (Goyal *et al.* 2010)

B. Tanaman Lidah Buaya (*Aloe vera* L)

1. Sistematika tanaman

Sistematika tanaman lidah buaya adalah sebagai berikut:

Divisi	: Spermatophyte
Sub divisi	: Angiospermae
Kelas	: Monocotyledoneae
Bangsa	: Liliaceae
Marga	: Aloe
Spesies	: <i>Aloe vera</i> (L.) Burm.f.



Gambar 2. *Aloe vera* (L.) Burm.f (BPOM RI 2008)

2. Habitat dan morfologi tanaman

Habitus semak, tahunan, tinggi 30-50 cm. Batang bulat, tidak berkayu, putih. Daun tunggal, ujung runcing, pangkal tumpul, tepi bergerigi, panjang 30-50 cm, lebar 3-5 cm, berdaging tebal, bergetah kuning, hijau. Bunga majemuk, bentuk malai, di ujung batang, daun pelindung panjang 8-15 mm, benang sari enam, putik menyembul keluar atau melekat pada pangkal kepala sari, tangkai putik bentuk benang, kepala putik kecil, hiasan bunga panjang 2,5-3,5 cm, tabung pendek, ujung tajuk melebar, jingga atau merah. Buah kotak, panjang 14-22 cm,

berkatup, hijau keputih-putihan. Biji kecil, hitam. Akar serabut, kuning. (BPOM RI 2008)

3. Manfaat dan khasiat tanaman

Lidah buaya (*Aloe vera* L.) memiliki rasa pahit dan bersifat dingin. Penggunaan secara lokal ekstrak daun dapat berefek anestetika, membunuh mikroba, meningkatkan mikrosirkulasi dan untuk menyembuhkan *chronic skin ulcer*. Ekstrak etanol gel lidah buaya (*Aloe vera* L.) dapat mempercepat penghentian darah secara topikal (Sudarsono *et al.* 1996). Daging daun mengandung turunan glikosida antrakinon berefek sebagai pencahar. Efek sebagai pencahar ini lebih kuat dibanding *Cascara sagrada*, *Cassia sena*, *Rheum officinale* (akar kelembak) dan *Cassia alata* (ketepengkebo). Terjadinya efek laksan ini diakibatkan oleh adanya pelepasan elektrolit dan air ke dalam lumen dari usus yang menghambat terjadinya reabsorpsi dalam colon sehingga adanya penambahan volume dalam usus akan memacu terjadinya peristaltik (Sudarsono *et al.* 1996).

4. Kandungan kimia

Daun lidah buaya (*Aloe vera* L.) mengandung lemak tak jenuh Arachidonic acid dan phosphatidyl choline dalam jumlah relative besar (Afzal *et al.* 1991; Sudarsono *et al.* 1996). Daun dan akar mengandung saponin dan flavonoid, daun lidah buaya juga mengandung tannin dan polifenol. Kandungan yang lain barbaloin, iso barbaloin, aloe-emodin, aloenin, aloesin, aloin, aloe emodin, antrakinon, resin, polisakarida (Syamsudihayat & Hutapea 1991), kromium, inositol (Duke 2002).

C. Simplisia

1. Pengertian simplisia

Simplisia adalah bahan alamiah yang digunakan sebagai obat yang belum mengalami proses apapun kecuali dinyatakan lain, umumnya berupa bahan yang telah dikeringkan. Simplisia dapat berupa simplisia nabati, simplisia hewani, dan simplisia pelikan atau mineral (Gunawan dan Mulyani 2004).

Simplisia nabati adalah simplisia yang berupa tanaman utuh, bagian tanaman atau eksudat tanaman. Eksudat tanaman adalah isi sel yang secara spontan keluar dari tanaman atau isi sel yang dengan cara tertentu dikeluarkan dari selnya dan belum berupa zat kimia murni. Simplisia hewani adalah simplisia yang berupa hewan utuh, bagian hewan atau zat-zat berguna yang dihasilkan oleh hewan dan belum berupa zat kimia murni. Simplisia pelikan (mineral) adalah simplisia berupa bahan pelikan (mineral) yang belum diolah atau telah diolah dengan cara sederhana dan belum berupa zat kimia murni. Simplisia harus memenuhi persyaratan minimal untuk menjamin keseragaman senyawa aktif, keamanan maupun kegunaannya. Faktor yang mempengaruhi yaitu bahan baku simplisia, proses pembuatan simplisia serta cara penyimpanan bahan baku simplisia dan cara pengepakan (Gunawan dan Mulyani 2004).

D. Metode Ekstraksi Simplisia

1. Pengertian ekstraksi

Ekstraksi adalah segala proses penarikan zat utama yang diinginkan dari bahan mentah obat dengan menggunakan pelarut yang dipilih berdasarkan zat yang ingin dilarutkan. Bahan-bahan tanaman terdiri dari campuran zat yang berbeda-beda, beberapa bahan ada mempunyai efek farmakologi dan oleh karena itu dianggap sebagai zat yang dibutuhkan dan yang lainnya yang tidak aktif secara farmakologis dianggap sebagai zat *inert* (Ansel 2011).

2. Metode penyarian

Metode penyarian dipilih berdasarkan beberapa faktor seperti sifat dari bahan obat dan daya penyesuaian dengan tiap macam metode ekstraksi dan kepentingan dalam memperoleh ekstrak yang sempurna atau mendekati sempurna dari obat. Sifat dari bahan mentah obat dapat merupakan faktor utama yang harus dipertimbangkan dalam memperoleh metode ekstraksi. Metode penyarian yang biasa digunakan yaitu metode maserasi, metode soxletasi, metode perkolasi dan metode infudasi (Ansel 1989)

2.1. Metode maserasi. Maserasi adalah proses pengestrakan simplisia dengan menggunakan pelarut dan beberapa kali pengocokan atau pengadukan

pada temperatur kamar. Keuntungan ekstraksi dengan cara maserasi adalah pengerjaan dan peralatan yang digunakan sederhana. Sedangkan kerugiannya yakni cara pengerjaan lama, membutuhkan pelarut yang banyak dan penyarian yang kurang sempurna (Anonim 2000). Metode ini paling cocok untuk bahan yang termolabil (Tiwari *et al.* 2011).

2.2. Metode perkolasi. Perkolasi adalah ekstraksi dengan pelarut yang selalu baru sampai terjadi penyarian sempurna yang umumnya dilakukan pada temperature kamar. Proses perkolasi terdiri dari tahap pengembangan bahan, tahap perendaman, tahap perkolasi antara, tahap perkolasi sebenarnya (penampungan ekstrak) secara terus menerus sampai diperoleh ekstrak (perkolat). Perkolasi adalah prosedur yang paling sering digunakan untuk mengekstrak bahan aktif dalam penyusunan tingture dan ekstrak cairan (Tiwari *et al.* 2011).

2.3. Metode soxhletasi. Soxhletasi adalah ekstraksi menggunakan pelarut yang selalu baru, dengan menggunakan soklet sehingga terjadi ekstraksi kontinyu dengan jumlah pelarut relatif konstan dengan adanya pendingin balik (Anonim 2000)

2.4. Metode infusa. Infusa adalah ekstraksi dengan pelarut air pada temperatur 90°C selama 15 menit. Infusa adalah ekstraksi menggunakan pelarut air pada temperatur penangas air dimana bejana infus tercelup dalam penangas air mendidih. Temperatur yang digunakan (96-98°C) selama waktu tertentu (15-20 menit) (Anonim 2000).

2.5. Metode refluks. Refluks adalah metode ekstraksi yang menggunakan alat pada temperatur didihnya selama waktu tertentu dan jumlah pelarut terbatas yang relatif konstan dengan adanya pendingin balik (Witono *et al.* 2016).

2.6. Metode dekotasi. Dekotasi adalah metode ekstraksi yang menggunakan pelarut air pada temperatur 90°C selama 30 menit (Witono *et al* 2016).

2.7. Metode digesti. Metode ini dilakukan secara maserasi yang disertai pemanasan. Pemanasan dilakukan pada suhu 40-50°C. metode ini tidak cocock untuk bahan aktif yang tidak tahan pada panas (Witono *et al* 2016).

E. Pelarut

Pemilihan pelarut yang akan digunakan dalam pengekstraksian dari bahan mentah obat atau simplisia tertentu didasarkan pada daya kelarutan terhadap suatu zat aktif dan zat tidak aktif serta zat yang tidak diinginkan juga tergantung pada tipe preparat farmasi yang diperlukan, dan penilaian lainnya adalah dapat melarutkan zat aktif semaksimal mungkin dan seminimal mungkin untuk zat-zat yang tidak diperlukan (Ansel 2011).

F. *Freeze-Drying*

Pengeringan beku (*freeze drying*) adalah salah satu metode pengeringan yang mempunyai keunggulan dalam mempertahankan mutu hasil pengeringan, khususnya untuk produk-produk yang sensitif terhadap panas. Menurut Pujihastuti (2009) keunggulan produk hasil pengeringan beku antara lain adalah dapat mempertahankan stabilitas produk, dapat mempertahankan stabilitas struktur bahan, dapat meningkatkan daya rehidrasi (pujihastuti 2009)

Prinsip teknologi pengeringan beku ini dimulai dengan proses pembekuan pangan dan dilanjutkan dengan pengeringan yaitu mengeluarkan atau memisahkan hampir sebagian besar air dalam bahan yang terjadi melalui mekanisme sublimasi (Anonim 2013). kadar air dalam produk terlebih dahulu akan diubah menjadi es yang kemudian es tersebut akan diubah fasenya secara sublimasi pada temperatur dan tekanan dibawah *triple point* dalam diagram fasa air. Penentuan massa dibawah kondisi vakum merupakan hal yang tidak mudah untuk dilakukan. Kondisi batas operasi dari beberapa sensor yang terjadi dan ukurannya pun dapat terpengaruh dari beberapa gangguan, seperti getaran, aliran gas dan *gradient* temperatur (Pujihastuti 2009).

Mekanisme ini berbeda dengan proses pengeringan biasa, pengeringan biasa melalui mekanisme penguapan (evaporasi) yang biasanya terjadi pada suhu tinggi. Pengeringan biasa terjadi melalui mekanisme penguapan pada suhu panas, sehingga bagian pangan yang keing akan terjadi perubahan kimia (gelatinase pati, karamelisasi gula, dan/atau denaturasi protein) yang menyebabkan terbentuknya kerak (crust) di permukaan yang akan memberikan hambatan difusi uap dari

bagian basah ke udara lingkungan. Akibatnya proses pengeringan akan terhambat dan terhenti, menghasilkan produk yang bagian luar sudah kering bahkan terlalu kering tetapi bagian tengahnya masih basah. Kasus demikian sering disebut sebagai *case-hardening*. Proses pengeringan beku terjadi melalui mekanisme sublimasi yang terjadi pada suhu dingin sehingga proses gelatinase, karamelisasi tidak terjadi. Produk kering yang dihasilkan dengan proses sublimasi akan menghasilkan ekstrak kering yang baik. Hal itu disebabkan proses difusi uap air bisa berdifusi dengan baik dari bagian basah ke udara lingkungan (Anonim 2013).

G. Antioksidan

Antioksidan adalah senyawa-senyawa yang mampu menghilangkan, membersihkan, menahan efek radikal. Antioksidan menstabilkan radikal bebas dengan melengkapi kekurangan elektron yang dimiliki radikal bebas, selain itu antioksidan juga berguna untuk mengatur agar tidak terjadi proses oksidasi berkelanjutan dalam tubuh (Selawa *et al.* 2013).

Tubuh manusia menghasilkan senyawa antioksidan, tetapi tidak cukup oleh tubuh sendiri. Kekurangan antioksidan dalam tubuh membutuhkan asupan dari luar. Sebenarnya, antioksidan juga berkompetensi sesamanya sehingga membutuhkan campuran yang cukup tepat (Hermani & Rahardjo. 2005)

Antioksidan digolongkan berdasarkan sumbernya dan berdasarkan mekanisme kerjanya. Berdasarkan sumbernya antioksidan dibedakan menjadi antioksidan alami dan antioksidan sintetik. Berdasarkan mekanisme kerjanya antioksidan primer, antioksidan sekunder dan antioksidan tersier.

1. Penggolongan antioksidan

1.1. Antioksidan primer. Pembentukan senyawa radikal bebas yang baru dapat dicegah oleh jenis antioksidan primer. Antioksidan tersebut mengubah radikal bebas menjadi molekul yang berkurang dampak negatifnya, sebelum radikal bebas itu bereaksi.

Antioksidan primer seperti enzim GPx (Glutation peroksidase) yang berfungsi sebagai pelindung hancurnya sel-sel dalam tubuh kita dimana kerjanya

membutuhkan bantuan gizi atau mineral lainnya seperti mangan, seng, dan tembaga.

1.2. Antioksidan sekunder. Fungsi jenis ini adalah menangkap senyawa serta menghentikan terjadinya reaksi yang berantai dalam pembentukan radikal bebas. Contoh antioksidan sekunder yaitu vitamin E (alfa tokoferol), vitamin C (asam askorbat), betakaroten, kurkuminoid.

1.3. Antioksidan tersier. Radikal bebas menyebabkan kerusakan sel dan jaringan. Contoh enzim yang memperbaiki DNA pada inti sel adalah metionin sulfoksida reduktase yang dapat mencegah terjadinya penyakit kanker yang berperan dalam perbaikan biomolekul yang disebabkan oleh radikal bebas (Winarsi 2007)

H. Glutation Peroksidase

Manusia memiliki antioksidan yang secara alami sudah ada di dalam tubuh sejak lahir atau biasanya disebut dengan antioksidan endogen, salah satu dari antioksidan endogen tersebut adalah enzim glutathion peroksidase (GSH-Px) (Sugiyanto 2010). Menurut Sugiyanto (2011), glutathion peroksidase merupakan suatu enzim yang berperan dalam mekanisme proteksi terhadap organisme dari kerusakan oksidatif, enzim ini mengandung selenium (Se) pada bagian sisi aktifnya. Kerja dari enzim glutathion peroksidase adalah dengan mengubah molekul hidrogen peroksida (H_2O_2) yang dihasilkan oleh Superoksida Dimutase (SOD) dan berbagai hidro serta lipid peroksida menjadi air.

Glutathion peroksidase aktivitasnya memerlukan adanya glutathion sebagai kosubstrat dan enzim glutathion reduktase untuk merestorasi glutathion teroksidasi menjadi bentuk tereduksi (Sugiyanto 2011).

Glutathion peroksidase termasuk dalam enzim intraseluler yang terdispersi dalam sitoplasma, namun aktivitas dari enzim ini juga ditemukan dalam mitokondria dan jaringan lain. Enzim glutathion peroksidase ditemukan dalam sitoplasma memiliki bentuk tetramer, dan mengandung selenosistein pada sisi aktifnya. Dalam sitoplasma enzim glutathion peroksidase bekerja pada membran fosfolipid yang teroksidasi sehingga dikenal juga sebagai *hydroperoxide* glutathion

peroksidase. Enzim glutathion peroksidase ini bersifat nukleofilik dan mudah terionisasi sehingga mengakibatkan terlepasnya proton (Sugiyanto 2011).

Aktivitas enzim glutathion peroksidase juga ditemukan dalam mitokondria, plasma, dan saluran pencernaan. Konsentrasi GSH-Px tertinggi ditemukan di hepar dan eritrosit.

I. Diabetes Melitus

1. Definisi Diabetes Melitus

Diabetes mellitus adalah gangguan metabolisme yang secara genetik dan klinis termasuk heterogen dengan manifestasi berupa hilangnya toleransi karbohidrat (Price *et al.* 2005). Penyakit ini mempunyai karakteristik hiperglikemia yang terjadi karena kelainan sekresi insulin, kerja insulin atau kedua-duanya (Purnamasari 2009).

Gejala diabetes mellitus biasanya ditandai dengan keluhan banyak minum (polidipsi), banyak makan (polifagia), banyak buang air kecil (poliuri), badan lemas serta penurunan berat badan yang tidak jelas penyebabnya, kadar gula darah pada waktu puasa ≥ 126 mg/dL dan kadar gula darah sewaktu ≥ 200 mg/dL.

Dari beberapa pengertian di atas dapat diambil kesimpulan bahwa diabetes mellitus (DM) merupakan sindrome gangguan metabolis secara genetik dan klinis termasuk heterogen akibat defisiensi sekresi insulin atau berkurangnya efektivitas dari insulin yang menimbulkan berbagai komplikasi kronik baik pada mata, ginjal, neurologis dan pembuluh darah.

2. Klasifikasi Diabetes Mellitus

2.1. DM tipe I. DM tipe I ditandai oleh destruksi sel β secara selektif dan defisiensi insulin absolut atau berat. Pemberian insulin sangat penting pada pasien dengan DM tipe I. DM tipe I selanjutnya dibagi menjadi memiliki penyebab imun dan idiopatik. Bentuk imun merupakan bentuk tersering pada DM tipe I. meskipun sebagian besar diagnosis terjadi pada pasien lebih muda 30 tahun, onset penyakit tersebut dapat terjadi pada semua usia. Faktor genetik multifactorial menimbulkan kerentanan menderita penyakit ini namun hanya 10-15% pasien memiliki riwayat diabetes dalam keluarganya (Katzung 2010)

2.2. DM tipe II. DM tipe II ditandai oleh resistensi jaringan terhadap kerja insulin disertai defisiensi sel β yang lebih parah, kelaianannya dapat ringan atau parah. Meskipun insulin diproduksi sel β pada pasien ini, namun hal tersebut tidak cukup untuk mengatasi resistensi dan kadar glukosa darah meningkat. Gangguan kerja insulin juga mempengaruhi metabolisme lemak sehingga kadar asam lemak bebas dan trigliserida serta menurunkan kadar HDL (Katzung 2010)

2.3. DM Gestasional. DM gestasional diartikan sebagai intoleransi glukosa yang pertama disadari selama kehamilan. DM gestasional ini menyulitkan kira-kira 7% dari semua kehamilan. Penemuan klinik sangat penting sebagai terapi yang akan mengurangi jumlah kesakitan dan jumlah kematian bayi baru lahir (Dipiro et al. 2008)

2.4. DM tipe lain. Penyebab DM ini antara lain efek genetic fungsi sel β , efek genetic kerja insulin, penyakit eksokrin pancreas, endrokinopati, karena obat atau zat kimia, infeksi, penyebab imunologi yang jarang seperti antibody antiinsulin, sindrom genetic lain yang berkaitan dengan DM seperti sindrom down, sindrom klinefelter, sindrom turner (Mansjoer & Arif 1999)

3. Diagnosis Diabetes Mellitus

Beberapa parameter yang dapat digunakan untuk mendignosa diabetes mellitus sebagai berikut : pertama, seseorang dikatakan menderita diabetes mellitus jika kadar glukosa darah saat puasa lebih dari 126 mg/dL atau 2 jam setelah minum larutan glukosa 75 g menunjukkan kadar glukosa darah lebih dari 200 mg/dL. Kedua, seseorang dikatakan tergantung toleransi glukosa jika kadar glukosa darah ketika puasa 110-125 mg/dL. Ketiga, seseorang dikatakan normal atau tidak menderita diabetes mellitus jika kadar glukosa darah ketika puasa kurang dari 119 mg/dL, kadar glukosa darah 1 jam setelah minum larutan glukosa 75 g menunjukkan kadar glukosa darah kurang dari 140 mg/dL (Utami 2003)

4. Komplikasi Diabetes Mellitus

Komplikasi yang sering terjadi diakibatkan karena kelainan pembuluh darah seperti makro dan mikroangiopati. Mikroangiopati diabetika misalnya akan menimbulkan berbagai perubahan pada pembuluh-pembuluh darah halus (kapiler) yang ada di ginjal, mata dan juga pada saraf.

5. Stres oksidatif pada diabetes

Pada DM pertahanan antioksidan dan sistem perbaikan seluler akan terangsang sebagai respon tantangan oksidatif (Nuttal *et al.* 1999). Sumber stress oksidatif yang terjadi berasal dari peningkatan produksi radikal bebas akibat antioksidan glukosa, penurunan konsentrasi antioksidan berat molekul rendah di jaringan dan gangguan aktivitas pertahanan antioksidan enzimatis (Kowluru *et al.* 2001)

Untuk meredam kerusakan oksidatif tersebut diperlukan antioksidan. Peningkatan suplai antioksidan yang cukup akan membantu pencegahan komplikasi klinis diabetes melitus, meskipun data penelitian belum konsisten. Penelitian pada hewan percobaan membuktikan bahwa antioksidan dapat menghambat tahap awal retinopati, nefropati, dan neuropati. Demikian juga pada penelitian manusia, antioksidan dapat menghambat komplikasi mikrovaskular, penurunan insidens penyakit jantung koroner, perbaikan sistem saraf otonom jantung, dan perbaikan vasodilatasi.

Kerusakan oksidatif pada DNA yang berkorelasi dengan peroksidasi asam lemak membran dan status antioksidan yang rendah juga ditemukan pada diabetes melitus. Fenomena ini bahkan sudah ditemukan sejak pradiabetes, yakni ketika resistensi insulin muncul, atau saat toleransi glukosa terganggu. Semakin tinggi derajat resistensi insulin pada individu sehat, semakin besar peroksidasi lipid plasmanya. Tiga mekanisme utama peningkatan stres oksidatif (glikasi nonenzimatis pada protein, jalur poliol-sorbitol (aldose reduktase), dan autooksidasi glukosa) pada diabetes melitus serta peran berbagai senyawaan atau bahan antioksidan dalam meredam stres oksidatif akibat status glikemia yang meningkat.

5.1. Glikasi non enzimatis pada protein. Pada keadaan hiperglikemia, produksi berbagai gula pereduksi antara lain glukosa, glukosa-6-fosfat, dan fruktosa, akan meningkat melalui proses glikolisis dan jalur poliol. Glukosa sebagai gula pereduksi dapat menjadi agen yang bersifat toksik. Sifat toksik tersebut disebabkan oleh kemampuan kimiawi gugus karbonil aldehyd yang dimilikinya. Meskipun sebagian besar keberadaan gula pereduksi dalam larutan

sebagai struktur cincin nonaldehid, glukosa dalam bentuk rantai lurus merupakan aldehid. Aldehid merupakan senyawa yang mampu berikatan secara kovalen sehingga terjadi modifikasi protein (Setiawan & Suhartono 2005).

5.2. Jalur Poliol-Sorbitol (Aldosa Reduktase). Dalam keadaan normal, konsentrasi sorbitol di dalam sel rendah. Akan tetapi, apabila terjadi keadaan hiperglikemia, konsentrasi sorbitol meningkat. Sorbitol, dengan bantuan enzim sorbitol dehidrogenase (SDH), akan diubah menjadi fruktosa. Degradasi sorbitol ini berjalan lambat sehingga sorbitol menumpuk dalam sel, sehingga dapat menyebabkan peningkatan tekanan osmotik dan selanjutnya dapat merusak sel. Masuknya substrat (*substrat flux*) melalui jalur poliol, selain dapat meningkatkan kadar sorbitol dan fruktosa intraseluler, juga menurunkan rasio NADPH terhadap NADP. Selain itu, rasio NADH terhadap NAD sitosolik juga menurun. Berkurangnya NADPH di dalam sel akibat meningkatnya AR dapat menghambat aktivitas enzim lain yang membutuhkan NADPH (Setiawan & Suhartono 2005).

5.3. Autooksidasi Glukosa. Proses autooksidasi glukosa dikatalisis oleh senyawa logam dalam jumlah kecil seperti besi dan seng. Hasil katalisis tersebut adalah senyawa oksigen reaktif. Autooksidasi glukosa terjadi pada fase I proses glikasi nonenzimatik pada protein yang secara alamiah masih bersifat reversibel. Fase ini merupakan sumber hidrogen peroksida yang mampu menghambat Cu/ZnSOD. Selain hidrogen peroksida, radikal superoksida juga dihasilkan oleh proses autooksidasi glukosa tersebut serta terkait dengan pembentukan protein glikasi dalam plasma penderita diabetes. Akibat yang ditimbulkan berupa peningkatan aktivitas radikal superoksida serta kerusakan enzim superoksida dismutase (Setiawan & Suhartono 2005)

J. Pemeriksaan Glutation Peroksidase

Glutation peroksidase (GPx) merupakan salah satu antioksidan enzimatis yang mencegah kerusakan sel yang disebabkan oleh radikal bebas dengan mengkatalisis berbagai hiperoksida dan merupakan suatu protein yang memiliki bentuk tetramer. Enzim ini mengandung atom selenium yang terikat sebagai *selenocysteine*. Pada penderita diabetes menunjukkan penurunan vitamin E dan

glutation. Glutation dalam bentuk tereduksi (GSH) terdapat dalam plasma manusia, intraseluler dengan kemampuan sebagai antioksidan untuk menghambat radikal bebas dengan fungsi secara umum sebagai *buffer* redoks dan kofaktor enzim glutation peroksidase (GPx) (Setiawan dan Suhartono 2005). Glutation peroksidase akan mereduksi H₂O₂ menjadi H₂O dan *glutation disulfide* (GSSG) dengan bantuan glutation tereduksi (GSH).



Dalam hepar dan sel darah merah terdapat glutation peroksidase dengan konsentrasi tinggi, sedangkan jantung, ginjal, paru-paru, adrenal, lambung, dan jaringan adipose mengandung kadar glutation peroksidase dalam kadar sedang. Glutation peroksidase kadar rendah sering ditemukan di otak, otot, testis, dan lensa mata. Pada penderita nekrosis hati dan penyakit *degenerative* aktivitas glutation peroksidase rendah karena terjadi defisiensi selenium (Chen et al., 2002)

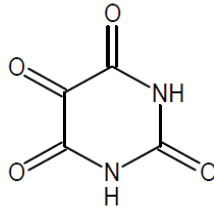
Perhitungan glutation peroksidase yaitu

$$\text{M unit GSH-Px} = \frac{\text{Abs} \times \text{Vt} \times 2 \times 1000 \times \frac{1}{\text{mg}} \text{ protein}}{6,22 \times \text{Vs}}$$

- Abs = perubahan absorbansi
- Vt = volume total
- 6,22 = koefisiensi ekstrinsik dari NADPH
- 2 = 2 mol GSH yang setara dengan 1 mol NADPH
- 1000 = perubahan menjadi mili unit
- Vs = volume sampel

Metode pemeriksaan yang dilakukan adalah metode enzimatik dengan menggunakan glutation peroksidase (GPx) mengkonversi glutation tereduksi (GSH) menjadi glutation teroksidasi (GSSG) sekaligus mengurangi hidroperoksida lipid ke beberapa koresponden alkohol atau hidrogen peroksida bebas ke air. Beberapa isoenzim telah ditemukan di berbagai lokasi seluler dan spesifisitas substrat yang berbeda. Rendahnya GPx telah berkorelasi dengan gangguan terkait radikal bebas. Dalam pemeriksaannya, GPx mereduksi cumene hydroperoxide saat terjadi perubahan GSH ke GSSG. Selanjutnya GSSG yang dihasilkan direduksi menjadi GSH oleh GR dengan mengkonsumsi NADPH. Penurunan NADPH (biasanya diukur pada panjang gelombang 340 nm) sebanding dengan aktivitas GPx (Biovision 2012).

K. Aloksan



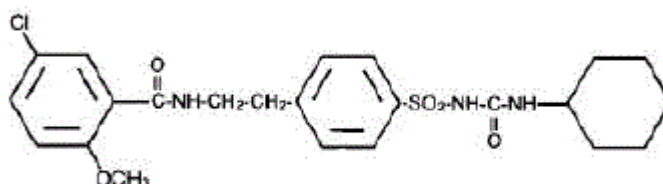
Gambar 3. Struktur aloksan (Nugroho 2006)

Aloksan adalah suatu substrat yang secara struktural adalah derivat pirimidin sederhana (Price & Wilson 2005). Aloksan diperkenalkan sebagai hidrasi aloksan pada larutan encer. Nama aloksan diperoleh dari penggabungan kata allantoin dan oksalurea (asam oksalurik) Rumus kimia aloksan adalah $C_4H_2N_2O_4$. Aloksan murni diperoleh dari oksidasi asam urat oleh asam nitrat (Yuriska 2009)

Pemberian aloksan adalah cara yang cepat untuk menghasilkan kondisi diabetik eksperimental (hiperglikemik) pada binatang percobaan. Aloksan dapat diberikan secara intravena, intraperitoneal, atau subkutan pada binatang percobaan. Aloksan bersifat toksik selektif terhadap sel beta pancreas yang memproduksi insulin karena terakumulasinya aloksan secara khusus melalui transporter glukosa yaitu GLUT2. Tingginya konsentrasi aloksan tidak mempunyai pengaruh pada jaringan percobaan lainnya. Mekanisme aksi dalam menimbulkan kerusakan selektif sel beta

pankreas belum diketahui dengan jelas. Efek diabetogeniknya bersifat antagonis terhadap glutathion yang bereaksi dengan gugus SH. Aloksan bereaksi dengan merusak substansi esensial di dalam sel beta pankreas sehingga menyebabkan berkurangnya granula – granula pembawa insulin di dalam sel beta pankreas (Yuriska 2009)

L. Glibenklamid



Gambar 4. Struktur Glibenklamid (Depkes 1995)

Glibenklamid adalah hipoglikemik oral derivat sulfonil urea yang bekerja aktif menurunkan kadar gula darah. Glibenklamid bekerja dengan merangsang sekresi insulin dari pankreas. Oleh karena itu glibenklamid hanya bermanfaat pada penderita diabetes dewasa yang pankreasnya masih mampu memproduksi insulin. Pada penggunaan peroral, sebagian glibenklamid di absorpsi ke cairan ekstrasel, dan sebagian terikat dengan protein plasma. Pemberian glibenklamid dosis tunggal akan menurunkan kadar dalam 3 jam kadar ini dapat bertahan selama 15 jam. Glibenklamid diekskresikan bersama feses dan sebagai metabolit bersama urin (Anonim 2009).

Glibenklamid menstimulasi sel-sel beta dari pulau Langerhans pankreas sehingga ekskresi insulin ditingkatkan. Disamping itu kepekaan sel-sel beta bagi kadar glukosa darah juga diperbesar melalui pengaruhnya atas protein transport

glukosa ada indikasi bahwa obat ini juga memperbaiki kepekaan organ tujuan bagi insulin dan menurunkan absorpsi insulin oleh hati (Tjay & Rahardja 2002).

Glibenklamid secara relatif mempunyai efek samping yang rendah, hal ini umum terjadi pada golongan sulfonilurea. Efek samping bersifat ringan dan hilang sendiri setelah obat dihentikan. Efek samping penderita glibenklamid adalah hipoglikemia, mual, rasa tidak enak di perut, dan anoreksia. Glibenklamid merupakan kontraindikasi pada pasien, kerusakan hati dan insufisiensi ginjal (Hardjasaputra *et al.* 2002).

Obat antihiperglikemik selain glibenklamid yang dijual di pasaran diantaranya metformin hidroklorida yang bekerja tidak melalui perangsangan insulin tetapi langsung terhadap organ sasaran (Ganiswarna *et al.* 1995). Akarbose yang bekerja menghambat alfa-glukosidase sehingga memperlambat penyerapan karbohidrat (Santoso & Zaini 2002).

M. Histologi Hepar dan Fungsi Hepar

Hati merupakan kelenjar terberat dalam tubuh, beratnya 1,5 kg atau lebih, konsistensinya lunak dan terletak dibawah diafragma dalam rongga abdomen atas. Hati menerima semua bahan yang diserap usus kecuali lemak yang sebagian besar diangkut oleh system limfatik, darah portal juga membawa berbagai bahan toksik ke dalam hati yang kemudian didetoksikasi atau dieksresikan oleh hati (Lesson *et al.* 1996).

Hepar mempunyai 2 lobus utama, yaitu lobus kanan dan kiri. Lobus kanan dibagi menjadi segmen anterior dan posterior fissure segmentalis dextra yang tidak terlihat dari luar. Lobus kiri dibagi menjadi segmen medial dan lateral oleh ligament falsiformis yang terlihat dari luar. Lobus dextra terletak di region hipokondrium kanan lebih besar dibandingkan lobus sinistra, sedangkan lobus sinistra terletak di region epigastric dan hipokondrium kiri (Snell 2006).

Lobulus hepar membentuk bagian terbesar dari substansi hepar. Pada daerah ini terdapat beberapa saluran disebut daerah portal, yang terdiri dari cabang arteri hepatica, cabang vena porta, dan ductus biliaris, serta pembuluh limfe yang berada diantara jaringan ikat interlobularis (Fawcett 2002). Pada

potongan melintang, lobules hepar terdiri dari deretan sel parenkim hepar yang tersusun radier yang saling berhubungan dan bercabangan membentuk anyaman tiga dimensi dengan pusat pembuluh kecil ditengahnya yaitu vena sentralis dan dipisahkan oleh celah yang disebut sinusoid hepar (Nurdjaman *et al.* 2001).

Hepar berfungsi untuk menjaga glukosa darah dalam konsentrasi normal. Penyimpanan glikogen dalam hepar untuk mereduksi glukosa dalam plasma darah dan akan kembali ke dalam plasma darah jika dalam keadaan konsentrasi glukosa darah setelah makan akan meningkat dua hingga tiga kali dibandingkan dengan hepar dalam keadaan normal sehingga mudah hiperglikemia. Hepar menghasilkan enzim-enzim yang mempunyai kemampuan biotransformasi pada berbagai macam zat eksogen dan endogen untuk dieliminasi oleh tubuh (Ilma W.Z. 2016). Proses ini mungkin juga mengaktifkan beberapa zat menjadi bentuk lebih toksik dan dapat menyebabkan terjadinya perlukaan hepar (Carlton 1995).

Pada keadaan normal 50% glukosa mengalami metabolisme sempurna menjadi karbondioksida dan air, 5% diubah menjadi glikogen, dan 30-40% menjadi lemak. Penderita DM mengalami gangguan pada semua proses metabolisme karena glukosa tidak bisa masuk ke dalam sel sehingga tidak dapat dimetabolisme, akibatnya energi terutama diperoleh dari metabolisme protein dan lemak (Ganong 1998). Hiperglikemia dan resistensi dapat menyebabkan sel hepar mengalami hipoksia. Adanya defisiensi faktor-faktor penting untuk kelangsungan hidup sel seperti zat makanan dan oksigen dapat menyebabkan kematian sel hepar atau yang disebut *necrosa hepatica* (Ressang 1984)

N. Hewan Uji

1. Sistematika tikus putih

Menurut Besselsen (2004) dan Depkes (2011) taksonomi tikus adalah:

Kingdom	: Animalia
Filum	: Chordata
Subfilum	: Vertebrata
Kelas	: Mamalia
Subkelas	: Theria

Ordo : Rodensia
Subordo : Sciurognathi
Famili : Muridae
Subfamili : Murinae
Genus : *Rattus*
Spesies : *Rattus norvegicus*

2. Karakteristik utama tikus putih

Hewan percobaan yang umum digunakan dalam penelitian ilmiah adalah tikus. Tikus (*Rattus norvegicus*) telah diketahui sifat-sifatnya secara sempurna, mudah dipelihara, dan merupakan hewan yang relatif sehat dan cocok untuk berbagai penelitian. Ciri-ciri morfologi *Rattus norvegicus* antara lain memiliki berat 150-600 gram, hidung tumpul dan badan besar dengan panjang 18-25 cm, kepala dan badan lebih pendek dari ekornya, serta telinga relatif kecil dan tidak lebih dari 20-23 mm (Depkes 2011; Institut Pertanian Bogor)

Ada dua sifat utama yang membedakan tikus dengan hewan percobaan lainnya, yaitu tikus tidak dapat muntah karena struktur anatomi yang tidak lazim pada tempat bermuara esofagus ke dalam lambung sehingga mempermudah proses pencekakan perlakuan menggunakan sonde lambung, dan tidak mempunyai kandung empedu (Smith & Mangkoewidjojo 1998). Selain itu, tikus hanya mempunyai kelenjar keringat di telapak kaki. Ekor tikus menjadi bagian badan yang paling penting untuk mengurangi panas tubuh. Mekanisme perlindungan lain adalah tikus akan mengeluarkan banyak ludah dan menutupi bulunya dengan ludah tersebut (Sirois 2005).

Terdapat tiga galur atau varietas tikus yang memiliki kekhususan tertentu yang biasa digunakan sebagai hewan percobaan yaitu galur *Sprague dawley* berwarna albino putih, berkepala kecil dan ekornya lebih panjang dari badannya, galur *Wistar* ditandai dengan kepala besar dan ekor yang lebih pendek, dan galur *Long evans* yang lebih kecil daripada tikus putih dan memiliki warna hitam pada kepala dan tubuh bagian depan (Malole & Pramono 1989).

3. Cara penanganan hewan uji

Tikus diabetes adalah tikus yang diinduksialoksan. Induksi aloksan dilakukan dengan carasebagai berikut: tikus dibiarkan selama tujuhhari untuk proses aklimatisasi hewan percobaanatau proses adaptasi dengan lingkungan. Padatahap ini semua tikus diberi ransum standarT79-4. Selama proses adaptasi itu, bobot badandan aktivitas hewan coba terus diperhatikan. bergerak aktif dan bobot badannya tidak ada yang kurang dari 150 gram selama dan setelah proses adaptasi sehingga tidak ada sampel yang dikeluarkan. Tikus yang telah beradaptasi dipuaskan selama 16 jam, selanjutnya diperiksa kadar gula darahnya (Yusni *et al.* 2017). Pemeriksaan enzim glutation peroksidase dilakukan pada hari ke-15 tikus dianastesi dan diambil jaringan hati. (Mufit 2017).

O. Landasan Teori

Diabetes melitus penyakit ini dapat dicirikan dengan terjadinya hiperglikemia (Nair *et al.*2013;Wardani *et al* 2017). Hiperglikemia kronis dapat menyebabkan kerusakan, disfungsi berbagai macam organ khususnya mata, ginjal, saraf, jantung dan pembuluh darah (ADA 2006), serta menyebabkan stres oksidatif (Gumieniczek *et al.*2002).

Penderita DM mengalami gangguan pada semua proses metabolisme karena glukosa tidak bisa masuk ke dalam sel sehingga tidak dapat dimetabolisme, akibatnya energi diperoleh dari metabolisme protein dan lemak (Ganong 1995). Diabetes berpengaruh secara signifikan dan dapat menyebabkan penyakit kronik perlemakan hati non alcohol atau *Non-Alcoholic Fatty Liver Disease* (NAFLD) dan karsinoma hepatoseluler. Penyakit tersebut disebabkan karena peningkatan konsentrasi transaminase hepar secara signifikan yang berhubungan dengan obesitas, tingginya kadar trigliserida, kolesterol dan resistensi insulin (ADA 2015)

Pemberian antioksidan berupa vitamin dapat mengurangi stres oksidatif bagi penderita DM-1 baik kronis maupun akut. Pasien DM tipe 2 Sebagian besar antioksidan dalam plasma dapat berkurang dikarenakan komplikasi diabetes yang menyebabkan berbagai komplikasi antara lain aterosklerosis dan penyakit jantung

coroner. Pemberian antioksidan dan komponen senyawa polifenol menunjukkan dapat menangkap radikal bebas, mengurangi stres oksidatif, menurunkan ekspresi TNF- α . Senyawa fitokimia ternyata mampu memanipulasi dengan berbagai mekanisme sehingga dapat mengurangi komplikasi diabetes melalui pengurangan stres oksidatif, ROS dan TNF- α (Tiwari *et al.* 2002). Pengobatan diabetes dapat dilakukan dengan menggunakan antioksidan dalam penelitian yang dilakukan Widowati (2008) senyawa antioksidan sintetik maupun alami (dari berbagai tanaman) mampu mengontrol kadar glukosa dalam darah dan mencegah timbulnya komplikasi diabetes (Widowati 2008).

Glutation peroksidase (GPx) merupakan salah satu antioksidan enzimatik yang mencegah kerusakan sel yang disebabkan oleh radikal bebas dengan mengkatalisis berbagai hiperoksida dan merupakan suatu protein yang memiliki bentuk tetramer. Enzim ini mengandung atom selenium yang terikat sebagai *selenocysteine*. Pada penderita diabetes menunjukkan penurunan vitamin E dan glutathione (Setiawan & Suhartono 2005). Glutathione berperan utama dalam pemeliharaan keseimbangan redoks seluler. Glutathione akan menangkap peroksidase yang membahayakan sel. Semua organisme aerob secara fisiologis pasti mengalami stress oksidatif dari proses respirasi mitokondria (Yuniastuti 2016). Kerja dari enzim glutathione peroksidase adalah dengan mengubah molekul hidrogen peroksida (H_2O_2) yang dihasilkan oleh Superoksida Dimutase (SOD) dan berbagai hidro serta lipid peroksida menjadi air. Glutathione peroksidase aktivitasnya memerlukan adanya glutathione sebagai kosubstrat dan enzim glutathione reduktase untuk merestorasi glutathione teroksidasi menjadi bentuk tereduksi (Sugiyanto 2011).

Stevia rebaudiana adalah tanaman herbal yang berasal dari Amerika Selatan (Paraguay dan Brazil). *Stevia rebaudiana* mengandung senyawa diterpen glikosida. Stevia menawarkan banyak keuntungan bagi kesehatan yang telah dibuktikan oleh lebih dari 500 penelitian, diantaranya: Tidak mempengaruhi kadar gula darah, aman bagi penderita diabetes, mencegah kerusakan gigi dengan menghambat pertumbuhan bakteri di mulut, membantu memperbaiki pencernaan

dan meredakan sakit perut, baik untuk mengatur berat badan, untuk membatasi makanan manis berkalori tinggi (Raini & Isnawati 2011)

Tanaman lain yang memiliki aktivitas penurun gula darah adalah lidah buaya (*Aloe vera* (L)). Aktivitas antoksidasi lidah buaya dinyatakan sebagai kemampuan menangkap radikal bebas DPPH dan kemampuan menghambat peroksidasi lemak (FTC). Menurut Hu *et al.* (2003), aktivitas antioksidasi lidah buaya ditentukan oleh kandungan senyawa flavonoidnya. Antioksidan dalam gel lidah buaya merupakan senyawa flavonoid seperti kaempferol, quercetin dan merycetin (Sultana & Anwar 2008; Wariyah & Riyanto 2016) memiliki gugus O-hidroksi (katekol) yang dapat mendonorkan hidrogennya melalui ikatan hidrogen (Benavente-Garcia *et al.* 1997). Interaksi yang terjadi antara gula dengan senyawa antioksidan dalam gel lidah buaya melalui ikatan hidrogen dengan sendirinya menurunkan aktivitas antioksidan.

Dua tanaman yang terbukti mempunyai aktivitas sebagai antidiabetes yaitu tanaman stevia (*Stevia rebaudiana* Bertoni) dan tanaman lidah buaya (*Aloe vera* L.) akan dikombinasikan dengan mengamati aktivitas penurunan kadar glukosa darah yang lebih baik dari sediaan tunggalnya, selain itu kombinasi antara dua tanaman tersebut juga memiliki aktivitas antioksidan sehingga diharapkan dapat meningkatkan aktivitas penaikan enzim Glutation Peroksidase (GPx).

Ekstraksi kedua tanaman menggunakan pelarut air. Pelarut air (panas) merupakan medium untuk ekstraksi yang banyak diminati, hal ini disebabkan ekstrak air tersebut dapat dimanfaatkan langsung oleh masyarakat (Erdiyansah *et al.* 2015). Ekstraksi menggunakan air pada *Stevia rebaudiana* juga menghasilkan kadar steviosida yang tinggi (Chandra 2015). Kombinasi kedua tanaman ini diharapkan dapat memiliki aktivitas penurunan gula darah yang lebih baik dari ekstrak tunggalnya dan memiliki efek antioksidan sehingga dapat memperbaiki kondisi stress oksidatif yang dapat diamati dengan adanya peningkatan aktivitas enzim Glutation Peroksidase (GPx)

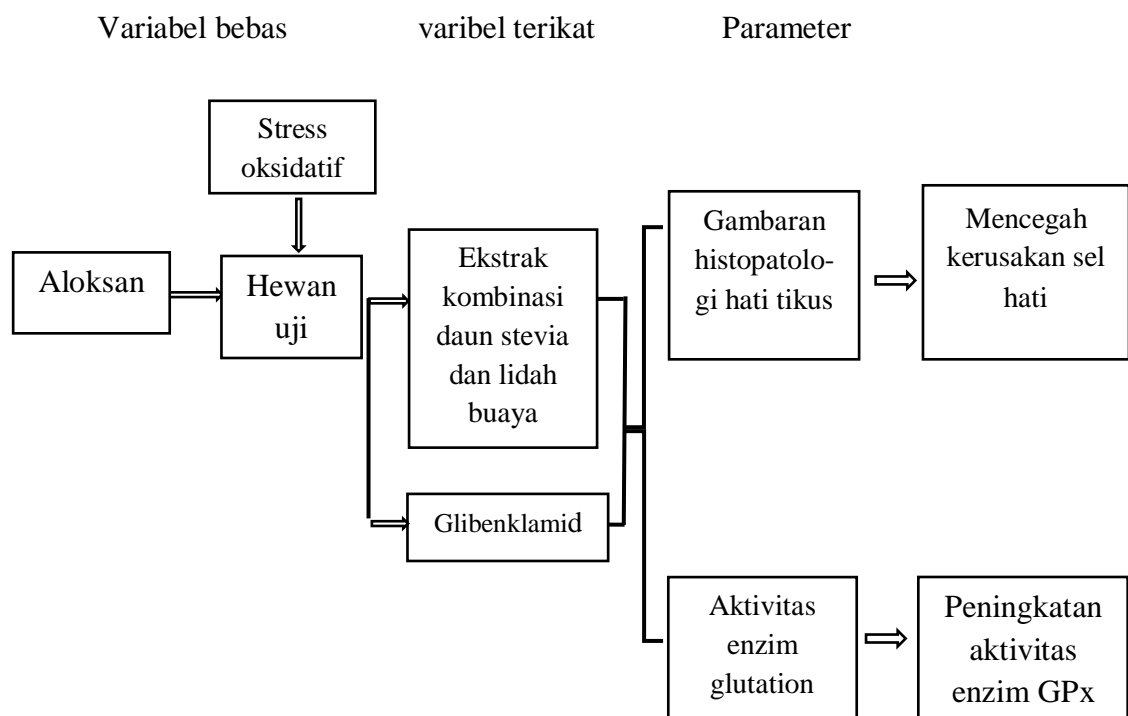
P. Hipotesis

Hipotesis dalam penelitian ini yaitu pertama, kombinasi ekstrak daun stevia dan lidah buaya mampu meningkatkan aktivitas enzim glutation peroxidase pada tikus putih jantan yang diinduksi aloksan.

Kedua, pemberian dosis tertentu kombinasi ekstrak daun stevia dan lidah buaya mampu meningkatkan aktivitas enzim glutation peroxidase pada tikus putih jantan yang diinduksi aloksan.

Ketiga, kombinasi ekstrak daun stevia dan lidah buaya dapat mencegah kerusakan pada sel hepar.

Q. Kerangka Pikir



Gambar 5. Kerangka pikir penelitian

BAB III

METODE PENELITIAN

A. Populasi dan Sampel

Populasi yang digunakan dalam penelitian ini adalah daun stevia (*Stevia rebaudiana* Bertoni) dan lidah buaya (*Aloe vera*) yang diambil dari Tawangmangu, Karanganyar.

Sampel yang digunakan untuk penelitian ini adalah daun stevia (*Stevia rebaudiana* Bertoni) dan lidah buaya (*Aloe vera*) dengan ciri-ciri berwarna hijau dan tidak busuk.

B. Variabel Penelitian

1. Identifikasi variabel utama

Variabel utama pertama adalah kombinasi ekstrak lidah buaya dan daun stevia serta efek peningkatan enzim glutathione peroksidase.

2. Klasifikasi variabel utama

Variabel utama yang telah diidentifikasi dapat diklasifikasikan ke dalam berbagai macam variabel yaitu variabel bebas, variabel tergantung, dan variabel terkontrol.

2.1. Variabel bebas. Variabel bebas adalah variabel utama yang sengaja diubah-ubah untuk diteliti pengaruhnya terhadap variabel tergantung berkaitan dengan perubahan-perubahan. Variabel bebas yang dimaksud dalam penelitian ini adalah dosis kombinasi ekstrak lidah buaya dan daun stevia.

2.2. Variabel tergantung. Variabel tergantung adalah suatu variabel yang variasinya dipengaruhi oleh variasi beberapa variabel lain. Variabel tergantung dalam penelitian ini adalah peningkatan aktivitas enzim glutathione peroksidase.

2.3. Variabel terkontrol. Variabel terkontrol merupakan variabel yang mempengaruhi variabel tergantung sehingga perlu dinetralisir atau ditetapkan kualitasnya agar hasil yang diperoleh tidak tersebar dan dapat diulang oleh peneliti lain secara cepat dan tepat. Variabel kendali dalam penelitian ini adalah

jenis kelamin, galur hewan coba, kondisis fisik maupun lingkungan, kondisi laboratorium dan kondisi peneliti.

3. Definisi operasional variabel utama

Pertama, daun stevia (*Stevia rebaudiana* Bertoni) adalah daun yang segar, tidak bususk, berwarna hijau, yang diambil dari Tawangmangu, Jawa Tengah.

Kedua, lidah buaya (*Aloe vera* L) adalah daun yang segar, tidak bususk, berwarna hijau, yang diambil dari Tawangmangu, Jawa Tengah

Ketiga, daun stevia (*Stevia rebaudiana* Bertoni) adalah daun yang segar tidak busuk, berwarna hijau, yang diambil di Tawangmangu, Jawa Tengah dicuci bersih dengan air mengalir, dirajang lalu dikeringkan dengan oven pada suhu 50°C, diblender dan diayak dengan pengayak nomor 40.

Keempat, lidah buaya (*Aloe vera* L.) adalah daun yang segar tidak busuk, yang diambil di Tawangmangu, Jawa Tengah, dicuci dengan air mengalir, dibersihkan dari kulit kemudian dicuci lagi dengan air mengalir. Dipotong kecil-kecil kemudian diblender hingga halus seperti jus.

Kelima, ekstrak air tanaman stevia adalah ekstrak hasil refluks serbuk daun stevia menggunakan pelarut air lalu dipekatkan dengan *freeze drying*. Lidah buaya adalah ekstrak hasil refluks serbuk daun stevia menggunakan pelarut air lalu dipekatkan dengan alat *freeze drying*.

Keenam, aloksan adalah bahan yang diberikan secara intraperitoneal untuk merusak sel beta pankreas pulau Langerhans yang fungsinya menghasilkan insulin sehingga terjadi hiperglikemik.

Ketujuh, efek yang dimiliki dari kombinasi ekstrak air daun stevia dan lidah buaya adalah sebagai antioksidan diamati dengan pengukuran aktivitas GPx.

Kedelapan, aktivitas glutathion peroksidase adalah aktivitas yang ditetapkan dari data supernatant hati menggunakan enzim glutathion peroksidase.

C. Alat dan Bahan

1. Alat

Alat yang digunakan untuk membuat ekstrak yaitu blender, oven, neraca analitik, dan ayakan nomor 40. Alat untuk pembuatan ekstraksi yaitu peralatan

refluk, batang pengaduk, *freeze drying*, gelas ukur, *moisture balance*, beaker glass, dan kain flannel.

2. Bahan

2.1 Bahan sampel. Bahan sampel yang digunakan dalam penelitian ini adalah daun stevia (*Stevia rebaudiana* Bertoni) dan lidah buaya (*Aloe vera* L.) yang segar, diambil dari Tawangmangu, Karanganyar.

2.2 Bahan kimia. Bahan kimia yang digunakan adalah aquadestilata, sebagai cairan penyari, CMC sebagai kontrol negatif, insulin sebagai kontrol positif, aloksan dan *Glutathione Peroxidase Assay Kit* (Bio Vision)

2.3 Hewan uji. Hewan uji yang digunakan dalam penelitian ini adalah tikus putih galur wistar jantan dengan berat badan antara 100-200 gram dan berumur 2-3 bulan. Hewan uji tersebut diperoleh dari Fakultas Pangan dan Gizi UGM.

D. Jalannya Penelitian

1. Determinasi tanaman

Determinasi tanaman adalah dilakukan untuk menetapkan kebenaran sampel daun stevia (*Stevia rebaudiana* Bertoni) dan lidah buaya (*Aloe vera* L.) dengan mencocokkan ciri-ciri makroskopis dan mikroskopis daun stevia dan lidah buaya dengan acuan buku, serta dibuktikan di Laboratorium Morfologi Sistematika Tumbuhan Universitas Gajah Mada untuk sampel daun stevia dan lidah buaya dibuktikan di Laboratorium Morfologi Sistematika Tumbuhan Universitas Setia Budi.

2. Pengambilan bahan

Daun stevia (*Stevia rebaudiana* Bertoni) dan lidah buaya (*Aloe vera* L.) yang segar, tidak busuk, berwarna hijau, yang diambil dari daerah Tawangmangu, Karanganyar.

3. Pembuatan serbuk stevia

Tanaman daun stevia yang sudah dipanen ± 5 kg dengan air mengalir, dirajang, dibersihkan dari cecairan atau kotoran dengan air mengalir, dirajang, kemudian dikeringkan dengan oven pada suhu 50°C sampai menjadi kering.

Pembuatan serbuk adalah dengan cara diblender dan diayak menggunakan ayakan nomor 40 sehingga diperoleh derajat kehalusan yang diinginkan.

4. Pembuatan simplisia lidah buaya

Daun lidah buaya utuh yang masih segar dicuci dengan air mengalir, dibersihkan dari kulit kemudian dicuci lagi dengan air mengalir sampai terbebas dari getah/lateks yang keluar dari daun saat dilakukan pemotongan. Daging daun lidah buaya ditimbang dalam keadaan kering sesuai dengan berat yang dikehendaki, dipotong kecil-kecil kemudian diblender hingga halus seperti jus. Lidah buaya yang sudah diblender lalu dihitung volumenya di dalam gelas ukur .

5. Pembuatan ekstrak air serbuk daun stevia dan lidah buaya

5.1 Ekstrak air serbuk daun stevia. Serbuk kering daun stevia diekstraksi dengan metode refluks menggunakan pelarut air. Satu bagian serbuk kering simplisia dimasukkan ke dalam alat refluks, tambahkan pelarut air sampai terendam. Ekstrak yang diperoleh kemudian dipekatkan dengan *freeze drying*. Rendemen yang dihitung adalah persentase (b/b) antara rendemen dengan bobot simplisia yang digunakan dalam penimbangan (Kemenkes 2013).

$$\text{Rendemen ekstrak} = \frac{\text{Bobot ekstrak yang didapat}}{\text{Bobot serbuk simplisia yang diekstrak}} \times 100\%$$

5.2. Ekstrak air daun lidah buaya. Proses refluks dimulai dengan mencampurkan simplisia lidah buaya dengan pelarut air sampai terendam di dalam alat refluks. Pemekatan dilakukan dengan alat *freeze drying* hingga diperoleh ekstrak daun lidah buaya.

6. Penetapan kadar kelembaban serbuk daun stevia

Penetapan kadar lembab serbuk dan ekstrak daun stevia dilakukan di Laboratorium Teknologi Farmasi Universitas Setia Budi Surakarta dengan menggunakan *moisture balance*. Serbuk daun stevia ditimbang sebanyak 2 gram, dimasukkan ke dalam alat *moisture balance* pada suhu 105°C dan ditunggu sampai memberikan tanda atau bunyi. Angka yang tertera pada alat *moisture balance* adalah persen kadar lembab yang dihasilkan oleh serbuk daun stevia selama proses pemanasan, kadar lembab dalam serbuk simplisia tidak boleh lebih dari 10%.

7. Penetapan kadar kelembaban jus daun lidah buaya

Penetapan kadar lembab jus daun lidah buaya dilakukan di Laboratorium Teknologi Farmasi Universitas Setia Budi Surakarta dengan menggunakan *moisture balance*. Jus lidah buaya ditimbang sebanyak 2 gram, dimasukkan ke dalam alat *moisture balance* pada suhu 105°C dan ditunggu sampai memberikan tanda atau bunyi. Angka yang tertera pada alat *moisture balance* adalah persen kadar lembab yang dihasilkan oleh jus lidah buaya selama proses pemanasan, kadar lembab dalam serbuk simplisia tidak boleh lebih dari 94%.

8. Identifikasi kandungan glikosida ekstrak daun stevia dengan uji tabung

Ekstrak daun stevia dilarutkan dalam pelarut etanol, diuapkan di atas penangas air lalu dilatrutkan dalam 5 ml asam asetat anhidrida kemudian ditambahkan 10 tetes asam sulfat pekat. Terbentuknya warna birau atau hijau menunjukkan adanya glikosida (Depkes RI 1995).

9. Identifikasi kandungan kimia ekstrak lidah buaya dengan uji tabung

9.1. Uji alkaloid. Sejumlah tertentu ekstrak dilarutkan dalam 1 ml akuades dimasukkan ke dalam tabung reaksi lalu ditambahkan 3 tetes kloroform dan 3 tetes pereksi mayer terbentuknya endapan putih mengindikasi adanya alkaloid (Depkes RI 1995; Dewi *et al.* 2016).

9.2. Uji saponin. Sejumlah tertentu ekstrak dilarutkan dalam 2 ml akuades dimasukkan ke dalam tabung reaksi, lalu ditambahkan 10 ml air, setelah itu dikocok dengan kuat selama 10 menit. Buih/busa yang terbentuk dan bertahan selama 10 menit menunjukkan adanya saponin (Depkes RI 1995; Dewi *et al.* 2016).

9.3. Uji antrakuinon. Sebanyak 100 mg ekstrak dilarutkan dalam 10 ml akuades. Campuran disaring, filtrate 2 ml ditambah dengan 5 ml benzene. Hasil ekstrak kemudian ditambah dengan ammonia lalu dikocok. Terbentuknya warna merah menunjukkan adanya antrakuinon (Koleva *et al.* 2002).

10. Penetapan dosis dan pembuatan larutan

10.1. Larutan CMC 0.5%. Larutan CMC 0,5% dibuat dengan cara menimbang serbuk CMC Na sebanyak 500 mg kemudian dimasukkan dalam cawan penguap dan ditambah sedikit aquadest. Selanjutnya dipanaskan sampai

mengembang kemudian dimasukkan dalam mortir dan menggerusnya dengan menambah sedikit demi sedikit aquadest hingga 100 ml, diaduk hingga homogen.

10.2. Larutan Glibenklamid. Suspensi glibenklamid 0,09 mg/mL dibuat dengan cara melarutkan serbuk glibenklamid sebanyak 9 mg dalam CMC Na 0,5% sampai volume 100 ml .

10.3. Larutan aloksan monohidrat. Larutan aloksan monohidrat konsentrasi 1% dibuat dengan cara melarutkan 1 gram aloksan monohidrat dalam 100 ml larutan garam fisiologis 0,9%

10.4. Dosis aloksan.Dosis aloksan yang digunakan adalah 140 mg/kgBB tikus. Dosis yang digunakan pada tikus dengan berat 200 gram adalah 28 mg/200g BB tikus (Chaugale *et al.* 2007; Yuriska F 2009)

10.5. Dosis glibenklamid.Dosis glibenklamid diditungdari dosis lazim. Faktor konversi manusia dengan berat badan 70 kg ke tikus dengan berat badan 200 gram adalah 0,018. Dosis terapi glibenklamid untuk manusia dengan berat badan 70kg adalah 5 mg. dosis glibenklamid tikus sebesar 0,009 mg/200 gram BB (0,45mg/kg BB tikus).

10.6. Ekstrak daun stevia. Berdasarkan penelitian terdahulu *Stevia rebaudiana* memiliki efek penurunan kadar pada dosis 400mg/kgBB (Assei *et al.* 2016)

10.7. Ekstrak lidah buaya.Berdasarkan penelitian terdahulu dosis ekstrak air lidah buaya yang digunakan sebesar 400 mg/kgBB (Putra *et al.*2015)

10.8. Ekstrak kombinasi stevia dan lidah buaya. Dibuat ekstrak kombinasi dengan perbandingan dari dosis efektif sebesar 75% : 25% dan 50% : 50%.

11. Perlakuan hewan uji

Tikus yang digunakan sebagai hewan percobaan ini adalah tikus putih jantan galur wistar dengan jumlah 35 ekor yang berusia 6-7 minggu dengan berat antara 100-200 gram, tikus diperoleh dari FakultasPangan dan Gizi Universitas Gajah Mada. Tikus ditimbang masing-masing diberi tanda pengenal, kemudian dibagi menjadi 7 kelompok, masing-masing kelompok terdiri dari 5 ekor tikus, tikus diadaptasikan selama 7 hari, selanjutnya tikus dipuasakan selama 16 jam.

Perlakuan oral diberikan sekali sehari dalam 14 hari. Perlakuan pada penelitian ini meliputi :

Kelompok 1 : Kontrol normal (hanya diberikan makan dan minum)

Kelompok 2 : Kontrol negatif (aquadestilata)

Kelompok 3 :Kontrol positif (Glibenklamide 0,09 mg/ 200 g BB tikus)

Kelompok 4 : Kontrol ekstrak air daun stevia dosis 400 mg/kg BB

Kelompok 5 : Kontrol ekstrak air lidah buaya dosis 400 mg/kg BB

Kelompok 6 : Kelompok perlakuan (kombinasi ekstrak daun stevia dan ekstrak lidah buaya dengan perbandingan dosis 25% : 75%)

Kelompok 7 : Kelompok perlakuan (kombinasi ekstrak daun stevia dan ekstrak lidah buaya dengan perbandingan dosis 50% : 50%)

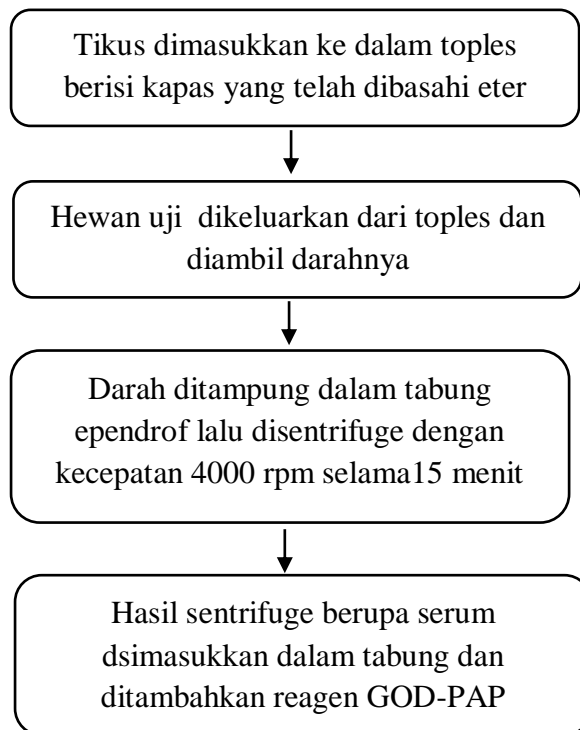
12. Intervensi hewan uji

Tikus diabetes adalah tikus yang diinduksi aloksan. Induksi aloksan dilakukan dengan cara sebagai berikut: tikus dibiarkan selama tujuh hari untuk proses aklimatisasi hewan percobaan atau proses adaptasi dengan lingkungan. Pada tahap ini semua tikus diberi ransum standar T79-4. Selama proses adaptasi itu, bobot badan dan aktivitas hewan coba terus diperhatikan. bergerak aktif dan bobot badannya tidak ada yang kurang dari 150 gram selama dan setelah proses adaptasi sehingga tidak ada sampel yang dikeluarkan. Tikus yang telah beradaptasi dipuasakan selama 16 jam, selanjutnya diperiksa kadar gula darahnya. (Yusni *et al.*2017). Pemeriksaan enzim glutation peroksidase dilakukan pada hari ke-15 tikus dianastesi dan diambil jaringan hati. (Mufit 2017).

Kondisi ruang dan pemeliharaan tikus pada suhu 20 – 26°C dengan kelembapan udara berkisar 40-70% merupakan suhu yang digunakan untuk hewan pengerat, Sedangkan untuk penerangannya adalah 12 jam terang dan 12 jam gelap dimulai jam 06.00 pagi s/d 18.00 petang. Hewan dikelompokkan dalam kandang berdasarkan jenis kelamin. Ukuran kandang yang digunakan sesuai dengan jumlah hewan perkandang (Lu 1995). Ukuran kandang dapat disesuaikan dengan jumlah hewan tikus (berat 200-300 g) luas kandang 148,4 cm², tinggi 17,8 cm. (BPOM 2014).

13. Pengambilan darah

Pemeriksaan kadar gula tikus dilakukan dengan mengambil sampel darah melalui *plexus retroorbitalis*, dengan langkah-langkah sebagai berikut



Gambar 6. Skema pengambilan darah tikus

14. Pengambilan organ

Tikus dibunuh dengan memberikan anestesi berupa eter yang telah disiapkan di dalam toples dimasukkan bersamaan dengan tikus, anestesi dilakukan hingga tikus hilang kesadarannya (mati). Posisikan tikus pada papan bedah menggunakan *pins*. Pembedahan dimulai dari bagian perut ataupun uterus menggunakan gunting bengkok. Ambil dan pisahkan masing-masing organ menggunakan gunting lurus (organ yang diambil hati), bersihkan organ dari lemak-lemak yang masih menempel dengan aquades berulang-ulang hingga bersih dari darah dilanjutkan dengan mencuci organ menggunakan NaCl 0,9% secara berulang-ulang. Tiriskan organ pada kertas saring kemudian ditimbang dengan cawan petri kering. Catat berat masing-masing organ pada kertas blangko dan masukkan masukkan organ dalam pot berisi formalin 4 – 10% dan buffer formalin.

15. Perlakuan hewan uji pasca bedah

Pada akhir penelitian setelah hewan uji dibedah dan diambil organnya, selanjutnya jasad hewan uji dikubur dengan membuat lubang dengan kedalaman minimal setengah meter untuk menghindari terbongkarnya tempat penguburan.

16. Pemeriksaan enzim glutathion peroksidase

Pemeriksaan kadar GPx dilakukan dengan Glutathione Peroxidase Assay disimpan pada suhu -20C, dimana penyimpanannya terlindung dari sinar matahari langsung.

16.1. Pembuatan supernatant hati. Hati tikus sebanyak $\pm 1,25$ g dicacah dalam kondisi dingin dalam 5 ml larutan PBS yang mengandung 11,5 g/L KCl, kemudian disentrifugasi dengan microcentrifuge kecepatan 4000 rpm selama 10 menit pada suhu 4°C sehingga diperoleh supernatant jernih (homogenat).

16.2 Pengukuran aktivitas GPx. Sebanyak 200 μ l supernatant hati ditambahkan 200 μ l buffer fosfat 0,1 m PH 7,0 yang mengandung 0,1 mM EDTA, 200 μ l glutathion tereduksi (GSH) 10 mM dan 200 μ l glutathion reductase (2,4 unit). Kemudian diinkubasi selama 10 menit pada suhu 37°C, ditambahkan 200 μ l NADPH 1,5 mM dan diinkubasi lagi selama 3 menit pada suhu yang sama dan dilanjutkan dengan penambahan 200 μ l H₂O₂ 1,5 mM. Absorbansi dilakukan diantara waktu sampai 2 menit dengan spektrofotometer pada Panjang gelombang 340 nm dengan menggunakan blanko PBS (*Phosphate Buffered Saline*). Perhitungannya adalah sebagai berikut (Mufit 2017):

$$\text{M unit GSH-Px} = \frac{\text{Abs} \times \text{Vt} \times 1000 \times 1/\text{mg protein}}{6,22 \times \text{Vs}}$$

Abs	= perubahan absorbansi
Vt	= volume total
6,22	= koefisien ekstrinsik dari NADPH
2	= 2 mol GSH yang setara dengan 1 mol NADPH
1000	= perubahan menjadi mili unit
Vs	= volume sampel

17. Pemeriksaan histopatologi

Prosedur pemeriksaan histopatologi menurut BPOM RI 2014 antara lain :

17.1. Fiksasi pertama. Semua organ direndam didalam larutan dapar formalin 10% dan harus sering digoyang. Kemudian organ tersebut dibiarkan di dalam botol selama 1 minggu pada suhu kamar.

17.2. Pemotongan kasar. Formalin dari masing-masing botol dibuang, lalu organ dipotong secara kasar. Kemudian potongan organ dari setiap hewan uji dimasukkan kedalam kantong tersendiri, sedangkan sisa potongan dibungkus dengan kain kassa untuk arsip.

17.3. Fiksasi kedua. Organ dimasukkan ke dalam botol berisi larutan dapar formalin untuk dilakukan fiksasi yang kedua paling sedikit selama 3 hari.

17.4. Pencucian. Setelah fiksasi kedua, untuk menghilangkan sisa formalin, kantong yang berisi organ dimasukkan kedalam bak yang berisi air dan dialiri air ledeng secara terus menerus selama paling sedikit 6 jam.

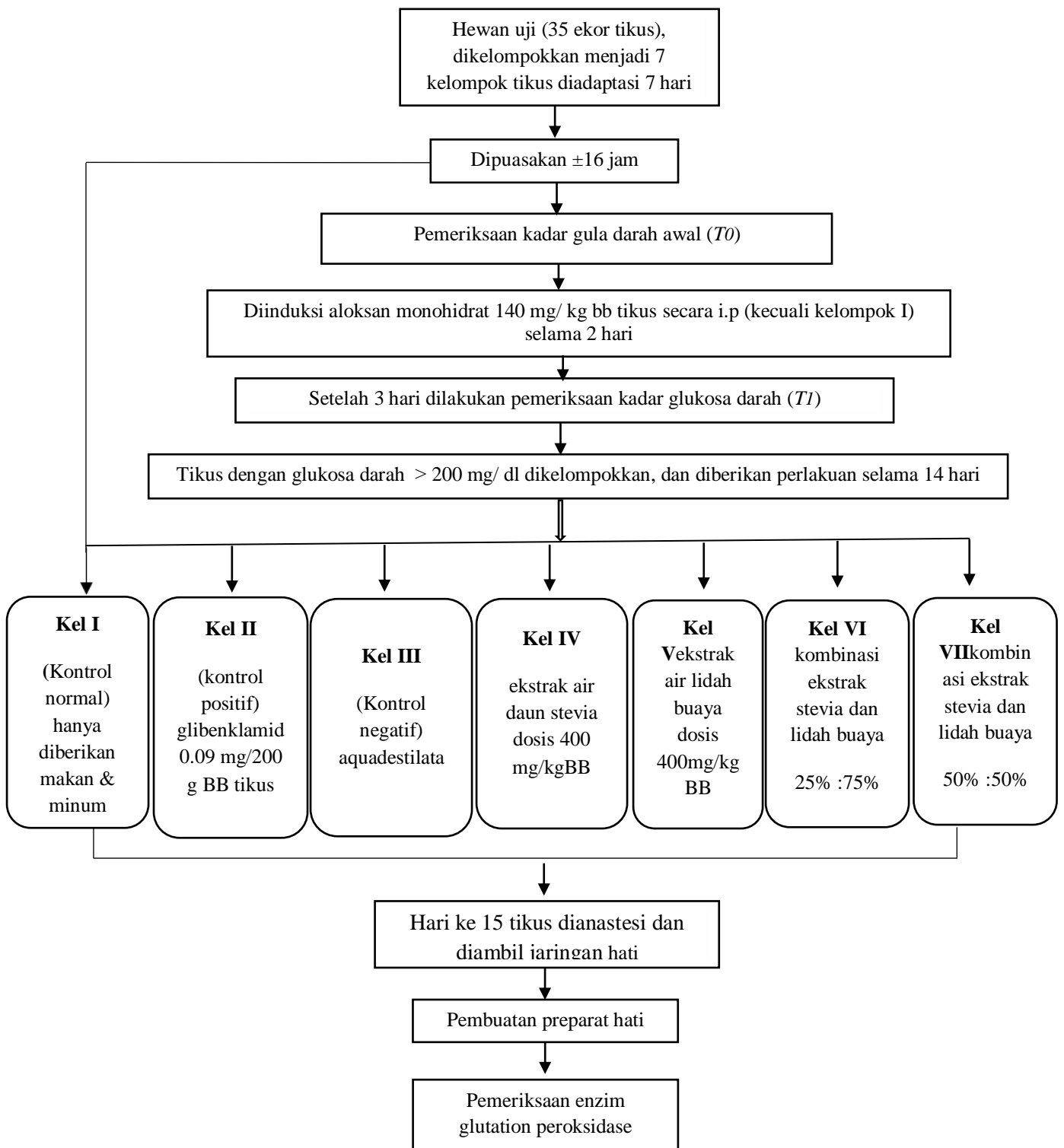
17.5. Proses dehidrasi. Selanjutnya dilakukan proses dehidrasi menggunakan alat dehidrasi otomatis dan perendaman di dalam parafin cair.

17.6. Perendaman dalam parafin cair. Proses pembersihan organ dilakukan dengan cara memasukkan kantong-kantong organ yang telah mengalami proses dehidrasi kedalam bejana yang berisi parafin cair selama 60 menit.

17.7. Pembuatan sediaan blok. Pembuatan sediaan blok dilakukan dengan cara menyiapkan beberapa cawan porselin dan dipanaskan diatas api bunsen. Kedalam cawan dituangkan parafin cair. Kantong organ yang terendam dalam bejana yang berisi parafin cair dibuka dan organ segera dimasukkan ke dalam cawan porselin yang telah berisi parafin cair. Selanjutnya cawan yang berisi organ dibiarkan membeku. Kemudian cawan direndam dalam air kira-kira 60 menit lalu disimpan di dalam lemari es selama 12 jam. Setelah itu parafin yang berisi organ yang telah beku dikeluarkan dari cawan dan blok parafin dipotong berdasarkan kelompok organ. Selanjutnya potongan blok parafin dilekatkan pada permukaan blok kayu.

17.8. Pemotongan organ. Potongan-potongan organ yang sudah ditanam dalam blok parafin dan dilekatkan pada blok kayu, dipotong menjadi sayatan tipis menggunakan mikrotom. Setelah memperoleh potongan yang bagus, potongan tersebut dimasukkan kedalam bak yang berisi air sehingga mengambang dan selanjutnya ditempelkan pada kaca obyek. Selanjutnya sediaan/ preparat disimpan dalam suhu kamar untuk dilakukan pewarnaan.

17.9. Pewarnaan jaringan. Pewarnaan jaringan dilakukan dengan metode Hematoksin-eusin. Pewarnaan dapat dilakukan dengan menggunakan mesin otomatis sebagai berikut: pertama-tama bejana no.1 dan 2 masing-masing diisi dengan xilen 100%, bejana no.3 dan 4 dengan etanol absolut, bejana no.5 dengan etanol 90%, bejana no.6 dengan etanol 80% dan bejana no.7 dengan etanol 70%. Setelah itu tuas pengatur waktu diatur sesuai waktu dari masing-masing bejana. Selanjutnya sediaan histopatologi diletakkan dalam keranjang khusus, lalu mesin dihidupkan dan sediaan pertama-tama direndam didalam bejana no.1 dan 2 untuk proses deparafinasi masing-masing selama 12 menit sambil digoyang, dilakukan dehidrasi dengan merendam preparat dalam etanol absolut I dan II masing-masing selama 5 menit, dipindahkan ke dalam etanol 90; 80 dan 70% masing-masing selama 5 menit, dimasukkan dalam air mengalir selama 12 menit, direndam dalam larutan hematoksilin Mayer selama 5 menit, dicuci dalam air mengalir selama 2 x 12 menit, pewarnaan dengan eosin 0,25% selama 12 menit, dicuci dengan air mengalir selama 5 menit. Selanjutnya dilakukan dehidrasi dengan mencelupkan dalam etanol 70% sebanyak 8 kali, dimasukkan dalam etanol 80; 90 % dan etanol absolut I dan II masing-masing selama 10 menit. Terakhir dimasukkan ke dalam xilen I, II, III masing-masing selama 12 menit. Kemudian kaca obyek ditutup dengan kaca penutup memakai perekat eukit. Preparat diamati dibawah mikroskop dengan perbesaran yang sesuai. Inti sel akan tampak berwarna biru kelabu dan sitoplasma merah muda (BPOMRI 2014).



Gambar 7. Skema jalannya penelitian

E. Analisis Data

Analisa statistik yang pertama digunakan dalam penelitian ini untuk melihat apakah data tersebut terdistribusi normal atau tidak yaitu dengan menggunakan uji distribusi normal (*Shapiro wilk*). Jika data terdistribusi normal ($p > 0,05$), analisis data dilanjutkan dengan uji parametrik (One Way ANOVA) untuk mengetahui perbedaan yang nyata diantara perlakuan jika hasil uji One Way ANOVA dan uji Levene Statistic menunjukkan hasil normal ($>0,05$), selanjutnya dilakukan uji Post Hoc untuk melihat aktivitas glutation peroksidase dan gambaran histopatologi yang efektif diantara kelompok perlakuan. Analisa statistik untuk menghitung skors kerusakan pada hepar menggunakan uji non parametrik uji *Kruskal-Wallis*, jika hasilnya ($p < 0,05$), maka dilakukan uji non parametrik menggunakan uji *Mann-Whitney* untuk mengetahui perbedaan median 2 kelompok bebas.

BAB IV

HASIL PENELITIAN DAN PEMBAHASAN

A. Determinasi Tanaman

1. Tanaman stevia

Tanaman yang digunakan dalam penelitian ini adalah daun stevia yang telah dideterminasi di unit Laboratorium Sistematika Tumbuhan Fakultas Biologi Universitas Gadjah Mada Yogyakarta. Determinasi bertujuan untuk mengetahui kebenaran nama spesies dari daun stevia yang akan digunakan dan menghindari kesalahan dalam pengumpulan bahan. Hasil determinasi menunjukkan bahwa sampel benar daun stevia (*Stevia rebaudiana* Bertoni). Hasil determinasi daun stevia dapat dilihat di lampiran 1.

2. Tanaman lidah buaya

Tanaman yang digunakan dalam penelitian ini telah dideterminasi di unit Laboratorium Struktur dan Perkembangan Tumbuhan Fakultas Farmasi Universitas Setia Budi Surakarta. Determinasi bertujuan untuk mengetahui kebenaran nama spesies dari daun stevia yang akan digunakan dan menghindari kesalahan dalam pengumpulan bahan. Hasil determinasi menunjukkan bahwa sampel benar lidah buaya (*Aloe vera* L). Hasil determinasi daun stevia dapat dilihat di lampiran 2.

B. Pengumpulan Bahan

Pengumpulan bahan daun stevia dan lidah buaya diperoleh dari petani di Tawangmangu desa Kalisoro, Kabupaten Karanganyar Jawa Tengah. Bahan tanaman yang diperoleh adalah tanaman lidah buaya segar dan tidak busuk, dicuci lagi dengan air mengalir. Tanaman lidah buaya kemudian dipotong kecil-kecil kemudian diblender hingga halus seperti jus. Tanaman stevia yang diperoleh merupakan daun kering stevia yang telah dioven terlebih dahulu oleh petani.

C. Pembuatan Ekstrak

1. Pembuatan ekstrak

Pembuatan ekstrak dilakukan dengan metode penyarian secara refluks, pembuatan ekstrak stevia menggunakan 440 gram bahan serbuk, sedangkan lidah

buaya menggunakan 600 gram bahan, masing-masing bahan dimasukkan ke dalam alat refluks dengan sebanyak 40 gram tiap bahan dalam 400 ml air dengan replikasi sebanyak 3 kali selama 1 jam. Hasil ekstrak air yang diperoleh dilakukan proses pengeringan dengan metode *freeze drying*, setelah diperoleh ekstrak kering dilanjutkan menghitung nilai rendemen ekstrak.

Tabel 1. Pembuatan ekstrak stevia

Berat serbuk	Hasil ekstraksi	
	Berat ekstrak	Rendemen
440 gram	18,3012 gram	4,159%

Tabel 2. Pembuatan ekstrak lidah buaya

Berat serbuk	Hasil ekstraksi	
	Berat Ekstrak	Rendemen
600 gram	4,273	0,71%

Ekstraksi dilakukan dengan metode refluks disebabkan karena jenis senyawa yang memiliki aktivitas polaritasnya sama dengan air, sehingga diharapkan dengan menggunakan pelarut air, senyawa berkhasiat yang dibutuhkan diperoleh lebih maksimal.

2. Pengukuran kadar kelembaban serbuk daun stevia

Hasil pengujian kadar kelembaban serbuk daun stevia dengan berat 2 gram menggunakan alat *moisture balance* sebesar 6,8%.

Tabel 3. Kadar kelembaban serbuk daun stevia

Replikasi	Hasil kadar (%)	Rata-rata (%)
I	6,0	6,8
II	7,0	
III	6,8	

3. Pengukuran kadar kelembaban jus lidah buaya

Hasil pengujian kadar kelembaban jus lidah buaya dengan berat 2 gram menggunakan alat *moisture balance* sebesar 90,9%.

Tabel 4. Kadar kelembaban jus lidah buaya

Replikasi	Hasil kadar (%)	Rata-rata (%)
I	89,9	90,9
II	90,7	
III	92,2	

D. Identifikasi Senyawa dengan Uji Tabung

Identifikasi kandungan kimia dimaksudkan untuk menetapkan kebenaran kandungan kimia yang terkandung dalam daun stevia dan lidah buaya. Identifikasi senyawa yang diuji adalah senyawa glikosida, alkaloid, saponin, dan antrakuinon. Hasil identifikasi senyawa adalah sebagai berikut:

Tabel 5. Identifikasi senyawa

Ekstrak	Senyawa yang diamati	Hasil	Interprestasi
Daun stevia	Glikosida	Larutan uji berwarna birau atau hijau menunjukkan adanya glikosida	Positif
Lidah buaya	Alkaloid	Terbentuknya endapan putih menunjukkan adanya alkaloid	Postif
	Saponin	Buih/busa yang terbentuk dan bertahan selama 10 menit menunjukkan adanya saponin	Positif
	Antrakuinon	Terbentuknya warna merah menunjukkan adanya antrakuinon	Positif

E. Hasil Pengukuran Aktivitas Enzim Gpx

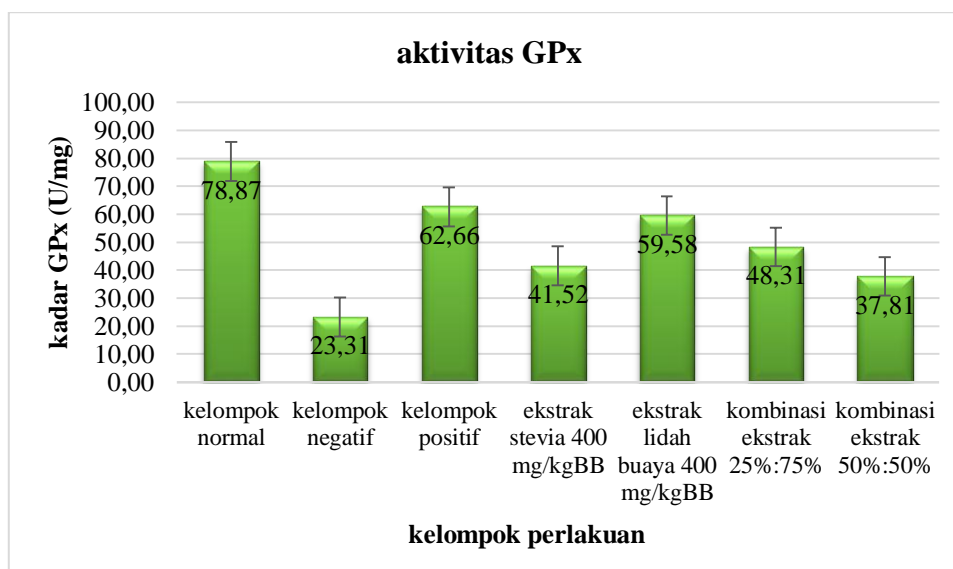
Hiperglikemia terjadi akibat kerusakan sel β -pankreas yang menimbulkan peningkatan pengeluaran glukosa oleh hati. Hiperglikemia menyebabkan autooksidasi glukosa, glikasi protein, dan aktivasi jalur metabolisme poliol yang selanjutnya mempercepat pembentukan senyawa oksigen reaktif. Pembentukan senyawa oksigen reaktif tersebut dapat meningkatkan modifikasi lipid, DNA, dan protein pada berbagai jaringan (Ueno Y *et al.* 2002; Setiawan & Suhartono 2005)

Pertahanan antioksidan dan sistem perbaikan seluler pada kondisi diabetes melitus, akan terangsang sebagai respons tantangan oksidatif (Nuttal *et al.* 1999). Sumber stres oksidatif yang terjadi berasal dari peningkatan produksi radikal bebas akibat autooksidasi glukosa, penurunan konsentrasi antioksidan berat molekul rendah di jaringan, dan gangguan aktivitas pertahanan antioksidan enzimatik (Kowluru *et al.* 2001)

Glutation peroksidase (GPx) merupakan salah satu antioksidan enzimatik yang mencegah kerusakan sel yang disebabkan oleh radikal bebas dengan mengkatalisis berbagai hiperoksida dan merupakan suatu protein yang memiliki bentuk tetramer. Enzim ini mengandung atom selenium yang terikat sebagai *selenocysteine*. Pada penderita diabetes menunjukkan penurunan vitamin E dan glutation (Setiawan & Suhartono 2005).

Dalam *Glutathion peroxidase activity assay*, GPx mereduksi *Cumene Hydroperoxide* saat terjadi oksidasi glutathion tereduksi (GSH) menjadi glutathione disulfide (GSSH). Selanjutnya GSSH yang dihasilkan direduksi menjadi GSH, reaksi tersebut dikatalisis oleh glutathion reduktase (GR) dengan mengkonsumsi NADPH. Penurunan NADPH (biasanya diukur pada panjang gelombang 340 nm) sebanding dengan aktivitas GPx (Biovision 2012).

Kombinasi ekstrak air daun stevia dan lidah buaya serta ekstrak tunggal daun stevia dan lidah buaya dilakukan uji aktivitas terhadap enzim GPx dengan mengukur aktivitas enzim glutathion peroxidase pada homogenate hati tikus setelah diberi ekstrak air tanaman daun stevia dan lidah buaya serta kombinasi keduanya selama 14 hari dengan dosis sebesar 400 mg/kgBB, serta kombinasi keduanya dengan perbandingan 25%:75% dan 50%:50%. Perlakuan pemberian aloksan dilakukan sebelum pemberian ekstrak air tanaman daun stevia dan lidah buaya.



Gambar 8. Aktivitas GPx (U/mg) pada seluruh kelompok perlakuan

Tabel 6. Rata-rata hasil pengukuran aktivitas enzim GPx pada hati tikus

kelompok	N	Aktivitas GPx (U/mg)±SD
Kelompok normal	5	78,87±1,84 ^{b,c,d,e}
Kelompok negatif	5	23,31±1,48 ^{a,c,d,e}
Kelompok positif	5	62,66±1,48 ^{a,b,d,e}
Ekstrak tunggal stevia	5	41,52±2,21 ^{a,b,c,e}
Ekstrak tunggal lidah buaya	5	59,58±1,48 ^{a,b,c,d}
Kombinasi ekstrak 25%:75%	5	48,31±2,35 ^{a,b,c,d,e}
Kombinasi ekstrak 50%:50%	5	37,81±1,22 ^{a,b,c,d,e}

Keterangan :

a: berbeda signifikan terhadap kelompok kontrol normal

b: berbeda signifikan terhadap kelompok kontrol negatif

c: berbeda signifikan terhadap kelompok kontrol positif

d: berbeda signifikan terhadap kelompok kontrol stevia

e: berbeda signifikan terhadap kelompok kontrol lidah buaya

Rata-rata aktivitas glutathion peroksidase terendah tikus diabetes galur wistar adalah kelompok perlakuan yang diinduksi aloksan dengan nilai kadar sebesar 23,31 U/mg. Glutathion peroksidase pada tubuh penderita diabetes menurun (Moussa 2008), dikarenakan pemberian aloksan menyebabkan nekrosis sel-sel β pankreas akibat meningkatnya stress oksidatif (Euteuk 2010), sehingga sekresi insulin akan menurun dan mengakibatkan hiperglikemia (Gong *et al.* 2012).

Kelompok normal memberikan gambaran kadar normal enzim antioksidan GPx pada keadaan sehat. Hasil pengukuran pada kelompok normal adalah 78,87 U/mg, merupakan nilai paling tinggi dari beberapa kelompok perlakuan. Nilai pada kelompok normal digunakan sebagai pembanding untuk adanya perubahan status antioksidan yang terjadi pada kondisi stress oksidatif tikus yang telah diinduksi aloksan. Nilai GPx (U/mg) menyatakan jumlah enzim yang dibutuhkan dalam mengkatalisis oksidasi dari nmol NADPH permenit dalam satu mg protein (Valko *et al.* 2007). Glutathion berperan dalam pemeliharaan status tiol redoks sebuah sel, perlindungan terhadap kerusakan oksidatif, detoxifikasi endogen dan eksogen logam reaktif elektrofil, penyimpanan dan transportasi sistein, serta untuk protein dan sintesis DNA, regulasi siklus sel dan diferensiasi sel. Perubahan homeostatis GSH menunjukkan perkembangan sejumlah penyakit pada manusia (Yuniastuti 2016).

Perbaikan aktivitas GPx tikus diabetes dalam penelitian ini dilakukan dengan pemberian glibenklamid dan ekstrak tunggal serta kombinasi tanaman stevia dan lidah buaya. Kondisi diabetes melitus dapat meningkatkan glukosa ekstraseluler yang dapat menginduksi peningkatan ekspresi GLUT 1 dalam memasukkan glukosa ke sel. Pemberian glibenklamid dapat menstimulasi sel-sel beta dari pulau Langerhans pankreas sehingga ekskresi insulin ditingkatkan. Disamping itu kepekaan sel-sel beta bagi kadar glukosa darah juga diperbesar

melalui pengaruhnya atas protein transport glukosa ada indikasi bahwa obat ini juga memperbaiki kepekaan organ tujuan bagi insulin dan menurunkan absorpsi insulin oleh hati (Tjay & Rahardja 2002). Efek hipoglikemia yang terdapat pada glibenklamid terbukti dapat menghambat proses tersebut sehingga stress oksidatif dapat dicegah. Hasil kadar GPx kelompok perlakuan dengan pemberian glibenklamid sebesar 62,66 U/mg.

Pemberian ekstrak tunggal stevia memperoleh nilai kadar GPx sebesar 41,52 U/mg, ekstrak tunggal lidah buaya 59,58 U/mg, kombinasi ekstrak air stevia dan lidah buaya perbandingan 25%:75% memperoleh nilai kadar 48,31 U/mg, sedangkan kombinasi ekstrak air stevia dan lidah buaya dengan perbandingan 50%:50% memperoleh nilai kadar sebesar 37,81 U/mg. Jika dilihat dari perolehan nilai kadar GPx, pemberian ekstrak tanaman yang mampu memberikan peningkatan GPx terbesar adalah kelompok perlakuan ekstrak tunggal lidah buaya dan kombinasi ekstrak dengan perbandingan 25%:75%. Hasil perolehan kadar enzim GPx dari ekstrak tunggal dan kombinasi tanaman tersebut mampu meningkatkan aktivitas pertahanan antioksidan (antioksidan protektif) (Setiawan & Suhartono 2005), walaupun hasil perolehan tidak mendekati nilai kelompok kontrol positif namun hasil perolehan kadar bisa menaikkan kadar nilai GPx jika dibandingkan kelompok negatif.

Berdasarkan hasil analisis ekstrak tunggal dan kombinasi tanaman stevia dan lidah buaya memiliki potensi penurunan stress oksidatif dikarenakan terjadi peningkatan nilai GPx dan jika dibandingkan kelompok kontrol negatif (DM) yaitu berbeda bermakna ($p < 0,05$) berdasarkan analisis statistik. Lidah buaya banyak memberikan pengaruh peningkatan kenaikan kadar enzim GPx pada uji diabetes dengan percobaan yang dilakukan pada tikus jantan galur Wistar. Lidah buaya (*A. vera*) mengandung banyak unsur mineral dan ada juga yang berfungsi sebagai antioksidan alami, misalnya vitamin C, vitamin E dan Zinc sehingga dapat menurunkan kadar gula darah pada penderita DM yang tidak tergantung insulin. Kandungan senyawa organik aloe emodin yang tergolong dalam senyawa organik dari golongan *antrakuinon* yang mengaktifasi jenjang sinyal insulin seperti

pencerap insulin-beta dan substrat1, *fosfatidil inositol-3* kinase dan meningkatkan laju sintesis glikogen dengan menghambat glikogen sintase 3 beta, sehingga sangat berguna untuk mengurangi rasio gula darah (Rahma 2012). *Aloe vera* mengandung senyawa organik aloe emodin yang tergolong dalam senyawa antraquinone yang mempunyai kemampuan menurunkan kadar gula darah (Sudjono & Wahyuni 2005)

Senyawa berkhasiat pada tanaman stevia adalah steviosida dalam tubuh bekerja dengan cara meningkatkan produksi hormon insulin dan sensitivitasnya. Peningkatan hormon insulin menyebabkan berkurangnya kadar glukosa dalam darah. Senyawa ini menghambat penyerapan glukosa pada usus dan pembentukan glukosa di hati dengan mengubah aktivitas sejumlah enzim yang berperan dalam sintesis glukosa, sehingga kadar glukosa dalam plasma berkurang (Chatsudthipong *et al.* 2009). Kedua senyawa berkhasiat dari dua jenis tanaman tersebut, dalam penelitian ini telah terbukti mampu meningkatkan nilai kadar enzim GPx, sesuai dengan penelitian dan literatur sebelumnya yang menjelaskan kedua tanaman tersebut bisa mengatasi kenaikan kadar gula darah dengan mekanisme masing-masing. Namun kombinasi dari kedua tanaman tersebut tidak bisa menyeimbangi kontrol positif (glibenklamid).

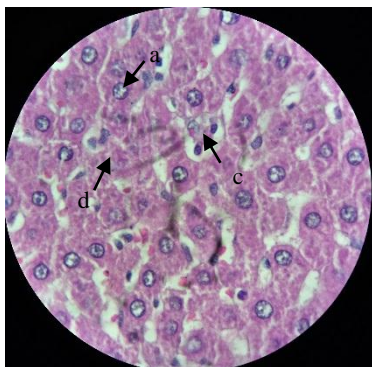
F. Gambaran Histopatologi Hati

Gambaran histopatologi hati tikus ditemukannya infiltrasi sel radang, degenerasi melemak, serta nekrosis. Perubahan struktur histologi hati dipengaruhi oleh jumlah dan jenis senyawa yang masuk ke dalam organ hati, termasuk pemberian ekstrak bahan alam pada tikus (Swarayana *et al.* 2012).

Hepatosit secara normal tersusun secara teratur membentuk lempeng-lempeng sel dan nucleus bulat serta sitoplasmanya yang cerah. Proses kerusakan sel hati dimulai dari proses degenerasi, perubahan ini bersifat reversible karena dapat kembali normal. (Piadada Ida *et al.* 2018). Organ hati memegang peran penting sebagai penjaga (*buffering*) hiperglikemia posprandial dengan melibatkan mekanisme sintesis glikogen (Suarsana *et al.* 2010).

Tabel 7. Total nilai skorsing kerusakan sel pada gambaran histopatologi hati

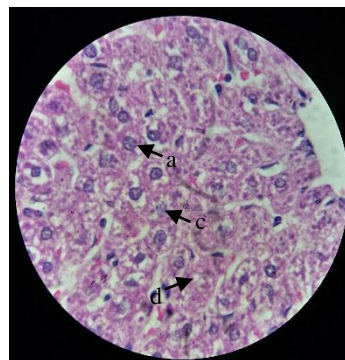
Kelompok Pengecatan	Kode hewan	Jumlah sel normal	Jumlah Sel/lapang pandang			Total skors kerusakan
			Karioreksis	Pinoktik	Kariolisis	
K. normal	1A	90	14	0	9	23
	1B	90	10	0	15	25
	1C	89	12	2	9	23
rata-rata						23.7 ± 1,2
K. Gliben	2A	84	28	0	6	34
	2B	89	18	0	6	24
	2C	84	26	0	9	35
rata-rata						31 ± 6,1
K. DM	3A	66	56	2	12	70
	3B	60	72	0	12	84
	3C	67	44	0	33	77
rata-rata						77 ± 7
K. tunggal stevia	4A	32	48	0	12	60
	4B	60	80	0	0	80
	4C	64	66	0	12	78
rata-rata						72.7 ± 11,02
K. tunggal lidah buaya	5A	77	36	0	13	49
	5B	73	48	0	9	57
	5C	71	52	1	6	59
rata-rata						55 ± 5,3
Kombinasi stevia 25% : LB 75%	6A	80	34	0	9	43
	6B	81	32	0	9	41
	6C	79	32	0	15	47
rata-rata						43.7 ± 3,1
Kombinasi stevia 50% : LB 50%	7A	72	54	0	3	57
	7B	73	50	0	6	56
	7C	83	26	0	12	38
rata-rata						50.3 ± 10,7



Kelompok DM

Keterangan:

a= sel normal ; b= piknosis ; c= karyoreksis ; d=karyolisis



Kelompok kombinasi 25%:75%

Gambar 9. Hasil irisan melintang histopatologi sel hati

Hasil dari analisis statistik uji Kruskal-Wallis terdapat perbedaan signifikan kelompok perlakuan tikus diabetes yang diberikan ekstrak tunggal lidah buaya, daun stevia, kombinasi stevia dan lidah buaya dalam mengurangi kerusakan pada sel hati. Hasil rata-rata skors kerusakan terbesar terjadi pada kelompok diabetes mellitus sebesar 77 hal ini disebabkan induksi aloksan pada kelompok kontrol negatif (DM) menimbulkan keadaan diabetik pada hewan coba dengan dosis tertentu aloksan akan menyebabkan kerusakan jaringan pada organ hati (Etuk 2010; Salasa Patrisius *et al.* 2015). Pada kelompok kontrol obat (Glibenklamid) ditemukan skors nekrosis terkecil dengan nilai 31, hal ini disebabkan pemberian glibenklamid pada kelompok kontrol obat sebagai antidiabetik oral yang menurunkan kadar glukosa dalam darah. Glibenklamid juga memperbaiki kerusakan dalam hati untuk meningkatkan penyerapan glukosa (Sharma 2011; Salasa Patrisius *et al.* 2015).

Pada hasil kelompok perlakuan ekstrak tunggal dan kombinasi diperoleh hasil persen kerusakan terkecil pada kelompok kombinasi stevia 25%: lidah buaya 75% dengan skors kerusakan 43,7. Hasil kombinasi ekstrak stevia dan lidah buaya terbukti mampu mengurangi kerusakan hati pada tikus diabetes walaupun tetap berbeda signifikan dengan kelompok kontrol glibenklamid.

BAB V

KESIMPULAN DAN SARAN

A. Kesimpulan

Berdasarkan penelitian yang telah dilakukan dapat disimpulkan bahwa :

Pertama, kombinasi ekstrak stevia dan lidah buaya dapat meningkatkan aktivitas enzim glutathion peroksidase.

Kedua, dosis kombinasi 25%:75% ekstrak tanaman stevia dan lidah buaya serta ekstrak tunggal lidah buaya 400 mg/kgBB dapat meningkatkan aktivitas enzim glutathion peroxidase.

Ketiga, kombinasi 25%:75% ekstrak stevia dan lidah buaya dapat menurunkan persentase kerusakan pada sel hati.

B. Saran

Dalam penelitian ini masih banyak kekurangan, maka perlu dilakukan penelitian lebih lanjut mengenai :

Pertama, perlu dilakukan penelitian lebih lanjut untuk melihat senyawa apa saja yang berperan dalam aktivitas enzim glutathion peroksidase

Kedua, perlu dilakukan penelitian lebih lanjut dengan menggunakan metode dan parameter yang lain terkait efek antioksidan pada kombinasi ekstrak air daun stevia dan lidah buaya

Ketiga, perlu dilakukan penelitian dengan pelarut yang berbeda untuk kombinasi ekstrak tanaman stevia dan lidah buaya dari penelitian sebelumnya.

Keempat, perlu dilakukan penelitian lebih lanjut dengan rentang waktu pemberian lebih lama.

DAFTAR PUSTAKA

- Afzal M., Ali, M., Hassan , R.A.H., Seedan N., and Dhami, M.S.I., 1991 Identification of some Prostanoids in Aloe vera Extracts, *Planta Med*, Vol 57. p. 38-40
- Agarwal, V. A, Kochhar, and R. Sachdeva. 2010. Sensory and nutritional evaluation of sweet milk product prepared using stevia powder for diabetics. *Studies on Ethno Medicine* 4(1):9-13
- Aji, R.M,. 2014. Uji aktivitas antioksidan pada ekstrak daging daun lidah buaya (*Aloe vera*) menggunakan metode DPPH. [Skripsi]. Jakarta: Fakultas Kedokteran dan Ilmu Kesehatan UIN Syarif Hidayatullah
- American Diabetes Association (ADA). 2006. Diagnosis and classification of diabetes mellitus. *Diabetes Care*. 2:43–48.
- American Diabetes Association (ADA). 2013. Standards of Medical Care in Diabetes. *Diabetes care* (36):13
- American Diabetes Association (ADA). 2015. Standards of medical care in diabetes. *Journal Of Clinical And Applied Research And Education* 38(1): 8-16
- Anonim. 1986. Sediaan Galenic. Jakarta: Departemen Kesehatan Republik Indonesia
- Anonim. 2000. *Parameter Standar Umum Ekstrak Tumbuhan Obat 1,3* : Direktorat Jendral Pengawasan Obat dan Makanan Departemen Kesehatan Republik Indonesia. Jakarta
- Anonim. 2009. *Glibenclamide*. <http://www.dechacare.com/Glibenclamide-P562.html>.
- Anonim. 2013. *Freeze Drying Technology: For Better Quality & Flavor Of Dried Product*: Foodreview Indonesia
- Anonim. 2017. *Petunjuk Praktikum Analisis Kandungan Tumbuhan Obat*. Surakarta : Universitas Setia Budi
- Ansel HC. 1989. *Pengantar bentuk Sediaan Farmasi*. Jakarta: Indonesian University Press
- Ansel HC. 2011. Pengantar Bentuk Sediaan Farmasi. Ibrahim F. Jakarta: Universitas Indonesia Press. Terjemahan dari: *Introduction to Pharmaceutical Dosage Forms*. Hal 7-13.

- Assei R, Mokarram P, Dastghaib S, Darbandi S, Darbandi M, Zal F, Akmal M, Omrani GHR. 2016. Hypoglycemic effect of aquatic extract of stevia in pancreas of diabetic rats: Ppar γ -dependent regulation or antioxidant potential [Abstrak]. Di dalam: *Journal of Medical Biotechnology* 8. Hlm 65
- Badan POM RI. 2008. *Aloe vera (L.) Burm.f.* Jakarta : Direktorat Obat Asli Indonesia
- [BPOM] Badan Pengawas Obat dan Makanan. 2014. *Peraturan Kepala Badan Pengawas Obat dan Makanan Republik Indonesia Nomor 7 Tahun 2014 Tentang Pedoman Uji Toksisitas Nonklinis Secara In Vivo*. Kepala Badan Pengawas Obat dan Makanan Republik Indonesia
- Barbagallo M, Dominguez LJ, Tagliamonte MR, Resnick LM, Paolisso G. 1999. Effects of vitamin E and glutathione on glucose metabolism role of magnesium. *Journal Hypertension* 34:1002-6
- Benavente-Garcia, O., Castillo, J., Marin, F.R., Ortuno, A. dan Del Rio, J.A. (1997). Uses and properties of citrus flavonoid. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 40: 4505-4514.
- Benzie IFF, Galor SW. Herbal Medicine. 2nd Ed. USA: CRC Press Taylor and Francis Group. 2011. Hal: 406.
- Besselsen, D.G. 2004. *Biology of Laboratory Rodent*. Medical Books. New York
- Bio Vision. 2012. Glutathione peroxidase activity assay kit. [Catalog #K762-100]. <http://www.biovision.com> [September 2017]
- Calton WW dan M.D. Mc Gavin. 1995. Special Veterinary pathologi. Edisi 2
- Chandra A. 2015. Studi awal ekstraksi batch daun *Stevia rebaudiana* dengan variable jenis pelarut dan temperature ekstraksi. *Pros Sem Nas Masy Biodiv Indon* 1: 115-116
- Chatsudthipong, Varanuj, C. Muanprasat. 2009. Stevioside and Related Compounds: Therapeutics Benefits Beyond Sweetness. *ELSEVIER Journal of Pharmacology and Therapeutics* 121: 41-54.
- Chougale AD, Panaskar SN, Gurao PM, Arvindeka AU. *Optimization of alloxan dose is essential to induce stable diabetes for prolong period*. 2007. [cited 2009 August 10]. Available from: <http://sciarlet.net/fulltext/?doi=ajb2007.402.408>
- Chen CY, Holtzman GI, Bakhit RM, 2002. High-genistin isoflavon supplementation modulate erythrocyte antioxidant enzymes and increased

running endurance in rats undergoing one session of exhausting exercise-a pilot study. *Pakistan journal of nutrition* 1:1-7

Depkes RI. 1995. Farmakope Indonesia Edisi V. Jakarta: Departemen Kesehatan Indonesia

Depkes RI. 2000. Inventaris Tanaman Obat Indonesia (1) Jilid 1. Jakarta: Departemen Kesehatan Republik Indonesia

Depkes RI. 2011. Pedoman Pengendalian Tikus. <http://www.depkes.go.id/downloads/pengendalian%20Tikus.pdf> [September 2017]

Dewi DW, Khotimah Siti, Liana DF. 2016. Pemanfaatan infusa lidah buaya (Aloe vera L) sebagai antiseptik pembersih tangan terhadap jumlah koloni kuman. *Jurnal Cerebellum* 2: 582

Dipiro JT, Talbert RI, Yee GC. 2008. *Pharmacotherapy Handbook Seven edition*. Ingggris: Mc Graw-Hill Education Companies

Direktorat Bina Farmasi Komunitas dan Klinik. (2005). *Pharmaceutical Care Untuk Penyakit Diabetes Mellitus*. Direktorat Jenderal Bina Kefarmasian Dan Alat Kesehatan: Departemen Kesehatan RI.

Duke, James A., 2002. *Handbook of Medicinal Herbs*. 2nd ed. New York: CRC Press LLC. p.529.

Elkins R. 1997. Stevia Nature's sweeteners. Pleasant Grove: *Woodland Publishing, Inc.* Hlm 8-9, 21-23, 27

Etuk EU. 2010. Animals models for studying diabetes mellitus: *Department of Pharmacology Collage of Health Sciences. Usmanu Danfodiyo University ,Sokoto. Nigeria*

Fawcett W.D. 2002. *Buku Ajar Histology*. Edisi 12. Jakarta: Penerbit Buku Kedokteran EGC. Hlm 583-599

Ganiswara SG, Setiabudy, Suyatna FD. *Farmakologi dan Terapi* edisi 4. Jakarta: Fakultas Kedokteran Universitas Indonesia, 1995: 571-583.

Ganong W.F. 1995. *Buku Ajar Fisiologi Kedokteran*. Edisi 17. Jakarta : Penerbit Buku Kedokteran EGC.

Geuns, J.M.C. 2003. Stevioside *Phytochem.* 64(5): 913-921

- Goyal SK, Samsher, Goyal RK. 2010. Stevia (*Stevia rebaudiana*) a bio-sweetener: a review. *Internasional Journal of Food Sciences and Nutrition* 61 (1): 1-10
- Gumieniczek A, Hanna H, Zbigniew W, Justyna N. 2002. Changes in antioxidant status of heart muscle tissue in experimental diabetes in rabbits. *Acta Biochimica Polonica*. 49(2):529–535.
- Gunawan D, Mulyani S. 2004. *Ilmu Obat Alam Farmakognosi*. Jilid ke-1. Yogyakarta: Penebar swadaya. Halm 9
- Hardjasaputra P, Budipornoto G, Sembiring, & Kamil I., 2002, *Data Obat di Indonesia Edisi 10*, Grafidian Medipress, Jakarta
- Hermani, Rahardjom M. 2005. *Tanaman Berkhasiat Antioksidan*. Jakarta: Penebar Swadaya. Hlm 9-10
- Hutabarat, Esteria Roslina. 2014. Uji efek hipoglikemik ekstrak etanol daun lidah buaya (*Aloe vera L.*) terhadap kadar glukosa darah tikus putih (*Rattus norvegicus*) jantan galur wistar yang diinduksi aloksan [Naskah publikasi]. Pontianak: Fakultas Kedokteran Universitas Tanjungpura
- Heryanto AF, Soegihardjo CJ, Purwijantiningih LME. 2014. *Optimalisasi produk steviosida dari kalus daun Stevia rebaudiana Bertoni dengan variasi kombinasi zat pengatur tumbuh*: Fakultas Teknobiologi Universitas Atma Jaya Yogyakarta
- Hu, Y., Xu, J. dan Hu. Q. (2003). Evaluation of antioxidant potential of *Aloe vera* (*Aloe barbadensis* Miller) extracts. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 51: 7788 -7791.
- Inayati. 2010. Uji efek analgetik dan antiinflamasi ekstrak etanol 70% daun sirih (*Piper betle*. Linn) secara in vivo [Skripsi]. Jakarta: Fakultas Kedokteran & Ilmu Kesehatan Universitas Islam Negeri Syarif Hidayatullah.
- Katzung, Bertram G. 2010. *Farmakologi Dasar dan Klinik*. Edisi 10. Jakarta: Penerbit Buku Kedokteran EGC
- [KEMENKES RI] Kementerian Kesehatan Republik Indonesia. 2013. *Farmakope Herbal Indonesia*. Edisi I Suplemen 3. Jakarta: Kementerian Kesehatan Republik Indonesia
- [KEMENKES RI] Kementerian Kesehatan Republik Indonesia. 2013. *Riset Kesehatan Dasar; RISKESDAS*. Jakarta: Balitbang Kemenkes RI
- Khaing, Tin.A. 2011. Evaluation of the antifungal and antioxidant activities of the leaf extract of *Aloe vera* (*Aloe Barbandensis* Miller). *World Academy Of Science, Engineering And Technology* 75: 610-612

- Konoshima T, Takasaki M. 2002. Cancer – chemopreventif effect of natural sweeteners and related compounds. *Pure Appl Chem* 74 (7):1309 -1316
- Kowluru RA, Tang J, Kern TS. 2001. Abnormalities of retinal metabolism in diabetes and experiment galactosemia. *Journal Diabetes* 50: 1938-42
- Koleva, I. I., Van Beek T. A., Linssen J. P. H., Groot A. De, Evstatieva L. N. 2002. Screening of Plant Extract for Antioxidant Activity: A Comparative Study On Three Testing Methods. *Phytochemical Analysis* 13: 8-17
- Lesson C. Roland, Lesson Thomas S., Paparo Anthony A. 1996. *Buku Ajar Histologi*. Jakarta : Penerbit Buku Kedokteran EGC
- Malole, M.B.M dan Pramono. C.S.U. 1989. *Penggunaan Hewan-Hewan Percobaan di Laboratorium*. Pusat Antar Universitas Bioteknologi. Institut Pertanian Bogor
- Mansjoer, Arif. 1999. *Kapita Selekta Kedokteran*. Jakarta : Media Aesculapius.
- Marchesini, Brizi, Bianci, Tomassetti, Bugianesi, Lenzi, McCullough, Natale, Forlani, Melchionda. 2001. Nonalcoholic fatty liver disease : A Feature of the Metabolic Syndrome. *Diabetes* 50: 1844-1850
- Musa, A.M., Aliyu, A.B., Yaro, A.H., Magaji, M.G., Hassan, H.S. & Abdullahi, M.I. 2009. Preliminary phytochemical analgesic and anti-inflammatory studies of methanol extract of anisopus mannit (N.E.Br) (Asclepiadaceae)in rodents. *African Journal of Pharmacy and Pharmacology* 3: 374-378
- Mustofa, Yuniastuti A, Marianti A. Efek pemberian jus lidah buaya terhadap kadar glukosa darah tikus putih. *Unnes Journal of Life Science*; 2012. 1(1): 35-40.
- Nair, Sindhu. S., Vaibhavi Kavrekar, and Anshu Mishra. 2013. *In vitro* Studies on Alpha Amylase and Alpha Glucosidase Inhibitory Activities of Selected Plant Extracts. *European Journal of Experimental Biology* 3(1):128-132
- Nathan, D.M., Kuenen, J., Borg, R. 2008. A1C-Derived Average Glucose Study Group. Translating the A1C Assay into Estimated Average Glucose Values. *Diabetes Care*; 31: 1473-1478.
- Nurdjaman, Soejoto, Soetedjo, Faradz S.M.H., Witjahyo b., Susilaningsih. 2001. *Histologi II*. Semarang: Balai penerbit FK UNDIP
- Nuttal SL, Dunne F, Kendal MJ, Martin U. 1999. Age-independent oxidative stress in elderly patiens with non-insulin dependent diabetes mellitus. *Q J Med* 1999;92:33-8.

- Paduch, R., M. Kandefer-Szerszeń, M. Trytek and J. Fiedurek . 2007. Terpenes: substances useful in human healthcare. *Archivum Immunologiae et Therapiae Experimentalis* 55(5): 315–327.
- Pande SS, Gupta P. 2013. Plant tissue culture of stevia rebaudiana (Bertoni): A review. *Journal of Pharmacognosy and phytoterapy* 5 (1): 26-33
- Petrus Rizky, Pradini SA, Dian FA. 2017. Pengaruh kombinasi daun stevia (*Stevia rebaudiana* Best) dan ekstrak etanol daun sambiloto (*Andrographidis folium*) terhadap stress oksidatif pada tikus diabetes militus yang diinduksi aloksan. *Jurnal KesMaDaSka*: 125-126
- Purnamasari D. 2009. *Diagnosis dan Klasifikasi Diabetes Melitus*. Di Dalam Sudoyo A, Setiyohadi B, Alwi I, Simadibrata M, Setiati S. *Buku Ajar Ilmu Penyakit Dalam*. Edisi 5. Jakarta: Interna Publishing
- Pradono, Arisyi Sunu. 2011. Pengaruh pemberian decocta daun lidah buaya (*Aloe vera* L) terhadap penurunan kadar glukosa darah tikus wistar yang diberi beban glukosa [Artikel ilmiah] Semarang: Fakultas Kedokteran Universitas Diponegoro
- Price SA, Wilson LM. *Patofisiologi konsep klinis proses-proses penyakit*. Edisi 6. Volume 2. Alih Bahasa : Penerbit BU, Hartono H, Wulansari P, Mahanani DA. Jakarta: EGC, 2005:1260-70
- Pujihastuti, Isti. 2009. *Teknologi pengawetn buah tomat dengan metode freeze drying*. Semarang: UNDIP
- Putra Erdiansyah, Rahimah SB, Dewi MK. 2015. Perbandingan efek hipoglikemik pada ekstrak air dengan ekstrak etanol lidah buaya. *Prosiding Penelitian Sivitas Akademika Unisba (Kesehatan)* hlm 595-598
- Raini Mariana, Isnawati Ani. 2011. Kajian: khasiat dan keamanan stevia sebagai pemanis pengganti gula. *Media Litbang Kesehatan* 21: 146-147
- Rahbani NME, Rahimi-PA, Nobar M, Adi BF, Miharsemi SM. 1999. Total antioxidant capacity, superoksid dismutase and glutathione peroxidase in diabetic patiens. *Medical journal of Islamic Academy of Sciences* 12(4):109-14.
- Rahma MT. 2012. Aloe emodin, senyawa organik penurun kadar gula darah. *Unej Jurnal*1(1):1-3
- Ressang AA. 1984. *Patologi Khusus Veterniter*. Edisis 2. Denpasar: Percetakan Bali
- Riyanto, Chatarina Wariyah. 2012. Stabilitas sifat antioksidatif (*Aloe vera* var. *chinesis*) selama pengolahan minuman lidah buaya. *Agritech* 32

- Roslina E. 2014. Uji efek hipoglikemik ekstrak etanol daun lidah buaya (*Aloe vera* L.) terhadap kadar glukosa darah tikus putih (*Rattus norvegicus*) jantan galur wistar yang diinduksi aloksan [Skripsi]. Pontianak: Fakultas Kedokteran, Universitas Tanjungpura.
- Salasa Patrisius YL, Setiasih Ni Luh Eka, Kardena I Made. 2015. Pengaruh pemberian ekstrak kulit batang kelor (*Moringa oleifera*) terhadap histopatologi hati tikus wistar yang diinduksi aloksan. *Indonesia Medicus Veterinus* 4(4): 332-34
- Salas, A. 2010. *Stevia And Xylitol Side By Side*. Published by B5 sr via cesere da sesto
- Saritha V, Anilakumar K R, Khanum, Farhath . Antioxidant and Antibacterial Activity of Aloe vera Gel Extract. *International Journal of Pharmaceutical & Biological Archives*. 2010; 1(4): 376-384
- Selawa W, Runtuwene MRJ, Citraningtyas G. 2013. Kandungan flavonoid dan kapasitas antioksidan total ekstrak etanol daun binahong (*Anredera cordifolia* (Tenore) Steenis). *Jurnal Ilmiah Farmasi* 2 (1)
- Setiawan B, Suhartono E. 2005. Stress oksidatif dan peran antioksidan pada diabetes mellitus. *Majalah kedokteran Indonesia* 55 (2): 86-91
- Sharma A. 2011. Transdermal approach of antidiabetic drug glibenclamide : a review. *International Journal of Pharmaceutical Research and Development* 3: 25-32
- Sirois. 2005. *Laboratory Animal Medicine: Principle and Procedures*, Elsevier. USA
- Smith, B. J. B , S. Mangkoewidjojo. 1998. *Pemeliharaan Pembiakan Penggunaan Hewan Percobaan di Daerah Tropis*: Universitas Indonesia Jakarta. Hlmn. 228-233
- Snell R.S. 2006. *Anatomi Klinik untuk Mahasiswa Kedokteran*. Edisi 6. Jakarta. Penerbit: EGC
- Soerya Dewi Marlina, Venty Suryanti, Suyono.2005. Skrining Fitokimia dan Analisa Kromatografi Lapis Tipis Komponen Kimia Buah Labu Siam (*Sechium edule* Jacq.Swartz) dalam Ekstrak Etanol. Surakarta: Universitas Sebelas Maret
- Stocker R, Keaney JF Jr. 2004 Role of oxidative modification in atherosclerosis. *Journal Physiological* 84 (4): 1381-14178
- Suarsana IN, Priosoeryanto BP, Wresdiyanti T, Bintang M. 2010. Sintesis glikogen hati dan otot pada tikus diabetes yang diberi ekstrak tempe. *J.Vet.* 11(3): 190-195

- Sudarmadji, S.B. Haryono, Suhardi. 2003. *Analisa Bahan Makanan dan Pertanian*. Liberty : Yogyakarta
- Sudarsono, Pudjoarinto, A., Gunawan, D., Wahyuono S., Donatus, I.A., Drajad, M., Wibowo, S., Ngatidjan. 1996. *Tumbuhan Obat*. Hlm 20-25. Yogyakarta: Pusat Penelitian Obat Tradisional Universitas Gadjah Mada
- Sudjono T.A, Wahyuni A.S. Pengaruh decocta daun lidah buaya (Aloe vera) terhadap kadar glukosa darah kelinci yang dibebani glukosa. *Jurnal Penelitian Sains dan Teknologi*; 2005. 6(1): 26-34.
- Sugiyanto. 2010. Peran glutathione sebagai master of antioksidan. *Journal Biomedis* 1 (1)
- Sultana, B. dan Anwar, F. (2008). Flavonol (kaempferol, quercetin, myricetin) contents of selected fruits, vegetables and medicinal plants. *Food Chemistry* 108:879 – 884.
- Sundaram, Naresh, Shanti, & Sachdanandam. 2013. Modulatory effect of green tea extract on hepatic key enzymes of glucose metabolism in streptozotocin and high fat diet induced diabetic rats. *Phytomedicine* 5:1-8
- Suryowinoto. S. Mengenal Beberapa Tanaman yang Digunakan Masyarakat Sebagai Antidiabetik untuk Menurunkan Kadar Gula dalam Darah. Badan Pengawas Obat dan Makanan. <http://www.pom.go.id/default.asp>, [2005].
- Suyono S. 2011. *Patofisiologi Diabetes Melitus. Dalam: Penatalaksanaan Diabetes Melitus Terpadu*. Jakarta: Balai Penerbit FKUI Hal 11.
- Swarayana IMI, Sudira IW, Berata IK. 2012. Perubahan Histopatologi Hati Mencit (*Mus musculus*) yang Diberikan Ekstrak Daun Ashitaba (*Angelica keiskei*). *Bul. Vet. Udayana*. 4(2): 119-125.
- Syamsuhidayat dan Hutapea, J.R. 1991. *Inventaris Tanaman Obat Indonesia*., Jakarta: Departemen Kesehatan Republik Indonesia Badan Penelitian dan Pengembangan Kesehatan. hlm 305-306.
- Thomas JE, Glade MJ. 2010. Stevia: it's not just about calorie. *The Open Obesity Journal* 2: 101 – 109
- Tjay, T.H., Rahardja, K. (2002). *Obat-obat Penting : Khasiat, Penggunaan, dan Efek-Efek Sampingnya*. Edisi VI. Jakarta: Penerbit PT. Elex Media Komputindo. hlm 540-541.
- Tiwari P, Kumar B, Kaur, M Kaur H. 2011. Phytochemical screening and extraction: A Review. *International Pharmaceutica Scientia* 1 (1)

- Ueno Y, Kizaki M, Nakagiri R, Kamiya T, Sumi H, Osawa T. Dietary glutathione protects rats from diabetic nephropathy and neuropathy. *J Nutr* 2002;132:897-900.
- Untari, Meta Kartika. 2017. Uji aktivitas antidiabetes daun *stevia rebaudiana Bertoni* dan gambaran histologi pankreas tikus jantan yang diinduksi aloksan.[Abstrak] Risetdikti
- Utami. 2003. *Tanaman Obat Untuk Mengatasi Diabetes Melitus*. Jakarta: Agromedia Pustaka
- Valko M, Leibfritz D, Moncol J, Cronin M, Mazur M, Telser J. 2007. Review: free radicals and antioxidant in normal physiological function and human disease. *Inter J Biochem Cell Biol* 39: 44-48
- Wardani NAK, Andini, Indriani PT, Sarinastiti DI. 2017 Enzim α -amilase inhibitor pada ekstrak air kacang merah (*Phaseolus vulgaris* L.) untuk penanggulangan diabetes. *Jurnal Ilmu Pangan dan Hasil Pertanian*
- Wariyah CH, Riyanto. 2016. Antioxidative activity of microencapsulated aloe vera (*Aloe vera* var. *chinensis*) powder with various concentration of added maltodextrin. *International Food Research Journal* 23(2):537-542
- Widowati Wahyu. 2008. Potensi Antioksidan Sebagai Antidiabetes: *Jurnal Kesehatan Masyarakat* 7; Februari 2008
- Winarsi ah. 2007. *Antioksidan Alami dan Radikal Bebas*. Yogyakarta: Kanisius. Hlm 18-20
- Witono, Judi Retti B, Chandra Andy. 2016. *Laporan Penelitian Integrasi Proses Pemisahan Stevioside Dari Daun Stevia Rebaudiana*. Bandung: Universitas Katolik Parahyangan. Hlm 12
- Yuniastuti Ari. 2016. *Dasar Molekuler Glutation dan Perannya Sebagai Antioksidan*. Semarang: FMIPA press
- Yuriska F A. 2009. Efek aloksan terhadap kadar glukosa darah tikus wistar [KTI]. Semarang: Fakultas Kedokteran, Universitas Diponegoro. Teknologi Pangan
- Yusni, Leva Baniasih Akbar, Rezania, Raipati Fahlevi. 2017. Penurunan kadar gula darah akibat pemberian ekstrak manggis (*Garcinia mangostana*) dan tomat (*Lycopersicum esculentum* Mill) pada tikus diabetes: *Global Medical and Health Communication* 5
- Zada A. 2009. Pengaruh diet rumput laut *Euchema* sp. terhadap jumlah eritrosit tikus wistar dengan diabetes aloksan [KTI]. Semarang: Fakultas Kedokteran, Universitas Diponegoro

Ilma Wilda Zidni. 2016. Pengaruh pemberian ekstrak the hijau (*Cmellia sinensis* L.) terhadap kadar glukosa darah dan gambaran histopatologi hepar mencit diabetes yag diinduksi aloksan. [Skripsi]. Jember : Fakultas Framasi Universitas Jember

LAMPIRAN

Lampiran 1. Hasil determinasi tanaman stevia



UNIVERSITAS GADJAH MADA
FAKULTAS BIOLOGI
LABORATORIUM SISTEMATIKA TUMBUHAN
Jalan Teknika Selatan Sekip Utara Yogyakarta 55281 Telpun (0274) 6492262/6492272; Fax: (0274)580839

SURAT KETERANGAN
 Nomor : 01095/S.Tb./VIII/ 2017

Yang bertanda tangan dibawah ini, Kepala Laboratorium Sistematika Tumbuhan Fakultas Biologi UGM, menerangkan dengan sesungguhnya bahwa,

Nama	: Rine Larasati
NIM	: 20144306A
Asal instansi	: Fakultas Farmasi Universitas Setia Budi Surakarta

telah melakukan identifikasi tumbuhan dengan hasil sebagai berikut,

Divisi	: Magnoliophyta
Class	: Magnoliopsida
Sub class	: Asteridae
Order	: Asterales
Familia	: Asteraceae
Genus	: <i>Stevia</i>
Species	: <i>Stevia rebaudiana</i> (Bertoni) Bertoni
Nama lokal	: Candyleaf

identifikasi tersebut dibantu oleh Abdul Razaq Chasani, S.Si., M.Si.
 Demikian surat keterangan ini diberikan untuk dapat dipergunakan seperlunya.

Mengetahui,
 Dekan Fakultas Biologi
 Universitas Gadjah Mada



Dr. Budi Setiadi Daryono, M.Agr.Sc.
 NIP. 197003261995121001

Yogyakarta, 9 Agustus 2017
 Kepala Laboratorium
 Sistematika Tumbuhan
 Fakultas Biologi UGM



Dr. Purnomo, M.S.
 NIP. 195504211982031005

Lampiran 2. Surat determinasi lidah buaya



UPT- LABORATORIUM

No : 216/DET/UPT-LAB/31/V/2018
Hal : Surat Keterangan Determinasi Tumbuhan

Menerangkan bahwa :

Nama : Rine Larasati
NIM : 20144306 A
Fakultas : Farmasi Universitas Setia Budi

Telah mendeterminasikan tumbuhan : **Lidah buaya (*Aloe vera* (L.) Webb.)**

Hasil determinasi berdasarkan : Backer: FLORA OF JAVA

1b – 2b – 3b – 4b – 12b – 13b – 14b – 17b – 18b – 19b – 20b – 21b – 22b – 23b – 24b – 25b
– 26b – 27a – 28b – 29b – 30b – 31a – 32a – 33a – 34a – 35b – 37b – 38b – 39b – 41b – 42b
– 44b – 45b – 46e – 50b – 54b – 56b – 57a – 58b – 59d – 72b – 73b – 74a – 75b – 76a – 77a
– 78a – 79b – 80a – 81b – 86a – 87a – 88b – 89b – 91a – 92b – 93b – 94a. familia Liliaceae.
1a – 2b. *Aloe barbadensis* Mill. Sinonim: ***Aloe vera* (L.) Webb.**

Deskripsi :

Habitus : Semak.
Akar : serabut.
Batang : Sangat pendek, tidak terlihat karena tertutup oleh daun.
Daun : Tunggal, tersusun roset akar, bentuk tombak dengan helaian memanjang, ujung meruncing, berdaging tebal, tidak bertulang, mengandung banyak air dan getah, permukaan dilapisi lilin, tepi bergerigi kasar seperti duri, permukaan bagian atas rata, permukaan bagian bawah cembung, panjang 45–90 cm, hijau.
Bunga : berukuran kecil, tersusun melingkar pada tangkai bunga majemuk menyerupai sumbu vertikal diameter lk 1 cm, panjang lk 85 cm, keluar dari ketiak daun; tersusun tandan, mahkota berbentuk tabung panjang, warna oranye.
Pustaka : Backer C.A. & Brink R.C.B. (1965): *Flora of Java* (Spermatophytes only).
N.V.P. Noordhoff – Groningen – The Netherlands

Surakarta, 31 Mei 2018
Tim determinasi

Dra. Kartinah Wirjosoendjojo, SU.

Lampiran 3. Surat etichal clearen

3/26/2018

Form A2



HEALTH RESEARCH ETHICS COMMITTEE
KOMISI ETIK PENELITIAN KESEHATAN
Dr. Moewardi General Hospital
RSUD Dr. Moewardi



School of Medicine Sebelas Maret University
Fakultas Kedokteran Universitas sebelas Maret

ETHICAL CLEARANCE
KELAIKAN ETIK

Nomor : 112 / III / HREC / 2018

The Health Research Ethics Committee Dr. Moewardi General Hospital / School of Medicine Sebelas Maret
 Komisi Etik Penelitian Kesehatan RSUD Dr. Moewardi / Fakultas Kedokteran Universitas Sebelas Maret

Maret University Of Surakarta, after reviewing the proposal design, herewith to certify
 Surakarta, setelah menilai rancangan penelitian yang diusulkan, dengan ini menyatakan

That the research proposal with topic :
 Bahwa usulan penelitian dengan judul

PENGARUH KOMBINASI EKSTRAK AIR LIDAH BUAYA (*Aloe vera* L) DAN DAUN STEVIA (*Stevia rebaudiana* Bertoni) TERHADAP AKTIVITAS ENZIM GLUTATION PEROXIDASE DAN GAMBARAN HISTOPATOLOGI HATI PADA TIKUS PUTIH JANTAN YANG DIINDUKSI

Principal investigator : RINE LARASATI
 Peneliti Utama : 20144306A

Location of research : LABORATORIUM PANGAN DAN GIZI UGM
 Lokasi Tempat Penelitian

Is ethically approved
 Dinyatakan layak etik



Issued on : 26 Mar 2018

Chairman
 Ketua

Dr. Hari Wujoso, dr. Sp.F.MM
 NIP. 19621022 199503 1 001

Lampiran 4. Surat keterangan praktikum



UNIVERSITAS GADJAH MADA

Pusat Studi Pangan dan Gizi

Jln. Teknik Utara, Burek, YOGYAKARTA 55281
Telp. 0274 589242, 6492282 Web : www.cfns.ugm.ac.id
Email : cfns@ugm.ac.id

FORMULIR PEMAKAIAN FASILITAS LABORATORIUM GIZI (HEWAN COBA)

Nama Mahasiswa/Peneliti : Rine Larasati
No. Mahasiswa : 20144306A
Jurusan/Fakultas/Universitas : SI Farmasi / Farmasi / Universitas Setra Budi Surakarta
Alamat Rumah dan No. Telp/HP : Jalan parkat no 15, Perum Buni Graha Indah, Jaten, Karanganyar, Surakarta.
Topik Penelitian /Judul : Uji Aktivitas Kombinasi ekstrak air lidah buaya (Aloe vera L.) dan daun stevia (Stevia rebaudiana Bertoni) terhadap Enzim Glutathion Peroxidase pada tikus putih jantan yang diinduksi aleksan
Mulai bekerja pada tanggal : 16 April 2018
Rencana penyelesaian tanggal : 16 Mei 2018
Diperpanjang sampai tanggal : _____
Bekerja di laboratorium : 1. Gizi

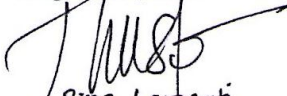
Yogyakarta, 4 April 2018

Mahasiswa /Peneliti

Pembimbing Tesis/Skripsi

Yang bersangkutan

Dekan Fakultas/Pimpinan Lembaga


Rine Larasati

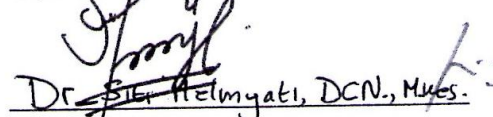
Terlampir

Mengetahui :

Sekretariat/Bagian Administrasi

Kepala/Teknis Lab Gizi


Wahyuning Hartati

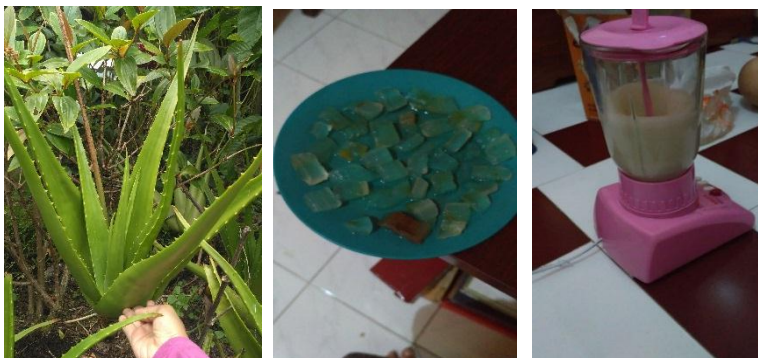

Dr. Sri Aetmyati, DCN., Mkes.

Lampiran 5. Foto daun stevia dan lidah buaya serta proses pembuatan serbuk dan jus

Stevia



Lidah buaya



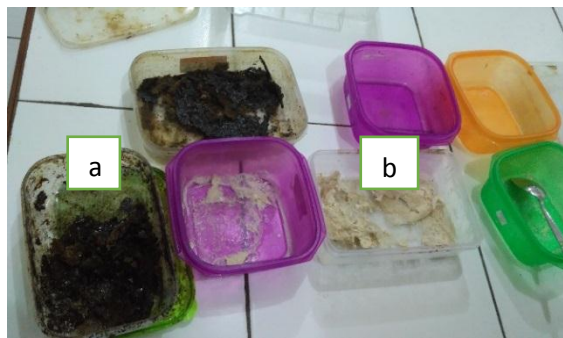
Moisture balance



Lampiran 6. Proses pembuatan ekstrak



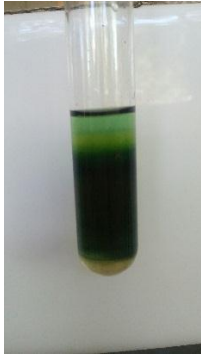
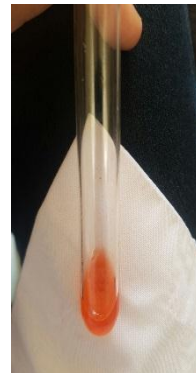
Refluk daun stevia dan lidah buaya



a. ekstrak stevia ; b. ekstrak lidah buaya



Alat freeze dryer

Lampiran 7. Identifikasi senyawa dengan uji tabung**Stevia (senyawa glikosida)****Lidah buaya****a. Alkaloid****b. Saponin****c. Antrakuinon**

Lampiran 8. Perlakuan hewan uji



Induksi aloksan



Pemberian ekstrak secara peroral



Pengambilan darah



Pembedahan



Organ hati yang digunakan untuk analisis enzim GPX dan uji hiistopatologi hati

Lampiran 9. Perhitungan rendemen ekstrak**a. Ekstrak stevia**

$$\begin{aligned} \text{Rendemen ekstrak} &= \frac{\text{Bobot ekstrak yang didapat}}{\text{Bobot serbuk simplisia yang diekstrak}} \times 100\% \\ &= \frac{18,3012 \text{ gram}}{440 \text{ gram}} \times 100\% = 4,159\% \end{aligned}$$

b. Ekstrak lidah buaya

$$\begin{aligned} \text{Rendemen ekstrak} &= \frac{\text{Bobot ekstrak yang didapat}}{\text{Bobot serbuk simplisia yang diekstrak}} \times 100\% \\ &= \frac{4,273 \text{ gram}}{600 \text{ gram}} \times 100\% = 0,71\% \end{aligned}$$

Lampiran 10. Perhitungan dosis

1. Perhitungan dosis aloksan

Dosis yang digunakan untuk membuat tikus diabetes adalah 140 mg/kg BB. Sehingga untuk satu ekor tikus dengan berat badan 200 g diberi larutan aloksan sebesar 28 mg/200g BB tikus .

$$\begin{aligned} \text{Dosis aloksan} &= 140 \text{ mg/kgBB} \\ &= 140 \text{ mg/1000 g BB} \\ &= 28 \text{ mg/ 200g BB tikus} \end{aligned}$$

$$\begin{aligned} \text{Larutan stock dibuat 1\%} &= 1 \text{ g/ 100 ml} \\ &= 1000\text{mg/ 100 ml} \\ &= 10 \text{ mg/ml} \end{aligned}$$

$$\text{Volume pemberian untuk 200 g BB tikus} = \frac{28 \text{ mg}}{10 \text{ mg}} \times 1 \text{ ml} = 2,8 \text{ ml}$$

2. Perhitungan dosis CMC 0,5%

Larutan stok dibuat dengan konsentrasi 0,5% b/v = 0,5 g/100 ml = 500 mg/100 ml, yang berarti dalam 1 ml larutan tersebut mengandung 5 mg CMC. Perhitungan volume pemberian CMC sebagai berikut

$$\begin{aligned} \text{Dosis untuk tikus} &= 5 \text{ mg/200gBB} \\ \text{Berat badan tikus} &= 200 \text{ g} \\ &= \frac{200 \text{ g}}{200 \text{ g}} \times 5 \text{ mg} = 5 \text{ mg} \\ \text{Volume pemberian} &= \frac{5 \text{ mg}}{5 \text{ mg}} \times 2 \text{ ml} = 2 \text{ ml} \end{aligned}$$

No	Berat badan tikus (g)	Volume pemberian (ml)	Perhitungan volume
1	166	1,66	$D = \frac{166}{200} \times 5 \text{ mg} = 4,15 \text{ mg}$ $V = \frac{4,15 \text{ mg}}{5 \text{ mg}} \times 2 \text{ ml} = 1,66 \text{ ml}$
2	163	1,63	$D = \frac{163}{200} \times 5 \text{ mg} = 4,075 \text{ mg}$ $V = \frac{4,075 \text{ mg}}{5 \text{ mg}} \times 2 \text{ ml} = 1,63 \text{ ml}$
3	161	1,61	$D = \frac{161}{200} \times 5 \text{ mg} = 4,03 \text{ mg}$ $V = \frac{4,03 \text{ mg}}{5 \text{ mg}} \times 2 \text{ ml} = 1,61 \text{ ml}$
4	160	1,6	$D = \frac{160}{200} \times 5 \text{ mg} = 4 \text{ mg}$ $V = \frac{4 \text{ mg}}{5 \text{ mg}} \times 2 \text{ ml} = 1,6 \text{ ml}$
5	162	1,62	$D = \frac{162}{200} \times 5 \text{ mg} = 4,05 \text{ mg}$ $V = \frac{4,05 \text{ mg}}{5 \text{ mg}} \times 2 \text{ ml} = 1,62 \text{ ml}$

3. Perhitungan dosis glibenklamid

Dosis glibenklamid untuk tikus dihitung berdasarkan konversi dosis simvastatin dari manusia ke tikus dengan mengalikan dosis glibenklamid pada manusia dengan faktor konversi dosis dari manusia (70 kg) ke tikus (200 g). dosis glibenklamid pada manusia dengan berat badan 70 kg yaitu 5 mg per hari, sedangkan faktor konversi dari manusia (70 kg) ke tikus (200 g) adalah 0,018. Hasil konversi dosis glibenklamid tikus sebesar 5 mg x 0,018 = 0,09mg/200 g BB tikus.

$$\begin{aligned} \text{Larutan stok dibuat konsentrasi } 0,01\% \text{ } b/v &= 0,01 \text{ g/ } 100 \text{ ml} \\ &= 10 \text{ mg/}100 \text{ ml} \\ &= 0,1 \text{ mg/ml} \end{aligned}$$

Menimbang 0,01 g serbuk glibenklamid lalu dicampurkan ke dalam suspense CMC dan air panas hingga volume 100 ml. Volume cairan maksimal yang diberikan per oral kepada tikus sebanyak 5 ml.

$$\text{Dosis untuk tikus} = 0,09 \text{ mg/}200\text{Gbb}$$

$$\begin{aligned} \text{Berat badan tikus} &= 200 \text{ g} \\ &= \frac{200 \text{ mg}}{200 \text{ mg}} \times 0,09 \text{ mg} = 0,09 \text{ mg} \end{aligned}$$

$$\text{Volume pemberian} = \frac{0,09 \text{ mg}}{0,1 \text{ mg}} \times 2 \text{ ml} = 1,8 \text{ ml}$$

NO	Berat badan tikus (g)	Volume pemberian (ml)	Perhitungan volume
1	160	1,48	$D = \frac{160}{200} \times 0,09 \text{ mg} = 0,072 \text{ mg}$ $V = \frac{0,072 \text{ mg}}{0,1 \text{ mg}} \times 2 \text{ ml} = 1,44 \text{ ml}$
2	166	1,5	$D = \frac{166}{200} \times 0,09 \text{ mg} = 0,075 \text{ mg}$ $V = \frac{0,075 \text{ mg}}{0,1 \text{ mg}} \times 2 \text{ ml} = 1,5 \text{ ml}$
3	168	1,52	$D = \frac{168}{200} \times 0,09 \text{ mg} = 0,076 \text{ mg}$ $V = \frac{0,076 \text{ mg}}{0,1 \text{ mg}} \times 2 \text{ ml} = 1,52 \text{ ml}$
4	193	1,74	$D = \frac{193}{200} \times 0,09 \text{ mg} = 0,087 \text{ mg}$ $V = \frac{0,087 \text{ mg}}{0,1 \text{ mg}} \times 2 \text{ ml} = 1,74 \text{ ml}$
5	161	1,46	$D = \frac{161}{200} \times 0,09 \text{ mg} = 0,073 \text{ mg}$ $V = \frac{0,073 \text{ mg}}{0,1} \times 2 \text{ ml} = 1,46 \text{ ml}$

4. Dosis ekstrak stevia 400 mg/kgBB

$$\begin{aligned} \text{Dosis untuk tikus} &= 400 \text{ mg/kgBB} \\ &= 400 \text{ mg}/1000 \text{ g BB} \\ &= \frac{200 \text{ g}}{1000 \text{ g}} \times 400 \text{ mg} = 80 \text{ mg}/200 \text{ g BB tikus} \end{aligned}$$

$$\begin{aligned} \text{Larutan stok 6\%} &= 6000 \text{ mg}/100 \text{ ml} \\ &= 60 \text{ mg/ml} \end{aligned}$$

NO	Berat badan tikus (g)	Volume pemberian (ml)	Perhitungan volume
1	164	1,09	$D = \frac{164}{200} \times 80 \text{ mg} = 65,6 \text{ mg}$ $V = \frac{65,6 \text{ mg}}{60 \text{ mg}} \times 1 \text{ ml} = 1,09 \text{ ml}$
2	170	1,13	$D = \frac{170}{200} \times 80 \text{ mg} = 68 \text{ mg}$ $V = \frac{68 \text{ mg}}{60 \text{ mg}} \times 1 \text{ ml} = 1,13 \text{ ml}$
3	167	1,11	$D = \frac{167}{200} \times 80 \text{ mg} = 66,8 \text{ mg}$ $V = \frac{66,8 \text{ mg}}{60 \text{ mg}} \times 1 \text{ ml} = 1,11 \text{ ml}$
4	164	1,09	$D = \frac{164}{200} \times 80 \text{ mg} = 65,6 \text{ mg}$ $V = \frac{65,6 \text{ mg}}{60 \text{ mg}} \times 1 \text{ ml} = 1,09 \text{ ml}$
5	174	1,16	$D = \frac{174}{200} \times 80 \text{ mg} = 69,6 \text{ mg}$ $V = \frac{69,6 \text{ mg}}{60} \times 1 \text{ ml} = 1,16 \text{ ml}$

5. Ekstrak lidah buaya 400 mg/kgBB

$$\begin{aligned} \text{Dosis untuk tikus} &= 400 \text{ mg/kgBB} \\ &= 400 \text{ mg}/1000 \text{ g BB} \\ &= \frac{200 \text{ g}}{1000 \text{ g}} \times 400 \text{ mg} = 80 \text{ mg}/200 \text{ g BB tikus} \end{aligned}$$

$$\begin{aligned} \text{Larutan stok 6\%} &= 6000 \text{ mg}/100 \text{ ml} \\ &= 60 \text{ mg/ml} \end{aligned}$$

NO	Berat badan tikus (g)	Volume pemberian (ml)	Perhitungan volume
1	160	1,06	$D = \frac{164}{200} \times 80 \text{ mg} = 64 \text{ mg}$ $V = \frac{64 \text{ mg}}{60 \text{ mg}} \times 1 \text{ ml} = 1,06 \text{ ml}$
2	163	1,08	$D = \frac{163}{200} \times 80 \text{ mg} = 65,2 \text{ mg}$

NO	Berat badan tikus (g)	Volume pemberian (ml)	Perhitungan volume
			$V = \frac{65,2 \text{ mg}}{60 \text{ mg}} \times 1 \text{ ml} = 1,08 \text{ ml}$
3	175	1,16	$D = \frac{175}{200} \times 80 \text{ mg} = 70 \text{ mg}$ $V = \frac{70 \text{ mg}}{60 \text{ mg}} \times 1 \text{ ml} = 1,16 \text{ ml}$
4	164	1,09	$D = \frac{164}{200} \times 80 \text{ mg} = 65,6 \text{ mg}$ $V = \frac{65,6 \text{ mg}}{60 \text{ mg}} \times 1 \text{ ml} = 1,09 \text{ ml}$
5	159	1,06	$D = \frac{159}{200} \times 80 \text{ mg} = 63,6 \text{ mg}$ $V = \frac{63,6 \text{ mg}}{60 \text{ mg}} \times 1 \text{ ml} = 1,06 \text{ ml}$

6. Kombinasi ekstrak stevia 25% : lidah buaya 75%

$$\text{Ekstrak stevia 25\%} = \frac{25}{100} \times 80 \text{ mg} = 20 \text{ mg}/200 \text{ g BB tikus}$$

$$\text{Ekstrak lidah buaya 75\%} = \frac{75}{100} \times 80 \text{ mg} = 60 \text{ mg}/200 \text{ g BB tikus}$$

$$\begin{aligned} \text{Larutan stok 6\%} &= 6 \text{ g}/100 \text{ ml} \\ &= 6000 \text{ mg}/100 \text{ ml} \\ &= 60 \text{ mg/ml} \end{aligned}$$

Berat badan tikus (g)	Ekstrak stevia 25%	Lidah buaya 75%
180	$D = \frac{180}{200} \times 20 \text{ mg} = 18 \text{ mg}$ $V = \frac{18 \text{ mg}}{60 \text{ mg}} \times 1 \text{ ml} = 0,3 \text{ ml}$	$D = \frac{180}{200} \times 60 \text{ mg} = 54 \text{ mg}$ $V = \frac{54 \text{ mg}}{60 \text{ mg}} \times 1 \text{ ml} = 0,9 \text{ ml}$
166	$D = \frac{166}{200} \times 20 \text{ mg} = 16,6 \text{ mg}$ $V = \frac{16,6 \text{ mg}}{60 \text{ mg}} \times 1 \text{ ml} = 0,3 \text{ ml}$	$D = \frac{166}{200} \times 60 \text{ mg} = 49,8 \text{ mg}$ $V = \frac{49,8 \text{ mg}}{60 \text{ mg}} \times 1 \text{ ml} = 0,8 \text{ ml}$
171	$D = \frac{171}{200} \times 20 \text{ mg} = 17,1 \text{ mg}$ $V = \frac{17,1 \text{ mg}}{60 \text{ mg}} \times 1 \text{ ml} = 0,3 \text{ ml}$	$D = \frac{171}{200} \times 60 \text{ mg} = 51,3 \text{ mg}$ $V = \frac{51,3 \text{ mg}}{60 \text{ mg}} \times 1 \text{ ml} = 0,9 \text{ ml}$
165	$D = \frac{165}{200} \times 20 \text{ mg} = 16,5 \text{ mg}$ $V = \frac{16,5 \text{ mg}}{60 \text{ mg}} \times 1 \text{ ml} = 0,3 \text{ ml}$	$D = \frac{165}{200} \times 60 \text{ mg} = 49,5 \text{ mg}$ $V = \frac{49,5 \text{ mg}}{60 \text{ mg}} \times 1 \text{ ml} = 0,8 \text{ ml}$

Berat badan tikus (g)	Ekstrak stevia 25%	Lidah buaya 75%
160	$D = \frac{160}{200} \times 20 \text{ mg} = 16 \text{ mg}$ $V = \frac{16 \text{ mg}}{60 \text{ mg}} \times 1 \text{ ml} = 0,3 \text{ ml}$	$D = \frac{160}{200} \times 60 \text{ mg} = 48 \text{ mg}$ $V = \frac{48 \text{ mg}}{60} \times 1 \text{ ml} = 0,8 \text{ ml}$

7. Kombinasi ekstrak stevia 50%: lidah buaya 50%

$$\text{Ekstrak stevia 50\%} = \frac{50}{100} \times 80 \text{ mg} = 40 \text{ mg}/200 \text{ g BB tikus}$$

$$\text{Ekstrak lidah buaya 75\%} = \frac{50}{100} \times 80 \text{ mg} = 40 \text{ mg}/200 \text{ g BB tikus}$$

$$\begin{aligned} \text{Larutan stok 6\%} &= 6 \text{ g}/100 \text{ ml} \\ &= 6000 \text{ mg}/100 \text{ ml} \\ &= 60 \text{ mg/ml} \end{aligned}$$

Berat badan tikus (g)	Ekstrak stevia 25%	Lidah buaya 75%
168	$D = \frac{168}{200} \times 40 \text{ mg} = 33,6 \text{ mg}$ $V = \frac{33,6 \text{ mg}}{60 \text{ mg}} \times 1 \text{ ml} = 0,6 \text{ ml}$	$D = \frac{168}{200} \times 40 \text{ mg} = 33,6 \text{ mg}$ $V = \frac{33,6 \text{ mg}}{60 \text{ mg}} \times 1 \text{ ml} = 0,6 \text{ ml}$
165	$D = \frac{165}{200} \times 40 \text{ mg} = 33 \text{ mg}$ $V = \frac{33 \text{ mg}}{60 \text{ mg}} \times 1 \text{ ml} = 0,6 \text{ ml}$	$D = \frac{165}{200} \times 40 \text{ mg} = 33 \text{ mg}$ $V = \frac{33 \text{ mg}}{60 \text{ mg}} \times 1 \text{ ml} = 0,6 \text{ ml}$
170	$D = \frac{170}{200} \times 40 \text{ mg} = 34 \text{ mg}$ $V = \frac{34 \text{ mg}}{60 \text{ mg}} \times 1 \text{ ml} = 0,6 \text{ ml}$	$D = \frac{170}{200} \times 40 \text{ mg} = 34 \text{ mg}$ $V = \frac{34 \text{ mg}}{60 \text{ mg}} \times 1 \text{ ml} = 0,6 \text{ ml}$
167	$D = \frac{167}{200} \times 40 \text{ mg} = 33,4 \text{ mg}$ $V = \frac{33,4 \text{ mg}}{60 \text{ mg}} \times 1 \text{ ml} = 0,6 \text{ ml}$	$D = \frac{167}{200} \times 40 \text{ mg} = 33,4 \text{ mg}$ $V = \frac{33,4 \text{ mg}}{60 \text{ mg}} \times 1 \text{ ml} = 0,6 \text{ ml}$
170	$D = \frac{170}{200} \times 40 \text{ mg} = 34 \text{ mg}$ $V = \frac{34 \text{ mg}}{60 \text{ mg}} \times 1 \text{ ml} = 0,6 \text{ ml}$	$D = \frac{170}{200} \times 40 \text{ mg} = 34 \text{ mg}$ $V = \frac{34 \text{ mg}}{60 \text{ mg}} \times 1 \text{ ml} = 0,6 \text{ ml}$

Lampiran 11. Perhitungan kadar enzim GPx

Kelompok	Kode hewan	absorbansi	Kadar (U/mg)	Kadar rata-rata ± SD
I	I.1	0.102	78.71	78.87 ± 1.84
	I.2	0.099	76.40	
	I.3	0.104	80.26	
	I.4	0.101	77.94	
	I.5	0.105	81.03	
II	II.1	0.029	22.38	23.31 ± 1.48
	II.2	0.031	23.92	
	II.3	0.033	25.47	
	II.4	0.030	23.15	
	II.5	0.028	21.61	
III	III.1	0.082	63.28	62.66 ± 1.48
	III.2	0.084	64.82	
	III.3	0.079	60.96	
	III.4	0.081	62.51	
	III.5	0.080	61.74	
IV	IV.1	0.057	43.99	41.52 ± 2.21
	IV.2	0.054	41.67	
	IV.3	0.050	38.59	
	IV.4	0.052	40.13	
	IV.5	0.056	43.22	
V	V.1	0.078	60.19	59.58 ± 1.48
	V.2	0.075	57.88	
	V.3	0.077	59.42	
	V.4	0.080	61.74	
	V.5	0.076	58.65	
VI	VI.1	0.065	50.16	48.31 ± 2.35
	VI.2	0.060	46.30	
	VI.3	0.063	48.62	
	VI.4	0.066	50.93	
	VI.5	0.059	45.53	
VII	VII.1	0.049	37.81	37.81 ± 1.22
	VII.2	0.047	36.27	
	VII.3	0.050	38.59	
	VII.4	0.051	39.36	
	VII.5	0.048	37.04	

$$\text{Rumus perhitungan GPx} = \frac{(\text{absorbansi} \times 1,2 \times 2 \times 1000 \times 1)}{(6,22 \times 0,22)} \times 100\%$$

$$\text{Sampel 1.1} = \frac{(0,102 \times 1,2 \times 2 \times 1000 \times 1)}{(6,22 \times 10 \times 0,22)} \times 100\% = 78,71$$

Lampiran 12. Perhitungan skorsing kerusakan

Kelompok Pengecatan	Kode hewan	Jumlah Sel Normal	Jumlah Sel/lapang pandang			Total Kerusakan
			Karioreksis	Pinotik	Kariolisis	
K. normal	1A	90	7	0	3	10
	1B	90	5	0	5	10
	1C	89	6	2	3	11
K. Gliben	2A	84	14	0	2	16
	2B	89	9	0	2	11
	2C	84	13	0	3	16
K. DM	3A	66	28	2	4	34
	3B	60	36	0	4	40
	3C	67	22	0	11	33
K. tunggal stevia	4A	32	24	0	4	28
	4B	60	40	0	0	40
	4C	64	33	0	3	36
K. tunggal lidah buaya	5A	77	18	0	5	23
	5B	73	24	0	3	27
	5C	71	26	1	2	29
Kombinasi stevia 25% : LB 75%	6A	80	17	0	3	20
	6B	81	16	0	3	19
	6C	79	16	0	5	21
Kombinasi stevia 50% : LB 50%	7A	72	27	0	1	28
	7B	73	25	0	2	27
	7C	83	13	0	4	17

Bobot skors kerusakan nekrosis:

Piknotik = 1

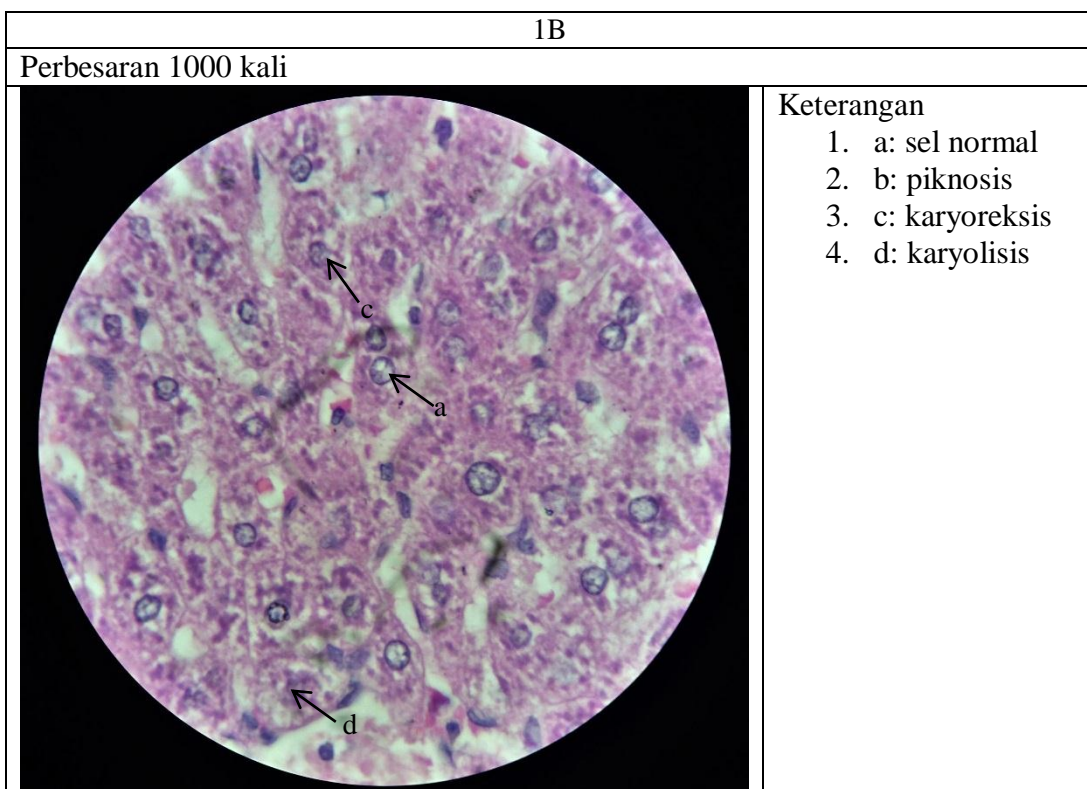
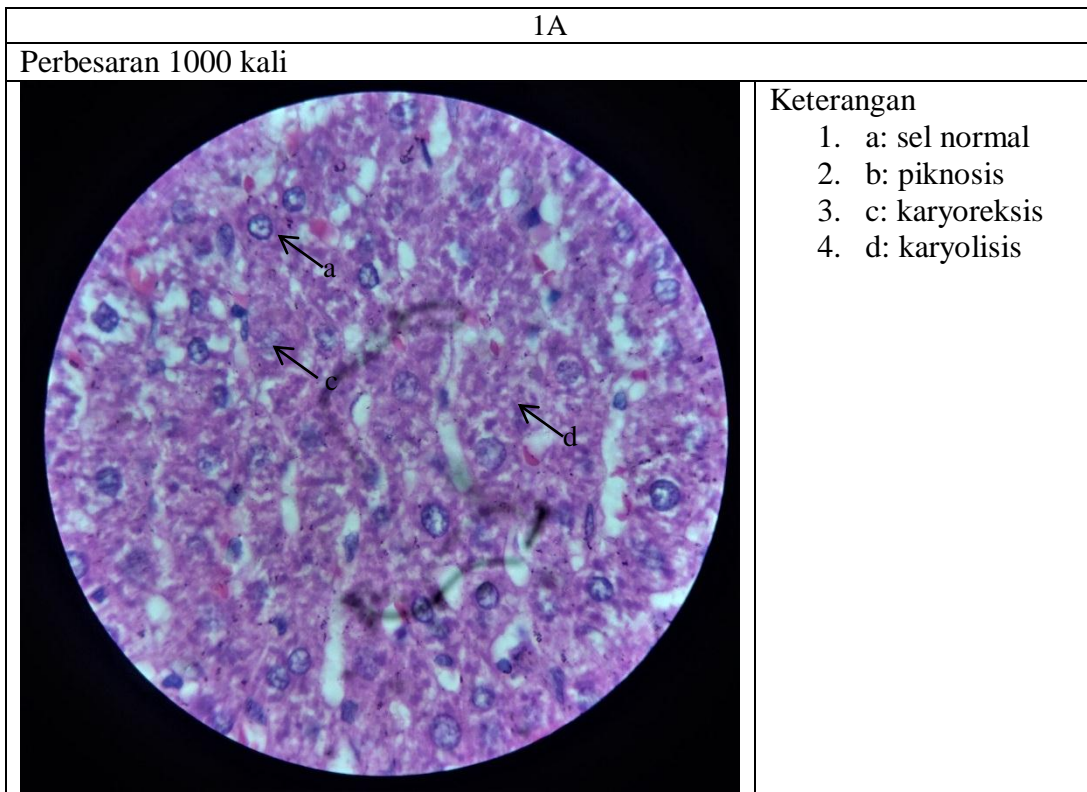
Karioreksis = 2

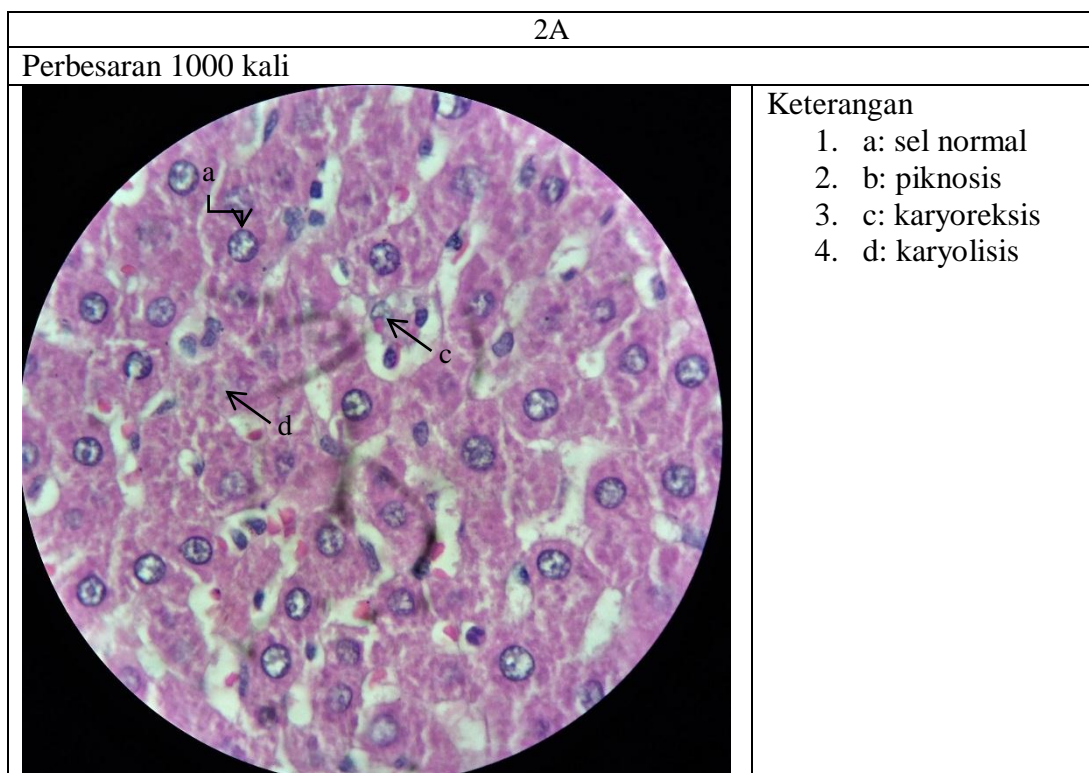
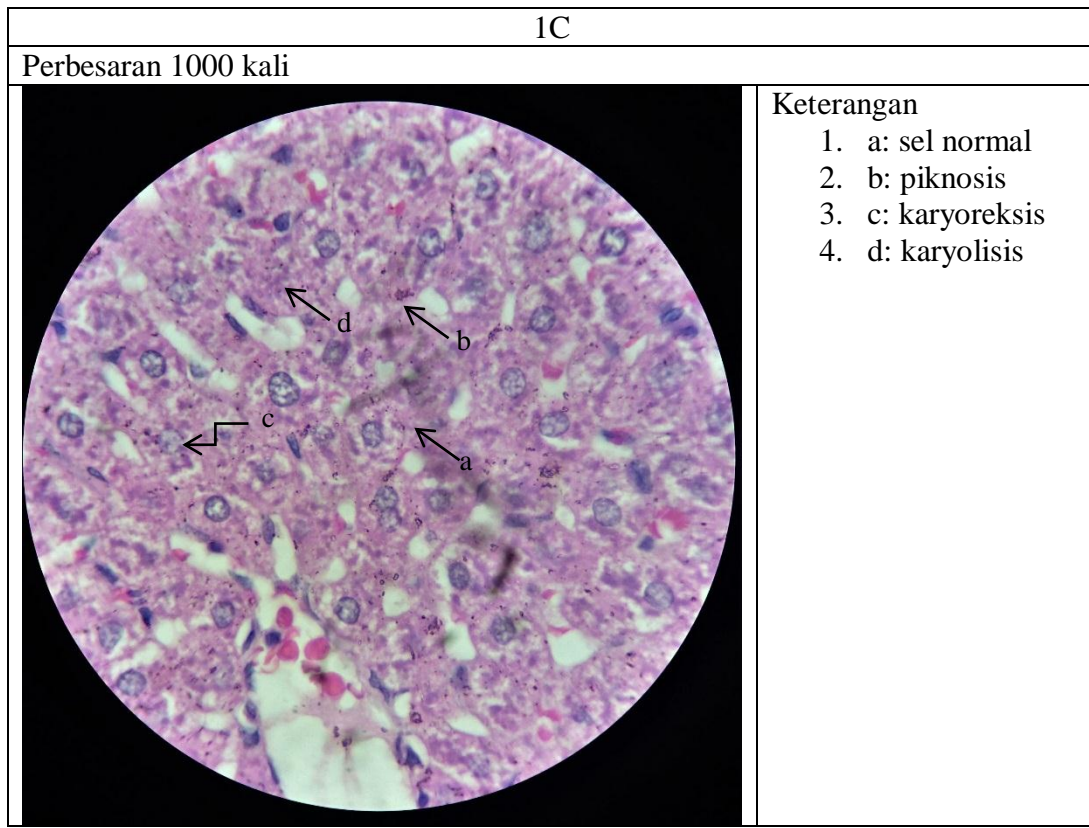
Kariolisis = 3

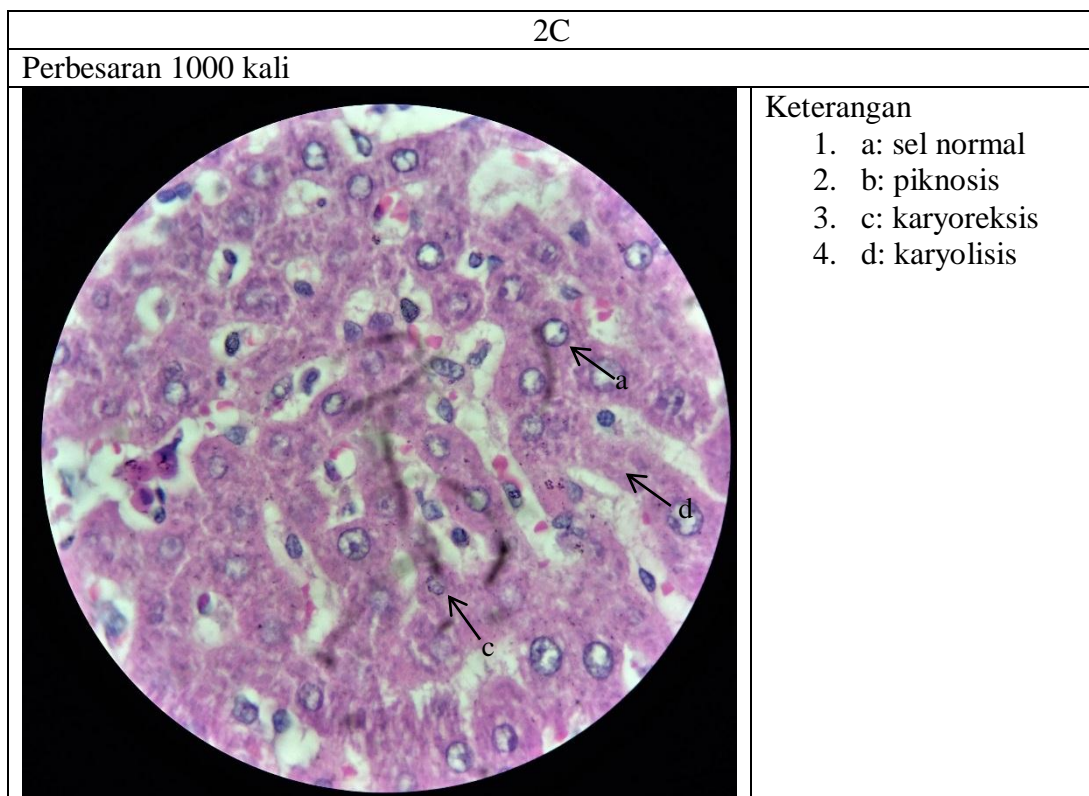
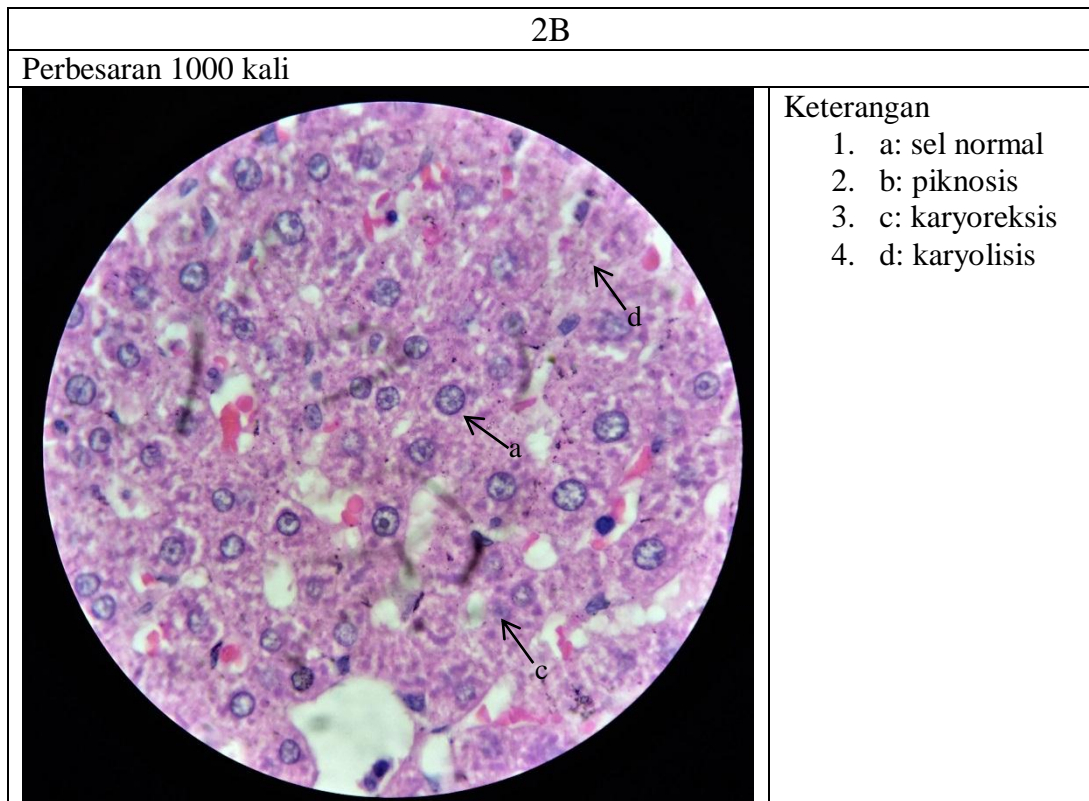
Total kerusakan

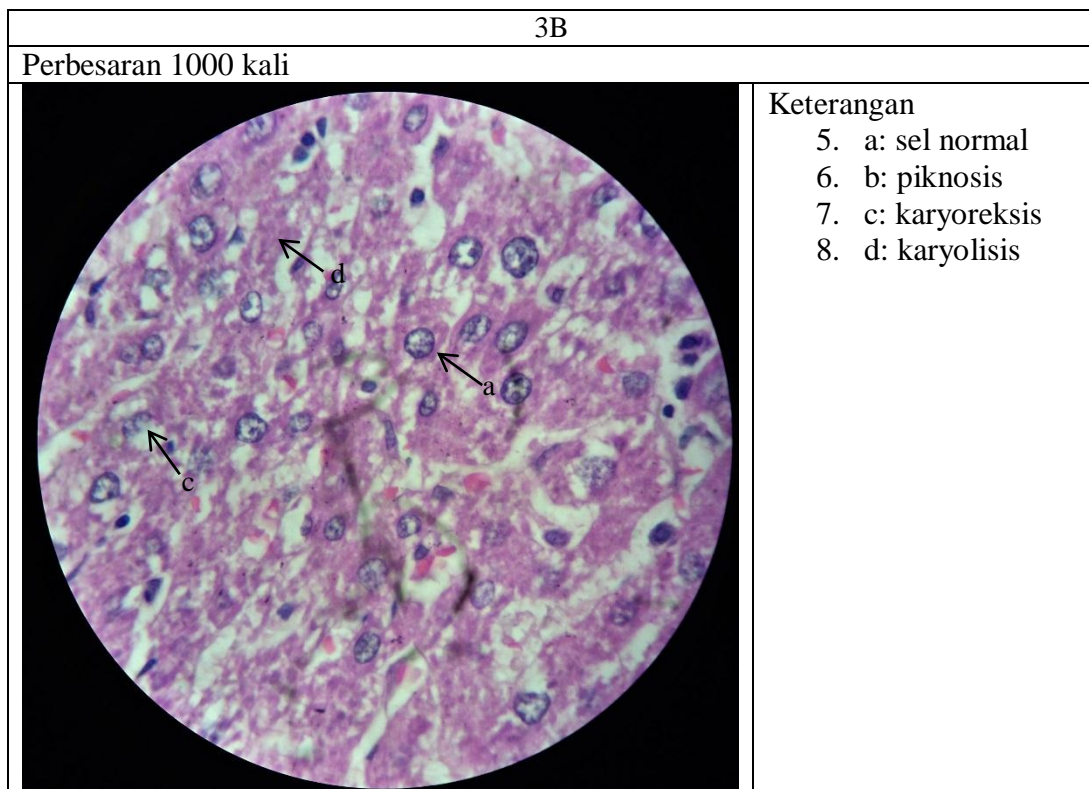
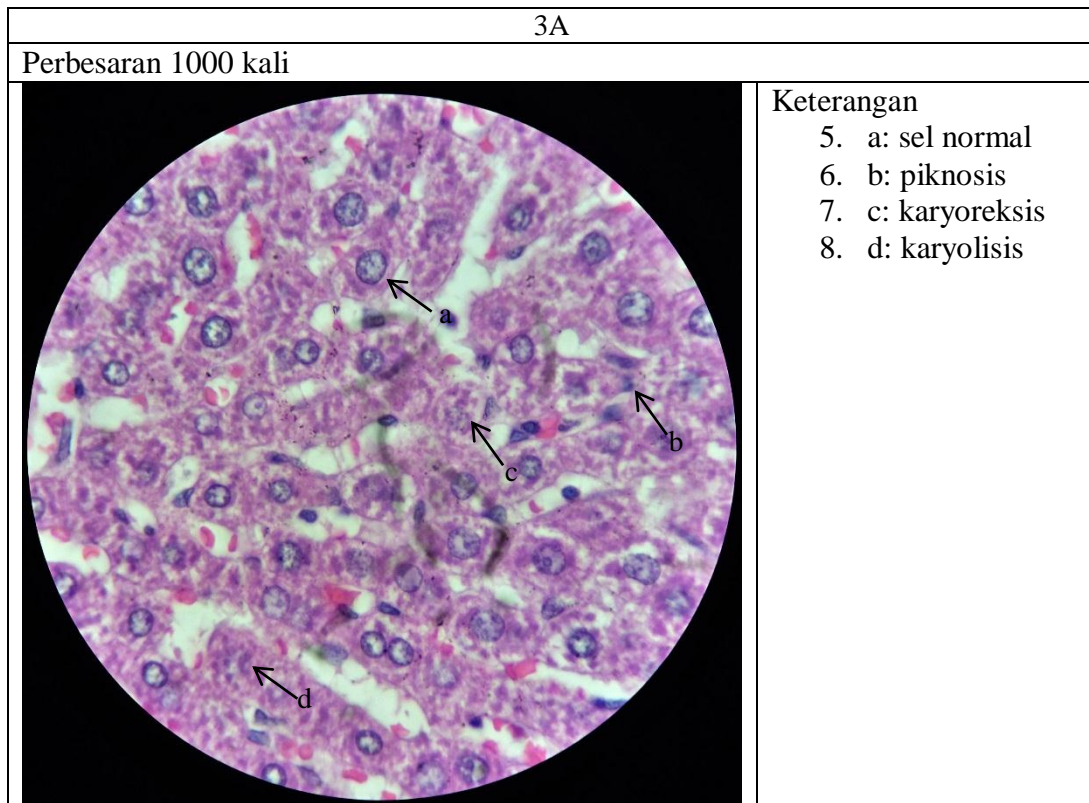
= (Piknotik x bobot skors) + (karioreksis x bobot skors) + (kariolisis x bobot skors)

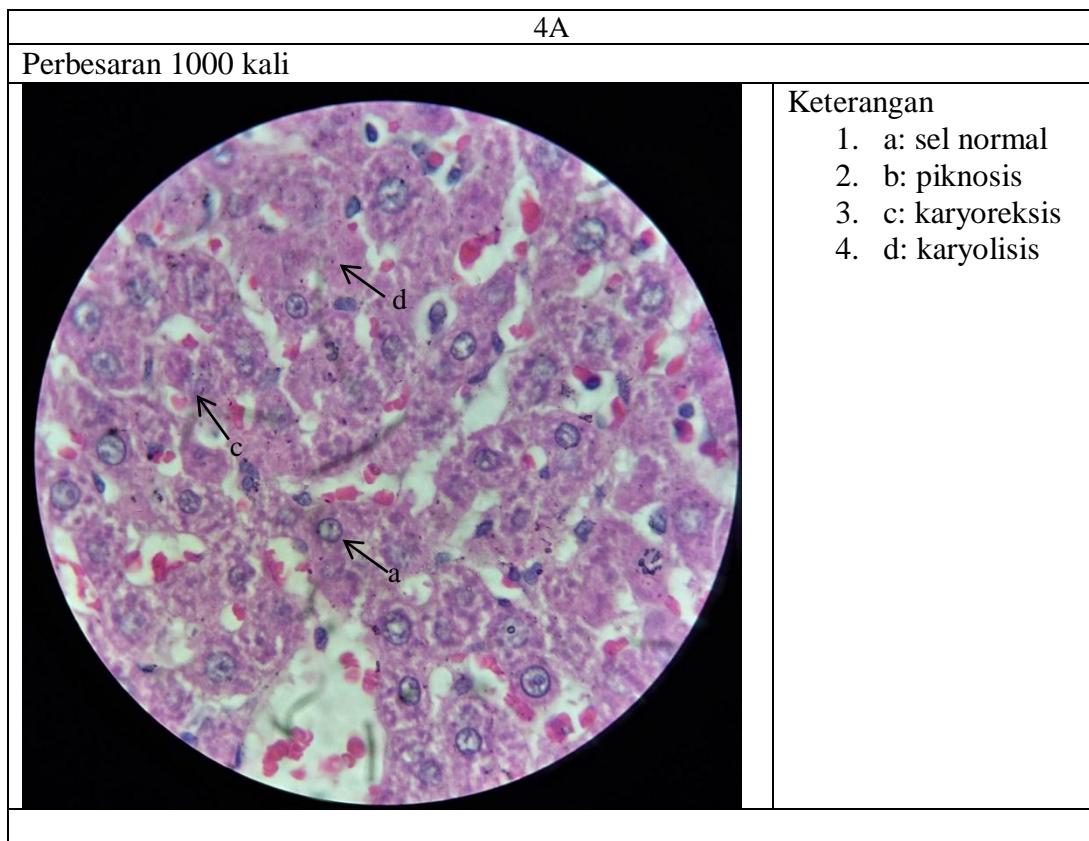
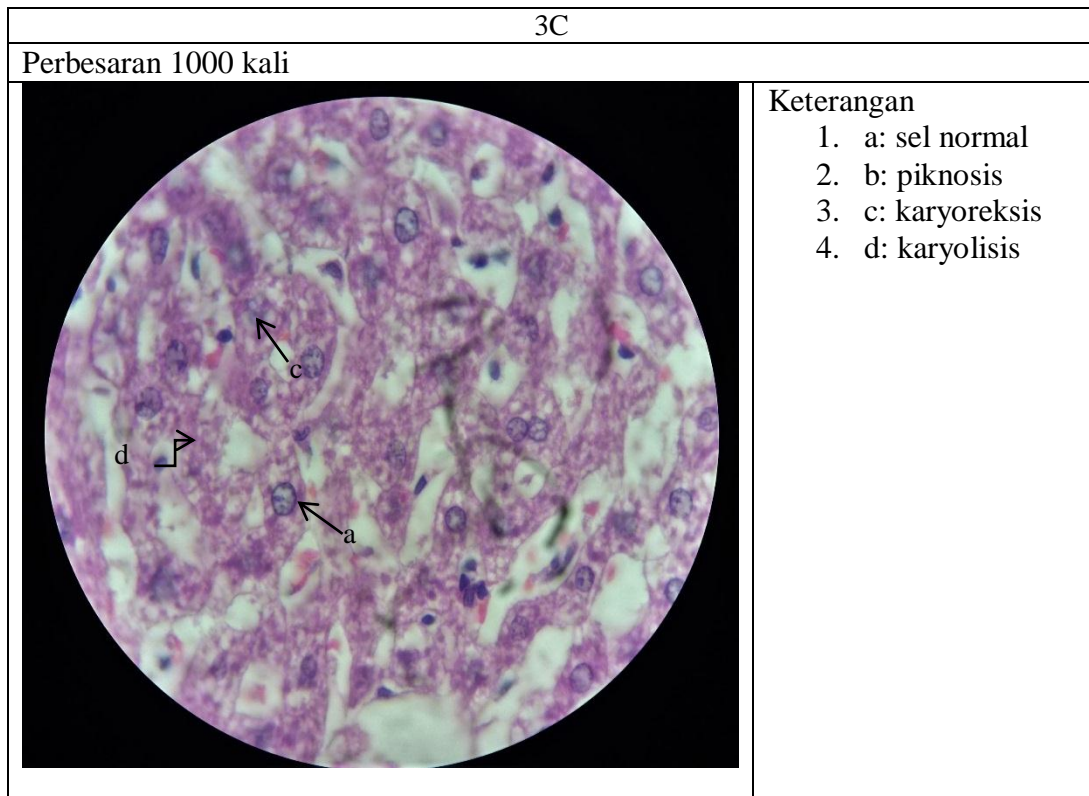
Lampiran 13. Gambar hasil histopatologi hati





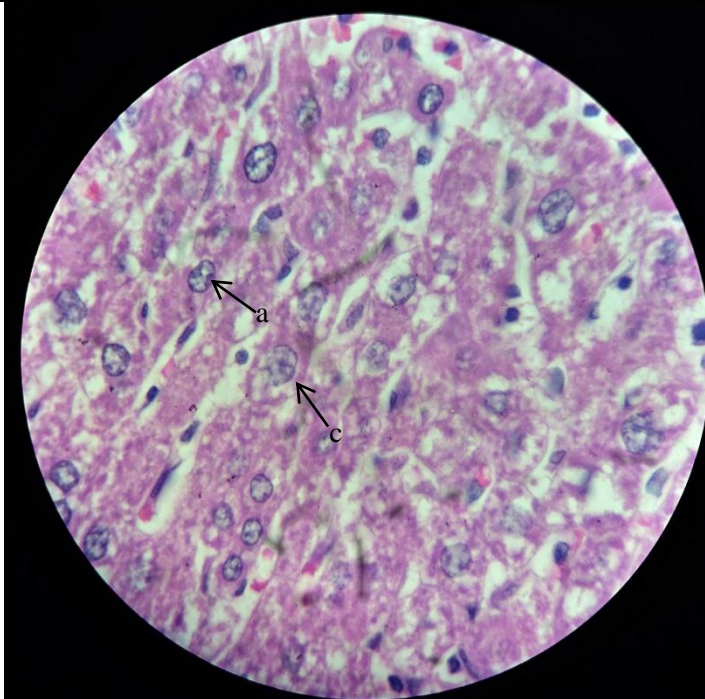






4B

Perbesaran 1000 kali

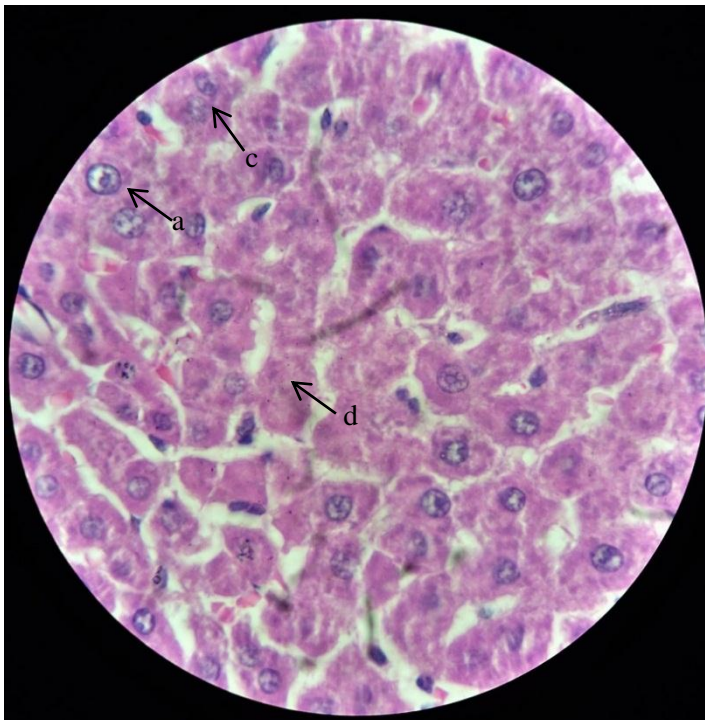


Keterangan

1. a: sel normal
2. b: piknosis
3. c: karyoreksis
4. d: karyolisis

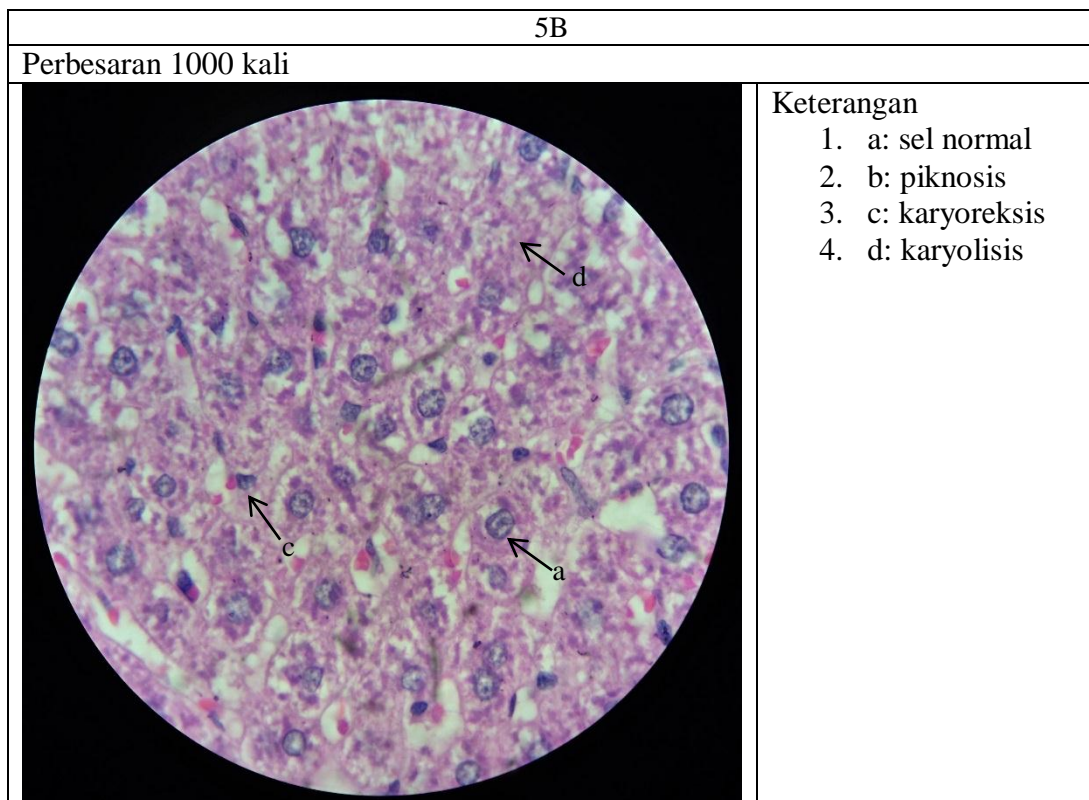
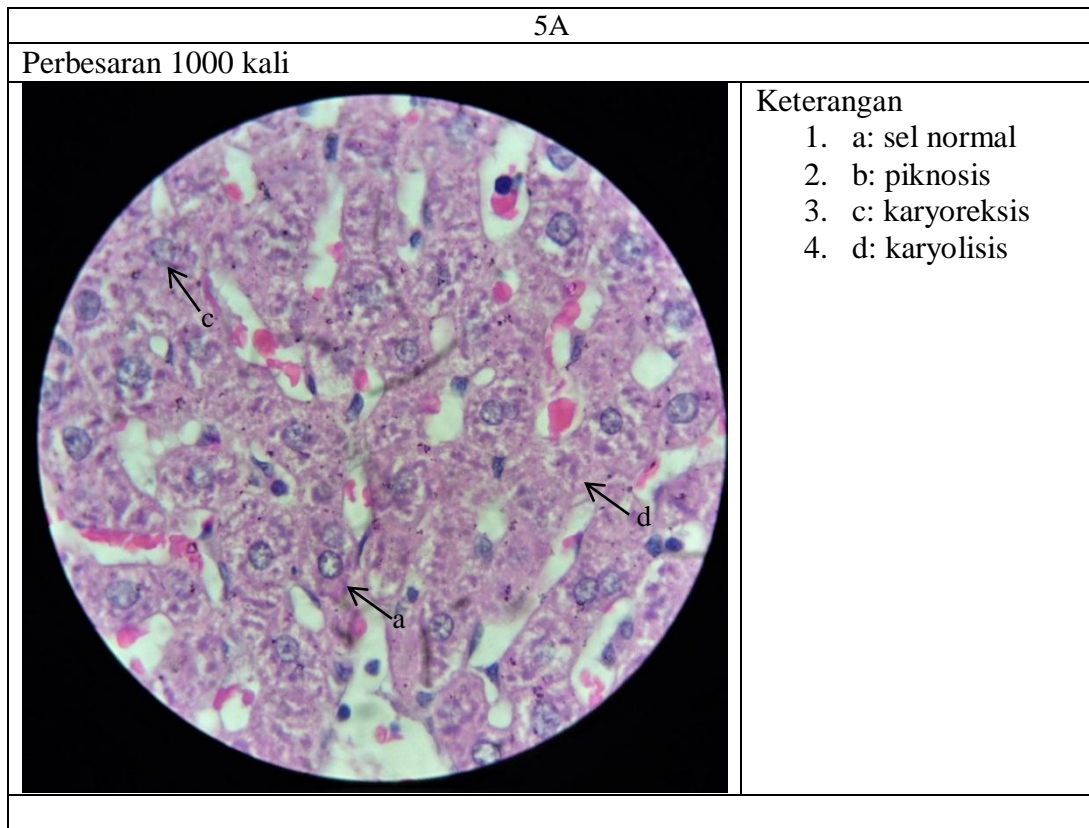
4C

Perbesaran 1000 kali



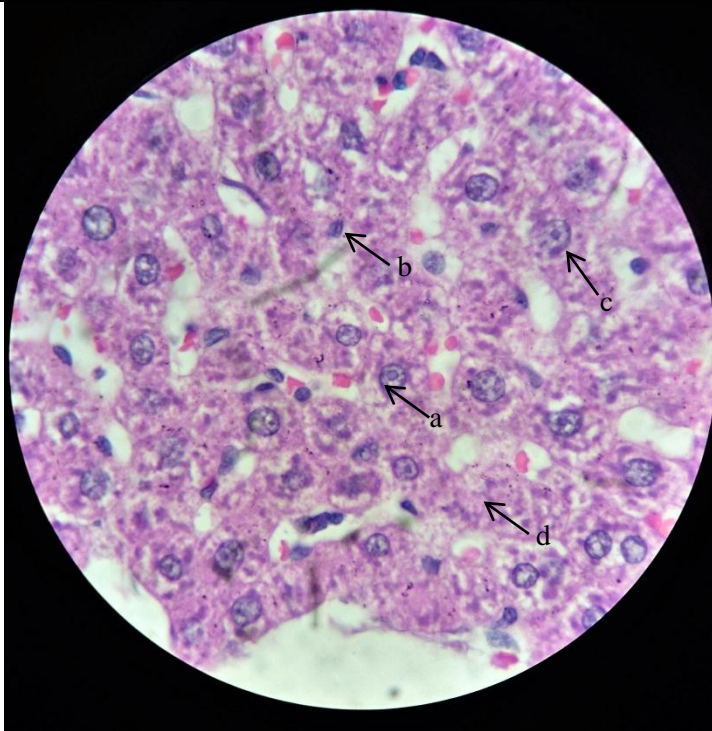
Keterangan

1. a: sel normal
2. b: piknosis
3. c: karyoreksis
4. d: karyolisis



5C

Perbesaran 1000 kali

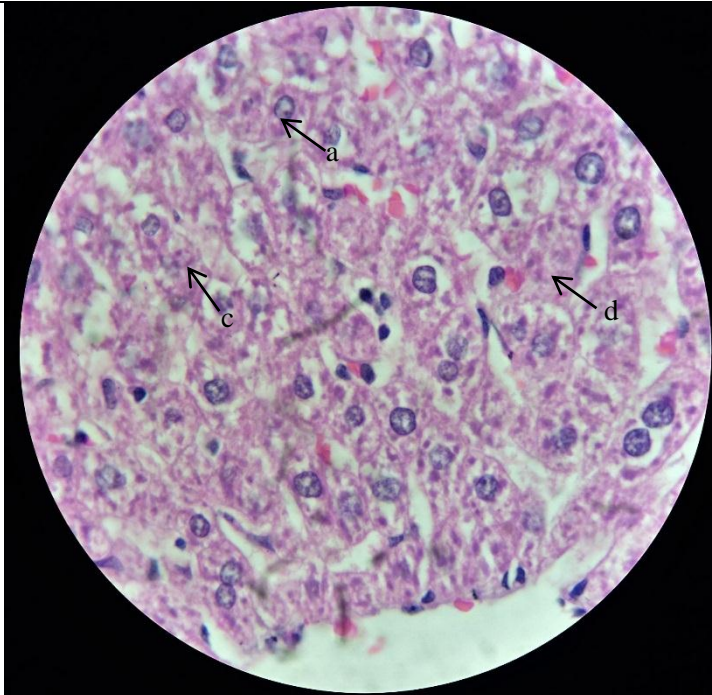


Keterangan

1. a: sel normal
2. b: piknosis
3. c: karyoreksis
4. d: karyolisis

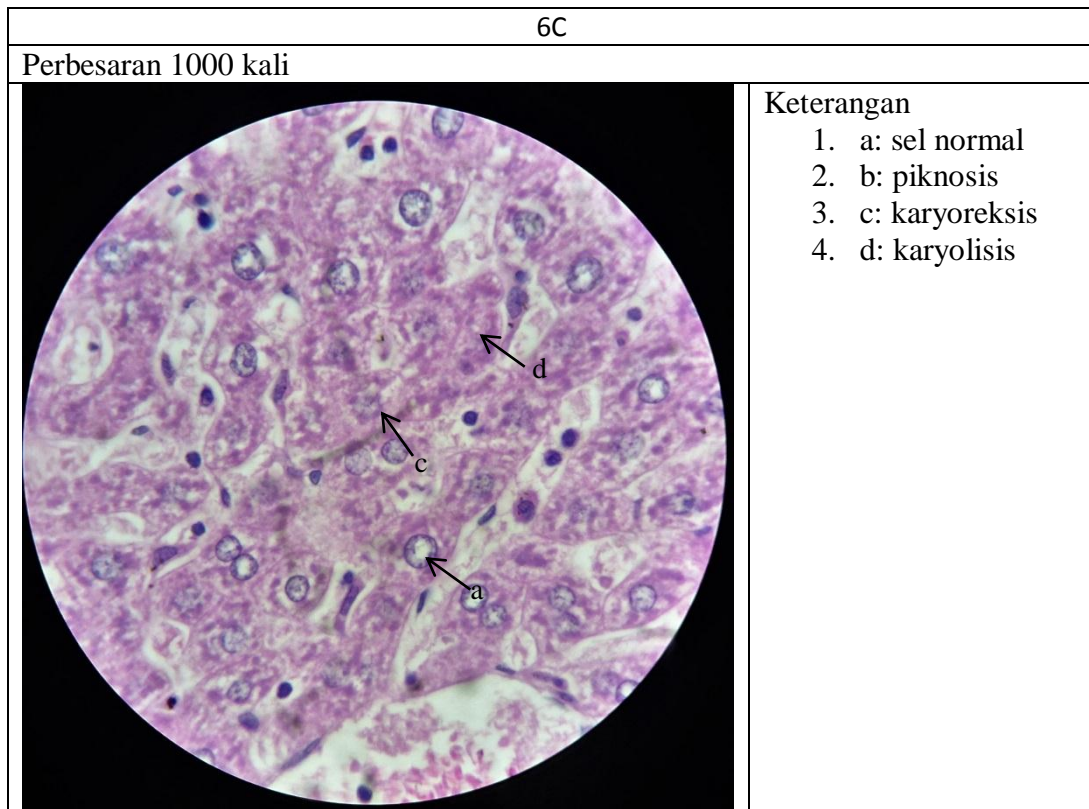
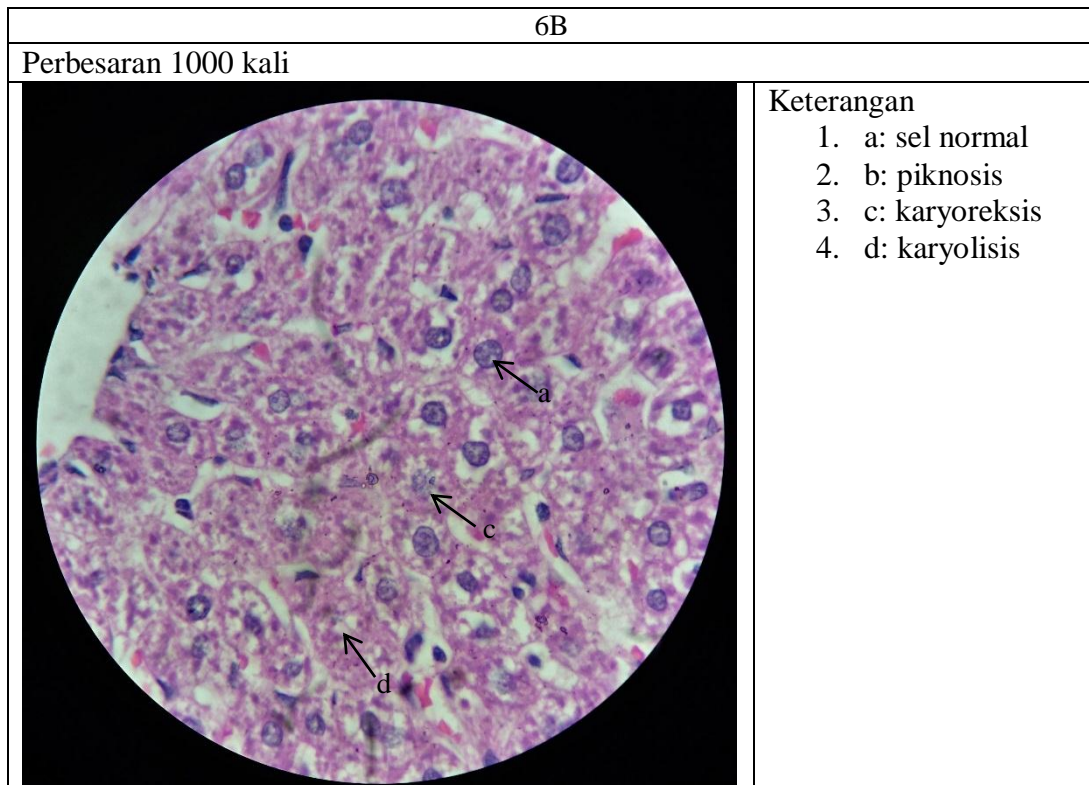
6A

Perbesaran 1000 kali



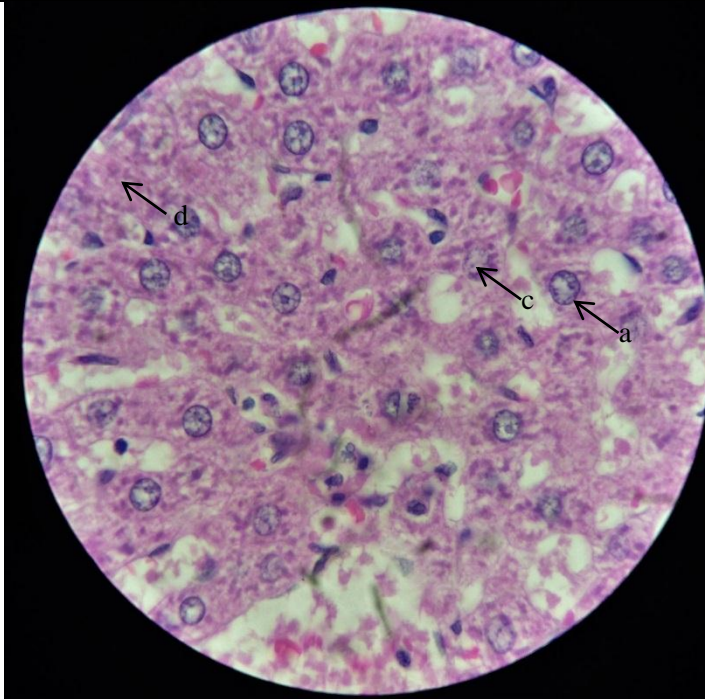
Keterangan

1. a: sel normal
2. b: piknosis
3. c: karyoreksis
4. d: karyolisis



7A

Perbesaran 1000 kali

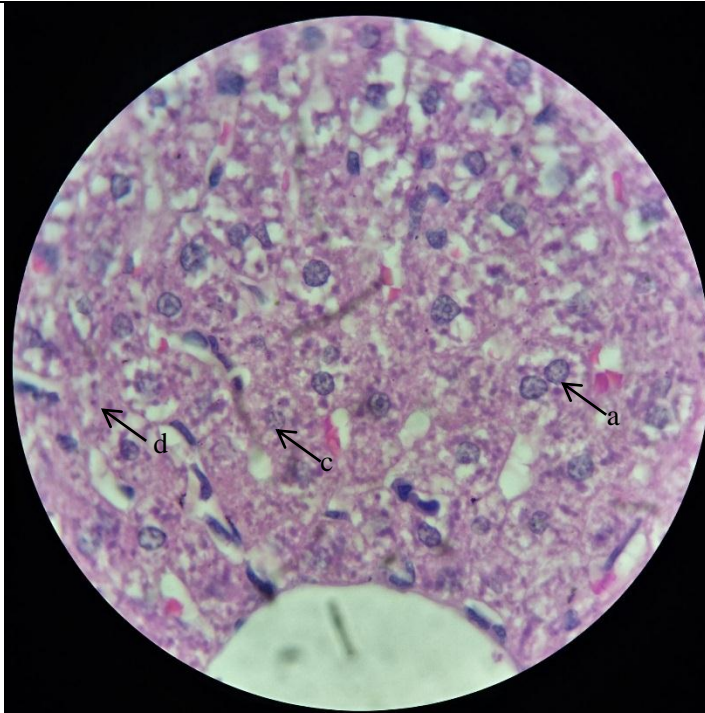


Keterangan

1. a: sel normal
2. b: piknosis
3. c: karyoreksis
4. d: karyolisis

7B

Perbesaran 1000 kali



Keterangan

1. a: sel normal
2. b: piknosis
3. c: karyoreksis
4. d: karyolisis

Lampiran 14. Hasil uji statistik *One Way Anova* kadar enzim GPx hati tikus

Tests of Normality

kelompok	Kolmogorov-Smirnov ^a			Shapiro-Wilk		
	Statistic	df	Sig.	Statistic	df	Sig.
Kadar normal	.175	5	.200	.974	5	.897
DM	.142	5	.200	.978	5	.926
Gliben	.141	5	.200	.979	5	.931
k.stevia	.179	5	.200	.962	5	.823
k.lidah buaya	.142	5	.200	.978	5	.926
Kombinasi stevia 25%:LB 75%	.203	5	.200	.923	5	.547
Kombinasi stevia 50%:LB 50%	.137	5	.200	.986	5	.966

a. Lilliefors Significance Correction

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

Test of Homogeneity of Variances

Kadar

Levene Statistic	df1	df2	Sig.
.882	6	28	.521

ANOVA

kadar

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	10103.131	6	1683.855	537.658	.000
Within Groups	87.691	28	3.132		
Total	10190.823	34			

Dari data uji ANAVA hasil signifikansi = 0,000 < 0,05 (H₀ ditolak)

Multiple Comparisons

kadar
LSD

(I) kelompok	(J) kelompok	Mean Difference (I-J)	Std. Error	Sig.	95% Confidence Interval	
					Lower Bound	Upper Bound
normal	DM	55.562	1.119	.000	53.27	57.85
	Gliben	16.206	1.119	.000	13.91	18.50
	k. stevia	37.348	1.119	.000	35.06	39.64
	k. lidah buaya	19.292	1.119	.000	17.00	21.58
	Kombinasi stevia 25%: LB 75%	30.560	1.119	.000	28.27	32.85
	Kombinasi stevia 50% : LB 50%	41.054	1.119	.000	38.76	43.35
DM	normal	-55.562	1.119	.000	-57.85	-53.27
	Gliben	-39.356	1.119	.000	-41.65	-37.06
	k. stevia	-18.214	1.119	.000	-20.51	-15.92
	k. lidah buaya	-36.270	1.119	.000	-38.56	-33.98
	Kombinasi stevia 25%: LB 75%	-25.002	1.119	.000	-27.29	-22.71
	Kombinasi stevia 50% : LB 50%	-14.508	1.119	.000	-16.80	-12.22
Gliben	normal	-16.206	1.119	.000	-18.50	-13.91
	DM	39.356	1.119	.000	37.06	41.65
	k. stevia	21.142	1.119	.000	18.85	23.43
	k. lidah buaya	3.086	1.119	.010	.79	5.38
	Kombinasi stevia 25%: LB 75%	14.354	1.119	.000	12.06	16.65
	Kombinasi stevia 50% : LB 50%	24.848	1.119	.000	22.56	27.14
K. stevia	normal	-37.348	1.119	.000	-39.64	-35.06
	DM	18.214	1.119	.000	15.92	20.51
	Gliben	-21.142	1.119	.000	-23.43	-18.85
	k. lidah buaya	-18.056	1.119	.000	-20.35	-15.76
	Kombinasi stevia 25%:LB 75%	-6.788	1.119	.000	-9.08	-4.50
	Kombinasi stevia 50%:LB 50%	3.706	1.119	.003	1.41	6.00
K. Lidah buaya	normal	-19.292	1.119	.000	-21.58	-17.00
	DM	36.270	1.119	.000	33.98	38.56
	Gliben	-3.086	1.119	.010	-5.38	-.79
	k. stevia	18.056	1.119	.000	15.76	20.35
	Kombinasi stevia 25%:LB 75%	11.268	1.119	.000	8.98	13.56
	Kombinasi stevia 50%:LB 50%	21.762	1.119	.000	19.47	24.05
Kombinasi stevia 25%:LB 75%	normal	-30.560	1.119	.000	-32.85	-28.27
	DM	25.002	1.119	.000	22.71	27.29
	Gliben	-14.354	1.119	.000	-16.65	-12.06
	k. stevia	6.788	1.119	.000	4.50	9.08
	k. lidah buaya	-11.268	1.119	.000	-13.56	-8.98
	Kombinasi stevia 50%:lb 50%	10.494	1.119	.000	8.20	12.79
perlakuan 4	normal	-41.054	1.119	.000	-43.35	-38.76
	DM	14.508	1.119	.000	12.22	16.80
	Gliben	-24.848	1.119	.000	-27.14	-22.56
	k.stevia	-3.706	1.119	.003	-6.00	-1.41
	k. lidah buaya	-21.762	1.119	.000	-24.05	-19.47
	Kombinasi stevia 25%:LB 75%	-10.494	1.119	.000	-12.79	-8.20

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

kelompok	N	Subset for alpha = 0.05						
		1	2	3	4	5	6	7
DM	5	23.31						
Kombinasi stevia 50%:LB 50%	5		37.81					
k. stevia	5			41.52				
Kombinasi stevia 25%:75%	5				48.31			
k.lidah buaya	5					59.58		
Gliben	5						62.66	
normal	5							78.87
Sig.		1.000	1.000	1.000	1.000	1.000	1.000	1.000

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 5.000.

Kelompok perlakuan positif, negatif, ekstrak stevia dan lidah buaya dan kelompok kombinasi mempunyai perbedaan yang nyata, karena tidak dalam satu subset.

**Lampiran 15. Hasil uji kerusakan hepar pada tikus menggunakan analisis
*Kruskal-Wallis***

Tests of Normality

kelompok	Kolmogorov-Smirnov ^a			Shapiro-Wilk		
	Statistic	df	Sig.	Statistic	df	Sig.
kerusa k.normal	.385	3	.	.750	3	.000
kan k.gliben	.356	3	.	.818	3	.157
k.DM	.175	3	.	1.000	3	1.000
kontrol stevia	.353	3	.	.824	3	.174
kontrol lidah buaya	.314	3	.	.893	3	.363
kombinasi stevia 25:LB 75	.253	3	.	.964	3	.637
kombinasi stevia 50:LB 50	.369	3	.	.789	3	.089

a. Lilliefors Significance Correction

Dari data tersebut kelompok hasil signifikansi pada kelompok normal $< 0,005$ sehingga data tidak terdistribusi normal maka dilakukan uji *Kruskal-Wallis*.

Descriptive Statistics

	N	Mean	Std. Deviation	Minimum	Maximum
kerusakan	21	50.48	19.753	23	84
kelompok	21	4.00	2.049	1	7

Ranks

kelompok	N	Mean Rank
kerusakan k.normal	3	2.33
k.gliben	3	4.67
k.DM	3	18.67
kontrol stevia	3	18.33
kontrol lidah buaya	3	13.17
kombinasi stevia 25:LB 75	3	9.00
kombinasi stevia 50:LB 50	3	10.83
Total	21	

Test Statistics^{a,b}

	kerusakan
Chi-Square	18.001
df	6
Asymp. Sig.	.006

a. Kruskal Wallis Test

b. Grouping Variable:

kelompok

Harga signifikansi $0,006 < 0,05$ maka H_0 ditolak, berarti ada perbedaan bermakna disetiap kelompok perlakuan. Sehingga perlu dilanjutakn uji *Mann-Whitney*.

Lampiran 16. Hasil uji Mann-Whitney skor kerusakan kelompok perlakuan ekstrak dengan kelompok DM

a. kelompok DM dengan kelompok tunggal stevia

	Kelompok	N	Mean Rank	Sum of Ranks
kerusakan	k.DM	3	3.67	11.00
	kontrol stevia	3	3.33	10.00
	Total	6		

	kerusakan
Mann-Whitney U	4.000
Wilcoxon W	10.000
Z	-.218
Asymp. Sig. (2-tailed)	.827
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	1.000 ^a

a. Not corrected for ties.

b. Grouping Variable: kelompok

Hasil nilai Asymp. Sig (2-tailed) sebesar $0,827 > 0,05$ maka terdapat perbedaan signifikan antara kelompok perlakuan DM dan ekstrak tunggal stevia.

b. kelompok DM dengan kelompok tunggal lidah buaya

	Kelompok	N	Mean Rank	Sum of Ranks
kerusakan	k.DM	3	5.00	15.00
	kontrol lidah buaya	3	2.00	6.00
	Total	6		

Test Statistics^b

	kerusakan
Mann-Whitney U	.000
Wilcoxon W	6.000
Z	-1.964
Asymp. Sig. (2-tailed)	.050
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	.100 ^a

a. Not corrected for ties.

b. Grouping Variable: kelompok

Hasil nilai Asymp. Sig (2-tailed) sebesar 0,050 = sama dengan nilai p 0,05

c. Kelompok DM dengan kelompok kombinasi 25%:75%

Ranks

Kelompok		N	Mean Rank	Sum of Ranks
kerusakan	k.DM	3	5.00	15.00
	kombinasi stevia 25:LB 75	3	2.00	6.00
Total		6		

Test Statistics^b

	kerusakan
Mann-Whitney U	.000
Wilcoxon W	6.000
Z	-1.964
Asymp. Sig. (2-tailed)	.050
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	.100 ^a

a. Not corrected for ties.

b. Grouping Variable: kelompok

Hasil asymp. Sig (2-tailed) 0,05 = nilai p sebesar 0,05

d. kelompok DM dengan kombinasi 50%;50%

Ranks

Kelompok		N	Mean Rank	Sum of Ranks
kerusakan	k.DM	3	5.00	15.00
	kombinasi stevia 50:LB 50	3	2.00	6.00
Total		6		

Test Statistics^b

	kerusakan
Mann-Whitney U	.000
Wilcoxon W	6.000
Z	-1.964
Asymp. Sig. (2-tailed)	.050
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	.100 ^a

a. Not corrected for ties.

b. Grouping Variable: kelompok

Hasil signifikasi sama dengan nilai p yakni 0,05

Lampiran 17. Hasil uji Mann-Whitney skor kerusakan kelompok perlakuan ekstrak dengan kelompok glibenklamid

a. Kelompok glibenklamid dengan ekstrak tunggal stevia

Ranks

	Kelompok	N	Mean Rank	Sum of Ranks
kerusakan	k.gliben	3	2.00	6.00
	kontrol stevia	3	5.00	15.00
	Total	6		

Test Statistics^b

	kerusakan
Mann-Whitney U	.000
Wilcoxon W	6.000
Z	-1.964
Asymp. Sig. (2-tailed)	.050
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	.100 ^a

a. Not corrected for ties.

b. Grouping Variable: kelompok

b. Kelompok glibenklamid dengan ekstrak tunggal lidah buaya

Ranks

	Kelompok	N	Mean Rank	Sum of Ranks
kerusakan	k.gliben	3	2.00	6.00
	kontrol lidah buaya	3	5.00	15.00
	Total	6		

Test Statistics^b

	kerusakan
Mann-Whitney U	.000
Wilcoxon W	6.000
Z	-1.964
Asymp. Sig. (2-tailed)	.050
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	.100 ^a

a. Not corrected for ties.

b. Grouping Variable: kelompok

c. Kelompok glibenklamid dengan kombinasi 25%:75%

Ranks

Kelompok		N	Mean Rank	Sum of Ranks
kerusakan	k.gliben	3	2.00	6.00
	kombinasi stevia 25:LB 75	3	5.00	15.00
Total		6		

Test Statistics^b

	wkerusakan
Mann-Whitney U	.000
Wilcoxon W	6.000
Z	-1.964
Asymp. Sig. (2-tailed)	.050
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	.100 ^a

a. Not corrected for ties.

b. Grouping Variable: kelompok

d. Kelompok glibenklamid dengan kombinasi 50%:50%

Kelompok	N	Mean Rank	Sum of Ranks
kerusakan k.gliben	3	2.00	6.00
kombinasi stevia 50:LB 50	3	5.00	15.00
Total	6		

	kerusakan
Mann-Whitney U	.000
Wilcoxon W	6.000
Z	-1.964
Asymp. Sig. (2-tailed)	.050
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	.100 ^a

a. Not corrected for ties.

b. Grouping Variable: kelompok

Semua kelompok memiliki nilai Asymp.Sig (2-tailed) sebesar 0,05 = nilai p 0,05 maka H_0 ditolak, berarti ada perbedaan bermakna antara kelompok perlakuan glibenklamid dengan pemberian ekstrak tunggal maupun kombinasi.