

**AKTIVITAS ANTIHIPERGLIKEMIK EKSTRAK ETANOL HERBA KITOLOD  
(*Isotoma longiflora* (L.) TERHADAP KADAR GULA DARAH DAN  
HISTOPATOLOGI PANKREAS TIKUS WISTAR  
YANG DIINDUKSI ALOKSAN**



**Oleh:**

**Rizki Maharani  
20144242A**

**FAKULTAS FARMASI  
UNIVERSITAS SETIA BUDI  
SURAKARTA  
2018**

**AKTIVITAS ANTIHIPERGLIKEMIK EKSTRAK ETANOL HERBA KITOLOD  
(*Isotoma longiflora* (L.) TERHADAP KADAR GULA DARAH DAN  
HISTOPATOLOGI PANKREAS TIKUS WISTAR  
YANG DIINDUKSI ALOKSAN**

**SKRIPSI**



**Oleh:**

**Rizki Maharani  
20144242A**

**FAKULTAS FARMASI  
UNIVERSITAS SETIA BUDI  
SURAKARTA  
2018**

**PENGESAHAN SKRIPSI**

berjudul

**AKTIVITAS ANTIHIPERGLIKEMIK EKSTRAK ETANOL HERBA KITOLOD  
(*Isotoma longiflora* (L.) TERHADAP KADAR GULA DARAH DAN  
HISTOPATOLOGI PANKREAS TIKUS WISTAR  
YANG DIINDUKSI ALOKSAN**

Oleh:

Nama : Rizki Maharani

NIM : 20144242A

Dipertahankan di hadapan Panitia Penguji Skripsi  
Fakultas Farmasi Universitas Setia Budi  
Pada tanggal : 29 juni 2018

Mengetahui,  
Fakultas Farmasi  
Universitas Setia Budi

Dekan,



Prof. Dr. R.A. Oetari, SU., MM., M.Sc., Apt

Pembimbing Utama

Dr. Wiwin Herdwiani, M.Sc., Apt  
Pembimbing Pendamping,

Dr. Titik Sunarni, S.Si., M.Si., Apt  
Penguji :

1. Dr. Gunawan Pamuji W. M.Si., Apt
2. Dwi Ningsih, M.Farm., Apt
3. Ghani Nurfiana Fadma Sari, S.Farm., M.Farm., Apt
4. Dr. Wiwin Herdwiani, M.Sc., Apt

1.....  
2.....  
3.....  
4.....

## PERSEMBAHAN

**Kupersembahkan karyaku ini kepada:  
Allah SWT dan para malaikat-Nya, baik yang terlihat maupun  
tidak terlihat yang tak sanggup aku sebutkan satu-satu yang  
slalu setia untuk membantu menyelesaikan karyaku tugas  
akhir.**

*Tugas akhir ini saya persembahkan untuk :  
Bapak Ibu tercinta, kakak-kakakku tersayang*

*Kamu boleh punya emas sepenuh bumi, tapi jika kamu tidak  
punya saudara maka emasmu tak lebih bermanfaat dari saudara.  
Jangan gunakan waktumu untuk menunda sesuatu.*

*Barang siapa mencari ilmu bertujuan untuk memanggakan  
diri dihadapan para ulama, atau mendebat orang- - Orang  
bodoh, atau mencari perhatian manusia, maka kelak dia  
berada di neraka*

*Hidup adalah suatu pilihan, hidup adalah suatu perjuangan yang  
tak pernah berhenti. Ketika sabar & ikhlas menjadi dasar dalam  
melangkah, maka berjuang akan terasa lebih mudah dan akan  
indah pada waktunya  
(RIZKI)*

## **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 ditulis 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, 01 Mei 2018



Rizki Maharani

## KATA PENGANTAR

Puji syukur kepada Allah SWT yang telah melimpahkan rahmat, hidayah, dan karunia-Nya sehingga penulis dapat menyelesaikan skripsi yang berjudul **“AKTIVITAS ANTIHIPERGLIKEMIK EKSTRAK ETANOL HERBA KITOLOD (*Isotoma longiflora* (L.) TERHADAP KADAR GULA DARAH DAN HISTOPATOLOGI PANKREAS TIKUS WISTAR YANG DIINDUKSI ALOKSAN ”**. Skripsi ini disusun sebagai syarat untuk memperoleh derajat sarjana di Fakultas Farmasi Universitas Setia Budi Surakarta.

Penulis menyadari bahwa dalam penyusunan dan penulisan skripsi ini tidak lepas dari bantuan, dukungan, dan bimbingan dari berbagai pihak sehingga penulis menyampaikan terimakasih kepada yang terhormat :

1. Dr. Ir. Djoni Tarigan, MBA selaku rektor Universitas Setia Budi.
2. Prof. Dr. R. A. Oetari, SU., MM., M.Sc., Apt, selaku dekan Fakultas Farmasi Universitas Setia Budi.
3. Dr. Wiwin Herdwiani, M.Sc., Apt, selaku pembimbing utama yang telah memberikan bimbingan, arahan, nasehat, dan ilmunya sehingga penulis dapat menyelesaikan skripsi ini.
4. Dr. Titik Sunarni, S.Si., M.Si., Apt, selaku pembimbing pendamping yang telah memberikan bimbingan, pengarahan, dan koreksi pada penulis.
5. Tim penguji yang telah meluangkan waktu serta memberikan kritik dan saran sehingga skripsi ini menjadi lebih baik.
6. Segenap Dosen, Karyawan, dan Staf Fakultas Farmasi Universitas Setia Budi yang telah banyak membantu demi kelancaran dan selesainya skripsi ini.
7. Segenap karyawan Laboratorium Universitas Setia Budi Surakarta dan Universitas Sebelas Maret Surakarta yang telah memberikan fasilitas dan bantuan selama penelitian.
8. Segenap karyawan perpustakaan Universitas Setia Budi yang telah menyediakan fasilitas dan referensi buku-buku untuk menunjang dan membantu kelancaran dan selesainya skripsi ini.

9. Bapak, ibu, adik dan semua keluarga terima kasih untuk do'a, dukungan dan semangat yang diberikan
10. Tim skripsiku, Febri, Ani, Putri, Icha, Zaenab, Hilda, Desi, Kinny dan seluruh teman yang tak bisa disebutkan satu per satu yang selalu mendukung saya dan bersedia saya repotkan hingga skripsi ini selesai.
11. Semua pihak yang tidak dapat penulis sebutkan satu persatu yang telah membantu dalam menyelesaikan skripsi ini.

Penulis menyadari bahwa tanpa bantuan dari pihak terkait maka skripsi ini tidak selesai dengan baik. Penulis juga menyadari bahwa skripsi ini masih jauh dari sempurna, oleh karena itu penulis sangat berharap kritik dan saran. Penulis berharap semoga skripsi ini dapat bermanfaat bagi seluruh masyarakat dan perkembangan ilmu pengetahuan khususnya di bidang farmasi.

Surakarta, 01 Mei 2018

Rizki Maharani

## DAFTAR ISI

	Halaman
HALAMAN JUDUL .....	i
PENGESAHAN SKRIPSI .....	ii
PERSEMBAHAN.....	iii
PERNYATAAN .....	iv
KATA PENGANTAR .....	v
DAFTAR ISI .....	vii
DAFTAR GAMBAR .....	xi
DAFTAR TABEL .....	xii
DAFTAR LAMPIRAN.....	xiii
INTISARI.....	xv
ABSTRACT .....	xvi
<b>BAB I PENDAHULUAN .....</b>	<b>1</b>
A. Latar Belakang Masalah .....	1
B. Perumusan Masalah .....	4
C. Tujuan Penelitian .....	4
D. Manfaat Penelitian .....	4
<b>BAB II TINJAUAN PUSTAKA.....</b>	<b>6</b>
A. Tanaman Kitolod ( <i>Isotoma longiflora</i> (L.).....	6
1. Sistematika tanaman kitolod.....	6
2. Nama lain.....	6
3. Deskripsi tanaman .....	6
4. Khasiat tanaman .....	7
5. Kandungan kimia .....	7
B. Simplisia .....	7
1. Pengertian simplisia .....	7
2. Pengumpulan simplisia.....	8
3. Pemilihan sampel .....	8
4. Pencucian dan pengeringan simplisia.....	8
C. Ekstraksi .....	10
1. Pengertian ekstraksi dan ekstrak.....	10
2. Metode ekstraksi .....	10
2.1 Metode maserasi. ....	10



2.2	Metode perkolasi.....	11
2.3	Metode infundasi.....	11
2.4	Metode soxhletasi.....	11
3.	Pelarut etanol .....	12
D.	Diabetes Melitus .....	12
1.	Definisi Diabetes Melitus .....	12
2.	Gejala.....	13
3.	Patofisiologi Diabetes Melitus .....	13
4.	Klasifikasi Diabetes Militus.....	14
4.1	Diabetes Melitus Tipe 1.....	14
4.2	Diabetes Melitus Tipe 2.....	14
4.3	Diabetes Gestasional melitus. ....	15
5.	Manifestasi klinik diabetes melitus .....	15
6.	Diagnosis diabetes melitus .....	15
7.	Komplikasi diabetes melitus .....	16
7.1	Komplikasi akut. ....	16
7.2	Komplikasi kronis. ....	16
8.	Terapi diabetes melitus.....	17
8.1.	Insulin. ....	17
8.2.	Antidiabetik oral (OAD).....	17
8.3.	Diet. ....	17
8.4.	Latihan jasmani. ....	18
9.	Obat hiperglikemik.....	18
9.1	Golongan sulfonilurea. ....	18
9.2	Golongan meglitidin.....	18
9.3	Golongan biguanida. ....	18
9.4	Golongan inhibitor glukosidase. ....	19
9.5	Golongan thiazolidindion. ....	19
10.	Metode uji antidiabetes.....	19
10.1	Metode uji toleransi glukosa.....	19
10.2	Metode uji diabetes aloksan.....	20
10.3	Metode resisten insulin.....	20
E.	Metode Analisa Kadar Glukosa Darah.....	20
1.	Metode analisa kadar glukosa darah dengan glukometer.....	20
2.	Metode GLUC-DH ( <i>Glucose Dehydrogenase</i> ) .....	21
3.	Metode GOD-PAP .....	21
4.	Metode o-toluidine .....	21
F.	Aloksan.....	22
G.	Glibenklamid .....	23
1.	Indikasi dan kontraindikasi.....	23
2.	Dosis dan aturan pakai.....	24
3.	Farmakokinetika.....	24
4.	Mekanisme kerja .....	24
5.	Efek samping .....	24
H.	Hewan Percobaan.....	25
1.	Sistematika tikus .....	25
2.	Karakteristik utama tikus.....	25

3.	Jenis kelamin tikus .....	26
I.	Histopatologi Organ Pankreas .....	26
1.	Pengertian histopatologi .....	26
2.	Struktur dan anatomi pankreas.....	26
3.	Histopatologi pankreas .....	27
4.1	Jumlah pulau Langerhans. ....	27
4.2.	Nekrosis. ....	27
4.	Metode pembuatan preparat histopatologi.....	27
J.	Landasan Teori.....	28
K.	Hipotesis .....	30
 BAB III METODE PENELITIAN .....		31
A.	Populasi dan Sampel .....	31
1.	Populasi .....	31
2.	Sampel .....	31
B.	Variabel Penelitian.....	31
1.	Identifikasi variabel utama .....	31
2.	Klasifikasi variabel utama .....	31
3.	Definisi operasional variabel utama .....	32
C.	Alat, Bahan dan Hewan Uji.....	32
1.	Alat .....	32
2.	Bahan.....	33
2.1	Bahan sampel. ....	33
2.2	Bahan kimia. ....	33
3.	Hewan uji.....	33
D.	Jalannya Penelitian.....	33
1.	Determinasi tanaman kitolod .....	33
2.	Pengumpulan dan pembuatan serbuk kitolod .....	33
3.	Pembuatan ekstrak etanol kitolod .....	34
4.	Penetapan kadar air herba kitolod .....	34
5.	Penetapan susut pengeringan kitolod .....	35
6.	Penetapan berat jenis larutan ekstrak 1% .....	35
7.	Identifikasi kandungan kimia.....	35
7.1	Saponin. ....	35
7.2	Flavonoid. ....	36
7.3	Alkaloid. ....	36
7.4	Tanin.....	36
8.	Pembuatan sediaan uji .....	36
8.1	Sediaan suspensi CMC Na 0,5%.....	36
8.2	Sediaan glibenklamid. ....	36
8.4	Aloksan monohidrat. ....	37
9.	Penentuan dosis.....	37
9.1	Dosis glibenklamid.....	37
9.2	Dosis sediaan uji. ....	37
9.3	Dosis aloksan monohidrat .....	37
10.	Perlakuan hewan uji .....	37
11.	Histopatologi organ pankreas .....	39

11.1	Pembuatan preparat histopatologi.....	39
11.2	Pemeriksaan histopatologi.....	41
E.	Analisis Statistik .....	41
F.	Skema Penelitian.....	42
G.	Alur Pemeriksaan Histopatologi.....	43
<b>BAB IV</b>	<b>HASIL PENELITIAN DAN PEMBAHASAN.....</b>	<b>44</b>
1.	Hasil determinasi tanaman.....	44
2.	Pengumpulan dan pembuatan serbuk kitolod .....	44
3.	Pembuatan Ekstrak Etanol Herba Kitolod.....	45
4.	Hasil Penetapan Kadar Air Serbuk Herba Kitolod .....	45
5.	Hasil Penetapan Susut Pengeringan Serbuk Herba Kitolod ...	46
6.	Hasil Penetapan Berat Jenis Ekstrak Etanol Herba Kitolod ...	47
7.	Identifikasi Kandungan Kimia Ekstrak Etanol Herba Kitolod.	47
8.	Hasil Pengukuran berat badan tikus .....	48
9.	Hasil Pengukuran Kadar Gula Darah Tikus .....	50
10.	Hasil Pemeriksaan Histopatologi Pankreans .....	57
<b>BAB V</b>	<b>KESIMPULAN DAN SARAN .....</b>	<b>62</b>
A.	Kesimpulan.....	62
B.	Saran.....	62
	<b>DAFTAR PUSTAKA .....</b>	<b>63</b>
	<b>LAMPIRAN .....</b>	<b>71</b>

## DAFTAR GAMBAR

	<b>Halaman</b>
Gambar 1. Struktur aloksan.....	22
Gambar 2. Struktur glibenklamid .....	23
Gambar 3. Skema pengujian antidiabetes dengan tikus yang diinduksi aloksan. ....	42
Gambar 4. Alur Pemeriksaan Histopatologi.....	43
Gambar 5. Pengaruh pemberian ekstrak etanol herba kitolod terhadap kadar gula darah tikus yang diinduksi aloksan selama 14 hari.....	52
Gambar 6. Persentase penurunan kadar gula darah tikus T <sub>1</sub> ke T <sub>2</sub> dan T <sub>1</sub> ke T <sub>3</sub> .....	55

## DAFTAR TABEL

	<b>Halaman</b>
Tabel 1. Perlakuan hewan uji tikus dalam uji aktifitas antidiabetes .....	39
Tabel 2. Volume pereaksi larutan standar, blangko dan sampel pada pengukuran spektrofotometer .....	39
Tabel 3. Presentasi rendemen bobot kering terhadap bobot basah herba kitolod .....	44
Tabel 4. Hasil rendemen ekstrak etanol 70% herba kitolod .....	45
Tabel 5. Hasil penetapan kadar air herba kitolod.....	46
Tabel 6. Hasil penetapan kelembaban serbuk tanaman .....	46
Tabel 7. Hasil penetapan berat jenis ekstrak herba kitolod .....	47
Tabel 8. Hasil identikasi kandungan kimia ekstrak herba kitolod .....	47
Tabel 9. Rata-rata berat badan tikus .....	48
Tabel 10. Data kuantitatif rata-rata hasil pengukuran kadar gula tikus pada berbagai kelompok perlakuan selama 14 hari .....	51
Tabel 11. Persentase penurunan kadar gula darah tikus T <sub>1</sub> ke T <sub>2</sub> dan T <sub>1</sub> ke T <sub>3</sub> .....	55
Tabel 12. Rata-rata skoring kerusakan pankreas.....	61

## DAFTAR LAMPIRAN

	<b>Halaman</b>
Lampiran 1. Surat Determinasi tanaman herba kitolod .....	72
Lampiran 2. Surat <i>Ethical Clearence</i> .....	73
Lampiran 3. Surat praktek penelitian histopatologi pankreas .....	74
Lampiran 4. Surat Keterangan Hewan uji.....	75
Lampiran 5. Foto herba kitolod .....	76
Lampiran 6. Foto hewan percobaan dan pembedahan tikus .....	77
Lampiran 7. Alat dan Bahan yang digunakan .....	78
Lampiran 8. Hasil identifikasi senyawa kimia ekstrak herba kitolod.....	80
Lampiran 9. Hasil perhitungan presentase rendemen bobot kering terhadap bobot basah herba kitolod.....	82
Lampiran 10. Hasil penetapan kadar air serbuk herba kitolod.....	83
Lampiran 11. Hasil rendemen ekstrak etanol herba kitolod.....	84
Lampiran 12. Hasil penetapan berat jenis ekstrak herba kitolod.....	84
Lampiran 13. Perhitungan Dosis .....	85
Lampiran 14. Hasil perhitungan berat badan tikus .....	89
Lampiran 15. Perhitungan dosis glibenklamid.....	90
Lampiran 16. Perhitungan volume penyuntikkan dosis ekstrak herba kitolod 50 mg/Kg BB tikus, 100 mg/Kg BB tikus, 200 mg/Kg BB tikus .....	91
Lampiran 17. Hasil pengukuran kadar gula darah tikus pada T <sub>0</sub> .....	92
Lampiran 18. Hasil pengukuran kadar gula darah tikus pada T <sub>1</sub> .....	93
Lampiran 19. Hasil pengukuran kadar gula darah tikus pada T <sub>2</sub> .....	94
Lampiran 20. Hasil pengukuran kadar gula darah tikus pada T <sub>3</sub> .....	95
Lampiran 21. Data kuantitatif rata-rata hasil pengukuran kadar gula tikus pada berbagai kelompok perlakuan selama 14 hari .....	96

Lampiran 22. Penurunan kadar gula darah tikus dan presentase penurunan kadar gula darah tikus .....	96
Lampiran 23. Hasil perhitungan jumlah sel normal dan sel yang mengalami karioreksis, piknosis, kariolisis serta total kerusakan .....	97
Lampiran 24. Hasil histopatologi pankreas pada tikus .....	98
Lampiran 25. Hasil uji statistik berat badan pada T <sub>0</sub> ,T <sub>1</sub> ,T <sub>2</sub> dan T <sub>3</sub> .....	99
Lampiran 26. Hasil uji statistik kadar gula tikus pada T <sub>0</sub> .....	102
Lampiran 27. Hasil uji statistik kadar gula darah tikus pada T <sub>1</sub> .....	103
Lampiran 28. Hasil uji statistik kadar gula darah tikus pada T <sub>2</sub> .....	104
Lampiran 29. Hasil uji statistik kadar gula darah tikus pada T <sub>3</sub> .....	105
Lampiran 30. Hasil uji statistik paired t-test berat badan tikus .....	106
Lampiran 31. Hasil uji statistik paired t-test kadar gula darah tikus .....	110
Lampiran 32. Hasil uji statistik presentase penurunan kadar gula darah tikus T <sub>1</sub> terhadap T <sub>2</sub> .....	115
Lampiran 33. Hasil uji statistik presentase penurunan kadar gula darah tikus T <sub>1</sub> terhadap T <sub>3</sub> .....	116
Lampiran 34. Hasil uji statistik histopatologi pankreas tikus .....	117

## INTISARI

**MAHARANI, R., 2018, AKTIVITAS ANTIHIPERGLIKEMIK EKSTRAK ETANOL HERBA KITOLOD (*Isotoma longiflora* (L.) TERHADAP KADAR GULA DARAH DAN HISTOPATOLOGI PANKREAS TIKUS WISTAR YANG DIINDUKSI ALOKSAN, SKRIPSI, FAKULTAS FARMASI, UNIVERSITAS SETIA BUDI, SURAKARTA.**

Diabetes melitus merupakan penyakit metabolik yang ditandai dengan kadar gula darah yang tinggi (hiperglikemia) yang diakibatkan oleh gangguan sekresi insulin, dan resistensi insulin atau keduanya. Tujuan dari penelitian ini adalah untuk mengetahui aktivitas antidiabetes ekstrak etanol herba kitolod, mengetahui dosis efektif ekstrak etanol herba kitolod, dan meningkatkan ukuran dan densitas islet serta menurunkan persentase nekrosis sel endokrin pulau Langerhans pada organ pankreas.

Penelitian ini menggunakan 6 kelompok tikus putih galur Wistar jantan. Kelompok I sebagai kontrol normal; Kelompok II sebagai kontrol diabetik (aloksan); kelompok III, IV, V sebagai kelompok uji ekstrak etanol herba kitolod dengan dosis 50 mg/kg BB, 100 mg/kg BB dan 200 mg/kg BB; kelompok VI sebagai pembanding (glibenklamid). Sediaan uji diberikan secara oral selama 14 hari, kemudian diamati pengukuran kadar glukosa darah pada tikus dengan menggunakan metode glukosa oksidase (GOD-PAP) dan histopatologi organ pankreas dengan pewarnaan Hematoxylin-Eosin.

Hasil penelitian menunjukkan bahwa ekstrak etanol herba kitolod dapat menurunkan kadar gula darah tikus. Dosis ekstrak etanol herba kitolod yang paling efektif adalah 200mg/kg BB tikus dan histopatologi pankreas yang diamati berdasarkan data kerusakan dinyatakan dalam piknosis, karioreksis, kariolisis pada dosis 200 mg/kg BB menunjukkan tidak adanya perbedaan yang signifikan dengan kelompok kontrol pembanding yang berarti ekstrak etanol herba kitolod mempunyai efek yang sama dengan kelompok pembanding.

---

---

Kata kunci : Kitolod , diabetes melitus, glukosa oksidase, pankreas, tikus.



## ABSTRACT

**MAHARANI, R., 2018, ANTIHIPERGLIKEMIC ACTIVITIES ETHANOL EXTRACT OF HERBA KITOLOD (*Isotoma longiflora* (L.) AGAINST BLOOD GLUCOSE LEVEL AND PANKREAS HISTOPATOLOGY IN ALLOXAN INDUCIBLE DABETIC RATE, THESIS, FACULTY OF PHARMACY, SETIA BUDI UNIVERSITY, SURAKARTA.**

Diabetes mellitus is a metabolic disease characterized by high blood sugar levels (hyperglycemia) caused by impaired insulin secretion, and insulin resistance or both. The purpose of this study was to determine the antidiabetic activity ethanol extract of herba kitolod, to know the effective dose of kitolod herbal ethanol extract, and increasing the size and density of the islet and decreasing the percentage of endemic necrosis of Langerhans islet cells in pancreatic organs.

The research used 6 groups of Wistar male rats, The first group as a normal control; the second group as a control group of diabetic (alloxan); the third as a comparison group (glibenclamide); the fourth, fifth and sixth group as test groups extract ethanool herba kitolod at a dose of 50 mg/kg BW, 100 mg/kg BW and 200 mg/kg BW. Test preparations were administered orally for 14 days, then measured blood glucose levels in rate using the glucose oxidase (GOD-PAP) method and pancreatic organ histopathology with Hematoxylin-Eosin staining.

The results showed that herbal ethanol extract kitolod can lower blood sugar levels of mice. The most effective dose of kitolod herbal ethanol extract is 200mg / kg BW of rat and pancreatic histopathology observed based on damage data expressed in pycnosis, karioreksis, kariolisis at dose 200 mg / kg BW showed no significant difference with control group a comparator which means that the hollow ethanol extract of kitolod has the same effect as the comparison group.

---

---

*Keywords:* Kitolod, diabetes mellitus, glucose oxidase, pancreatic, rate.

# **BAB I**

## **PENDAHULUAN**

### **A. Latar Belakang Masalah**

Penderita diabetes melitus pada tahun 2014 mencapai 9% dari populasi dunia yang berusia 18 tahun ke atas (WHO 2015). Indonesia (2014), prevalensi diabetes pada usia dewasa (20-79 tahun) adalah 5,8% dengan total penderita diabetes sebanyak 9 juta jiwa dan 4,8 juta kasus diabetes yang tidak terdiagnosa (IDF 2015). Penderita diabetes melitus memerlukan pengobatan sepanjang hidup untuk mengurangi gejala, mencegah progresivitas penyakit, dan mencegah agar tidak berkembang ke arah komplikasinya. Obat antidiabetes yang dikonsumsi dapat menimbulkan efek samping dalam penggunaan jangka panjang, oleh karena itu diperlukan alternatif terapi dengan menggunakan tanaman obat tradisional.

Penyakit Diabetes Melitus (DM) merupakan penyakit tidak menular yang mengalami peningkatan terus menerus dari tahun ke tahun. Diabetes adalah penyakit metabolik yang ditandai dengan kadar gula darah yang tinggi (hiperglikemia) yang diakibatkan oleh gangguan sekresi insulin, dan resistensi insulin atau keduanya. Hiperglikemia yang berlangsung lama (kronik) pada Diabetes Melitus akan menyebabkan kerusakan gangguan fungsi, kegagalan berbagai organ, terutama mata, organ, ginjal, saraf, jantung dan pembuluh darah lainnya (Suastika *et al.* 2011).

Penderita DM terjadi perubahan histopatologi pada organ pankreas. Perubahan ini dapat berupa kerusakan dan sering ditemukan sebagai salah satu gambaran patologis yang khas pada pasien dan hewan model DM. Perubahan pulau Langerhans yang terutama terjadi pada populasi sel  $\beta$  ini, mengakibatkan kadar insulin dalam tubuh rendah, dan berdampak pada peningkatan kadar glukosa darah (terjadi keadaan hiperglikemia) (Suarsana *et al.* 2010). Kondisi hiperglikemia dapat menghasilkan pembentukan spesies oksigen relatif (ROS=*reactive oxygen species*). ROS yang berlebihan dapat menyebabkan stress oksidatif dan dapat memperparah kerusakan sel  $\beta$  pankreas.

Kerusakan pulau Langerhans yang terjadi dapat terlihat pada perubahan morfologi pulau Langerhans, baik secara kuantitatif seperti pengurangan jumlah pulau Langerhans, maupun secara kualitatif seperti nekrosis dan degenerasi sel endokrin pulau Langerhans. Menurut Andayani (2003), hewan percobaan DM akan mengalami penurunan jumlah pulau Langerhans, dibandingkan dengan hewan percobaan normal. Jaringan pankreas normal yang diamati pada hewan percobaan, maka per lapang pandang pankreas ditemukan lebih dari dua pulau Langerhans, sedangkan pada hewan percobaan DM tipe 2, kadang-kadang tidak satupun pulau Langerhans ditemukan.

Kondisi pulau Langerhans pankreas pada tikus normal dalam keadaan relatif baik yang ditandai dengan kondisi islet Langerhans yang relatif rapat. Kelompok diabetes kondisi Islet Langerhans mengalami kerusakan yang ditandai dari adanya ruang-ruang kosong di bagian tengah pulau Langerhans (Ismi & Zubaidah 2013). Ruang-ruang kosong pada pulau Langerhans tersebut disebabkan karena nekrosis dari sel  $\beta$  pankreas. Kim *et al.* (2006) mengemukakan bahwa agen diabetogenik senyawa aloksan dapat menyebabkan nekrosis dan degenerasi sel  $\beta$  pankreas. Nekrosis yaitu kematian sel akibat kerusakan yang fatal ditandai oleh kerusakan struktur dan fungsi sel secara menyeluruh yang diikuti oleh lisisnya sel dan peradangan jaringan, hal ini yang mengindikasikan bahwa tikus mengalami gangguan sekresi insulin (Nurdiana 1998).

Melihat tingkat keparahan yang ditimbulkan oleh penyakit DM, maka banyak penelitian yang dilakukan untuk mencari pengendalian terhadap penyakit ini. Melakukan penelitian dengan salah satu bahan-bahan tradisional yang dipercaya memiliki khasiat dalam mengendalikan diabetes (Uray 2009). Pengobatan DM dengan memanfaatkan penggunaan bahan-bahan tradisional seperti tanaman berkhasiat obat, dipercaya sebagai bentuk pengobatan yang efektif dan memiliki efek samping lebih ringan, dibandingkan dengan obat antidiabetes oral. Tanaman berkhasiat obat juga dapat diperoleh dengan mudah, dapat dipetik langsung untuk pemakaian segar atau dapat dikeringkan (Wijayakusuma 2004).

Indonesia telah lama dikenal sebagai negara yang kaya akan tanaman yang memiliki khasiat dalam menyembuhkan penyakit. Pengobatan dengan menggunakan bahan alam biasanya dikenal sebagai pengobatan tradisional. Pemanfaatan tanaman obat di Indonesia dari bahan tanaman obat masih sangat rendah, serta sedikitnya pembuktian yang dilakukan secara ilmiah untuk membuktikan secara ilmiah mengenai khasiat dan keamanan obat dari bahan tanaman pada manusia menyebabkan para dokter tidak mau meresepkan obat yang berasal dari bahan tanaman (Dewoto 2007). Bahkan beberapa jenis tanaman obat yang belum diketahui khasiatnya justru dianggap sebagai tanaman liar yang mengganggu.

Tumbuhan di Indonesia yang berkhasiat dapat dimanfaatkan sebagai pengobatan yaitu tumbuhan liar kitolod (*Isotoma longiflora* (L.) yang merupakan tumbuhan asli Hindia Barat yang memiliki nama lain kendali dan sangkobak, termasuk dalam famili *Campanulaceae* (Ali 2003). Tanaman kitolod (*Isotoma longiflora* (L.) ini banyak tumbuh liar di pinggir saluran air atau sungai, sekitar pagar dan tempat-tempat lembab lainnya. Bagian tanaman yang dapat digunakan untuk pengobatan adalah seluruh bagian tanaman (Kusuma dan Zaky 2005). Berdasarkan pengalaman secara empiris penggunaan daun kitolod (*Isotoma longiflora* (L.) dianjurkan sebelum menggunakan tanaman ini, diusahakan mencuci bersih bagian tanaman yang digunakan (Retno 2013).

Kitolod (*Isotoma longiflora* (L.) dapat sebagai pencegahan dan penyembuhan berbagai penyakit mata seperti rabun dekat dan rabun jauh pada mata, katarak, buta, mata berair, glukoma, retina berdarah, infeksi mata, dan gangguan mata sejak lahir, diabetes, kolesterol, pembuluh pecah, sakit gigi, kanker, asma, bronkhitis, radang tenggorokan dan berbagai macam kanker. Kandungan kimia dalam tanaman kitolod sangat beragam, yaitu senyawa saponin, flavonoid, polifenol dan alkaloid yaitu lobelin, lobelamin, isotomin banyak terdapat pada tanaman ini (Ali 2003). Menurut penelitian Hapsari (2016), uji aktivitas sitotoksik ekstrak etanol, fraks polar, semipolar, dan nonpolar herba kitolod (*Isotoma longiflora* (L.) terhadap sel mcf-7 yaitu 521,054; 213,294; 499,947; dan 239,431  $\mu\text{g/mL}$ .

Berdasarkan latar belakang diatas penulis tertarik untuk mengetahui pengaruh ekstrak etanol herba kitolod dalam menurunkan kadar glukosa darah dan kondisi histopatologi pankreas baik jumlah pulau maupun persentasi nekrosis sel endokrin pulau Langerhans tikus yang diinduksi aloksan.

### **B. Perumusan Masalah**

Berdasarkan latar belakang yang dikemukakan di atas dapat dirumuskan permasalahan berikut ini :

Pertama, apakah ekstrak etanol herba kitolod dapat menurunkan kadar glukosa darah pada tikus diabetes ?

Kedua, berapakah dosis efektif ekstrak etanol herba kitolod dalam menurunkan kadar glukosa darah pada tikus diabetes?

Ketiga, apakah pemberian ekstrak etanol herba kitolod dapat meningkatkan ukuran dan densitas islet serta menurunkan persentase nekrosis sel islet pulau Langerhans pada organ pankreas tikus putih jantan galur Wistar yang diinduksi aloksan?

### **C. Tujuan Penelitian**

Tujuan penelitian ini adalah :

Pertama, mengetahui aktivitas ekstrak etanol herba kitolod dalam menurunkan glukosa darah pada tikus diabetes.

Kedua, mengetahui dosis efektif ekstrak etanol herba kitolod dalam menurunkan kadar glukosa darah pada tikus diabetes.

Ketiga, mengetahui pemberian ekstrak etanol herba kitolod dapat meningkatkan ukuran dan densitas islet serta menurunkan persentase nekrosis sel islet pulau Langerhans pada organ pankreas tikus putih jantan galur Wistar yang diinduksi aloksan.

### **D. Manfaat Penelitian**

Hasil penelitian ini diharapkan dapat memberi informasi dan ilmu pengetahuan di bidang farmasi dalam hal penggunaan ekstrak etanol herba

kitolod dapat berperan dalam aktivitas antidiabetes dan dapat digunakan sebagai suatu gagasan baru bagi ilmu pengetahuan di Indonesia serta memberikan kontribusi ilmiah terhadap penelitian-penelitian antidiabetes selanjutnya, terutama dalam pengembangan dan pemanfaatan tanaman tradisional. Penelitian ini juga diharapkan dapat meningkatkan budidaya tanaman kitolod sebagai obat alternatif dalam pengobatan DM serta dapat menjadi suatu masukan untuk berbagai pihak dalam memproduksi produk-produk herbal sehingga meningkatkan kesehatan masyarakat.

## **BAB II**

### **TINJAUAN PUSTAKA**

#### **A. Tanaman Kitolod (*Isotoma longiflora* (L.)**

##### **1. Sistematika tanaman kitolod**

Klasifikasi dari tanaman kitolod (*Isotoma longiflora* (L.) menurut Tjitrosoepomo (2007) adalah sebagai berikut :

Kingdom	: Plantae
Divisio	: Spermatophyta
Sub Division	: Angiospermae
Classis	: Dicotyledoneae
Sub Classis	: Sympetalae
Ordo	: Campanulales / Asterales / Synandreae
Family	: Campanulaceae
Genus	: <i>Isotoma</i>
Species	: <i>Isotoma longiflora</i> (L.) C. Presl.
Sinonim	: <i>Hippobroma longiflora</i> (L.) G. Presl <i>Laurentia longiflora</i> (L.) Peterm.

##### **2. Nama lain**

Tanaman ini juga dikenal dengan nama daerah kitolod, daun Tolod, Jarojet (Sunda); Kendali, Sangkobak (Jawa); Bunga bintang. Nama asingnya *Melksterretje* (Belanda), *Ster 4 van Bethlehem* (Dutch), *Star of bethlehem* (Inggris), Lidah payau (Melayu) (Dalimartha 2008).

##### **3. Deskripsi tanaman**

Kitolod merupakan tumbuhan liar yang dapat ditemukan di dataran rendah sampai ketinggian 1.100 m dari permukaan laut. Terna tegak berbatang basah tumbuh di tempat terbuka dengan tinggi dapat mencapai 50 cm, bercabang dari pangkal batang, batangnya bulat, helaian daun berwarna hijau, bergerigi sampai melekok, merupakan daun tunggal, lebar daun 2 - 3 cm, panjang 5 - 15 cm, bunga tunggal, tegak, bertangkai panjang, keluar dari ketiak daun, mahkota bunga menyerupai bintang, berwarna putih, buah berbentuk lonceng, berwarna hijau dan

merunduk, biji bulat telur, berukuran kecil, berwarna putih, akar tanaman merupakan akar tunggang (Dalimartha 2008). Kitolod (*Isotoma longiflora*) merupakan tanaman yang berasal dari Hindia Barat tumbuh liar di pinggir saluran air atau sungai, serta tempat yang lembab dan terbuka (Hariana 2008).

#### **4. Khasiat tanaman**

Kitolod (*Isotoma longiflora* (L.) merupakan tanaman yang biasa dimanfaatkan sebagai tanaman obat oleh masyarakat. Penggunaan daun dan bunga kitolod sendiri dapat digunakan dalam bentuk segar seperti tumbukan, perasan, seduhan, dan rebusan.

Daun dan bunga kitolod di masyarakat dimanfaatkan sebagai obat glaukoma pada mata (Wardani dan Siska 2010), katarak (Amaliah 2014), antivirus (Rothan *et al.* 2014), sakit gigi, bronkitis, dan asma (Koller 2009). diabetes, kolesterol (Ali 2003).

#### **5. Kandungan kimia**

Berdasarkan hasil uji fitokimia ekstrak etanol daun dan bunga kitolod positif mengandung alkaloid, saponin, flavonoida, dan tanin 5 (Siregar 2015). Daun kitolod memiliki kandungan senyawa alkaloid, saponin, flavonoida, dan polifenol (Hariana 2008). Berdasarkan hasil penelitian yang pernah dilakukan melalui analisis dengan menggunakan GC-MS ekstrak kitolod mengandung komponen senyawa flavonoid (eskuletin, sebanyak 3,64%, 4 etenil 2 metoksi fenol sebanyak 3,59%), alkaloid (xantosin, sebanyak 1,2%), dan saponin (Levoglukosan, sebanyak 1,75%) (Siregar 2015). Tanaman dengan famili Campanulaceae memiliki kandungan senyawa alkaloid norlobelanidin, lobelanidin dan isolobelanin (Villegas *et al.* 2014).

## **B. Simplisia**

### **1. Pengertian simplisia**

Simplisia merupakan bahan awal pembuatan bahan obat. Mutu bahan obat sangat dipengaruhi oleh mutu simplisia yang digunakan. Oleh karena itu, sumber simplisia, cara pengolahan, dan penyimpanan harus dapat dilakukan dengan cara yang baik. Simplisia adalah bahan alam yang digunakan sebagai bahan obat dan



belum mengalami pengolahan apapun juga, dan kecuali dinyatakan lain, berupa bahan yang telah dikeringkan.

Simplisia dibedakan menjadi simplisia nabati, simplisia hewani dan simplisia mineral (pelicin). Simplisia nabati adalah simplisia yang berupa tumbuhan bagian tumbuhan atau eksudat tumbuhan. Eksudat tumbuhan ialah isi sel yang secara spontan keluar dari tumbuhan atau isi sel secara tertentu dikeluarkan dari selnya. Eksudat tanaman dapat berupa zat-zat atau bahan-bahan nabati lainnya yang dengan cara tertentu dipisahkan atau diisolasi dari tanaman (Didik & Gunawan 2004).

## **2. Pengumpulan simplisia**

Simplisia berdasarkan bahan bakunya bisa diperoleh dari tanaman liar atau dari tanaman yang dibudidayakan. Simplisia yang diambil dari tanaman budidaya maka keseragaman umur, masa panen dan galur (asal usul, garis keturunan) tanaman dapat dipantau. Simplisia yang diambil dari tanaman liar akan banyak kendala dan variabilitas yang tidak dapat dikendalikan seperti misalnya asal tanaman, umur tanaman dan tempat tumbuhnya (Depkes RI 2010).

## **3. Pemilihan sampel**

Bahan baku yaitu bahan segar yang akan diolah menjadi simplisia merupakan salah satu faktor yang dapat mempengaruhi mutu simplisia. Bila bahan baku diambil dari hasil budidaya maka perlu diperhatikan keseragaman umur, masa panen dan galur tanaman. Pengumpulan bahan baku dilakukan dengan mempertimbangkan bagian tanaman yang digunakan, umur tumbuhan atau bagian tumbuhan pada saat panen, waktu panen dan lingkungan tempat tumbuh (Gunawan & Mulyani 2004).

Waktu panen sangat berhubungan erat dengan pembentukan senyawa aktif dibagian tanaman yang akan dipanen. Waktu panen yang tepat adalah pada saat bagian tanaman tersebut mengandung senyawa aktif dalam jumlah besar, senyawa aktif tersebut secara maksimal di dalam bagian tanaman pada umur tertentu (Depkes RI 1985).

## **4. Pencucian dan pengeringan simplisia**

Bahan obat yang sudah dikumpulkan segera dicuci bersih, sebaiknya dengan air yang mengalir. Setelah bersih dapat segera dimanfaatkan bila diperlukan pemakaian segar. Namun bisa pula dikeringkan untuk disimpan dan

digunakan bila sewaktu-waktu dibutuhkan. Pengeringan bertujuan mengurangi kadar air dan mencegah agar simplisia tidak mudah rusak, sehingga dapat disimpan dalam waktu yang lebih lama. Dalam proses ini, kadar air dan reaksi-reaksi zat aktif pada bahan akan berkurang, sehingga suhu dan waktu pengeringan perlu diperhatikan. Suhu pengeringan tergantung pada jenis bahan yang dikeringkan. Suhu pengeringan berkisar antara 40<sup>0</sup>C- 60<sup>0</sup>C dan hasil yang baik dari proses pengeringan ini adalah simplisia yang mengandung kadar air 10%. Demikian pula halnya dengan waktu pengeringan, dimana waktunya bervariasi, tergantung pada jenis bahan yang dikeringkan seperti rimpang, daun, kayu ataupun bunga. Proses pengeringan ini adalah kebersihan (khususnya pengeringan menggunakan sinar matahari). Kelembapan udara, aliran udara, dan tebal bahan (tidak saling menumpuk). Pengeringan bahan dapat dilakukan secara tradisional dengan menggunakan sinar matahari ataupun secara modern dengan menggunakan alat pengering seperti oven, rak pengering, *blower* ataupun dengan *freeze dryer*.

Pengeringan bahan simplisia pada dasarnya dibagi menjadi dua, yaitu pengeringan secara alamiah dan pengeringan buatan. Pengeringan secara alamiah merupakan cara pengeringan yang memanfaatkan unsur iklim, diantaranya cahaya matahari, hembusan angin, dan pergantian udara. Pengeringan dengan cara ini bisa dilakukan di bawah sinar matahari maupun ditempatkan di tempat teduh. Cara pengeringan kedua adalah cara pengeringan buatan yang dilakukan dengan menggunakan suatu alat yang memanfaatkan energi panas, listrik, atau api. Alat tersebut dapat digunakan tanpa bergantung pada keadaan cuaca dan suhu dapat dikontrol sesuai dengan kebutuhan. Penggunaan alat ini dapat mempercepat pengeringan dan menekan kerusakan simplisia serta kontaminasi jamur hingga seminimal mungkin. Oven merupakan contoh alat yang sering digunakan untuk pengeringan simplisia yang biasanya dilakukan pada suhu kurang dari atau sama dengan 60<sup>0</sup>C atau pada suhu rendah (30-40<sup>0</sup>C) untuk bahan simplisia yang mengandung senyawa aktif volatil atau termolabil (Katno 2008). Tujuan dasar pengeringan produk pertanian adalah pengurangan air dalam bahan sampai ke tingkat tertentu, dimana mikroba pembusuk, dan kerusakan akibat reaksi kimia

dapat diminimalisasi sehingga kualitas produk keringnya dapat dipertahankan (Depkes RI 1979).

### **C. Ekstraksi**

#### **1. Pengertian ekstraksi dan ekstrak**

Ekstraksi adalah penarikan zat pokok dari bahan mentah obat dengan menggunakan pelarut yang dipilih sehingga zat yang diinginkan larut (Ansel 1989). Simplisia yang diekstrak mengandung senyawa aktif yang dapat larut dan senyawa yang tidak dapat larut seperti serat, karbohidrat, protein dan lain-lain. Senyawa aktif yang terdapat dalam berbagai simplisia dapat digolongkan ke dalam golongan minyak atsiri, alkaloid, flavonoid dan lain-lain. Diketuinya senyawa aktif yang terkandung dalam simplisia akan mempermudah pemilihan pelarut dan cara ekstraksi yang tepat (Atikah 2013).

Ekstrak adalah sediaan padat yang diperoleh dengan mengekstraksi zat aktif dari simplisia nabati atau hewani menggunakan pelarut yang sesuai, kemudian semua atau hampir semua pelarut diuapkan dan massa atau serbuk yang tersisa diperlukan sedemikian rupa sehingga memenuhi baku yang ditentukan (Depkes RI 1995).

#### **2. Metode ekstraksi**

Teknik penyarian dengan metode maserasi dilakukan dengan merendam simplisia dengan cairan penyari tertentu. Karena perbedaan konsentrasi di luar dan di dalam sel, cairan penyari akan menembus dinding sel dan masuk ke dalam rongga sel yang mengandung zat aktif. Zat aktif akan larut dan karena adanya perbedaan konsentrasi antara larutan zat aktif di dalam dan di luar sel, maka larutan yang pekat didesak ke luar. Peristiwa ini terjadi berulang sehingga terjadi keseimbangan konsentrasi antara larutan di luar sel dan di dalam sel (Depkes RI 1986). Adapun beberapa metode penyarian antara lain :

**2.1 Metode maserasi.** Maserasi digunakan untuk penyarian simplisia yang mudah larut dalam cairan penyari, sehingga zat-zat yang mudah larut akan melarut (Ansel 1989). Maserasi merupakan cara penyarian yang sederhana, dimana dilakukan dengan cara merendam serbuk simplisia dalam cairan penyari.

Cairan penyari akan menembus dinding sel dan masuk ke rongga sel yang mengandung zat aktif. Zat aktif akan terlarut karena adanya perbedaan konsentrasi antara larutan zat aktif di dalam sel dengan yang di luar sel. Kekurangan metode maserasi adalah lama dan penyariannya kurang sempurna. Keuntungan cara penyarian dengan maserasi adalah pekerjaan dan peralatan yang digunakan sederhana dan mudah diusahakan (Depkes RI 1986).

**2.2 Metode perkolasi.** Perkolasi merupakan metode ekstraksi yang mirip dengan cara maserasi namun maserasinya dilakukan secara bertahap dengan menggunakan alat khusus berbentuk silindris atau kerucut (perkolator). Pelarut pada perkolasi akan mengalir turun melintasi simplisia yang umumnya berbentuk serbuk kasar. Perkolat yang diperoleh kemudian dikumpulkan lalu dipekatkan (Voigt 1994). Metode ini memiliki kelebihan yaitu didapatkannya ekstraksi total karena prinsipnya seperti maserasi berulang sedangkan maserasi hanya dilakukan sekali sampai terjadi penjenuhan antara pelarut dengan cairan di dalam sel.

**2.3 Metode infundasi.** Infundasi merupakan metode ekstraksi untuk pembuatan infusa atau sediaan cair dengan cara mengesktrak simplisia dengan waktu yang singkat dengan air dingin atau mendidih. Metode ini memiliki keuntungan yaitu cocok dilakukan untuk simplisia yang larut dalam air, namun kelemahannya metode ini menghasilkan infus yang tidak stabil dan mudah tercemar oleh mikroorganisme (Handa *et al.* 2008).

**2.4 Metode soxhletasi.** Metode soxhletasi merupakan penyarian dimana bahan yang akan diekstraksi berada dalam sebuah kantong ekstraksi (kertas, karton dan sebagainya) di dalam sebuah alat ekstraksi dari gelas yang bekerja kontinyu (perkolator). Wadah gelas yang mengandung kantong diletakkan diantara labu suling dan suatu pendingin aliran balik dan dihubungkan dengan pipet. Labu suling tersebut berisi bahan pelarut, yang menguap dan mencapai ke dalam pendingin aliran balik melalui pipa pipet, lalu berkondensasi di dalamnya menetas ke atas bahan yang akan diekstraksi dan membawa keluar bahan yang diekstraksi. Larutan berkumpul di dalam wadah gelas dan setelah mencapai tinggi maksimal secara otomatis ditarik ke dalam labu, dengan demikian zat yang akan

terekstraksi tertimbun melalui pipa kontinyu dari bahan pelarut murni (Voight 1994).

### **3. Pelarut etanol**

Etanol 70% adalah campuran dua bahan pelarut etanol dan air dengan kadar etanol 70% ( v/v ). Etanol sangat selektif dalam menghasilkan jumlah bahan aktif yang optimal. Dimana bahan pengotor hanya dalam skala kecil larut dalam cairan pengekstraksi (Voigt 1984).

Etanol dipertimbangkan sebagai penyari karena lebih efektif, kapang dan kuman sulit tumbuh dalam etanol 20% atau lebih, tidak beracun, netral dan absorpsinya baik. Etanol dapat bercampur dengan air pada segala perbandingan dan panas yang diperlukan untuk pemekatan lebih sedikit (Depkes RI 1986).

## **D. Diabetes Melitus**

### **1. Definisi Diabetes Melitus**

Diabetes melitus (DM) didefinisikan sebagai suatu penyakit atau gangguan metabolisme kronis dengan multi etiologi yang ditandai dengan tingginya kadar gula darah disertai dengan gangguan metabolisme karbohidrat, lipid dan protein sebagai akibat insufisiensi fungsi insulin (Depkes RI 2005). Peningkatan kadar glukosa darah yang berkaitan dengan DM terjadi akibat sekresi insulin yang tidak adekuat atau ada, dengan atau tanpa gangguan kerja insulin (Katzung 2010).

Diabetes melitus merupakan suatu grup syndrome heterogen yang semua gejalanya ditandai dengan peningkatan gula darah yang disebabkan oleh defisiensi insulin relatif dan insulin absolut (Harvey dan Champe 2010). Kekurangan insulin absolut terjadi jika pankreas tidak berfungsi lagi untuk mensekresikan insulin, sedangkan jika kekurangan insulin relatif terjadi jika produksi insulin tidak sesuai dengan kebutuhan, kerja insulin pada sel yang dituju diperlemah oleh antibodi insulin, jumlah reseptor insulin pada organ yang dituju berkurang atau cacat reseptor insulin (Mutschler 1991). Peningkatan kadar glukosa darah atau hiperglikemik (glukosa puasa  $\geq 126$  mg/dL atau glukosa sewaktu  $\geq 200$  mg/dL) (Katzung 2007).

## 2. Gejala

Gejala utama diabetes yaitu *polifagia* (meningkatnya rasa lapar), *polidipsia* (meningkatnya rasa haus), dan *poliuria* (meningkatnya buang air kecil), serta kehilangan berat badan terutama pada diabetes tipe 1 (DiPiro *et al.* 2005). Gejala dan tanda-tanda penyakit diabetes melitus dapat digolongkan menjadi gejala akut dan gejala kronik.

Gejala akut penyakit diabetes melitus pada tiap penderita tidaklah sama, bahkan ada penderita yang tidak menunjukkan gejala apapun sampai saat tertentu (masih kompensasi). Gejala hampir sama dengan gejala utama. Namun, bila keadaan tersebut tidak cepat diobati, lama-kelamaan mulai timbul gejala yang disebabkan oleh kurangnya insulin, yaitu nafsu makan mulai berkurang (tidak polifagia lagi) bahkan kadang-kadang disusul dengan mual, mudah lelah, dan bila tidak lekas diobati akan timbul rasa mual bahkan penderita akan jatuh koma.

Gejala kronis penyakit diabetes melitus yang sering dialami oleh penderita antara lain kesemutan, kulit terasa panas, terasa tebal di kulit, kram, lelah, mudah mengantuk, mata kabur, gatal di sekitar kemaluan, gigi mudah goyah dan mudah lepas, kemampuan seksual menurun, para ibu hamil sering mengalami keguguran atau kematian janin (Tjokroprawiro 2006).

## 3. Patofisiologi Diabetes Melitus

Patofisiologi diabetes melitus dapat dikaitkan dengan satu dari tiga efek utama kekurangan insulin sebagai berikut: pengurangan penggunaan glukosa oleh sel-sel tubuh, dengan akibat peningkatan konsentrasi glukosa darah setinggi 300-1200 mg/100 ml, peningkatan nyata mobilitas lemak dari daerah-daerah penyimpanan lemak, menyebabkan kelainan metabolisme lemak maupun pengendapan lipid pada dinding vaskuler yang mengakibatkan aterosklerosis, dan pengaturan protein dalam jaringan tubuh. Masalah patofisiologi pada diabetes melitus yang tidak mudah tampak, yaitu kehilangan glukosa ke dalam urin penderita diabetes (Setiadi 2007).

Glukosa mewakili kira-kira 80% dari hasil pencernaan karbohidrat yang terdiri dari galaktosa dan fruktosa. Kegagalan pengambilan glukosa oleh sel target

menjadi masalah utama gangguan metabolisme glukosa sehingga menyebabkan hiperglisemia. Keadaan ini menyebabkan glukosa dieskresi di dalam urin yang biasa disebut sebagai glikosuria. Hiperglisemia tidak mengganggu kesehatan tubuh, akan tetapi jika kadar glukosa plasma melebihi nilai ambang batas yaitu kira-kira 10 mmol/L dan gagal ginjal menyerap kembali glukosa yang dihasilkan di glomerulus ginjal, akibatnya terjadi diuresis osmotik, polyuria, dehidrasi dan kenaikan osmolalitas cair intrasel dan ekstrasel yang berfungsi merangsang pusat haus di otak untuk minum air lebih dari keadaan normal untuk menggantikan air yang hilang dari tubuh (Syahrin 2006).

#### **4. Klasifikasi Diabetes Militus**

**4.1 Diabetes Melitus Tipe 1.** terjadi sekitar 2-10% dari seluruh kasus diabetes yang penyebabnya tidak diketahui secara jelas atau banyak faktor yang menjadi pemicu terjadinya DM Tipe 1 ini, termasuk kerentangan genetik pada individu terhadap pengaruh lingkungan (Nugroho & Santoso 2011). Menurut (Dipiro *et al.* 2008), DM Tipe 1 ini terjadi karena kerusakan *autoimmune* sel  $\beta$ -pankreas yang ditandai dengan terjadinya ketoasidosis sehingga jumlah insulin yang diproduksi berkurang atau kekurangan insulin secara mutlak. Selain itu, menurut Nugroho (2006), degenerasi sel  $\beta$ -pankreas dapat terjadi karena infeksi virus, pemberian senyawa toksin, pemberian senyawa diabetogenik, dan genetik. Gejala yang sering muncul pada penderita DM Tipe I ini adalah menurunnya berat badan, poliuria, polidipsia, dan polifagia.

**4.2 Diabetes Melitus Tipe 2.** merupakan tipe diabetes yang tidak tergantung pada insulin karena produksi insulin pada penderita cukup, namun terjadi resistensi atau penurunan kepekaan insulin sehingga menyebabkan kekurangan insulin relatif (Dipiro *et al.* 2008). Patogenesis diabetes melitus tipe II lebih dikit diketahui, meskipun tipe ini sering ditemukan. Pada diabetes tipe ini dapat terjadi akibat efek genetik dan juga dipengaruhi oleh lingkungan. Dua efek metabolisme yang menandai diabetes melitus tipe II adalah gangguan sekresi insulin pada sel  $\beta$  dan ketidakmampuan jaringan perifer merespon insulin (Robbins *et al.* 2007).

**4.3 Diabetes Gestasional melitus.** (GDM) terjadi pada 7% wanita hamil yang diketahui sebagai keadaan intoleransi terhadap glukosa pada awal masa kehamilan (Dipiro *et al.* 2008). Diabetes tipe lain yang terjadi merupakan penyakit pada kelenjar eksokrin pankreas yang disebabkan obat-obatan atau infeksi (Ramachandran & Snehalatha 2009).

## **5. Manifestasi klinik diabetes melitus**

Penderita diabetes melitus tipe 1 biasanya memiliki tubuh yang kurus dan cenderung berkembang menjadi diabetes ketoasidosis karena insulin sangat kurang disertai peningkatan hormon glukagon. Sejumlah 20-40% pasien mengalami diabetes ketodiasis setelah beberapa hari mengalami polyuria (pengeluaran urin secara berlebihan), polydipsia (minum air secara berlebihan), polifagia (makan secara berlebihan) dan kehilangan berat badan (Sukandar *et al.* 2008).

Pasien dengan diabetes melitus tipe 2 sering asimtomatik. Munculnya komplikasi dapat mengindikasikan bahwa pasien telah menderita diabetes melitus selama bertahun-tahun, umumnya muncul neuropati dan terdeteksi letargi, polyuria, nokturia dan polydipsia sedangkan penurunan bobot badan secara signifikan jarang terjadi (Sukandar *et al.* 2008).

## **6. Diagnosis diabetes melitus**

Diagnosis DM harus didasarkan atas pemeriksaan konsentrasi glukosa darah. Penentuan diagnosis DM harus memperhatikan asal bahan darah yang diambil dan cara pemeriksaan yang dipakai. Pemeriksaan yang dianjurkan adalah pemeriksaan glukosa dengan cara enzimatik dengan bahan darah plasma vena. Kriteria diagnosis DM meliputi kadar glukosa plasma sewaktu  $\geq 200$  mg/dL (11,1 mmol/L) atau kadar glukosa plasma puasa  $\geq 126$  mg/dL (7,0 mmol/L). Kadar glukosa plasma 2 jam pada TTGO  $\geq 200$  mg/dL (11,1 mmol/L) sesudah pemberian glukosa 75 g (Sudoyo *et al.* 2009).

Berbagai keluhan dapat ditemukan pada penyandang diabetes, kecurigaan adanya diabetes melitus apabila terdapat keluhan seperti: Keluhan diabetes melitus berupa: poliuria, polidipsia, polifagia, dan penurunan berat badan yang tidak dapat dijelaskan sebabnya. Keluhan lainnya dapat berupa: lemah badan,



kesemutan, gatal, mata kabur, dan disfungsi ereksi pada pria, serta pruritus vulvae pada wanita.

## **7. Komplikasi diabetes melitus**

Hiperglikemia yang terjadi berkepanjangan dapat menyebabkan komplikasi mikrovaskuler kronis seperti nefropati, retinopati, dan neuropati. DM juga mengakibatkan peningkatan komplikasi penyakit makrovaskuler seperti infark miokard, stroke dan penyakit vaskuler perifer (Smeltzer & Bare 2002).

Sementara itu, Black & Hawks (2009), membagi komplikasi DM menjadi 2 (dua) kelompok, yaitu :

**7.1 Komplikasi akut.** Komplikasi akut terdiri atas: Hiperglikemia dan ketosidosis diabelikum, sindrom hiperglikemik hiperosmolar nonketotik, Hipoglikemik.

**7.1.1 Hiperglikemia dan ketosidosis diabelikum.** Kondisi ini disebabkan oleh tidak adanya insulin atau insulin yang tersedia dalam darah tidak cukup untuk metabolisme karbohidrat, keadaan ini mengakibatkan gangguan metabolisme karbohidrat, lemak dan protein. Ada tiga gejala klinis yang terlihat pada ketoasidosis, yaitu: dehidrasi, kehilangan elektrolit dan asidosis.

**7.1.2 Sindrom hiperglikemik hiperosmolar nonketotik.** Kondisi dimana pasien mengalami hiperosmolaritas dan hiperglikemia disertai perubahan tingkat kesadaran, yang membedakan sindrom ini dengan ketoasidosis ialah tidak terdapat gejala ketosis dan asidosis. Gambaran klinis kondisi ini biasanya terdiri atas hipotensi, dehidrasi berat, takikardi dan tanda-tanda deficit neurologis yang bervariasi (perubahan sensorik, kejang dan hemiparesis).

**7.1.3 Hipoglikemik.** Terjadi kalau kadar gula darah kurang dari 50-60 mg/dL, yang dapat diakibatkan oleh pemberian insulin atau obat diabetes oral yang berlebihan, konsumsi makanan yang terlalu sedikit atau karena aktifitas fisik yang berat.

**7.2 Komplikasi kronis.** Komplikasi kronis terdiri atas: Komplikasi makrovaskuler, Komplikasi mikrovaskuler.

**7.2.1 Komplikasi makrovaskuler.** Adalah kondisi aterosklerosis yang terjadi pada pembuluh darah besar yang dapat menimbulkan berbagai penyakit

seperti : *Coronary Artery Disease (CAD)*, penyakit serebrovaskuler hipertensi, penyakit vaskuler perifer dan infeksi.

**7.2.2 Komplikasi mikrovaskuler.** Adalah komplikasi unik yang hanya terjadi pada penderita DM. Penyakit mikrovaskuler diabetik terjadi akibat penebalan membrane basalis pembuluh kapiler. Beberapa kondisi akibat dari gangguan pembuluh darah kapiler antara lain: retinopati, nefropati, ulkus kaki, neuropati sensorik, dan neuropati otonom.

## **8. Terapi diabetes melitus**

**8.1. Insulin.** Insulin dapat meningkatkan simpanan lemak maupun glukosa (sumber energi) dalam sel sasaran khusus, serta mempengaruhi pertumbuhan sel dan fungsi metabolisme berbagai jenis jaringan. Klasifikasi diabetes melitus mengidentifikasi terdapatnya suatu kelompok pasien yang hampir tidak mempunyai sekresi insulin dan kelangsungan hidupnya tergantung pemberian insulin eksogen (diabetes melitus tipe 1). Sebagian besar penderita diabetes melitus tipe II tidak memerlukan insulin eksogen untuk kelangsungan hidupnya, tetapi banyak memerlukan suplemen eksogen dari sekresi endogen untuk mencapai kesehatan yang optimum (Katzung 2002).

Klasifikasi DM pada saat ini mengidentifikasi suatu kelompok penderita yang hampir tidak mensekresi insulin sama sekali dan kelangsungan hidupnya tergantung pada pemberian insulin eksogen. Kelompok yang tergantung insulin ini (tipe 1) mewakili sekitar 5-10% populasi penderita diabetes di AS. Kebanyakan pasien diabetes tipe 2 tidak memerlukan insulin eksogen untuk kelangsungan hidupnya (Katzung 2010).

**8.2. Antidiabetik oral (OAD).** Terapi ini untuk penderita diabetes melitus tipe II yang mengalami defisiensi pelepasan insulin. Kerja obat ini dengan merangsang sel-sel pankreas untuk meningkatkan pelepasan insulin dan meningkatkan kepekaan reseptor insulin sel. Obat-obat ini dapat digunakan secara efektif hanya apabila individual memperlihatkan sekresi insulin (Mutschler 1991).

**8.3. Diet.** Diet yang dianjurkan berupa makanan dengan komposisi yang seimbang dalam hal karbohidrat, protein, lemak, sesuai dengan kecukupan gizi, umur, stres akut, dan kegiatan fisik yang pada dasarnya ditunjukkan untuk mencapai dan mempertahankan berat badan ideal (Depkes RI 2005).

**8.4. Latihan jasmani.** Bila terdapat resistensi insulin, gerakan badan teratur (jalan kaki/ bersepeda, olahraga) dapat dijadikan kegiatan dalam mengontrol gula darah. Hasil dari olahraga ini insulin dapat dipergunakan secara lebih baik oleh sel tubuh dan dosis insulin pada umumnya dapat dikurangi (Tjay & Rahardja 2002).

## **9. Obat hiperglikemik**

Obat untuk diabetes melitus disebut obat hiperglikemik oral (OHO) dibagi dalam beberapa golongan disebut:

**9.1 Golongan sulfonilurea.** Mekanisme aksi yang utama dari golongan sulfonilurea adalah meningkatkan sekresi insulin pada pankreas sehingga hanya efektif bila sel  $\beta$  pankreas masih dapat diproduksi (Sukandar *et al.* 2008). Peningkatan sekresi insulin dari pankreas bergerak melalui pembuluh darah portal dan secara terus-menerus menekan produksi glukosa pada hepar. Efek samping yang mungkin timbul dari sulfonilurea adalah hipoglikemik dan peningkatan berat badan (DiPiro *et al.* 2008). Obat-obat golongan sulfonilurea meliputi klorproramid, glikazid, glibenklamid, glipizid, glikuidon, glimepiride dan tolbutamid (Sukandar *et al.* 2008).

**9.2 Golongan meglitidin.** Obat golongan meglitinid bekerja dengan memodulasi pelepasan insulin dari sel  $\beta$  dengan mengatur refluks kalium melalui kanal kalium, terdapat tumpang tindih cara kerja molekulnya dengan sulfonilurea. Contoh obat golongan ini adalah Regaplanid. Regaplanid memiliki onset kerja yang cepat dengan konsentrasi dan efek puncak dalam waktu satu jam setelah ditelan, namun cara kerjanya 5-8 jam. Karena onset cepat penggunaannya diindikasikan untuk mengendalikan lonjakan kadar glukosa setelah makan (Katzung 2010).

**9.3 Golongan biguanida.** Obat golongan biguanid merupakan obat yang bekerja menghambat gluconeogenesis dan meningkatkan penggunaan glukosa di jaringan (Sukandar *et al.* 2008). Berbeda dengan obat sulfonilurea, biguanid tidak mempunyai efek langsung pada sekresi insulin dan tidak menyebabkan hipoglikemia. Pada penderita diabetes yang obesitas, pemberian obat golongan

biguanid dapat juga menurunkan berat badan. Efek samping yang timbul adalah gangguan saluran pencernaan, mual, muntah, kembung, sering kentut, diare dan tidak nafsu makan (Dalimartha 2008). Contoh obat golongan biguanid adalah metformin hidroklorida (Sukandar *et al.* 2008).

**9.4 Golongan inhibitor glukosidase.** Obat golongan ini bekerja secara kompetitif menghambat kerja *alpha glucosidase* di dalam saluran cerna, sehingga menurunkan penyerapan glukosa dan menurunkan hiperglikemia *post prandial*. Obat ini bekerja di lumen usus dan tidak menyebabkan hipoglikemia serta tidak berpengaruh terhadap kadar insulin. (Sudoyo *et al.* 2006).

**9.5 Golongan thiazolidindion.** Mekanisme kerjanya adalah meningkatkan sensitivitas insulin pada otot dan jaringan adiposa serta menghambat glukogenesis hepatic. Contoh golongan obat ini yaitu proglitazon, resiglitazon dan troglitazon (Sukandar *et al.* 2008).

## 10. Metode uji antidiabetes

Keadaan diabetes dapat diinduksi pada hewan percobaan dengan cara pankreatomi dan juga secara kimia. Zat – zat kimia sebagai indikator (diabetolgen) dapat digunakan zat – zat kimia seperti aloksan, sterptozotocin, diaksosida, adrenalin, glukagon, EDTA dan sebagainya yang pada umumnya diberikan secara parenteral. Zat – zat tersebut diatasi maupun menginduksi diabetes secara permanen di mana terjadi gejala hiperglikemia. Uji efek antidiabetes dapat dilakukan dengan tiga metode.

**10.1 Metode uji toleransi glukosa.** Toleransi glukosa adalah kemampuan tubuh untuk menggunakan glukosa dalam tubuh. Kadar glukosa darah akan naik dengan pemberian glukosa 1g/kgBB secara oral, tetapi dalam keadaan normal tidak pernah melebihi 10 sampai 170 mg/100ml. puncak kadar glukosa dalam ½ jam atau 1 jam dan kembali normal setelah 2-3 jam (Depkes RI 2000).

Prinsip toleransi glukosa ialah hewan uji yang telah dipuaskan selama ± 16 jm, kemudian diambil darahnya melalui vena ekor dari masing-masing mencit sebanyak 0,5 ml sebagai kadar glukosa awal lalu diberikan bahan uji obat antidiabetes dan larutan glukosa per oral. Pengambilan darah vena ekor diulangi setelah interval waktu yang ditentukan (Depkes RI 2000).

**10.2 Metode uji diabetes aloksan.** Metode yang digunakan pada penelitian ini adalah metode uji induksi aloksan dengan memberikan diabetogen yang dapat menyebabkan pankreas hewan uji sebagian rusak sehingga terkondisi seperti pada penderita diabetes melitus. Diabetogen yang banyak digunakan adalah aloksan monohidrat karena obat ini cepat menimbulkan hiperglikemia yang permanen dalam waktu 2 sampai 3 hari. Aloksan monohidrat adalah senyawa yang sering digunakan sebagai induktor hewan percobaan menjadi diabetik. Prinsip metode ini adalah induksi diabetes diberikan pada hewan uji yang diberikan suntikan aloksan monohidrat dengan dosis 3mg/kg BB mencit. Penyuntikan dapat dilakukan secara intravena pada ekor mencit hiperglikemi kemudian diperiksa kadar gula darahnya (Depkes RI 1993).

**10.3 Metode resisten insulin.** Prinsip dari metode uji resisten insulin yang induksi yaitu diabetes melitus dilakukan pada hewan uji yang diinduksi obesitas dengan pemberian pakan kaya lemak dan karbohidrat serta asupan glukosa tinggi dilakukan sampai terjadi peningkatan kadar glukosa darah, yang dapat terjadi dalam waktu 4 minggu setelah pemberian pakan tersebut. Pada kondisi demikian diasumsikan hewan uji sudah mengalami resistensi insulin. Pemeriksaan untuk melihat sensitivitas insulin dilakukan dengan cara hewan uji dipuaskan selama 5 jam kemudian larutan indulin diinjeksi secara intraperitonium dengan dosis 0,75 U/kg berat badan. Kadar gula darah diukur dengan mengambil darah dari vena ekor hewan uji pada menit ke 0, 15, 30, 60, 90, dan 120 setelah dilakukannya injeksi dengan menggunakan glucometer (Lian *et al.* 2007).

## **E. Metode Analisa Kadar Glukosa Darah**

Macam-macam metode analisa kadar glukosa dalam darah adalah sebagai berikut:

### **1. Metode analisa kadar glukosa darah dengan glukometer**

Kadar glukosa darah ditetapkan dengan menggunakan alat Glucometer (GlucoDr Biosensor AGM-2100). Cuplikan darah yang diambil dari vena lateralis ekor tikus dalam jumlah sangat sedikit yang berkisar hanya 1µl disentuhkan dalam

*test strip*, kemudian alat tersebut akan segera mengukur kadar glukosa darah setelah strip terisi oleh darah.

Prinsip glukometer yaitu sampel darah akan masuk ke dalam strip melalui aksi kapiler. Glukosa yang ada dalam darah akan bereaksi dengan glukosa oksidase dan kalium ferrisianida yang ada dalam strip dan akan dihasilkan kalium ferrosianida. Kalium ferrosianida yang dihasilkan sebanding dengan konsentrasi glukosa yang ada dalam sampel darah. Oksidasi kalium ferrosianida akan menghasilkan muatan listrik yang akan diubah oleh glukometer untuk ditampilkan sebagai konsentrasi glukosa pada layar.  $\beta$ -D-Glukosa + kalium ferrisianida  $\xrightarrow{\text{glukosa oksidase}}$  asam Glukonat + Kalium ferrosianida Kalium ferrosianida  $\xrightarrow{\text{oksidasi}}$  kalium ferrosianida + e<sup>-</sup> (Linghuat 2008).

## 2. Metode GLUC-DH (*Glucose Dehidrogenase*)

GLUC-DH adalah sebuah metode rutin enzimatik yang dibedakan dari yang lain oleh kespesifikannya yang tinggi, kepraktisan dan keluwesannya. Pengukuran dilakukan pada daerah UV. Prinsip metode ini adalah glucose dehydrogenase mengkatalisa oksidasi dari glucose menurut persamaan berikut :  $3\text{-D-Glukose} + \text{NAD} \xrightarrow{\text{GlucDH}} \text{D-Glukonolactone} + \text{NADH} + \text{H}^+$  (1) Metode Gluc-DH dapat digunakan pada bahan sampel yang dideproteinisasi atau yang tidak dideproteinisasi, serta untuk hemolysate (Merck 1987).

## 3. Metode GOD-PAP

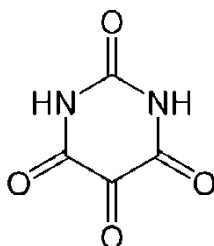
Metode GOD-PAP yaitu reaksi kolorimetrik-enzimetik untuk pengukuran pada daerah cahaya yang terlihat oleh mata. Prinsip dari metode ini adalah glucose oxidase (GOD) mengkatalisa oksidasi dari glucose menurut persamaan berikut :  $\text{Glukosa} + \text{O}_2 + \text{H}_2\text{O} \xrightarrow{\text{GOD}} \text{asam glukonat} + \text{H}_2\text{O}_2$  (2) Hidrogen peroksida yang terbentuk bereaksi dengan 4-aminoantipyrin dan 2,4-dichlorohenol dengan adanya peroxidase (POD) dan menghasilkan antipirylquinonimine, yaitu suatu zat warna merah. Jumlah zat warna yang terbentuk ini sebanding dengan konsentrasi glukosa (Merck 1987).

## 4. Metode o-toluidine

Prinsip metode ini adalah glucose bereaksi dengan o-toluidine dalam asam asetat panas dan menghasilkan senyawa berwarna hijau yang ditemukan secara

fotometris. Metode o-toluidine dapat digunakan untuk sampel yang dideproteinisasi maupun yang tidak dideproteinisasi (Merck 1987).

#### F. Aloksan



Gambar 1. Struktur aloksan

Aloksan adalah suatu substrat yang secara struktural adalah derivat pirimidin sederhana. Aloksan diperkenalkan sebagai hidrasi aloksan pada larutan encer. Aloksan murni diperoleh dari oksidasi asam urat oleh asam nitrat. Aloksan merupakan bahan kimia yang digunakan untuk menginduksi diabetes pada binatang percobaan. Aloksan monohidrat untuk menginduksi diabetes melitus dengan mekanisme menghancurkan sebagian (parsial) sel  $\beta$  pulau Langerhans. Pemberian aloksan adalah dengan cara yang tepat menghasilkan kondisi diabetik eksperimental (hiperglikemik) pada binatang percobaan (Yuriska 2009).

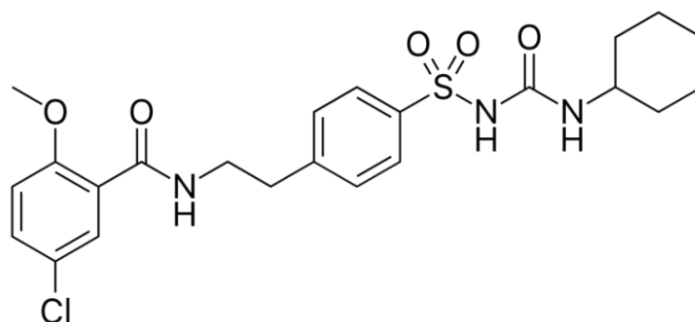
Senyawa aloksan dan juga produk reduksinya berupa asam dialurik selanjutnya membentuk siklus redoks dengan formasi berupa radikal superoksida. Radikal yang terbentuk kemudian akan mengalami dismutasi menjadi hydrogen peroksida. Aktivitas radikal bebas yang mendapat rangsangan yang tinggi itu lalu meningkatkan konsentrasi kalsium sitosol yang menyebabkan destruksi yang cepat sel-sel  $\beta$  pankreas. Senyawa aloksan itu terbukti memiliki sifat sitotoksik spesifik pada sel  $\beta$  Langerhans dan aloksan juga membangkitkan gugus radikal yang merusak sel  $\beta$  Langerhans akibat peningkatan radikal bebas di dalam tubuh. Selain kondisi tersebut, dalam tubuh hewan coba juga terjadi ketidakseimbangan radikal bebas yang terbentuk dengan antioksidan, keadaan itu disebut juga stres oksidatif.

Kerusakan sel-sel  $\beta$  Langerhans tersebut akan diikuti dengan penurunan sekresi hormon insulin yang mampu mengakibatkan reaksi glikogenesis dan juga transpor glukosa di dalam sel menjadi berkurang. Sebaliknya, glikogenolisis itu

menjadi tidak terkendali dan juga mengakibatkan hewan coba mengalami peningkatan kadar glukosa di dalam darah. Selain radikal superoksida yang terbentuk, radikal hidroksil yang juga terbentuk selama proses reaksi fenton juga ikut berperan merusak sel beta pankreas yang terdapat dalam tubuh. Selain itu, senyawa aloksan itu ternyata dapat menyebabkan kerusakan membran sel  $\beta$  pankreas melalui peningkatan permeabilitasnya. Kerusakan membran itu mampu mempermudah kerusakan sel-sel  $\beta$  pankreas sehingga insulin menurun. Mekanisme kerja aloksan secara *in vitro* dilihat dari efeknya melalui peningkatan permeabilitasnya menunjukkan bahwa aloksan akan menginduksi pengeluaran ion kalsium dari organel mitokondria yang lalu mengakibatkan proses oksidasi sel, jaringan, dan organ tersebut akan terganggu. Ion kalsium yang keluar dari mitokondria itu akan mengganggu homeostasis yang merupakan awal kematian sel.

Sebagai diabetogenik, aloksan dapat digunakan secara intravena, intraperitoneal dan subkutan menggunakan 2-3 kali dosis intravena (Nugroho 2006). Berdasarkan penelitian Zada (2009) dosis 125 mg/kg bb secara intraperitoneal dapat mengakibatkan hiperglikemik. Yuriska (2009) dengan dosis 125 mg/kg bb secara intraperitoneal dapat mengakibatkan diabetes pada tikus galur wistar.

### G. Glibenklamid



Gambar 2. Struktur glibenklamid

#### 1. Indikasi dan kontraindikasi

Glibenklamid diindikasikan pada pengobatan diabetes melitus tipe 2 onset maturitas stabil dan tidak terkomplikasi ringan atau tidak parah, yang tidak dapat



diobati hanya dengan diet saja. Glibenklamid mengkontraindikasikan pada wanita hamil dan menyusui, porfiria, dan ketoasidosis. Tidak boleh diberikan sebagai obat tunggal pada penderita yang kebutuhan insulinnya tidak stabil, dan diabetes melitus berat (Depkes RI 2005).

## **2. Dosis dan aturan pakai**

Pengobatan dengan glibenklamid dimulai dari dosis rendah (2,5 mg) diberikan pada pagi hari, sedangkan profil mingguan glukosa serum dipantau. Dosis permulaan 1 kali sehari 2,5-5 mg, bila perlu dinaikkan setiap minggu sampai maksimal 2 kali sehari 10 mg (Tjay & Raharja 2002).

## **3. Farmakokinetika**

Diberikan peroral, obat-obatan ini terikat pada protein serum dimetabolisme di hati dan dieksresikan di hati atau ginjal (Myeck *et al.* 2001). Metabolismenya di hepar, pada pemberian dosis tunggal hanya 25% metabolitnya dieksresikan melalui urin (Gunawan 2009).

## **4. Mekanisme kerja**

Glibenklamid bekerja dengan menghambat *ATP-Sensitive pottaasium chanel* di sel  $\beta$  pankreas, sehingga memantau untuk mengurangi jumlah gula dalam darah orang dengan diabetes tipe 2. Mengurangi kadar glukagon dalam serum, dan meningkatkan pengikatan insulin pada jaringan target dan reseptor (Myeck *et al.* 2001).

## **5. Efek samping**

Glibenklamid mempunyai efek samping antara lain : gejala saluran cerna berupa mual, diare, sakit perut, hiper sekresi asam lambung, di daerah jantung. Gejala susunan saraf pusat berupa vertigo, menimbulkan gejala hipertiroidisme dan ikterus obstruktif. Hipoglikemia dapat terjadi pada penderita yang tidak mendapat dosis tepat, tidak makan cukup, atau dengan gangguan fungsi hati atau ginjal (Sukandar *et al.* 2008).

Diberikan peroral, obat-obatan ini terikat pada protein serum dimetabolisme di hati dan dieksresikan di hati atau ginjal (Myeck *et al.* 2001).

Metabolismenya di hepar, pada pemberian dosis tunggal hanya 25% metabolitnya dieskresikan melalui urin (Gunawan 2009).

## H. Hewan Percobaan

### 1. Sistematika tikus

Hewan uji yang digunakan pada penelitian ini adalah tikus putih jantan galur wistar dengan sistematika sebagai berikut (Sharp *et al.* 1998) :

Kingdom : Animalia, Filum: Chordata, Subfilum : Vertebrata, Kelas : Mamalia, Subkelas : Theria, Ordo : Rodensia, Subordo : Sciurognathi, Famili : Muridae, Subfamili : Murinae, Genus : Rattus, Spesies : *Rattus norvegicus*, Galur : Wistar.

### 2. Karakteristik utama tikus

Tikus merupakan hewan yang cerdas dan relatif resisten terhadap infeksi. Tikus putih umumnya tenang dan mudah ditangani, dan kecenderungan untuk berkumpul sesamanya tidak begitu besar, hewan ini dapat tinggal sendiri dalam kandang asal masih mendengar atau melihat tikus lain. Aktivitasnya tidak terganggu dengan kehadiran manusia. Tikus mudah ditangani, menjadi agresif terutama saat diperlakukan kasar atau mengalami defisiensi nutrisi. Hewan uji merupakan suatu sumber variasi avabilitas sistemik, distribusi, dan kecepatan eliminasi obat-obatan. Tikus jantan kecepatan metabolismenya lebih cepat dibandingkan dengan tikus betina. Kondisi biologis tubuh tikus jantan juga lebih stabil dibanding tikus betina. Pada tikus betina secara berkala dalam tubuhnya mengalami perubahan kondisi seperti masa kehamilan, menyusui, dan menstruasi (Sugiyanto 1995).

Tikus putih yang dibiakkan di laboratorium lebih cepat dewasa dan lebih mudah berkembang biak. Berat badan tikus di laboratorium cenderung lebih ringan dibanding tikus liar. Tikus tidak dapat muntah seperti hewan coba lainnya karena struktur anatomi yang tidak lazim di tempat esofagus bermuara ke dalam lambung dan tikus tidak memiliki kantung empedu (Sugiyanto 1995).

Hewan yang paling banyak digunakan untuk pengujian adalah tikus dan mencit. Tikus mudah didapat, ukurannya kecil, harganya murah, mudah ditangani,

dan data toksikologinya relatif telah banyak. Penetapan toksisitas pada hati sering merupakan bagian penelitian jangka pendek dan jangka panjang yang biasanya dilakukan pada tikus dan mencit (Frank 1995).

### **3. Jenis kelamin tikus**

Kecepatan metabolisme obat pada tikus berkelamin jantan lebih cepat dibandingkan tikus betina, pada tikus betina secara akan mengalami perubahan kondisi dalam tubuhnya seperti masa kehamilan, menyusui dan menstruasi. (Sugiyanto 1995).

## **I. Histopatologi Organ Pankreas**

### **1. Pengertian histopatologi**

Histopatologi merupakan studi tentang manifestasi struktur penyakit di bawah cahaya mikroskop. Pada histopatologi, dapat dibedakan histopatologi jaringan normal, variasi proses penyakit, dan perubahan-perubahan yang mungkin timbul sebagai hasil dari penelitian jaringan penyakit yang dilakukan (Chrissman 2004). Pemeriksaan histopatologi bertujuan untuk mengetahui perubahan-perubahan yang terjadi pada pankreas tikus yang mengalami hiperglikemi akibat induksi aloksan (Rahayu 2004).

### **2. Struktur dan anatomi pankreas**

Pankreas adalah suatu kelenjar eksokrin sekaligus juga kelenjar endokrin, mempunyai konsistensi yang lunak karena banyak mengandung jaringan kelenjar dan dibagi menjadi beberapa bagian yaitu kaput, korpus, dan kauda, dimana memiliki berat rata-rata 80 g.

Secara fisiologis fungsi pankreas dapat bertindak sebagai kelenjar eksokrin dan endokrin. Fungsi endokrin pankreas dilakukan sekelompok sel yang disebut pulau Langerhans yang memproduksi hormon insulin dan glukagon yang penting untuk metabolisme karbohidrat. Fungsi eksokrin oleh kelenjar tubuloacinar, pankreas menyekresi 500-1.200 ml getah pankreas setiap hari ke duodenum. Suatu enzim pencernaan yang terdiri atas amilase, tripsin, dan lipase (Katzung 2012).

Pulau Langerhans pankreas merupakan gabungan sel dengan diameter 75-500  $\mu\text{m}$ , yang tersebar (dalam betuk pulau) dalam jaringan pankreas dan dipasok dengan banyak pembuluh darah. Keseluruhannya sering disebut organ pulau, untuk menyatakan ketidaktergantungannya secara morfologik dan fungsional. Masa utama sel pulau (sekitar 80 %) disusun oleh sel B (sel  $\beta$ ) yang diwarnai lemah, dan karena itu sel B terang (berwarna muda), yang memproduksi insulin.

### **3. Histopatologi pankreas**

Kerusakan pankreas yang terjadi akibat diabetes melitus dapat dilihat pada perubahan morfologi pulau Langerhansnya, baik diameter, jumlah pulau, jumlah sel endokrin dan persentase nekrosis sel yang terjadi.

**4.1 Jumlah pulau Langerhans.** Hewan percobaan DM akan mengalami penurunan jumlah pulau Langerhans, dibandingkan dengan hewan percobaan normal. Apabila jaringan pankreas normal diamati pada hewan percobaan, maka per lapang pandang pankreas ditemukan lebih dari dua buah pulau Langerhans. Sedangkan pada hewan percobaan DM tipe 2, kadang-kadang tidak satupun pulau Langerhan ditemukan (Andayani 2003).

**4.2. Nekrosis.** Nekrosis yaitu kematian sel akibat kerusakan yang fatal ditandai oleh kerusakan struktur dan fungsi sel secara menyeluruh yang diikuti dengan lisisnya sel dan peradangan jaringan sehingga terdapat ruang-ruang kosong pada pulau Langerhans disebabkan karean nekrosis sel  $\beta$  (Nurdiana 1998). Sel yang mengalami nekrosis dapat dilihat dari perubahan inti selnya yaitu adanya piknotik. Perubahan inti piknotik dengan ciri yang dapat diamati adalah inti sel yang mati menyusut, batasnya tidak teratur dan berwarna gelap. Proses ini dinamakan piknotis, sedangkan intinya disebut inti piknotik (Price & Wilson 1992).

### **4. Metode pembuatan preparat histopatologi**

Metode pembuatan preparat histopatologi menggunakan pewarna hematoxylin eosin (HE). Pewarnaan hematoxylin eosin adalah jenis pewarnaan rutin yang paling umum dipakai. Prosedur ini digunakan dalam proses pembuatan preparat histopatologi dari berbagai spesies hewan sakit atau mati, yang memerlukan pemeriksaan histopatologi untuk peneguhan diagnosis hewan yang

bersangkutan (Muntiha 2001). Pada pewarnaan HE, digunakan dua macam zat warna yaitu hematoksilin yang berfungsi untuk memulas inti sel dan memberikan warna biru (basofilik), serta eosin yang digunakan untuk memulas sitoplasma sel dan jaringan penyambung dan memberikan warna merah muda dengan nuansa yang berbeda (Jusuf 2009).

## **J. Landasan Teori**

Diabetes melitus (DM) didefinisikan sebagai suatu penyakit atau gangguan metabolisme kronis dengan multi etiologi yang ditandai dengan tingginya kadar gula darah disertai dengan gangguan metabolisme karbohidrat, lipid dan protein sebagai akibat insufisiensi fungsi insulin. Insufisiensi fungsi insulin dapat disebabkan oleh gangguan atau defisiensi produk insulin oleh sel-sel beta Langerhans kelenjar pankreas, atau disebabkan oleh kurang responsifnya sel-sel tubuh terhadap insulin (WHO 1999).

Hormon insulin mengendalikan kadar gula darah tubuh. Bila keadaan tubuh kekurangan insulin atau jumlah cukup tetapi tidak efektif akan menyebabkan hiperglikemia. Hiperglikemia didefinisikan sebagai kadar glukosa puasa yang lebih tinggi dari 100 mg/dL. Kadar glukosa serum puasa normal adalah 70 sampai 110 mg/dL. Glukosa difiltrasi oleh glomerulus dan hampir semuanya difiltrasi oleh tubuh ginjal selama kadar glukosa dalam plasma tidak melebihi 160-180 mg/dL (Price & Lorraine 2006).

Seseorang dapat dikatakan DM bila didiagnosa dengan kriteria diagnostik DM dan gangguan toleransi glukosa yaitu kadar glukosa darah sewaktu (plasma sebagian besar) vena  $\geq 200$  mg/dL, kadar glukosa darah puasa (plasma vena)  $\geq 126$  mg/dL, kadar glukosa plasma  $\geq 200$  mg/dL pada 2 jam sesudah beban glukosa 75 gram pada Test Toleransi Glukosa Oral (TTGO) (Perkeni 2011).

Penderita diabetes melitus terjadi perubahan histopatologi pualu Langerhans yang disebabkan oleh kondisi hiperglikemia pada penderita diabetes melitus. Hal tersebut terjadi karena hiperglikemia memicu pembentukan *reactive oxygen specific* yang dapat menyebabkan stres oksidatif dan mempengaruhi pankreas. Gambaran histopatologi pankreas pada kelompok tikus yang normal

adalah kondisi pulau Langerhans yang relatif rapat. Sedangkan pada kelompok diabetas, kondisi islet Langerhans mengalami kerusakan yang ditandai dari adanya ruang-ruang kosong dibagian tengah pulau Langerhans karena terjadi nekrosis dan degenerasi sel-sel endokrin pulau Langerhans, untuk mengetahui perubahan histopatologi pulau Langerhans baik jumlah pulau maupun persentase nekrosis sel endokrin pulau Langerhans pada jaringan pankreas menggunakan pewarnaan HE adalah morfologi umum jaringan pankreas meliputi keadaan sel-sel pada pulau Langerhans, adanya peradangan serta menghitung jumlah pulau Langerhans per lapang pandang.

Penelitian ini, menggunakan herba tanaman kitolod yang berkhasiat untuk penurunan kadar gula darah. Menurut Harbone (1987) tanaman ini sangat kaya kandungan kimia. Kandungan kimia yang sudah dikenal antara lain senyawa alkaloid, yaitu lobelin, lobelamin, dan isotomin. Daunnya mengandung alkaloid, saponin, flavonoid, dan poliferol. Daun kitolod juga diketahui memiliki efek sebagai obat asma, bronkitis, dan untuk mengobati sakit gigi. Getah tanaman mengandung racun, tetapi bagian tanaman yang lain memiliki efek antiradang, antineoplastik atau antikanker, anti inflamasi atau anti peradangan, analgesik atau penghilang rasa nyeri. Hemostatik atau menghentikan pendarahan. Menurut Burkill dan Allen, air yang diperoleh dari bagian tanaman kitolod dapat digunakan untuk mencegah dan mengobati iritasi mata, serta dapat dimanfaatkan sebagai penyegar mulut dan tenggorokan (LIPI 1978). Kitolod banyak di manfaatkan sebagai obat tradisional khususnya oleh masyarakat Jawa Barat dan Jawa Tengah untuk mengobati gangguan mata, seperti mata gatal, mata merah, bahkan untuk pengobatan katarak (Dalimartha 2008). Sejauh ini belum ada jurnal penelitian tanaman kitolod yang memiliki aktivitas sebagai antidiabetes. Menurut penelitian Masnunah (2016) pengaruh ekstrak etanol daun kitolod (*Iaurentia longiflora*) peroral terhadap jumlah neutrofil dan limfosit tikus wistar yang diinduksi methyl nitroso urea. Menurut penelitian Hapsari (2016), uji aktivitas sitotoksik ekstrak etanol, fraks polar, semipolar, dan nonpolar herba kitolod (*isotoma longiflora* (L.) terhadap sel mcf-7 yaitu 521,054; 213,294; 499,947; dan 239,431  $\mu\text{g/mL}$ .

Metode pengukuran kadar gula darah tikus diabetes yang digunakan dalam penelitian ini ialah metode GOD-PAP yang merupakan metode yang spesifik untuk melakukan pengukuran kadar gula dalam serum atau plasma melalui reaksi dengan glukosa oksidase yang akan membentuk intensitas warna yang sebanding dengan konsentrasi gula (glukosa) dalam serum atau plasma.

Proses penyarian pada penelitian ini menggunakan metode maserasi untuk mendapatkan ekstrak etanol herba kitolod. Keuntungan dari maserasi adalah dapat digunakan untuk menyari zat-zat yang tidak tahan panas pada pemanasan dan dengan alat yang sederhana. Kelemahannya adalah dalam penyariannya membutuhkan waktu yang lama serta penggojokkan yang selalu teratur.

Hewan uji yang digunakan adalah tikus. Tikus umumnya tenang, mudah ditangani dan tidak begitu fotophobia. Tikus putih yang dibiakkan lebih cepat dewasa dan lebih mudah berkembang biak. Tikus ini sangat cocok untuk dilakukan penelitian karena tikus bersifat responsif sehingga dapat menghasilkan data yang baik.

### **K. Hipotesis**

Dari tinjauan pustaka dapat diambil kesimpulan untuk menyusun hipotesis dalam melaksanakan penelitian ini adalah sebagai berikut :

Pertama, ekstrak etanol herba kitolod (*Isotoma longiflora* (L.)) dapat menurunkan kadar glukosa darah pada tikus diabetes.

Kedua, ekstrak etanol herba kitolod (*Isotoma longiflora* (L.)) memiliki dosis efektif 100 mg/kg dapat menurunkan kadar glukosa darah pada tikus diabetes.

Ketiga, ekstrak etanol herba kitolod (*Isotoma longiflora* (L.)) mempunyai efek meningkatkan ukuran dan densitas islet dan menurunkan persentase nekrosis sel islet pulau Langerhans pada organ pankreas tikus jantan galur Wistar.

## **BAB III**

### **METODE PENELITIAN**

#### **A. Populasi dan Sampel**

##### **1. Populasi**

Populasi pada penelitian ini adalah herba kitolod (*Isotoma longiflora* (L.) yang diambil dari daerah Harjosari Kabupaten Karanganyar Jawa Tengah.

##### **2. Sampel**

Sampel yang digunakan pada penelitian ini adalah herba kitolod (*Isotoma longiflora* (L.) secara acak berwarna hijau, tidak terlalu tua dan tidak terlalu muda, dan tidak rusak.

#### **B. Variabel Penelitian**

##### **1. Identifikasi variabel utama**

Variabel utama pada penelitian ini adalah ekstrak etanol herba kitolod (*Isotoma longiflora* (L.) hasil maserasi dengan pelarut etanol 70% terhadap kadar glukosa dengan metode GOD-PAP pada tikus yang diinduksi aloksan monohidrat. Variable utama kedua pada penelitian ini adalah efek antidiabetes ekstrak etanol herba kitolod terhadap histopatologi pankreas pada tikus putih jantan. Variabel utama ketiga pada penelitian ini adalah hewan uji tikus putih (*Rattus norvegicus*) galur Wistar.

##### **2. Klasifikasi variabel utama**

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

Variabel bebas adalah variabel yang sengaja diubah-ubah untuk dipelajari pengaruhnya terhadap variabel tergantung. Variabel bebas dalam penelitian ini adalah ekstrak etanol herba kitolod (*Isotoma longiflora* (L.) dalam variasi dosis.

Variabel tergantung merupakan variabel akibat dari variabel utama, variabel tergantung dalam penelitian ini adalah selisih kadar glukosa darah pada hewan uji setelah perlakuan dengan sebelum perlakuan.



Variabel kendali dalam penelitian ini adalah kondisi fisik hewan uji yang meliputi berat badan, usia, jenis kelamin, galur, kondisi laboratorium, dan praktikan.

### **3. Definisi operasional variabel utama**

Pertama, kitolod adalah herba kitolod yang dipetik dalam kondisi masih segar, berwarna hijau pada pagi hari yang diperoleh dari Kabupaten Karanganyar, Jawa Tengah.

Kedua, serbuk adalah serbuk dari herba kitolod yang dikeringkan dengan oven 40°C lalu dihaluskan dan diayak dengan pengayak ukuran 40.

Ketiga, ekstrak etanol herba kitolod adalah ekstrak yang diperoleh dengan cara maserasi serbuk kitolod menggunakan pelarut etanol 70% kemudian diuapkan dengan *vacuum rotary evaporator* selanjutnya pada *waterbath* untuk mendapatkan ekstrak kental.

Keempat, hewan uji dalam penelitian ini adalah tikus jantan galur wistar yang berumur 2-3 bulan dengan berat badan rata-rata 150-200 g yang diinduksi dengan aloksan 150 mg/kg BB sehingga mengalami diabetes.

Kelima, aloksan adalah senyawa diabetogenik yang digunakan untuk merusak sebagian atau merusak total organ pankreas tikus.

Keenam, metode GOD-PAP adalah metode untuk penetapan kadar gula darah yang diambil melalui vena orbita dan ditetapkan menggunakan alat spektrofotometer.

Ketujuh, dosis efektif adalah dosis yang memberikan setara dengan efek kontrol positif.

Kedelapan, kondisi histopatologi pankreas adalah meningkatkan ukuran dan densitas islet pulau Langerhans pankreas terhadap jumlah sel normal. meningkatkan ukuran dan densitas islet

## **C. Alat, Bahan dan Hewan Uji**

### **1. Alat**

Alat untuk maserasi antara lain nampan, ember, pisau, oven, kantong kresek, timbangan bahan, blender, *vacuum rotary evaporator*, *waterbath*, gelas kaca, gelas ukur, corong kaca, gelas Beaker, kain flannel, dan botol berwarna

gelap. Alat yang digunakan mengukur kadar glukosa darah adalah mikro hematocrit, spektrofotometer, tabung *centrifuge*, pipet mikro, kapiler, timbangan tikus, jarum suntik, neraca analitik, alat-alat gelas, cawan penguap, aluminium foil, sonde oral, kandang tikus, tempat pakan tikus.

## **2. Bahan**

**2.1 Bahan sampel.** Bahan sampel yang digunakan dalam penelitian ini adalah kitolod yang masih segar dan menempel pada pohon kitolod yang diperoleh dari Kabupaten Karanganyar, Jawa tengah.

**2.2 Bahan kimia.** Bahan kimia yang digunakan untuk pembuatan ekstrak adalah etanol 70%, untuk uji farmakologi digunakan aloksan monohidrat, Carboxy Methyl Cellulose (CMC) 0,5%, serbuk tablet glibenklamid, larutan fisiologis (NaCl 0,9%) bahan kimia yang digunakan adalah reagen glukosa, HCl 2%, serbuk Mg, alkohol 70%, asam klorida, amil alkohol, reagen Mayer, H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> pekat, asam borat, NaOH, eter, kloroform, asam asetat anhidrat, pereaksi Liebermann-Burchard, FeCl<sub>3</sub> 1%. Bahan untuk pengamatan histopatologi adalah formalin PA, larutan warna *Haematoxylin Eosin*, formaldehid, etanol, NaCl 0,9% (Otsuka), parafin, xylene dan alkohol.

## **3. Hewan uji**

Hewan dalam penelitian ini adalah tikus putih berjenis kelamin jantan galur Wistar, usianya 2-3 bulan dengan berat badan 150-200 g sebanyak 30 ekor.

## **D. Jalannya Penelitian**

### **1. Determinasi tanaman kitolod**

Tahap pertama dari penelitian ini adalah melakukan determinasi tanaman kitolod. Tujuan determinasi ini adalah untuk menetapkan kebenaran sampel yang digunakan pada penelitian ini terhadap kepustakaan dengan cara mencocokkan ciri-ciri morfologi antara tanaman (Backer 1986). Determinasi tanaman kitolod dilakukan di Bagian Laboratorium Fakultas Farmasi, Biologi Fakultas MIPA Universitas Sebelas Maret.

### **2. Pengumpulan dan pembuatan serbuk kitolod**

Tumbuhan kitolod pada penelitian ini diperoleh dari petani di daerah Tawangmangu, Karanganyar, Jawa Tengah. Keseluruhan bagian tumbuhan kitolod (herba kitolod) yang masih segar kemudian dicuci bersih dengan air mengalir. Tanaman kitolod yang diperoleh disortasi basah kemudian dicuci dengan air bersih menggunakan air mengalir dan ditiriskan, kitolod yang sudah dibersihkan tersebut dikeringkan dengan menggunakan oven pada suhu 50°C selama 4 hari, bahan yang telah dikeringkan, kemudian dihaluskan dengan blender menjadi serbuk lalu diayak dengan menggunakan pengayak no. 40.

### **3. Pembuatan ekstrak etanol kitolod**

Proses pembuatan ekstrak etanol herba kitolod dilakukan dengan cara maserasi (1:7,5) dengan menggunakan etanol 70% sebagai cairan pengekstraksi. Proses maserasi dilakukan dengan menggunakan botol kaca berwarna gelap untuk menghindari paparan sinar matahari langsung serta dilakukan dalam keadaan wadah tertutup rapat sehingga etanol tidak mudah menguap pada suhu kamar. Serbuk herba kitolod ditimbang sebanyak 700 gram dan ditambahkan pelarut etanol 70% sebanyak 5250 ml, kemudian dimaserasi selama 5 hari dengan selalu dilakukan pengocokan minimal 3 kali sehari. Setelah 5 hari hasil maserasi disaring menggunakan kain flanel dan dilanjutkan dengan menggunakan kertas saring. Ampas atau residu yang tersisa kemudian dialiri kembali (1:2,5) dengan etanol 70% sebanyak 1750 ml kemudian dibiarkan selama 2 hari. Setelah 2 hari hasil maserasi disaring menggunakan kain flanel dan dilanjutkan dengan menggunakan kertas saring, sehingga diperoleh seluruh sari sebanyak 100 bagian. Filtrat yang diperoleh kemudian dipekatkan dengan vakum rotary evaporator dan dilanjutkan pada penangas pada suhu 40°C sehingga menjadi ekstrak etanol kitolod.

### **4. Penetapan kadar air herba kitolod**

Penetapan kadar air kitolod dilakukan dengan cara menimbang serbuk herba kitolod sebanyak 20 gram, dimasukkan dalam labu destilasi dan ditambahkan pelarut *xylene* sampai serbuk terendam, kemudian memasang alat *Sterling-Bidwell*, dipanaskan dengan api kecil, setelah mendidih apinya diperbesar. Pemanasan dihentikan bila pada tetesan sudah tidak ada air yang menetes dan diukur kadar airnya dengan menggunakan alat *Sterling-Bidwell* dengan melihat

volume pada skala alat tersebut selanjutnya dihitung kadar air dalam satuan persen.

#### **5. Penetapan susut pengeringan kitolod**

Penetapan susut pengering serbuk herba kitolod menggunakan alat *moisture balance*. Suhu yang digunakan adalah 105°C dan waktu pengeringan secara manula hingga kering, kemudian dimasukkan dalam neraca timbang dengan posisi 0,00 dan memasukan serbuk herba kitolod 2 gram. Menunggu sampai alat berbunyi yang menandakan hasil analisa telah selesai. Susut pengeringan memenuhi syarat dimana suatu serbuk simplisia tidak boleh lebih dari 10%.

#### **6. Penetapan berat jenis larutan ekstrak 1%**

Ekstrak herba kitolod sebanyak 1% dalam etanol 70% digunakan untuk mengukur berat jenis. Prosedur penetapan berat jenis menggunakan piknometer bersih, kering dan telah dikalibrasi dengan menetapkan berat piknometer pada suhu 25<sup>0</sup>. Diatur hingga suhu zat uji lebih kurang 20<sup>0</sup>C, dimasukkan ke dalam piknometer. Diatur suhu piknometer yang telah diisi hingga suhu 25<sup>0</sup>C, buang kelebihan zat uji dan ditimbang. Kurangkan berat piknometer kosong dari berat piknometer yang telah diisi.

Berat jenis suatu zat adalah hasil yang diperoleh dengan membagi berat zat dengan berat air, dalam piknometer, kecuali dinyatakan lain dalam monografi keduanya ditetapkan pada suhu 25<sup>0</sup>C (Depkes 1995).

#### **7. Identifikasi kandungan kimia**

Senyawa kimia yang terkandung dalam kitolod adalah senyawa mengandung saponin, flavonoid, alkaloid, tanin.

Pada senyawa identifikasi yang terkandung dalam ekstrak kitolod berdasarkan reaksi warna ini menggunakan tabung reaksi dan bahan-bahan kimia seperti berikut:

**7.1 Saponin.** Dimasukan 10 ml air panas dalam tabung reaksi dinginkan kemudian ditambahkan 0,5 g ekstrak herba kitolod dan dikocok kuat-kuat selama 1- detik. Uji positif ditunjukkan dengan terbentuknya buih yang stabil selama tidak

kurang dari 10 menit setinggi 1-10 cm. pada penambahan HCl 2% buih tidak hilang (Anonim 1980).

**7.2 Flavonoid.** Ekstrak herba kitolod 2 mg ditambah ml air suling dipanaskan selama 1 menit, disaring dan diambil filtratnya. Filtrat ditambah 0,1 g serbuk Mg, 2 ml larutan alkohol-asam klorida ( 1:1 ) dan pelarut amil alcohol. Campuran ini dikocok kuat-kuat, kemudian dibiarkan memisah. Reaksi positif ditunjukkan dengan warna merah atau kuning atau jingga pada amil alkohol (Anonim 1980).

**7.3 Alkaloid.** Ekstrak etanol herba kitolod sebanyak 2 ml ditambahkan 1 ml HCl 2N dan aquadest. Lalu dipanaskan diatas penangas air selama 2 menit, didinginkan dan disaring. Filtrat yang diperoleh digunakan untuk mencampurkan pereaksi Mayer dan dragendroff. Filtrat diambil 3 tetes lalu ditambahkan 2 tetes pereaksi Mayer akan menghasilkan endapan putih atau kuning. Selanjutnya filtrat diambil 3 tetes, lalu ditambahkan 2 tetes pereaksi Dragendroff, reaksi positif jika terbentuk endapan menggumpal coklat keruh (Harbone 1987).

**7.4 Tanin.** Ekstrak herba kitolod ditambah 10 ml air panas, kemudian dipanaskan selama 15 menit dan disaring. Filtrat yang diperoleh di sebut larutan B. Sebanyak 5 ml larutan B ditambah  $FeCl_3$  1%. Reaksi positif jika terbentuknyawarna biru tua atau hitam kehijauan (Adawiah 2016).

## **8. Pembuatan sediaan uji**

**8.1 Sediaan suspensi CMC Na 0,5%.** CMC Na konsentrasi 0,5% dibuat dengan cara menimbang serbuk CMC Na sebanyak 500 mg kemudian dimasukkan ke dalam cawan penguap dan ditambah 10 ml aquadest. Selanjutnya dipanaskan sampai mengembang kemudian dimasukkan ke dalam mortir dan menggerusnya dan menambahkan sedikit demi sedikit aquadest hingga 100 ml, diaduk hingga homogen. Larutan yang digunakan sebagai kontrol negatif.

**8.2 Sediaan glibenklamid.** Suspensi glibenklamid konsentrasi 0,009% dibuat dengan cara mensuspensikan 360 mg serbuk tablet glibenklamid masukan dalam mortir lalu digerus, kemudian ditambahkan dengan larutan suspensi CMC Na yang telah dikembangkan dengan air panas tunggu 10 menit sebanyak 100 ml

sampai homogen, dimasukkan dalam labu takar 5 ml sampai volume 5 ml dan aduk hingga homogen. Perhitungan dosis dapat dilihat pada Lampiran 13.

**8.3 Sediaan uji.** Banyaknya ekstrak etanol herba kitolod yang akan digunakan dihitung berdasarkan berat dari masing-masing tikus, CMC Na di taburkan dalam mortir yang berisi air panas 10 ml di tunggu 10 menit kemudian hingga homogen. Ekstrak ditambahkan dalam muchilago CMC Na digerus hingga homogen kemudian di tambahkan air panas sebanyak 100 ml . Perhitungan dosis ekstrak etanol herba kitolod dapat dilihat pada Lampiran 13.

**8.4 Aloksan monohidrat.** Larutan aloksan monohidrat konsentrasi 1% dibuat dengan cara melarutkan 1 g aloksan monohidrat dalam larutan garam fisiologis 0,9 % pada volume 100 ml.

## 9. Penentuan dosis

**9.1 Dosis glibenklamid.** Dosis glibenklamid pada manusia 5 mg. Faktor konversi manusia dengan berat badan 70 kg ke tikus dengan berat badan 200 g adalah 0,018. Dosis glibenklamid untuk tikus dengan berat badan 200 g adalah 0,09 mg.

**9.2 Dosis sediaan uji.** Diberikan berdasarkan dosis 100 mg/kg BB tikus dari hasil orientasi dengan dasar dari penelitian pengaruh ekstrak etanol daun kitolod (*Iaurentia longiflora*) peroral terhadap jumlah neutrofil dan limfosit tikus wistar yang diinduksi methyl nitroso urea.

**9.3 Dosis aloksan monohidrat.** Dosis aloksan yang digunakan untuk membuat tikus diabetes adalah 150 mg/kg BB secara intraperitoneal. Tikus yang digunakan adalah tikus yang memiliki berat sekitar 200 g, sehingga didapatkan dosis aloksan yang digunakan pada penelitian ini adalah 30 mg/200 g berat badan tikus.

## 10. Perlakuan hewan uji

Pengujian dilakukan dengan metode induksi aloksan terhadap 6 kelompok tikus. Tikus ditimbang dan masing-masing diberi tanda pengenalan, tikus yang digunakan sebanyak 30 ekor. Semua tikus dipuasakan terlebih dahulu selama 10 jam dan diperiksa kadar gula darah awalnya ( $T_0$ ) tikus selanjutnya diinduksi dengan aloksan kecuali pada tikus kelompok 1 sebagai kontrol normal pada

penelitian ini. Induksi aloksan secara intraperitoneal dengan dosis 150 mg/kg BB kemudian dilihat kadar gula darahnya pada hari ke-3. Jika tikus dikatakan kadar gula darah normal. Secara acak tikus dibagi menjadi 6 kelompok, masing-masing kelompok terdiri dari 5 ekor. Pemberian sediaan uji secara peroral selama 14 hari sejak dinyatakan diabetes sesuai kelompok.

Kelompok I merupakan kontrol normal atau tanpa perlakuan, kelompok II merupakan kontrol negatif atau kontrol diabetes dimana hewan uji diberi CMC 0,5% tiap harinya sebagai larutan pembawa. Kelompok III, IV, V merupakan sediaan uji ekstrak herba kitolod dengan dosis 50 mg/kg BB, 100 mg/kg BB, 200 mg/kg BB. Kelompok VI merupakan kontrol positif atau kontrol pembanding dengan pemberian glibenklamid 0,09 mg. Perlakuan hewan uji tikus dalam uji aktifitas antidiabetes dapat dilihat di Tabel 1.

Pada hari ke-7 dan ke-14 perlakuan dilakukan pengambilan darah pada hewan uji melalui pembuluh darah vena orbitalis. Kadar glukosa darah ditempatkan dengan metode GOD-PAP, cuplikan darah yang diperoleh ditampung dalam tabung serologi. Disentrifugasi dengan kecepatan 400 rpm selama 15 menit untuk memisahkan serumnya, diambil serumnya kemudian ke dalam masing-masing tabung. Volume pereaksi larutan, blanko dan sampel pada pengukuran kadar glukosa darah dapat dilihat di Table 2. Pada hari ke-15 semua tikus dikorbankan dengan cara didislokasi lehernya, leher dimana ekor tikus dipegang kemudian ditempatkan pada suatu permukaan dan diberikan meregangkan badannya. Tengkuik tikus ditempatkan dengan suatu penahan (pensil atau batang logam) yang dipegang dengan tangan kiri, ekornya ditarik dengan tangan kanan dengan kertas, sehingga lehernya akan terdislokasi dan tikus akan terbunuh. Tikus kemudian dibedah mulai dari bagian perut ataupun uterus menggunakan gunting bengkok. Organ pankreas kemudian diambil untuk dilakukan pengamatan dengan menilai jumlah sel endokrin, luas, diameter, dan densitas pulau Langerhans.

Tikus kemudian disanitasikan dengan memasukan semua sisi organ tikus yang tidak terpakai ke dalam kantong plastik. Kantong plastik ditutup dan pastikan tidak ada bau yang keluar dari plastik. Kantong plastik berisi sisa organ

diserahkan ke kandang tikus bagian Farmakologi dan Toksikologi untuk dilakukan insinerasi.

**Tabel 1. Perlakuan hewan uji tikus dalam uji aktifitas antidiabetes**

Kelompok	Induksi aloksan	Glibenklamid	CMC 0,5 %	1/2	1	2
Kontrol sehat	-	-	-	-	-	-
Kontrol CMC 0,5%	√	-	√	-	-	-
Kel. ½ DE	√	-	-	√	-	-
Kel. 1 DE	√	-	-	-	√	-
Kel. 2 DE	√	-	-	-	-	√
Kontrol positif	√	√	-	-	-	-

**Tabel 2. Volume pereaksi larutan standar, blangko dan sampel pada pengukuran spektrofotometer**

Bahan	Komposisi Larutan Uji		
	Standar	Blangko	Sampel
Serum	-	-	10 µl
Larutan standar	10 µl	-	-
Aquadest	-	10 µl	-
Reagen	1000 µl	1000 µl	1000 µl

Bahan-bahan tersebut direaksikan dan diinkubasi pada temperature 20-25°C selama 20 menit. Kemudian diukur kadar glukosa darahnya dengan spektrofotometer standar.

## 11. Histopatologi organ pankreas

**11.1 Pembuatan preparat histopatologi.** Pertama, organ pankreas tikus yang telah didekapitasi diambil dan dimasukkan dalam pot plastik. Organ langsung difiksasi dengan menggunakan formalin 10% PA agar preparat tidak cepat rusak, dan diberi label kode tikus sesuai kelompok perlakuan. Setelah itu, dilakukan pemotongan pada organ pankreas yang telah difiksasi tadi dan dimasukkan ke dalam tissue cassette dan dicuci di bawah air mengalir selama 30 menit.

Kedua, tahap dehidrasi yaitu proses penarikan cairan jaringan. Jaringan pankreas yang telah dimasukkan ke dalam tissue cassette direndam dengan menggunakan etanol secara bertingkat berurut-urutan etanol 70%, 80%, dan 90% masing-masing selama 1 jam, kemudian etanol absolut I selama 1 jam, etanol absolut II selama 1 jam dan etanol absolut III selama 1 jam.



Ketiga, dilakukan proses penjernihan (*clearing*), dengan menggunakan larutan xylena, untuk menghilangkan alkohol (dealkoholisasi). Dimulai dengan memasukan jaringan pankreas ke dalam xylena I selama 20 menit, kemudian xylena II selama 20 menit dan selanjutnya xylena III selama 20 menit.

Keempat, dilakukan proses infiltrasi parafin. Organ dimasukan ke dalam parafin panas, untuk membuat jaringan menjadi lebih keras dan lebih mudah dipotong dengan mikrotom. Proses pertama yang dilakukan adalah dengan memasukan jaringan kedalam parafin I, parafin II dan parafin III masing-masing selama 1 jam pada suhu 60°C.

Kelima, dilakukan proses selanjutnya yaitu tahap *embedding* atau penanaman jaringan dalam parafin, dengan memasukan jaringan ke dalam blok parafin. Pemotongan dengan mikrotom menghasilkan lapisan dengan ketebalan 5 mikrometer, lapisan jaringan diletakan di atas kaca objek untuk siap diwarnai.

Keenam, tahap pewarnaan hematoxylin eosin. Tahap ini diawali dengan deparafinisasi dengan xylena yang bertujuan untuk menghilangkan parafin pada jaringan. Dimulai dengan memasukan jaringan ke xylena 1 selama 3 menit, dan xylena II selama 3 menit.

Ketujuh, dilakukan proses rehidrasi yang bertujuan mengembalikan cairan ke dalam jaringan dengan menggunakan larutan etanol. Tahap pertama yaitu dengan memasukan jaringan ke dalam etanol absolut I dan absolut II masing-masing selama 3 menit, selanjutnya jaringan dimasukan ke dalam etanol 80% dan 70% secara bergantian masing-masing selama 3 menit.

Kedelapan, dilakukan tahap *staining*, dimana jaringan dimasukan ke dalam larutan pewarna. Jaringan dimasukan ke dalam pewarna hematoxylin selama 10 sampai 20 menit, kemudian diamati apakah jaringanya sudah berwarna ungu. Selanjutnya, jaringan yang sudah diwarnai tadi dicuci di bawah air mengalir selama 10 menit. Setelah itu, pewarnaan dilanjutkan dengan memasukan sediaan ke dalam pewarna eosin selama 10 menit.

Kesembilan, dilakukan rehidrasi, bertujuan untuk menarik air dan jaringan agar awet dan tidak cepat rusak. Jaringan dicelupkan 4 kali secara berurutan ke dalam larutan etanol 70%, 80% dan 90% masing-masing selama 30 detik.

Selanjutnya direndam dengan etanol absolut dicelupkan sebanyak 4 kali, masing-masing selama 1 menit.

Kesepuluh, dilakukan proses penjernihan atau *clearing*, dengan memasukan jaringan ke dalam larutan xylene dan dilakukan *mounting*, yaitu penutupan sediaan dengan menggunakan gelatin sebagai perekat dan ditutup dengan deg gelas (Lerebulan 2014).

**11.2 Pemeriksaan histopatologi.** Untuk dapat mengamati seluruh lapang pandang pada daerah-daerah yang ditentukan, maka preparat jaringan pankreas diamati pada perbesaran 40-100x. Daerah yang diamati adalah daerah asinar yang merupakan tempat terdistribusinya sel-sel islet pulau Langerhans yang membentuk kumpulan terdistribusinya sel-sel islet yang membentuk kumpulan tersendiri yang disebut pulau Langerhans dan sel dalam pulau Langerhansnya. Pada penelitian ini, preparat diamati dengan mikroskop cahaya Olymplus CH20, perbesaran 40-100x.

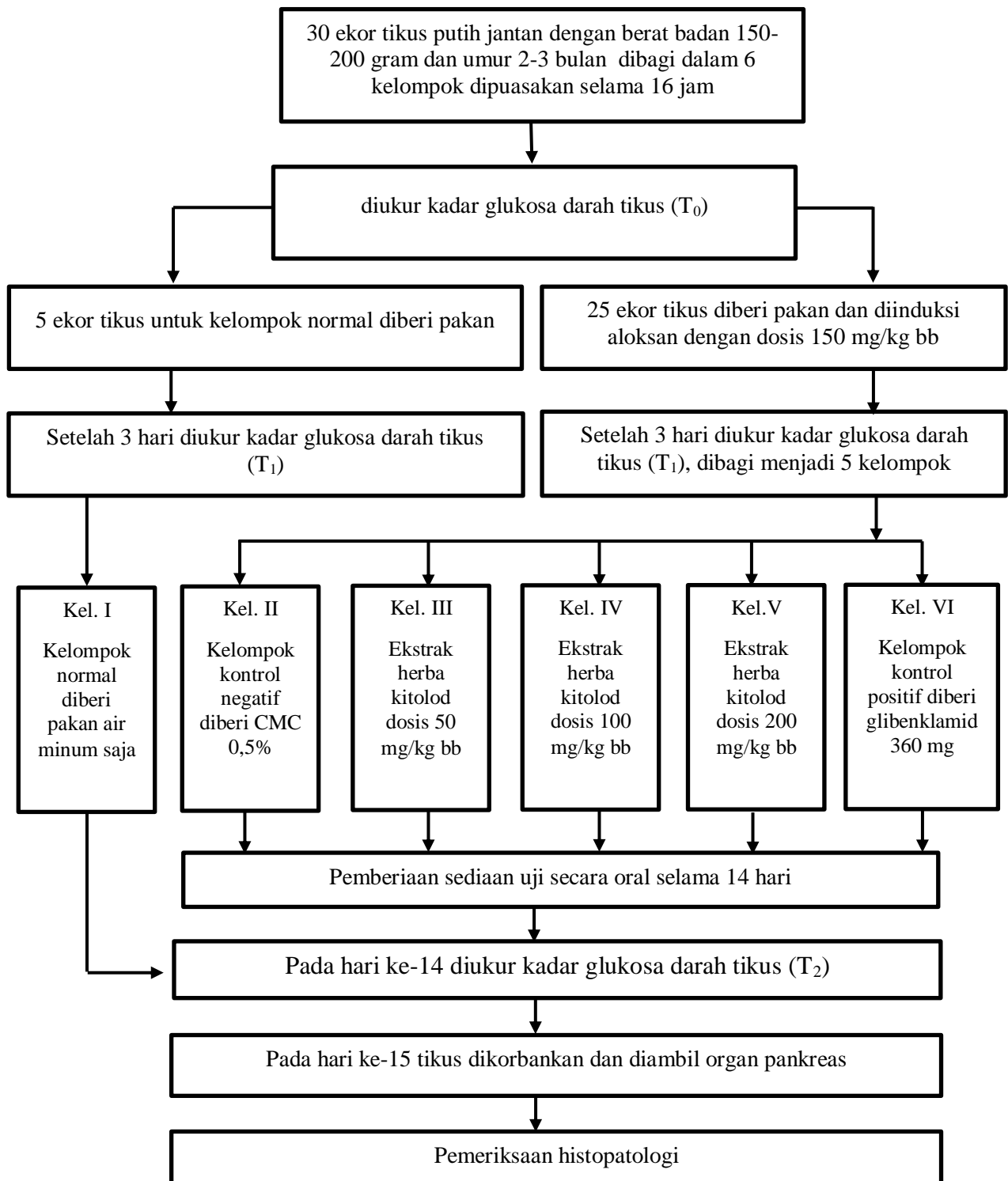
### E. Analisis Statistik

Data analisis statistik yang digunakan dalam pengolahan dan penurunan kadar glukosa darah yaitu :

Tahap pertama dalam data analisis yaitu distribusi normal menggunakan informasi dari uji saphiro-wilk. Data memiliki distribusi normal jika  $p > 0,05$  dan memiliki distribusi tidak normal jika  $p < 0,05$ .

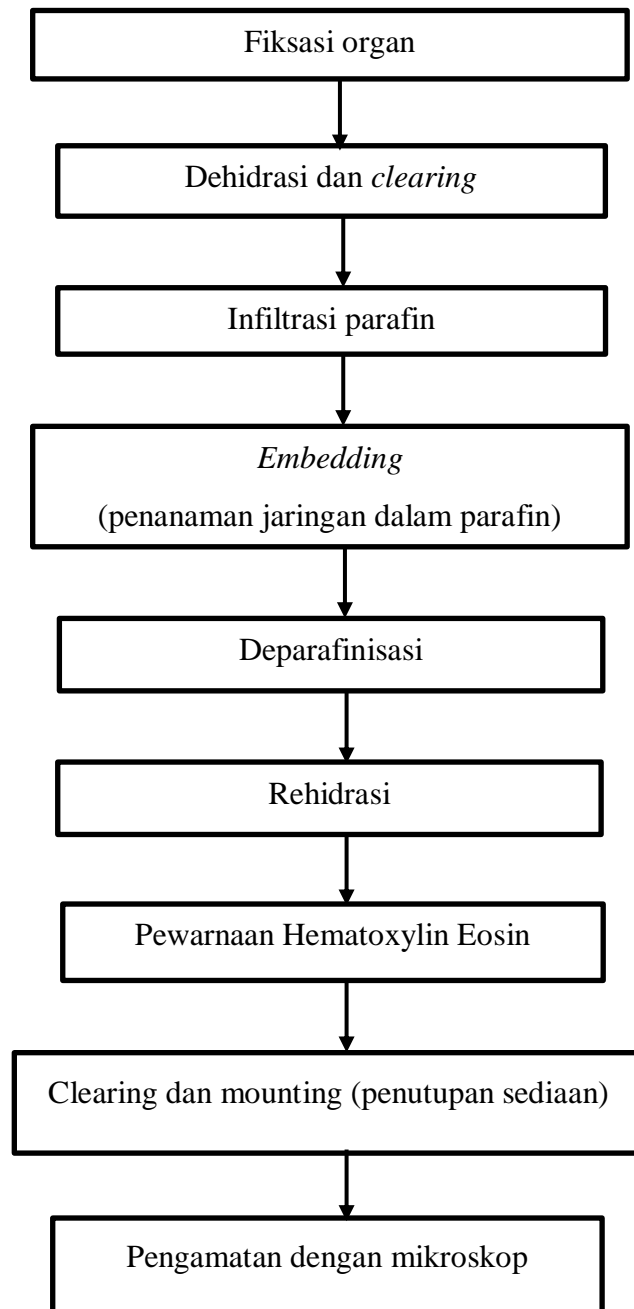
Tahap berikutnya dilakukan uji *Pairet sampel t-test* untuk mendapatkan informasi ada tidaknya perbedaan bermakna antara sesama kelompok perlakuan dengan hari yang berbeda. dan uji *One Way ANOVA* untuk mendapatkan informasi ada tidaknya perbedaan bermakna antara kelompok perlakuan. Bila  $p < 0,05$  memiliki arti bahwa tidak terdapat perbedaan bermakna antara kelompok apapun. Apabila terdapat perbedaan bermakna maka dilakukan uji *Tukey Post Hoc test* untuk mengetahui sebenarnya kelompok-kelompok mana yang memiliki perbedaan itu.

### F. Skema Penelitian



Gambar 3. Skema pengujian antidiabetes dengan tikus yang diinduksi aloksan.

### G. Alur Pemeriksaan Histopatologi



Gambar 4. Alur Pemeriksaan Histopatologi

**BAB IV**  
**HASIL PENELITIAN DAN PEMBAHASAN**

**1. Hasil determinasi tanaman**

Tanaman kitolod yang digunakan dalam penelitian ini telah dilakukan determinasi, dinyatakan bahwa kitolod adalah benar-benar *Hippobroma longiflora* yang dimaksudkan, sehingga kitolod ini yang akan digunakan selanjutnya dalam penelitian. Data mengenai kebenaran hasil determinasi dapat dilihat pada kunci determinasi di bawah ini :

1b-2b-3b-4b-12b-13b-14b-17b-18b-19b-20b-21b-22b-23b-24b-25b-26b-27a-28b-29b-30b-31b-403b-404b-405b-414a-415a-416b-417b-418a-419c-420b-421b-422d-436b-428b-429b-433b-434b-435b-436b-437a\_\_\_\_\_171.

**Campanilaceae** 1b\_\_\_\_\_2. *Hippobroma*

1a\_\_\_\_\_ *Hippobroma longiflora* (L.) G.Don. Hasil determinasi tanaman dapat dilihat pada Lampiran 1.

**2. Pengumpulan dan pembuatan serbuk kitolod**

Berat herba kitolod yang diperoleh dari daerah Karanganyar, Tawangmangu sebanyak 7 kg. Sebelum simplisia dikeringkan menggunakan oven dan kemudian dihaluskan menjadi serbuk terlebih dahulu, semua herba kitolod dibersihkan menggunakan air mengalir agar bebas dari kotoran yang menempel. Herba kitolod yang telah bersih kemudian di oven pada suhu 50<sup>0</sup>C selama 4 hari, kemudian setelah kering simplisia digiling sampai halus dan diayak menggunakan ayakan nomor 40. Simplisia dibuat menjadi serbuk dengan tujuan untuk memperluas permukaan partikel simplisia yang kontak dengan pelarut sehingga penyaringan dapat berlangsung secara efektif. Hasil presentasi dapat dilihat pada Tabel 3 dan Lampiran 9.

**Tabel 3. Presentasi rendemen bobot kering terhadap bobot basah herba kitolod**

Simplisia	Berat basah (kg)	Berat kering (kg)	Rendemen (%)
Kulit batang faloak	5,8	3,9	67%

### 3. Pembuatan Ekstrak Etanol Herba Kitolod

Proses pembuatan ekstrak etanol herba kitolod dilakukan dengan cara maserasi (1:7,5) dengan menggunakan etanol 70% sebagai cairan pengekstraksi. Proses maserasi dilakukan dengan menggunakan botol kaca berwarna gelap untuk menghindari paparan sinar matahari langsung serta dilakukan dalam keadaan wadah tertutup rapat sehingga etanol tidak mudah menguap pada suhu kamar. Serbuk herba kitolod ditimbang sebanyak 700 gram dan ditambahkan pelarut etanol 70% sebanyak 5250 ml, kemudian dimaserasi selama 5 hari dengan selalu dilakukan pengocokan minimal 3 kali sehari. Setelah 5 hari hasil maserasi disaring menggunakan kain flanel dan dilanjutkan dengan menggunakan kertas saring. Ampas atau residu yang tersisa kemudian dialiri kembali (1:2,5) dengan etanol 70% sebanyak 1750 ml kemudian dibiarkan selama 2 hari. Setelah 2 hari hasil maserasi disaring menggunakan kain flanel dan dilanjutkan dengan menggunakan kertas saring. Hasil maserasi diuapkan dengan *rotary evaporator* dan oven sampai berbentuk ekstrak kental. Ekstrak kental yang diperoleh kemudian dilakukan pengujian organoleptis yang bertujuan untuk mengetahui sifat fisik ekstrak yaitu berbentuk kental dengan warna coklat pekat dan berbau khas. Ekstrak selanjutnya ditimbang untuk mengetahui persentase rendemen. Hasil rendemen untuk bobot serbuk sebanyak 700 gr menghasilkan bobot ekstrak sebanyak 300 gr adalah zat aktif yang terkandung dalam ekstrak etanol 70% herba kitolod. Hasil rendemen ekstrak etanol 70% herba kitolod dapat dilihat pada Tabel 4 dan Lampiran 11.

**Tabel 4. Hasil rendemen ekstrak etanol 70% herba kitolod**

<b>Bobot serbuk (gram)</b>	<b>Bobot ekstrak (gram)</b>	<b>Rendemen (%)</b>
700	300	42,857

### 4. Hasil Penetapan Kadar Air Serbuk Herba Kitolod

Penetapan kadar air herba kitolod menggunakan alat *Sterling-Bidwell*. Cairan pembawa yang digunakan adalah *xylene* karena *xylene* memiliki titik didih lebih tinggi dari pada air dan tidak bercampur dengan air sehingga memudahkan

dalam penetapan kadar air. Hasil perhitungan penetapan kadar air dapat dilihat pada Tabel 5 dan Lampiran 10.

**Tabel 5. Hasil penetapan kadar air herba kitolod**

<b>Berat basah (g)</b>	<b>Volume terbaca (mL)</b>	<b>Kadar (%)</b>
20,0	1,6	8
20,0	1,6	7,5
20,0	1,5	7,5
Rata-rata		7,6±0,29

Dari hasil penetapan kadar air serbuk simplisia herba kitolod dapat dilihat bahwa serbuk herba kitolod memiliki kadar air 7,6% (Perhitungan dapat dilihat pada lampiran 10). Hasil penetapan kadar air yang memenuhi persyaratan oleh Kep.Menkes.RI No: 661/Menkes/SK/VII/1994 dimana kadar air tidak boleh kurang dari 10%. Hal ini dimaksudkan untuk mengetahui ketahanan suatu bahan selama penyimpanan agar terhindar dari pengaruh aktivitas mikroorganisme. Kandungan air pada suatu bahan yang terlalu tinggi dapat membuat bahan tidak tahan terhadap penyimpanan dalam jangka waktu yang lama karena memungkinkan kerusakan bahan akibat jamur.

##### **5. Hasil Penetapan Susut Pengeringan Serbuk Herba Kitolod**

Serbuk herba kitolod yang diperoleh dilakukan penetapan susut pengeringan dengan menggunakan alat *moisture balance* yang bertujuan untuk mengetahui kadar lembab dalam simplisia. Kadar lembab simplisia yang kurang dari 10 % dapat menghentikan reaksi enzimatik dan mencegah penurunan mutu atau perusakan simplisia (Depkes 1985). Persyaratan kadar lembab untuk ekstrak etanol tidak boleh lebih dari 30% (Voigt 1994). Hasil perhitungan penetapan kadar kelembaban dapat dilihat dalam Tabel 6.

**Tabel 6. Hasil penetapan susut pengeringan serbuk tanaman**

<b>Simplisia</b>	<b>Berat awal (g)</b>	<b>Persentase (%)</b>
	2,00	8,2
herba kitolod	2,00	8,5
	2,00	9,0
Rata-rata		8,6±0,40

## 6. Hasil Penetapan Berat Jenis Ekstrak Etanol Herba Kitolod

Penetapan berat jenis ekstrak dilakukan untuk memberikan batasan tentang besarnya massa persatuan volume yang merupakan parameter khusus ekstrak cair sampai ekstrak pekat (kental) yang masih dapat dituang (Depkes RI 2000). Bobot jenis ekstrak diperoleh dari hasil pengurangan antara berat *piknometer* yang telah diisi dengan berat *piknometer* suhu 25°C. Adapun tujuan menentukan berat jenis ekstrak yaitu memberikan batasan tentang besarnya masa per satuan volume yang merupakan parameter khusus ekstrak cair sampai ekstrak pekat (kental) yang masih dapat dituang. Memberikan gambaran kandungan kimia terlarut. Hasil penetapan berat jenis ekstrak yang diperoleh dapat dilihat pada Table 7 dan perhitungan penetapan berat jenis ekstrak dapat dilihat pada Lampiran 12.

**Tabel 7. Hasil penetapan berat jenis ekstrak herba kitolod**

Berat ekstrak (g)	Volume air (ml)	Berat jenis ekstrak (g/ml)
39,9653	49,7368	0,8035

## 7. Identifikasi Kandungan Kimia Ekstrak Etanol Herba Kitolod

Ekstrak Etanol herba kitolod dilakukan uji kualitatif menggunakan reaksi warna untuk mengetahui kandungan kimia yang terdapat didalam herba kitolod seperti flavonoid, tanin, saponin, alkaloid.

**Tabel 8. Hasil identifikasi kandungan kimia ekstrak herba kitolod**

Pemeriksaan	Pereaksi	Hasil	Pustaka
Flavonoid	Ekstrak + serbuk Mg 0,1 gram + HCl 5 tetes	Terbentuk warna kuning	Positif apabila terbentuknya warna merah atau kuning (Anonim 1980).
Tanin	Ekstrak + 20 ml air panas, disaring + FeCl <sub>3</sub> 5 tetes	Terbentuk warna hitam kehijauan	Positif apabila terbentuk warna hitam kehijauan (Depkes 1995)
Saponin	Ekstrak + HCl 2N 1 tetes	Terbentuk buih yang mantap selama tidak kurang dari 10 menit setinggi 1 cm sampai 10 cm	Terbentuk buih yang mantap selama ± dari 10 menit setinggi 1 cm sampai 10 cm (Anonim 1980).
Alkaloid	Ekstrak + Reagen Mayer 2 tetes	Terbentuk endapan putih atau kuning	Endapan endapan putih atau kuning (Harbone 1987).
	Ekstrak + Reagen Dragendrof 2 tetes	Terbentuk warna coklat sampai hitam	Endapan berwarna coklat sampai hitam (Depkes 1980).



Berdasarkan hasil identifikasi kualitatif terhadap ekstrak herba kitolod pada Tabel 8, dapat diketahui bahwa herba kitolod positif mengandung senyawa flavonoid, tanin, saponin, dan alkaloid. Hal ini dapat diketahui dengan membandingkan hasil uji kualitatif yang dilakukan dengan pustaka. Hasil identifikasi kandungan kimia ekstrak etanol herba kitolod secara kualitatif dapat dilihat pada Lampiran 8.

## 8. Hasil Pengukuran berat badan tikus

Hewan uji yang digunakan dalam penelitian ini adalah tikus putih jantan galur Wistar yang diperoleh dari Laboratorium Gizi, Pusat Studi Pangan dan Gizi Universitas Gadjah Mada. Langkah awal sebelum dilakukan perlakuan ialah hewan uji diaklimatisasi selama 7 hari kemudian dipuasakan terlebih dahulu selama 10 jam. Tujuan dipuasakan terlebih dahulu ialah untuk menghindari pengaruh makanan yang dapat mempengaruhi kadar glukosa darah tikus. Setelah dipuasakan dilakukan penimbangan berat badan dan pengambilan darah untuk mengetahui kadar gula darah awal ( $T_0$ ).

Penimbangan berat badan hewan uji dilakukan mulai pada hari ke-0 sebelum darah hewan uji diambil sebagai  $T_0$  untuk memastikan kondisi hewan uji antara kelompok perlakuan sama. Selanjutnya pengukuran berat badan hewan uji dilakukan setiap kali pengambilan darah yaitu ada hari ke-4 setelah induksi aloksan, hari ke-7 dan hari ke-14 setelah pemberian perlakuan untuk melihat perubahan yang terjadi pada berat badan tikus pada masing-masing perlakuan sebelum dan sesudah diberikan perlakuan. Perhitungan rata-rata berat badan tikus dapat dilihat pada Tabel 9 dan Lampiran 25.

**Tabel 9. Rata-rata berat badan tikus**

Kelompok	Rata-rata			
	T0	T1	T2	T3
Normal	196,6±1,34	202,4±1,81	208±2,73 <sup>bc</sup>	213,8±2,48 <sup>bc</sup>
Kontrol diabetes	190,6±3,13	189±3,08	183,4±4,09 <sup>ac</sup>	180,2±2,86 <sup>ac</sup>
Kitolod 50 mg/kg	192±5,701	190±5,61	194,2±5,26 <sup>ab</sup>	198,8±6,26 <sup>ab</sup>
Kitolod 100 mg/kg	196,2±2,94	193,8±3,11	198±3,31 <sup>ab</sup>	204±3,53 <sup>ab</sup>
Kitolod 200 mg/kg	189,8±1,92	187,8±2,28	194,4±3,04 <sup>ab</sup>	201±1,58 <sup>ab</sup>
Pembanding	191±4,12	189,4±4,92	195,4±4,15 <sup>ab</sup>	200±5,43 <sup>ab</sup>

Keterangan :

Kontrol diabetik : kelompok kontrol negatif (CMC Na 0,5%)

Pembanding : kelompok kontrol positif (Glibenklamid 360 mg/Kg BB)

a : berbeda signifikan dengan kelompok kontrol normal

b : berbeda signifikan dengan kelompok kontrol diabetes

c : berbeda signifikan dengan kelompok kontrol glibenklamid

Berdasarkan rata-rata berat badan hewan uji pada Tabel 9 yang digunakan sebagai indikator untuk memastikan tingkat penyerapan glukosa, menunjukkan bahwa pada kelompok normal terjadi peningkatan berat badan hewan uji. Berdasarkan stastitika uji *Paired-Sampel T Test* menunjukkan ada beda signifikan (0,001) antara sebelum penimbangan berat badan tikus ( $T_0$ ) dan sesudah penimbangan berat badan tikus ( $T_1$ ), dan menurut uji ANOVA pada kelompok ( $T_1$ ) terdapat perbedaaan yang signifikan ( $P < 0,05$ ). Hal ini menunjukkan bahwa peningkatan berat badan pada kelompok normal disebabkan oleh kondisi hewan uji yang sehat, asupan makanan tercukupi dan penyerapan glukosa serta nutrisi lainnya yang normal.

Pada kelompok kontrol diabetes terjadi penurunan berat badan hewan uji setelah diinduksi aloksan secara intraperitoneal. Berdasarkan stastitika uji *Paired-Sampel T Test* menunjukkan ada beda signifikan (0,016) antara sebelum penimbangan berat badan tikus ( $T_0$ ) dan sesudah penimbangan berat badan tikus ( $T_1$ ) dan menurut uji ANOVA pada kelompok ( $T_1$ ) terdapat perbedaaan yang signifikan ( $P < 0,05$ ). Hal ini menunjukkan bahwa induksi aloksan dengan dosis 150 mg/kg BB tikus yang dilakukan berhasil membuat hewan coba mengalami diabetes. Kondisi eksperimental diabetes akan mengakibatkan tikus normal menjadi tikus penderita diabetes dengan ditandai salah satu ciri diagnosa klinis dengan terjadinya penurunan berat badan (Pasaribu *et al.* 2015) yang disebabkan oleh defisiensi hormon insulin sehingga transport glukosa ke dalam sel jaringan perifer berkurang. Hal tersebut mengakibatkan sel akan melakukan metabolisme dengan menggunakan cadangan glikogen melalui proses glikolisis, meningkatnya katabolisme protein dimana asam amino yang dihasilkan digunakan sebagai substrat untuk glukoneogenesis dalam hati.

Pada kelompok pembanding terjadi penurunan berat badan setelah dilakukan induksi aloksan namun terjadi peningkatan berat badan setelah diberikan perlakuan. Berdasarkan stastitika uji *Paired-Sampel T Test* menunjukkan ada beda signifikan (0,016) antara sebelum penimbangan berat badan tikus ( $T_0$ ) dan sesudah penimbangan berat badan tikus ( $T_1$ ) dan menurut uji ANOVA pada kelompok ( $T_1$ ) terdapat perbedaaan yang signifikan ( $P < 0,05$ ). Hal ini

menunjukkan bahwa peningkatan berat badan dapat dikaitkan sebagai akibat dari pemberian glibenklamid yang menyebabkan jumlah insulin yang dilepaskan dari sel  $\beta$  pankreas meningkat. Peningkatan pelepasan insulin ini akan meningkatkan transport glukosa ke dalam sel sampai ke jaringan perifer dan mengarah pada pemanfaatan nutrisi penting lain, penyerapan asam amino dan komponen makromolekul lainnya (Kumar *et al.* 2013).

Pengukuran berat badan tikus pada kelompok perlakuan ekstrak dengan 3 variasi dosis yaitu 50 mg/kg bb, 100 mg/kg bb, dan 200 mg/kg bb juga menunjukkan terjadinya peningkatan berat badan setelah tikus yang telah mengalami diabetes melitus diberikan perlakuan dengan ekstrak etanol herba kitolod. Berdasarkan stastitika uji *Paired-Sampel T Test* menunjukkan ada beda signifikan untuk 3 variasi dosis yaitu 50 mg/kg bb (0,022), 100 mg/kg bb (0,004), dan 200 mg/kg bb (0,022), antara sebelum penimbangan berat badan tikus ( $T_0$ ) dan sesudah penimbangan berat badan tikus ( $T_1$ ) dan menurut uji ANOVA pada kelompok ( $T_1$ ) terdapat perbedaaan yang signifikan ( $P < 0,05$ ). Hal ini menunjukkan bahwa peningkatan berat badan ini dikaitkan dengan kandungan kimia herba kitolod yang berperan sebagai antioksidan alami yang berfungsi untuk melindungi sel  $\beta$  pankreas dari radikal bebas. Hasil analisa stastitika uji *Paired-Sampel T Test* dapat dilihat pada Lampiran 30 dan untuk uji ANOVA dapat dilihat pada Lampiran 25.

## **9. Hasil Pengukuran Kadar Gula Darah Tikus**

Pada penelitian ini pengujian aktivitas antidiabetes dilakukan dengan menggunakan metode uji diabetes induksi aloksan dimana hewan uji dibuat diabetes dengan menggunakan senyawa diabetogenik aloksan. Aloksan diberikan secara intraperitoneal dengan dosis aloksan yang digunakan sebesar 150 mg/kg BB tikus. Hewan uji dapat dikatakan diabetes apabila setelah 4 hari pemberian aloksan terjadi hiperglikemia (kadar gula darah  $> 200$  mg/dl) (Putra *et al.* 2015).

Aloksan adalah senyawa yang biasa digunakan untuk menginduksi diabetes pada hewan percobaan seperti kelinci, tikus, mencit dan anjing. Mekanisme aloksan menginduksi diabetes terutama dimediasi oleh produk radikal bebas yang terbentuk dari reaksi redoks yang dapat menyebabkan rusaknya sel  $\beta$

pankreas. Pengukuran kadar gula darah tikus dilakukan dengan menggunakan metode GOD-PAP. Sampel darah diambil dari masing-masing tikus sesuai dengan kelompok. Setelah diproses sesuai dengan prosedur, kemudian diperoleh serum dan diperiksa kadar gula darahnya yang ditentukan dengan menggunakan metode GOD-PAP. Glukosa ditentukan setelah terjadi oksidasi enzimatis dengan adanya glukosa oksidase (Pasaribu 2015).

Pengukuran kadar gula darah dilakukan sebelum dan sesudah diberikan perlakuan ( $T_0$ - $T_3$ ). Pada awal penelitian dilakukan pengukuran kadar gula darah tikus yaitu pada  $T_0$ . Data  $T_0$  digunakan sebagai pembanding untuk melihat berhasil atau tidaknya induksi aloksan pada kelompok tikus diabetes melitus yaitu pada kelompok kontrol diabetes, pembanding, herba kitolod 50 mg/kg, herba kitolod 100 mg/kg dan herba kitolod 200 mg/kg. Setelah kelompok tikus diabetes diinduksi aloksan, 4 hari kemudian dilakukan pengukuran kadar gula darah tikus kembali untuk memastikan tikus yang diinduksi telah mengalami diabetes ( $T_1$ ).

Pengukuran kadar gula darah hewan uji dengan metode GOD-PAP hasilnya dapat diperoleh dari perbandingan antara nilai absorbansi sampel dengan absorbansi standar. Aktivitas antidiabetes ekstrak etanol herba kitolod dilihat dari penurunan kadar gula darah tikus sebelum dan sesudah pemberian sendiaan uji. Data pengukuran gula darah pada 6 kelompok perlakuan yang masing-masing terdiri dari 5 ekor tikus putih jantan galur Wistar dapat dilihat pada Tabel 10.

**Tabel 10. Data kuantitatif rata-rata hasil pengukuran kadar gula tikus pada berbagai kelompok perlakuan selama 14 hari**

Kelompok	Rata-rata pengukuran kadar glukosa darah			
	T0	T1	T2	T3
Normal	79,09±2,44	80,09±2,13	78,97±1,05 <sup>bc</sup>	78,13±1,35 <sup>bc</sup>
Kontrol diabetes	75,10±2,94	205,05±2,90	205,5±2,89 <sup>ac</sup>	204,33±2,49 <sup>ac</sup>
Kitolod 50 mg/kg	80,85±1,50	206,67±3,25	196,11±4,64 <sup>abc</sup>	144,53±2,86 <sup>abc</sup>
Kitolod 100 mg/kg	81,80±3,01	208,2±3,09	186,13±4,17 <sup>abc</sup>	134,63±2,58 <sup>abc</sup>
Kitolod 200 mg/kg	80,29±1,74	208,53±2,56	176,8±2,33 <sup>ac</sup>	113,93±2,16 <sup>abc</sup>
Pembanding	80,32±2,91	206,8±2,16	173,53±3,14 <sup>ab</sup>	96,82±2,19 <sup>ab</sup>

Keterangan :

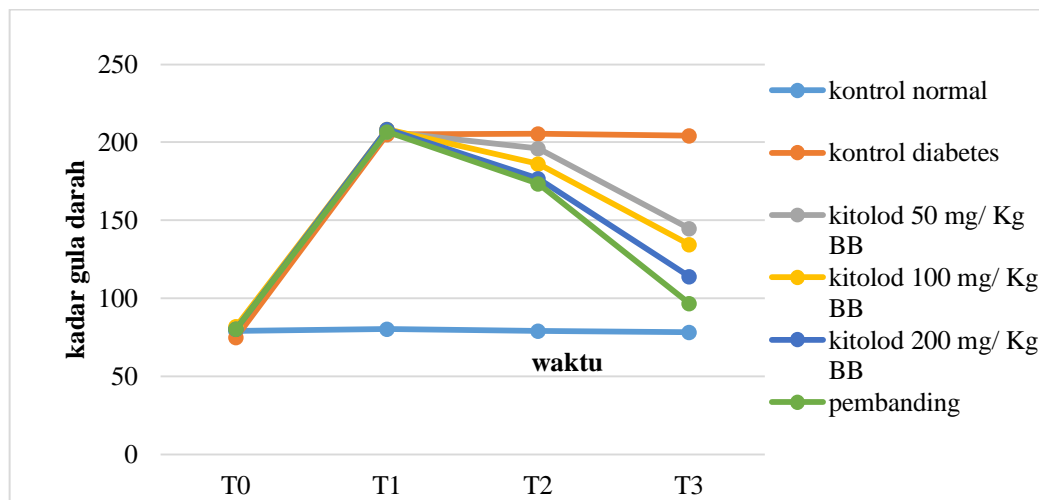
Kontrol diabetik : kelompok kontrol negatif (CMC Na 0,5%)

Pembanding : kelompok kontrol positif (Glibenklamid 360 mg/Kg BB)

a : berbeda signifikan dengan kelompok kontrol normal

b : berbeda signifikan dengan kelompok kontrol diabetes

c : berbeda signifikan dengan kelompok kontrol glibenklamid



**Gambar 5.** Pengaruh pemberian ekstrak etanol herba kitolod terhadap kadar gula darah tikus yang diinduksi aloksan selama 14 hari

Berdasarkan data rata-rata pengukuran kadar gula darah tikus pada Tabel 10 dan Lampiran 21 menunjukkan hasil, kelompok normal memiliki kadar gula darah yang normal dimana peningkatan kadar gula darah yang terjadi tidak sampai melebihi 200 mg/dl. Berdasarkan stastitika uji *Paired-Sampel T Test* menunjukkan ada beda signifikan (0,018) antara sebelum darah uji diambil ( $T_0$ ) dan sesudah darah uji diambil ( $T_1$ ), karena hewan uji hanya diberikan pakan tanpa induksi aloksan. Kelompok kontrol diabetes yang hanya diberikan perlakuan dengan CMC Na 0,5% memiliki kadar gula darah yang tetap tinggi setelah diinduksi dengan aloksan yaitu diatas 200 mg/dl. Berdasarkan stastitika uji *paired t-test* menunjukkan ada beda signifikan (0,000) antara sebelum darah uji diambil ( $T_0$ ) dan sesudah darah uji diambil ( $T_1$ ), pada waktu  $T_1$  sampai  $T_3$  yang mengindikasikan bahwa induksi aloksan telah berhasil membuat tikus mengalami keadaan hiperglikemik. Hal ini menunjukkan bahwa pemberian CMC Na 0,5% tidak berpengaruh terhadap penurunan kadar gula darah tikus diabetes. Menurut Nugroho (2006), aloksan merupakan agen diabetogenik yang secara cepat dapat mencapai pankreas, aksinya diawali oleh pengambilan yang cepat oleh sel  $\beta$  Langerhans. Pembentukan oksigen reaktif merupakan faktor utama pada kerusakan sel tersebut. Aloksan mengakibatkan terjadinya penurunan respon jaringan perifer terhadap aksi insulin atau malfungsi dari reseptor insulin dan penurunan kemampuan sel islet Langerhans pankreas dalam menstimulasi insulin

sehingga mengakibatkan peningkatan kadar glukosa darah seperti pada kondisi diabetes melitus tipe 2.

Pada kelompok pembanding yang diberikan glibenklamid menunjukkan terjadinya penurunan kadar glukosa darah tikus. Berdasarkan stastitika uji *Paired-Sampel T Test* menunjukkan ada beda signifikan (0,000) antara sebelum darah uji diambil ( $T_0$ ) dan sesudah darah uji diambil ( $T_1$ ). Glibenklamid merupakan obat hiperglikemik oral yang bekerja dengan cara merangsang sekresi insulin dari sel-sel  $\beta$  Langerhans, menurunkan keluaran glukosa dari hati dan meningkatkan sensitivitas sel-sel saraf perifer terhadap insulin sehingga menyebabkan terjadinya penurunan kadar gula darah. Pada kelompok perlakuan ekstrak etanol herba kitolod dosis 50 mg/kg BB, 100 mg/kg BB dan 200 mg/kg BB juga menunjukkan terjadinya penurunan kadar gula darah pada tikus. Berdasarkan stastitika uji *Paired-Sampel T Test* menunjukkan ada beda signifikan (0,000) dengan 3 variasi dosis antara sebelum darah uji diambil ( $T_0$ ) dan sesudah darah uji diambil ( $T_1$ ) Penurunan kadar gula darah tikus pada semua kelompok perlakuan ekstrak menunjukkan bahwa perlakuan yang diberikan pada penelitian ini memberikan pengaruh terhadap penurunan kadar gula darah tikus.

Hasil analisa stastitika uji *Paired-Sampel T Test* dapat dilihat pada Lampiran 31.

Hasil analisa statistik uji *post hoc test* terhadap kadar gula darah menunjukkan hasil perlakuan pada hari ke-0 ( $T_0$ ), terdapat perbedaan yang signifikan antara kelompok normal dan kelompok diabetes, sedangkan antara kelompok pembanding, kelompok ekstrak etanol herba kitolod dosis 50 mg/kg, 100 mg/kg dan 200 mg/kg BB terdapat perbedaan yang signifikan karena kondisi hewan uji yang masih sehat dan homogen. Pada hari ke-3 ( $T_1$ ), tidak terdapat perbedaan yang signifikan antara kelompok normal dan kelompok diabetes, dimana rata-rata penurunan kadar gula darah pada kelompok normal (80,09 mg/dl) lebih besar dibandingkan dengan kelompok diabetes (205,05 mg/dl) karena terjadi peningkatan kadar gula darah setelah diinduksi aloksan dan pada kelompok perlakuan ekstrak etanol herba kitolod dosis 50 mg/kg, 100 mg/kg dan 200 mg/kg BB terdapat perbedaan yang signifikan setelah diinduksi aloksan. Pada hari ke-7 ( $T_2$ ), tidak terdapat perbedaan yang signifikan antara kelompok pembanding dan

kelompok ekstrak etanol herba kitolod dosis 50 mg/kg dan 100 mg/kg, sedangkan antara kelompok pembanding dan kelompok ekstrak etanol herba kitolod dosis 200 mg/kg BB terdapat perbedaan yang signifikan dimana rata-rata penurunan kadar gula darah pada dosis ekstrak dosis 200 mg/kg (160,71 mg/dl) lebih besar dibandingkan dengan kelompok pembanding (171,95 mg/dl). Hari ke-14 setelah hewan uji diberikan perlakuan, kadar glukosa darah semua kelompok perlakuan terus mengalami penurunan kadar gula darah kecuali pada kelompok kontrol negatif yang terus mengalami peningkatan kadar gula darah. Pada hari ke-14 ( $T_3$ ) kelompok dosis ekstrak etanol herba kitolod dosis 200 mg/kg BB menunjukkan tidak ada perbedaan yang signifikan ( $P > 0,05$ ) dengan kelompok kontrol pembanding yang diberikan glibenklamid 0,09 mg/kg sehingga dapat disimpulkan bahwa ekstrak etanol herba kitolod dosis 200 mg/kg mempunyai efek menurunkan kadar gula darah tikus yang baik serta memiliki efektivitas sebagai antidiabetes yang sebanding dengan kelompok kontrol pembanding (glibenklamid) dibandingkan dengan dosis ekstrak etanol herba kitolod dosis 50 mg/kg dan dosis 100 mg/kg.

Hasil analisa statistik terhadap rata-rata penurunan kadar gula darah tikus diabetes menunjukkan terjadi perubahan nilai signifikansi antara kelompok dosis ekstrak etanol herba kitolod 200 mg/kg dan kelompok pembanding. Dimana pada hari ke-7 ( $T_2$ ), terdapat perbedaan yang signifikan antara aktivitas antidiabetes ekstrak etanol herba kitolod dosis 200 mg/kg dengan kelompok pembanding yang memiliki aktivitas antidiabetes yang sama dengan ekstrak etanol herba kitolod dosis 50 mg/kg dan 100 mg/kg, sedangkan pada hari ke-14 ( $T_3$ ) terdapat perbedaan yang tidak signifikan antara kelompok pembanding dengan kelompok dosis ekstrak etanol herba kitolod dosis 200 mg/kg serta terdapat perbedaan yang signifikan antara kelompok pembanding dengan kelompok dosis ekstrak etanol herba kitolod 50 mg/kg dan 100 mg/kg. Perubahan aktivitas ekstrak etanol herba kitolod serta glibenklamid yang terjadi pada hari ke-7( $T_2$ ) dan hari ke-14( $T_3$ ) dapat dikaitkan dengan salah satu prinsip kerja obat tradisional yaitu reaksi yang lambat tidak seperti obat kimia yang bisa langsung bereaksi. Hal itu disebabkan, senyawa-senyawa berkhasiat di dalam obat tradisional membutuhkan waktu untuk

menyatu dalam metabolisme tubuh. Berbeda dengan obat sintetis yang bekerja dengan cara meredakan rasa sakit dan gejalanya, obat tradisional bekerja dengan berfokus pada sumber penyebabnya yakni dengan membangun dan memperbaiki sel-sel jaringan dan organ-organ yang rusak. Oleh karena hal tersebut maka dibutuhkan waktu yang relatif lebih lama untuk merasakan efek obat tradisional dibandingkan jika menggunakan obat kimia (Katno 2008).

**Tabel 11. Persentase penurunan kadar gula darah tikus T<sub>1</sub> ke T<sub>2</sub> dan T<sub>1</sub> ke T<sub>3</sub>**

Kelompok	Presentase penurunan $\Delta T_1$ (%)	Presentase penurunan $\Delta T_2$ (%)
Kontrol diabetes	$-0,22 \pm 0,17$	$0,34 \pm 0,37$
Kitolod 50 mg/ Kg BB	$5,09 \pm 2,47^{abc}$	$30,05 \pm 1,96^{abc}$
Kitolod 100 mg/ Kg BB	$10,58 \pm 2,38^{abc}$	$35,31 \pm 2,13^{abc}$
Kitolod 200 mg/ Kg BB	$15,19 \pm 1,88^{ab}$	$45,35 \pm 1,44^{abc}$
pembanding	$16,08 \pm 1,56^{ab}$	$53,17 \pm 1,48^{ab}$

Keterangan :

Kontrol diabetes : kelompok kontrol negatif (CMC Na 0,5%)

Pembanding : kelompok kontrol positif (Glibenklamid 360 mg/Kg BB)

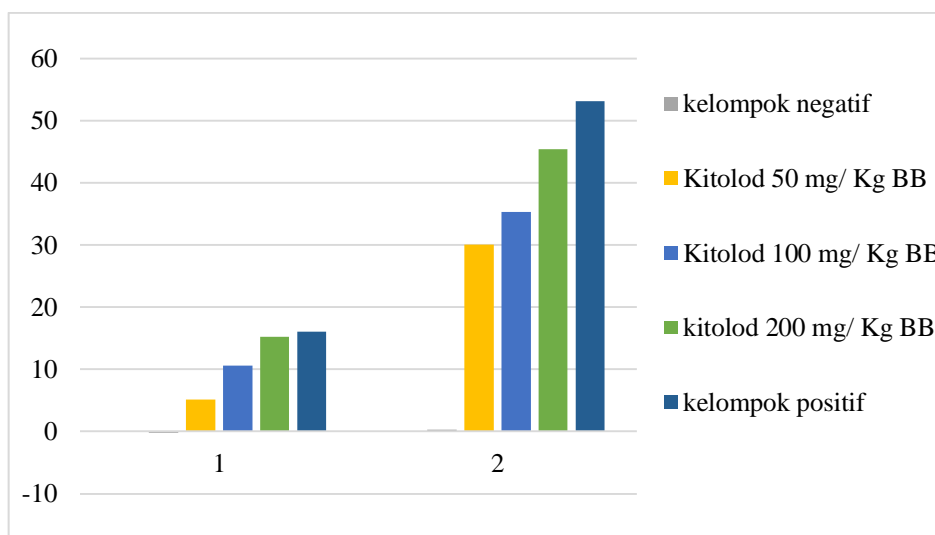
a : berbeda signifikan dengan kelompok kontrol normal

b : berbeda signifikan dengan kelompok kontrol diabetes

c : berbeda signifikan dengan kelompok kontrol glibenklamid

$\Delta T_1$  : persen penurunan kadar glukosa darah dari T<sub>1</sub> ke T<sub>3</sub>

$\Delta T_2$  : persen penurunan kadar glukosa darah dari T<sub>1</sub> ke T<sub>2</sub>



**Gambar 6. Persentase penurunan kadar gula darah tikus T<sub>1</sub> ke T<sub>2</sub> dan T<sub>1</sub> ke T<sub>3</sub>**

Berdasarkan persentase penurunan kadar gula darah tikus pada  $\Delta T_1$  dan  $\Delta T_2$  (Tabel 11 dan Gambar 6) dapat diketahui bahwa pemberian ekstrak etanol herba kitolod dengan tiga variasi dosis dan kelompok kontrol pembanding yang



diberikan glibenklamid terbukti mampu menurunkan kadar gula darah tikus. Pada  $\Delta T_1$  kelompok uji ekstrak etanol herba kitolod dengan dosis 50 mg/kgBB, 100 mg/kg BB dan 200 mg/kg BB secara berturut-turut mampu menurunkan kadar gula darah sebesar 5,09%; 10,58% dan 15,19%, sedangkan untuk kelompok pembanding sebesar 16,08%. Pada  $\Delta T_2$  persentase penurunan kadar gula darah kelompok uji ekstrak etanol herba kitolod dengan dosis 50 mg/kgBB, 100 mg/kg BB dan 200 mg/kg BB secara berturut-turut mampu menurunkan kadar gula darah sebesar 30,05%; 35,31% dan 45,35% sedangkan kelompok pembanding sebesar 53,17%. Hasil analisa statistik uji ANOVA (Lampiran 32) menunjukkan bahwa tidak terdapat perbedaan yang signifikan ( $P > 0,05$ ) pada semua kelompok perlakuan. Namun pada pengujian *post hoc test* yang dilakukan untuk melihat perbedaan efektivitas setiap perlakuan menunjukkan adanya perbedaan yang signifikan antar setiap kelompok.

Berdasarkan data yang diperoleh dari penelitian ini dapat diketahui bahwa semakin tinggi dosis ekstrak etanol herbal kitolod yang diberikan maka semakin besar pula efek penurunan kadar gula darah yang dihasilkan. Hal ini disebabkan karena semakin tinggi dosis yang diberikan maka akan semakin banyak jumlah zat aktif yang dapat menurunkan kadar gula darah tikus. Penelitian yang telah dilakukan oleh Siswadi *et al.* (2013) menunjukkan bahwa herba kitolod diketahui mengandung antioksidan alami yaitu senyawa fenolik dan flavonoid serta senyawa aktif lain diantaranya ialah alkaloid, tanin dan terpenoid. Anin (2014)

Flavonoid dapat menurunkan kadar gula darah karena bersifat protektif terhadap kerusakan sel islet pankreas sebagai penghasil insulin serta dapat meningkatkan sensitivitas insulin. Antioksidan dapat menekan apoptosis sel  $\beta$  tanpa mengubah proliferasi dari sel islet pankreas (Ajie 2015). Ruhe *et al.* 2001 membuktikan bahwa antioksidan dapat mengikat radikal bebas sehingga dapat mengurangi resistensi insulin. Dalam pembentukan ROS (*Reactive Oxygen Spesies*), oksigen akan berikatan dengan elektron bebas yang keluar karena bocornya rantai elektron yang akan menghasilkan ROS (*Reactive Oxygen Spesies*) dalam mitokondria. Flavonoid sebagai antioksidan akan menyumbangkan atom

hidrogennya sehingga flavonoid akan teroksidasi dan berikatan dengan radikal bebas yang akan menyebabkan radikal bebas menjadi senyawa yang lebih stabil.

Mekanisme kerja lain dari flavonoid sebagai antioksidan adalah dengan cara menghambat proses fosfodiesterase sehingga meningkatkan cAMP pada sel islet pankreas. Peningkatan cAMP akan menstimulasi pengeluaran protein kinase A (PKA) yang merangsang sekresi insulin semakin meningkat (Harapan 2010). Sedangkan, aktivitas antioksidan yang dimiliki oleh senyawa fenolik membantu mencegah komplikasi klinis diabetes mellitus sebab stres oksidatif dan gangguan pertahanan antioksidan yang merupakan keistimewaan penyakit diabetes mellitus yang terjadi sejak awal penyakit.

Alkaloid merupakan senyawa yang juga terdapat pada kulit batang falok. Alkaloid terbukti mempunyai kemampuan regenerasi berdasarkan penelitian yang dilakukan oleh Suryono dan Yudha C (2012), dimana ekstrak alkaloid terbukti secara nyata mempunyai kemampuan regenerasi sel islet pankreas yang rusak. Alkaloid menurunkan gula darah dengan cara menghambat absorpsi gula di usus (absorpsi gula secara perlahan), meningkatkan transportasi gula dengan menghambat enzim glukosa 6-fosfatase, fruktosa 1,6-bifosfatase yang merupakan enzim yang berperan dalam glukoneogenesis serta meningkatkan oksidasi glukosa melalui glukosa 6-fosfat dehidrogenase. Penghambatan pada enzim ini akan menurunkan pembentukan glukosa dari substrat lain selain karbohidrat. Tanin sebagai antidiabetes bekerja dengan cara merangsang fosforilasi pada jalur transpor glukosa sama seperti yang diperantarai insulin (Insulin Mediated Glucose Transporter) dengan berikatan langsung pada insulin reseptor. Selanjutnya akan terjadi translokasi GLUT 4 ke permukaan sel seperti mekanisme kerja insulin. Sehingga GLUT 4 akan memfasilitasi ambilan glukosa ke dalam sel (Suryono dan Yudha C 2012). Saponin menurunkan kadar gula darah dengan menghambat aktivitas enzim alfa glukosidase, yaitu enzim dalam pencernaan yang bertanggung jawab terhadap pengubahan karbohidrat menjadi glukosa (Makalalag *et al.* 2013).

## **10. Hasil Pemeriksaan Histopatologi Pankreas**

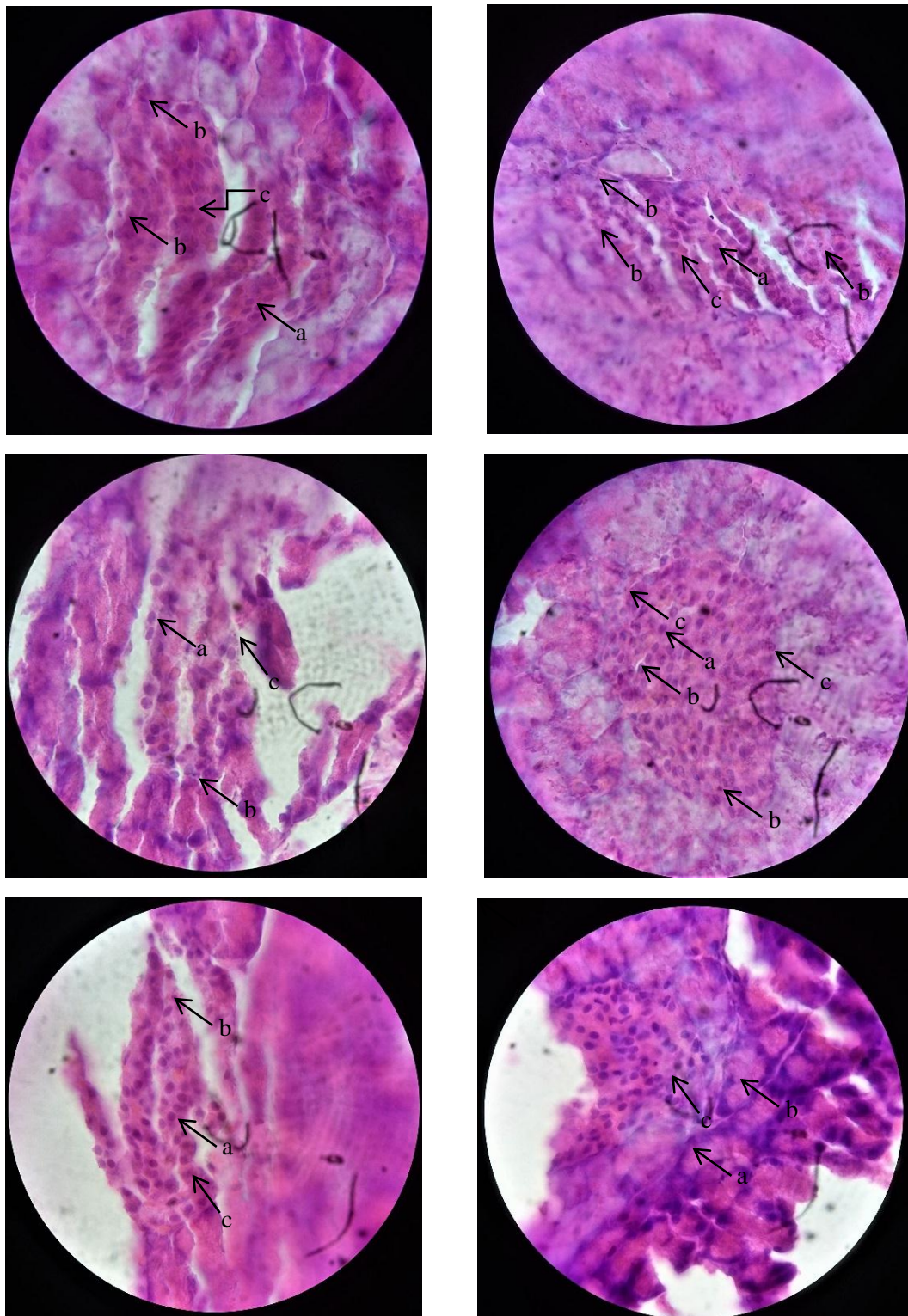
Metode pemeriksaan yang digunakan untuk melihat kondisi histopatologi pankreas hewan uji adalah metode pewarnaan Hematoxilyn Eosin (HE). Metode ini menggunakan pewarnaan ganda (*double staining*), sehingga hematoxilyn akan memulas inti dan struktur asam lainya dari sel menjadi biru, sedangkan eosin akan memberikan warna merah pada sitoplasma dan kolagen (Junquera 2007).

Pewarnaan secara HE dilakukan untuk mengamati bentuk morfologi dan struktur jaringan pankreas tikus. Hasil pengamatan histopatologi pankreas dapat dilihat pada Gambar 8 dan Lampiran 24. Pada kelompok normal menunjukkan gambaran kondisi normal atau sehat dari pulau Langerhans yang terlihat dari adanya keteraturan susunan sel endokrin yang menyebar di pulau Langerhans dengan bentuk sel yang seragam.

Hasil pewarnaan HE pada kontrol negatif yang telah diinduksi aloksan terlihat perubahan yaitu degenerasi atau kerusakan sel yang ditunjukkan dengan adanya susunan sel yang tidak teratur dan penyusutan bentuk sel menjadi lebih kecil (atrofil) dibandingkan dengan sel normal, sehingga bentuk sel menjadi tidak seragam (polimorf). Selain itu, dapat dilihat juga bahwa pulau Langerhans pada kelompok kontrol negatif mengalami nekrosis sel endokrin, yang ditunjukkan dengan adanya penyusutan inti sel menjadi lebih kecil (piknosis), kerusakan inti menjadi bentuk fragmen (karioreksis) dan hilangnya inti sel (kariolisis) (Lestari 2011). Adanya nekrosis atau kematian sel ini menyebabkan sel-sel endokrin pulau Langerhans pada kelompok kontrol negative menjadi lebih sedikit jumlahnya dan menyebabkan kekosongan dalam pulau Langerhans.

Hal ini menunjukkan bahwa aloksan dapat merusak sel endokrin pankreas khususnya sel  $\beta$  yang mengisi 80% dari volume pulau Langerhans dengan merusak biomakromolekul seperti lipid, fosfolipid, dan karbohidrat yang merupakan komponen dinding sel, serta DNA yang berada dalam inti sel (Dewati 2015). Pewarnaan HE pada kontrol positif dan kelompok uji ekstrak etanol herba kitolod pada berbagai variasi dosis memperlihatkan adanya perubahan pada sel-sel pulau Langerhansnya, yaitu terjadi regenerasi sel endokrin menuju bentuk normal dan susunan sel endokrin yang menyebar di pulau Langerhans dalam bentuk yang seragam.

Untuk mengetahui dosis yang paling baik antara kelompok kontrol dan kelompok perlakuan, maka pada penelitian ini dilakukan pengamatan terhadap jumlah pulau dan presentase nekrosis sel-sel endokrin pulau Langerhans pankreas tikus. Jumlah pulau Langerhans diamati pada tiap lapang pandang untuk mengetahui kerusakan yang terjadi akibat pemberian zat diabetogenik. Kelompok normal yang diberikan perlakuan menunjukkan jumlah pulau yang relatif lebih banyak dibandingkan dengan kontrol negatif. Pada kelompok positif dan kelompok uji ekstrak etanol herba kitolod 200 mg/ Kg BB juga masih ditemukan lebih dari dua pulau Langerhans, sedangkan pada kelompok kontrol negatif kadang-kadang tidak ditemukan satupun pulau Langerhans pada tiap lapang pandang. Hal ini terjadi karena rusaknya sel-sel endokrin pulau Langerhans pankreas yang disebabkan oleh induksi agen diabetogenik sehingga sekresi insulin kedalam pembuluh darah menurun (Suarsana *et al.* 2011).



**Gambar 8. Pulau Langerhans potongan pankreas dengan pewarnaan HE perbesaran 100x**

Keterangan:

- (1) Kontrol normal. (2) Kontrol diabetes. (3) Dosis 50 mg/ Kg BB. (4) Dosis 100 mg/ Kg BB. (5) Dosis 200 mg/ Kg BB. (6) Pemanding  
 (2) (a) sel normal (b) piknosis (c) karyoreksis

**Tabel 12. Rata-rata skoring kerusakan pankreas**

Kel	normal	Jumlah kerusakan			SKP <sub>(total)</sub> ±SD
		piknosis	karioreksis	kariolisis	
I	93	6,34	1,34	0	9 ± 1,73
II	70,67	19,34	8	0	35,33 ± 2,52
III	84,67	9	6,34	0	21,67 ± 4,00 <sup>abc</sup>
IV	90,67	5,34	4	0	15 ± 1,00 <sup>ab</sup>
V	94	3,34	2,67	0	8,67 ± 1,53
VI	93,34	3	4	0	11 ± 0,00

Keterangan:

Kelompok I : kelompok kontrol normal

Kelompok II : kelompok kontrol diabetes

Kelompok III : kelompok uji ekstrak herba kitolod 50 mg/ Kg BB

Kelompok IV : kelompok uji ekstrak herba kitolod 100 mg/ Kg BB

Kelompok V : kelompok uji ekstrak herba kitolod 200 mg/ Kg BB

Kelompok VI : kelompok kontrol pembanding (Glibenklamid 360 mg/ Kg BB tikus)

a : berbeda signifikan dengan kelompok kontrol normal

b : berbeda signifikan dengan kelompok kontrol diabetes

c : berbeda signifikan dengan kelompok kontrol glibenklamid

Perhitungan rata-rata skoring kerusakan pankreas dapat dilihat pada Lampiran 23. Piknosis merupakan jenis kerusakan dimana inti sel yang telah mati akan mengalami penyusutan sehingga terlihat lebih padat, gelap, dan juga memiliki batasan yang tidak teratur. Jenis kerusakan lainya yang juga terjadi yakni karioreksis atau pecahnya inti sel dan meninggalnya zat kromatin yang tersebar di dalam sel sebagai akibat dari hancur dan robeknya inti sel. Sedangkan kariolisis merupakan keadaan dimana inti sel yang telah mati sudah kehilangan kemampuan untuk diwarnai sehingga menjadi lebih pucat dan terlihat tidak nyata (Rohmatin *et al* 2015).

## **BAB V**

### **KESIMPULAN DAN SARAN**

#### **A. Kesimpulan**

Berdasarkan hasil penelitian yang telah dilakukan, dapat ditarik kesimpulan bahwa :

Pertama, pemberian ekstrak etanol herba kitolod dapat menurunkan kadar gula darah tikus putih jantan yang diinduksi aloksan.

Kedua, dosis ekstrak etanol herba kitolod yang paling efektif dalam menurunkan kadar gula darah tikus putih jantan yang diinduksi aloksan adalah dosis 200 mg/kg BB tikus.

Ketiga, ekstrak etanol herba kitolod dapat meningkatkan jumlah pulau serta menurunkan persentase nekrosis sel endokrin pulau Langerhans pada organ pankreas dan semakin berkurangnya jumlah kerusakan yang ditimbulkan akibat pemberian glibenklamid.

#### **B. Saran**

Peneliti berikutnya dapat melakukan penelitian lebih lanjut dengan menggunakan fraksi-fraksi dari ekstrak etanol herba kitolod yang mempunyai aktivitas antikolesterol. Selain itu juga, perlu dilakukan penelitian lebih lanjut dengan menggunakan metode dan parameter yang lain yang terkait dengan efek antidiabetes pada ekstrak etanol herba kitolod serta dapat dilakukan penelitian tentang khasiat lain dari ekstrak etanol herba kitolod.

## DAFTAR PUSTAKA

- [Depkes RI] Departemen kesehatan Republik Indonesia. 1995. *Farmakope Indonesia Edisi IV*. Jakarta: Departemen Kesehatan Republik Indonesia.
- [Depkes RI]. 2000. *PARAMETER Standar Umum Ekstrak Tumbuhan Obat*. Direktorat Jendral Pengawasan Obat dan Makanan. Jakarta. Hal. 5.7-12.
- [Depkes RI]. 2005. *Pharmaceutical Care Untuk Penyakit Diabetes Melitus*. Jakarta : Direktorat Jenderal Bina Kefarmasian dan alat Kesehatan. Hal. 37-46.
- [Depkes RI]. 2010. *Farmakope Herbal Indonesia*. Suplemen I. Jakarta: Direktorat Jendral Pengawasan Obat dan Makanan. Hal. 64-67.
- [Depkes RI]. Departemen kesehatan Republik Indonesia. 1979. *Farmakope Indonesia Edisi III*. Jakarta: Departemen Kesehatan Republik Indonesia.
- [Depkes RI]. Departemen Kesehatan Republik Indonesia. 1985. *Cara Pembuatan Simplisia*. Jakarta : Departemen Kesehatan Republik Indonesia.
- [Depkes RI]. Departemen Kesehatan Republik Indonesia. 1986. *Sediaan Galenik*. Jakarta: Departemen Kesehatan Republik Indonesia.
- [DepkesRI]. 1993. *Pedoman Pengujian dan Penapisan Farmakologi, Pengujian Fitokimia dan Pengujian Klinik, Yayasan Pengembangan Obat*. Jakarta: Dep Kes RI
- ADA, 2012, Diagnosis and Classification of Diabetes Mellitus, *Diabetes Care* 35, S64–
- ADA, 2013, Economic Costs of Diabetes in the U.S. in 2012, *Diabetes Care* 36, 1033–1046.
- Adawiah. 2016. Penelitian dan Pengembangan Ilmu Kimia, *Jurnal* (2)1, 63-70
- Ajie, Risky Bayu. 2015. White dragon fruit (*Hylocereus undatus*) potensialas diabetes mellitus treatment. *J MAJORITY / Volume 4 Nomor 1*.
- Ali, Iakandar. 2003. *Khasiat dan Manfaat Kitolod, Penakluk Gangguan pada Mata*. PT AgroMedia Pustaka: Depok
- Amalia A.R., 2014, Pengaruh Infus Daun Kitolod (*Laurentia longiflora*) Terhadap Histopatologi Mata Tikus Wistar Katarak yang Diinduksi Methyl Nitrosa Urea,. Universitas Katolik Widya Mandala, Surabaya.



- Andayani Y. 2003. Mekanisme aktivitas antihiperlikemik ekstrak buncis (*Phaseolus vulgaris* Linn) pada tikus diabetes dan identifikasi komponen bioaktif [Disertai]. Bogor: Program Pascasarjana, Insitut Pertanian Bogor.
- Anin, Yuniven M. 2014. Uji aktivitas antioksidan ekstrak etanol klika falOak (*Sterculia quadrifida R.Br*) dengan metode DPPH (2,2 diphenyl-1-picrylhydrazyl) [Skripsi]. Makasar: Program Studi Farmasi, Sekolah Tinggi Ilmu Farmasi.
- Anonim, 1980, *Materia Medika Indonesia*, Edisi IV, Departemen Kesehatan Republik Indonesia, Jakarta.
- Ansel, H.C., 1989. *Pengantar Nentuk Sediaan Farmasi. Edisi 4*. UI. Press. Jakarta. Hal. 96, 147.
- Arisman, 2011, *Obesitas, Diabetes Mellitus, dan Dislipidemia: Konsep, Teori dan Penanganan Aplikasi*, 51-53, Jakarta, EGC.
- Atikah N. 2013. Uji Aktivitas Antimikroba Ekstrak Herba Kemangi (*Ocimum americanum* L) terhadap *Staphylococcus aureus* dan *Candida albicans*. [Skripsi]. Jakarta : UIN Syarif Hidayatullah Jakarta.
- Backer C. A. 1968. *Flora of java*. Vol III. Nedtherlands.
- Black JM. & Hawks JH. (2009). *Medical Surgical Nursing: Clinical menegement for positive out comes*. 8Th Edition. Singapore: Elsevier-Sauders.
- Chrissman JW. 2004. Best practices guideline: Toxicologic histopathology. *Society of Toxicologic Phathology Guideline*. 32(1) : 126-131
- Dalimartha. 2008. *Atlas tanama obat Indonesia*. Jlid 2 Niaga Swadita. Jakarta.
- Departemen Kesehatan. 2005. *Pharmaceutical care untuk penyakit diabetes mellitus*. Jakarta: Direktorat Bina Farmasi Komunitas dan Klinik. Direktorat Jendral Bina Kefarmasian dan Alat Kesehatan, Departemen kesehatan RI. Hal. 15.
- Dewoto, H.R., 2007, Pengembangan Obat Tradisional Indonesia menjadi Fitofarmaka, *Majalah kedokteran indonesia*, 57(7): 205-211.
- Didik, Gunawan. 2004. *Ilmu obat alam farmakognosi jilid 1*. Penebar Swadaya. Jakarta. Hal. 9.
- Dipiro, J. T., Talbert, R. L., Yee, G. C., Matzke, G. R., Wells, B. G. & Poey, L.M., 2008, *Pharmacotherapy: A Pathophysiologic Approach, Chapter 77 Diabetes Mellitus*, 1205-1225, USA, In Mc Graw Hill Medical.

- DiPiro, T., Tarbet, L., Yee, C., Matzke, R., Wells, G., and Posey, M., 2005, *Pharmacotherapy A Pathophysiologic Approach*, 1341, Medical Publishing Division, New York.
- Finkelstein, E.A., Chay, J., Bajpai, S., 2014, The Economic Burden of Self-Reported and
- Frank C. Lu. 1995. *Toksikologi Dasar* . Jakarta: UI Press.
- Gunawan SG. 2009. Farmakologi dan terapi. Edisi ke-5. Jakarta: Departemen Farmakologi dan FKUI. Hlm 489-493
- Gunawan, Mulyani. 2004. *Ilmu Obat Alam*. Bogor: Penebar Swadaya.
- Handa SS, Khanuja SPS, Longo G, Rakesh DD. 2008. *Extraction Technologies for Medicinal and Aromatic Plants*. Trieste: International Center for Science and Hight Technology.
- Harborne, J.B. (1987). Metode Fitokimia: Penuntun Cara Modern Menganalisis Tumbuhan, Terbitan Kedua, terjemahan Padmawinata, K. dan Soedari, I., Penerbit ITB, Bandung.
- Hariana A., 2008, Tumbuhan Obat dan Khasiatnya, Cetak ke-5, Penebar Swadaya, Jakarta
- Harvey, R., dan Champe, P.C. (2010). *Farmakologi "Ulasan Bergambar"*. Penerbit Buku Kedokteran EGC, Jakarta.
- Internasional Diabetes Federation., (2015). Diabetes Atlas, Seventh Edition. (serial online). <http://www.diabetessatlas.org/>. (sitasi 1 Februari 2016).
- Ismini IF, Zubaidah E. 2013. Studi komplikasi pemberian cuka salak dan cuka anggur terhadap penurunan glukosa darah dan histopatologi sel pankreas pada tikus wistar jantan diabetes mellitus yang diinduksi Streptozotocin. *Medika Eksakta* 1-19
- Jusuf AA. 2009. *Histotenik Dasar*. Depok: Fakultas Kedokteran, Universitas Indonesia
- Katno Drs., M.Si. 2008. *Tingkat manfaat keamanan dan efektifitas tanaman obat dan tanaman tradisional*. Jawa Tengah : Balai besar penelitian dan pengembangan tanaman obat dan obat tradisional.
- Katno. 2008. *Pengelolaan Pasca Panen Tanaman Obat*. Jakarta: Departemen Kesehatan RI.

- Katzung B,G., and Trevor, A.J., 2002. *Drug interactions in Master, S., B., Pharmacology, Sixta Edition, 531*, Lange Medical Book/McGraw-Hill, New York.
- Katzung BG. 2007. *Farmakologi Dasar dan Klinik. Edisi III, penerjemahan: Andrianto. P.* Jakarta: Penerbit Buku Kedokteran EGC. Terjemahan dari: Basic And Clinical Pharmacology. Hal. 585-587.
- Katzung BG. 2010. *Farmakologi dasar dan Klinik. Edisi 10.* Nugroho AW, Rendy L, Dwijayanthi L. Penerjemah : Nirmala WK. Penerbit buku kedokteran. Jakarta. Terjemahan dari : *basic and clinical pharmacology*. Hal. 704-707.
- Kim *et al.* 2006. Hypoglycemic and antihyperlipidemic effect of four Korean medicinal plants in alloxan induced diabetes rats. *Am. J. Biochem. Biotech.* 2: 154-160.
- Koller E., 2009, *Javanese Medicinal Plants used in Rural Communities.*,. Wien University.
- Kumar V, Ahmed D, Anwar F, Ali M, Mujeeb M.* 2013. Enhanced glyceimic control, pancreas protective, antioxidant and hepatoprotective effects by umbelliferon  $\alpha$ -D-glucopyranosyl-(2) glucopyranoside in streptozotocin induced diabetic rats. *Springer Plus*,2:639.
- Kumar V, Cotran RS, Robbins SL. 2007. *Buku Ajar Patologi Robbins.* Ed ke-7. Volume ke02. Bram Pendit, penerjemah. Jakarta: Penerbit Buku Kedokteran EGC. Terjemahan dari: *Robbins Basic Pathologi 7<sup>th</sup> ed.*
- Kumar V, Cotran RS, Robbins SL. 2007. *Buku Ajaran Patologi Robbins.* Ed ke-7. Volume ke-2. Bram Pendit, penerjemah. Jakarta: Penerbit Buku Kedokteran EGC. Terjemahan dari: *Robbins Basic Pathology 7<sup>th</sup> ed.*
- Kusuma dan Zaky. 2005, *Tumbuha Liar Berkhasiat Obat*, Agrimedia Pustaka, Depok.
- Lerebulan EF. 2014. aktivitas kombinasi ekstrak etanolik batang brotowali (*Tinespora crispa* (L.) Miers) dan fraksi ekstrak etanolik daun kepel (*Stelechocarpus burahol* (BI) Hook. F. & Th) terhadap nekrosis dan jumlah sel  $\beta$  pankreas tikus yang diinduksi aloksan [Skripsi]. Surakarta Fakultas Farmasi, Universitas Setia Budi Surakarta.
- Lian *et al.* 2007. *The use of high fat / carbohydrate died – fed and streptozocin trested mice as a suitable animal model of type 2 diabetes mellitus.* Scand. J.Lab. Anim. Sci. 34 : Hal. 21 – 29.

- Linghuat L. R. 2008. *Uji Efek Ekstrak Etanol Biji Mahoni (Swietenia mahagoni,jagz) terhadap Penurunan Kadar Gula Darah Tikus Putih [Skripsi]*. Medan:Fakultas Farmasi, Universitas Sumatera Utara.
- Merck. 1987. Buku Pedoman Kerja Kimia Klinik. Jakarta: Merck. hlm 62-78
- Muntiha M. 2001. Teknik pembuatan preparat histopatologi dari jaringan hewan dengan pewarnaan hematoksilin dan eosin (H&E). *Temu Tekhnis Fungsional Non Peneliti*.
- Mutschler, Ernst, (1991). *Dinamika Obat Ed. Ke – 5” Buku Ajaran Farmakologi dan Toksikologi*, ITB, Bandung. Hal. 350.
- Myeck MJ, Richard AH, Chmpe PC, Fisher BD. 2001. Farmakologi Ulasan Bergambar. Edisi ke 2. Jakarta: Widya medika. Hal. 260-261.
- Nugroho AE. 2006. Review hewan percobaan diabetes mellitus : patologi dan mekanisme aksi diabetogenik, animal models of diabetes mellitus: pathology and mechanism of some diabetogenics. *Biodiversitas* 7:378-382 S71. doi:10.2337/dc12-s064.
- Nugroho, A. E., 2006, Review Hewan Percobaan Diabetes Mellitus: Patologi dan Mekanisme Aksi Diabetogenik. *Biodiversitas*, 7: 378-382.
- Nugroho, A.W., & Santoso, N., 2011, Diabetes Mellitus, dalam Nugroho dan Santoso (Eds.), *Ilmu Gizi Menjadi Sangat Mudah*, Edisi II, 289-293, Jakarta, EGC.
- Nurdiana NP, Setyawati, Ali M.1998. Efek streptozotocin sebagai bahan diabetogenik pada tikus wistra dengan cara pemberian intraperitoneal dan intravena. *Majalah Kedokteran Unibraw*
- Pasaribu, Ronald., Hutahaean, Salomo., Ilyas, S. 2015. Uji antihiperqlikemia ekstrak etanol daun kembang bulan (*Tithonia diversifolia*) pada mencit (*Mus musculus*) yang diinduksi diabetes dengan aloksan. *Jurnal Biosains* Vo. 1 No. 2
- PERKENI. 2011. *Konsensus pengelolaan dan Pencegahan Diabetes Melitus Tipe 2 di Indonesia 2011*. PB. Perkeni, Jakarta.
- Price SA, Wilson L Mc C. 1992. *Patologis Konsep Klinik Proses-proses Penyakit*. Ed-6. Dharma A, penerjemah. Jakarta: Penerbit Buku Kedokteran EGC
- Price, S., & Price, L. M. 2006. Pathophysiology: Clinical Concept of Disease Processes. Edisi 6. Terjemahan oleh Huriawati Hartant, Natalia Susi, Pita Wulansari dan Dewi Asih Mahanan. Jakarta: EGC.

- Rahayu, L. 2006. *Penanganan Hewan Percobaan*. Laboratorium Farmakologi. Fakultas Farmasi Universitas Pancasila. Jakarta.
- Ramachandran, A. & Snehalata, C., 2009, Diabetes Mellitus, In Gibney, M.J., Margetts, B.M., Kearney, J.M. & Arab, L. (Eds.), *Gizi Kesehatan Masyarakat*, 407-408, Jakarta, EGC
- Retno, D. 2013, Kitolod Obat Mata Hebal, diakses pada 14 September 2014 pukul 17.15WIB, <http://kesehatan.kompasiana.com/alternatif/2013/03/08/kitolod-obatmata-herbal535191.html>.
- Robbins, Vinay K, Ramzi S, Cotran, Stanley. 2007. *Buku Ajar Patologi Edisi 7*. Jakarta:EGC Hal. 723-725.
- Robertson RP, Harmon J, Tran PO, Tanaka Y, Takahashi H.2003. Glucose toxicity in beta-cells: type 2 diabetes, good radicals gone bad, and the glutathione connection. *Diabetes* 52:581-587
- Rohmatin AR, Susetyarini E, Hadi S. 2015. The Damage of Hepar Cells og White Male Mice (*Rattus novergicus*) which are induced by Carbon Tetrachloride (CCl<sub>4</sub>) after being given Bawang Dayak (*Eleutherine palmifolia* Merr.) Ethanol Extract. PS Pendidikan-FKIP-UMM, Malang Indonesia.
- Rothan H.A., Zulqarnain M., Ammar Y.A., Tan E.C., Rahman N.A. and Yisof R., 2014, Screening of antiviral activities in medicinal plants extracts against dengue virus using dengue NS2B-NS3 protease assay, *Tropical Biomedicine*, 31 (2), 286-296.
- Sarker SD, Latif Z, Gray AI. 2006. *Natural Product Isolation*. Ed ke-2. Humana Press. Hlm 30-32, 340-342. Setiadi. 2007. *Anatomi dan Disiologi Manusia*. Jogjakarta: Graha Ilmu
- Setiadi. 2007. *Anatomi dan Fisiologi Manusia*. Jogjakarta: Graha Ilmu
- Sharp PE, Laregina MC, Suckw MA. 1998. *The Laboratory Rat*. USA: CRC Press.
- Sirager R.M., 2015, Antibacterial Activity of Kitolod (*Laurentia longiflora* (L.) Peterm) Leaf and Flower Extact Again Several Conjunctivity Causing Bacteria, Bogor Agricultural University, I (L), 8.
- Siswadi, S., S.G. & Rianawati, H. 2013. Potential Distribution and utilization of faloak (*Sterculia quadrifida* R.Br 1844). *Proceeding International Confrence of Forest and Biodiversity Manado*. Editor : Langi M. Manado: Manado Forestry Institute.

- Smeltzer SC. & Bare. (2002). *Buku Ajar Keperawatan Medikal-Bedah Brunner & Suddarth*, Edisi 8 Bolume 2, Jakarta: Penerbit Buku Kedokteran EGC.
- Suarsana IN, Priosoeryanto BP, Bintang M, Wresdiyati T. 2010. Profil glukosa darah dan ultrastruktur sel beta pankreas tikus yang diinduksi senyawa aloksan. *JITV* 15 : Hal. 118-123
- Suastika K, Soeatmaji D W, Asdie HA, Adam JM, Soegondo S, Manaf A, et al. *Petunjuk Praktis Terapi Insulin*. Jakarta. Perkeni; 2006: 5 – 6
- Sudoyo A, et al. *Buku Ajar Ilmu Penyakit Dalam*. Jakarta : FKUI; 2006.
- Sudoyo AW, Setiyohadi B, Alwi I, Simadibrata M, Setiadi S, editor. 2006. *Buku Ajar Penyakit Dalam*. Jilid 3 Edisi IV. Jakarta: Pusat Penerbitan Departemen Ilmu Penyakit Dalam FKUI. Hal 1852-1893
- Sugiyanto. 1995. *Petunjuk Praktikum Farmakologi Edisi IV. Fakultas Farmasi laboratorium Farmakologi dan Toksikologi*. Jogja:UGM.
- Sukandar EY, Andrajati R, Sigit JI, Adnyana IK, Setiadi AAP, Kusnandar. 2008 *ISO Farmakoterapi*. Jakarta: PT. ISFI Penerbitan. Hal. 26-36
- Suryono & Yudha C, Sevin. 2012. Efektifitas daun sirih merah untuk menurunkan kadar gula darah pada penderita diabetes melitus. *Jurnal AKP No. 6*.
- Syahrin, A.S., S.S. Amrah, K.L.Chan, B.Y.Lim, N. Hasenan, J. Hasnan & S.S.J. Mohsin. 2006. Effect of Spray-Dried Ethanolic Extract of *Androfraphis paniculata* (Burm. F.) Ness on Streptozotocin – Induced Diabetic Female East. *International Journal Diabetes Development Countries* 26: 163-168
- Tjay H dan Rahardja K. 2002. *Obat-obat Penting, Khasiat Penggunaan dan Efek-efek Sampingnya*. Edisi ke-5 Jakarta : PT Alex Media Komputindo hlm 690-713.
- Tjitrosoepomo G., 2007, *Taksonomi Tumbuhan Spermatophyta*, UGM Press, Yogyakarta.
- Tjokroprawiro, A., 2006, *Hidup Sehat dan Bahagia Bersama Diabetes Melitus*, PT Gramedia Pustaka Utama, Jakarta.
- Undiagnosed Cardiovascular Diseases and Diabetes on Indonesian Households. *PLoS ONE* 9, e99572. doi:10.1371/journal.pone.0099572.
- Villegas A., Espinoza J. and Urzua A., 2014, Piperidine alkaloids from *Lobelia polyphylla* Hook. & Arn, (Campanulaceae),. Vol 13 (2), 205-212.
- Voight R. 1995. *Buku Pelajaran Teknologi Farmasi*. Ed. V. Yogyakarta : Gajah Mada University Press

- Voigt R. 1984. *Buku Pelajaran Teknologi Farmasi Edisi V*. Yogyakarta: Gadjah Mada University Press.
- Voigt R. 1994. *Buku Pelajaran Teknologi Farmasi*. Edisi ke 5. Noerono S, penerjemah; Yogyakarta: Gadjah Mada University Press.
- Wardani T. and Siska H., 2010. Uji Efek Antiglukoma Infus Daun Kitolod (*Isoma longiflora* (L) C. Pressl) Terhadap Tikus Putih Jantan Berdasarkan Tekanan Bola Mata. *Ejournal.Uhamka.ac.id*. (L). 5.
- WHO. 1999. Definition, Diagnosis and Classification of Diabetes Melitus and its Complication. World Health Organization Departement of Noncomunicable Disease Survelance. Geneva
- WHO. 2015. Global Status Report On Noncommunicable Diseases 2014. Diakses di Medan 10 Desember 2015. [http://apps.who.int/iris/bitstream/10665/148114/1/9789241564854\\_eng.pdf](http://apps.who.int/iris/bitstream/10665/148114/1/9789241564854_eng.pdf)
- Widarto, 2007. *Kencing Manis (Diabetes)*. Editor: Santi Kurniawan. Jakarta: PT. Sunda Kelapa Pustaka.
- Wijayakusuma H. 2004. *Bebas Diabetes mellitus ala Hembing*. Jakarta: Puspa Swara
- Wild, S., Roglic, G., Green, A., Sicree, R., King, H., 2004, Global prevalence of diabetes:
- Yuriska F, Anindhita 2009. *Efek Aloksan Terhadap Kadar Glukosa Darah Tikus Wistar*. *Undergraduate thesis*, Fakultas kedokteran. Universitas Diponegoro.
- Zada A.2009. Pengaruh diet rumput laut *eucheuma sp.* terhadap jumlah eritrosit tikus wistar dengan diabetes aloksan [Laporan Akhir Penelitian Karya Tulis Ilmiah]. Semarang: Fakultas Kedokteran, Universitas Diponegoro.

*L*

*A*

*M*

*P*

*I*

*R*

*A*

*N*



## Lampiran 1. Surat Determinasi tanaman herba kitolod



KEMENTERIAN RISET, TEKNOLOGI DAN PENDIDIKAN TINGGI  
UNIVERSITAS SEBELAS MARET  
FAKULTAS MATEMATIKA DAN ILMU PENGETAHUAN ALAM  
**LAB. PROGRAM STUDI BIOLOGI**  
Jl. Ir. Sutami 36A Ketingan Surakarta 57126 Telp. (0271) 663375 Fax (0271) 663375  
http://www.biology.mipa.uns.ac.id, E-mail biologi @ mipa.uns.ac.id

Nomor : 40/UN27.9.6.4/Lab/2018  
Hal : Hasil Determinasi Tumbuhan  
Lampiran : -

Nama Pemesan : Rizki Maharani  
NIM : 20144242A  
Alamat : Program Studi S1 Farmasi Fakultas Farmasi Universitas Setia Budi Surakarta

### HASIL DETERMINASI TUMBUHAN

Nama Sampel : *Hippobroma longiflora* (L.) G. Don  
Synonym : *Isotoma longiflora* (L.) C. Presl.  
*Laurentia longiflora* (L.) Peterm.

Familia : Campanulaceae  
Subfamilia : Lobelioideae

Hasil Determinasi menurut C.A. Backer & R.C. Bakhuizen van den Brink, Jr. (1963; 1965) dan Simpson, M.G. (2008) :

1b-2b-3b-4b-12b-13b-14b-17b-18b-19b-20b-21b-22b-23b-24b-25b-26b-27a-28b-29b-30b-31b-403b-404b-405b-414a-415a-416b-417b-418a-419c-420b-421b-422d-436b-428b-429b-433b-434b-435b-436b-437a \_\_\_\_\_ 171. Campanulaceae  
1b \_\_\_\_\_ 2. *Hippobroma*  
1a \_\_\_\_\_ *Hippobroma longiflora* (L.) G. Don

### Deskripsi Tumbuhan :

Habitat : tera, menahun, tumbuh tegak, tinggi bisa mencapai 0.5 m. Akar : akar tunggang, bercabang, putih kotor. Batang : bulat, sedikit berkayu, lunak hingga keras, kadang bercabang-cabang, bergetah putih seperti susu, permukaan gundul, hijau. Daun : tunggal, tidak bertangkai atau duduk, tersusun spiral; bentuk helaian daun lanset-bulat telur terbalik, panjang 5-17 cm, lebar 1.5-4 cm, pangkal menyempit, tepi bergerigi-berlekuk menyirip, ujung runcing, pertulangan menyirip, permukaan berambut, permukaan atas hijau tua, permukaan bawah hijau muda. Bunga : tunggal, terletak di ketiak daun, panjang tangkai bunga kurang dari 2 cm, tebal, berambut; kelopak bunga berbentuk lonceng, berambut, panjang tabung 8-10 mm, bercuping 5, bentuk garis, bergerigi asimetris, panjang 8-18 mm, hijau; mahkota bunga berbentuk lonceng, panjang tabung mahkota 7.5-11 cm, sempit, berambut, cuping mahkota berbentuk lanset, panjang 20-26 mm, putih bersih; benangsari melengkung, di tengah tabung mahkota, berambut; putik 1, tangkai putik panjang, kepala putik 2, hijau. Buah : kotak, berbentuk bola mengerucut, bulat telur terbalik atau ellips, sisa tangkai putik membentuk paruh, panjang buah 11-15 mm, lebar 8-12 mm, berambut, hijau. Biji : bentuk ellips, bulat atau bulat gepat, panjang 0.7 mm, warna coklat cerah hingga merah kecoklatan.

Surakarta, 26 Maret 2018

Kepala Lab. Program Studi Biologi

Dr. Tetri Widiyani, M.Si.  
NIP. 19711224 200003 2 001

Penanggungjawab  
Determinasi Tumbuhan

Suratman, S.Si., M.Si.  
NIP. 19800705 200212 1 002



Mengetahui  
Kepala Program Studi Biologi FMIPA UNS

Dr. Ratna Setyaningsih, M.Si.  
NIP. 19660714 199903 2 001

## Lampiran 2. Surat *Ethical Clearance*

3/9/2018

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 : 292 / 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

**AKTIVITAS ANTIDIABETES EKSTRAK ETANOL HERBA KITOLOD (*Isotoma longiflora* (L.) TERHADAP KADAR GULA DARAH DAN HISTOPATOLOGI PANKREAS TIKUS WISTAR YANG DIINDUKSI ALOKSAN**

Principal investigator : Rizki Maharani  
 Peneliti Utama : 20144242A

Location of research : Universitas Setia Budi Surakarta dan Universitas Sebelas Maret  
 Lokasi Tempat Penelitian

Is ethically approved  
 Dinyatakan layak etik

Issued on : 09 Mar 2018

Chairman  
 Ketua

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



### Lampiran 3. Surat praktek penelitian histopatologi pankreas



KEMENTERIAN RISET, TEKNOLOGI DAN PENDIDIKAN TINGGI  
UNIVERSITAS SEBELAS MARET  
FAKULTAS KEDOKTERAN  
LABORATORIUM HISTOLOGI  
Jl. Ir. Sutami 36A. Surakarta

---

#### SURAT KETERANGAN

10/ UN27.6.6.2.1/2018


Bagian Histologi Fakultas Kedokteran Universitas Sebelas Maret Surakarta menerangkan bahwa mahasiswa tersebut di bawah ini :

Nama : Rizki Maharani  
Nim : 20144242A  
Fakultas : Farmasi  
Universitas : Universitas Setia Budi Surakarta  
Judul Skripsi : Aktifitas antidiabetes ekstrak etanol herba kitolod (*isotoma longiflora* (L.)) terhadap kadar gula darah dan histopatologi pankreas tikus wistar yang diinduksi aloksan .

Telah melaksanakan kegiatan pembuatan preparat di Bagian Laboratorium Histologi FK UNS.

Demikian surat keterangan ini dibuat agar dapat digunakan sebagaimana mestinya.

Surakarta, 23 Mei 2018  
Kepala Bagian Histologi FK UNS

  
Muthmainah, dr., M.Kes.  
NIP. 19660702 199802 2 001



**Lampiran 5. Foto herba kitolod**



Tanaman kitolod



Herba kitolod



Serbuk herba kitolod



Ekstrak herba kitolod



**Lampiran 6. Foto hewan percobaan dan pembedahan tikus**

Penimbangan tikus



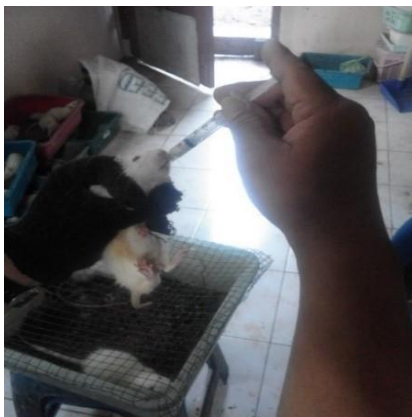
Penyuntikan aloksan



Kandang tikus

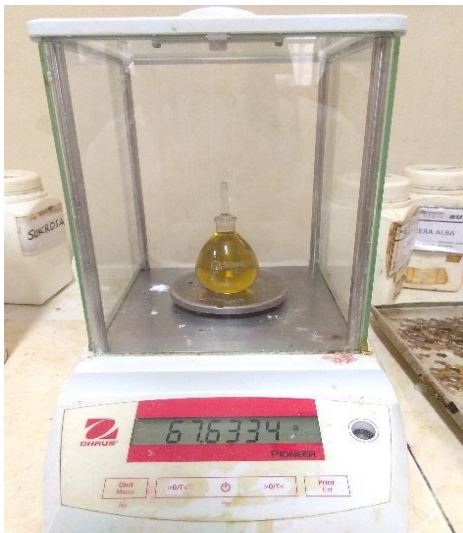


Pembedahan tikus



Volume pemberian

## Lampiran 7. Alat dan Bahan yang digunakan



Penimbangan berat jenis



evaporator



sentrifugal



Spektro fotometri UV-Vis



Organ pankreas





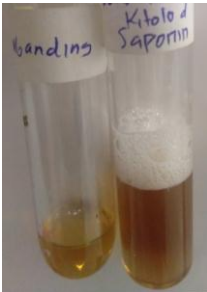

Botol Maserasi




Sterling-Bidwell



### Lampiran 8. Hasil identifikasi senyawa kimia ekstrak herba kitolod

Nama Senyawa	Gambar Ekstrak	Interpretasi hasil
Flavonoid		Ekstrak + serbuk Mg 0,1 gram + HCl (1:1) amil alkohol → Warna kuning (+)
Tanin		Ekstrak + 20 mL air panas, disaring + FeCl <sub>3</sub> 5 tetes → Warna hitam kehijauan (+)
Saponin		Ekstrak + HCl 2N 1 tetes → buih yang mantap selama tidak kurang dari 10 menit setinggi 1 cm sampai 10 cm (+)
Alkaloid		Ekstrak + HCL 2N + Reagen Mayer → 2 tetes endapan putih atau kuning (+)

<b>Nama Senyawa</b>	<b>Gambar Ekstrak</b>	<b>Interpretasi hasil</b>
	 The image shows two test tubes. The left test tube contains a dark brown, almost black, precipitate at the bottom. The right test tube contains a yellowish-brown liquid with a white, foamy precipitate on top. This visualizes the reaction of an extract with HCL 2N and Dragendrof reagent, resulting in a color change and the formation of a precipitate.	Ekstrak + HCL 2N + Reagen Dragendrof $\rightarrow$ tetes endapan coklat sampai hitam

**Lampiran 9. Hasil perhitungan presentase rendemen bobot kering terhadap bobot basah herba kitolod**

<b>Presentasi rendemen bobot kering terhadap bobot basah herba kitolod</b>			
<b>Simplisia</b>	<b>Berat basah (Kg)</b>	<b>Berat kering (Kg)</b>	<b>Randemen (%)</b>
Herba kitolod	5,8	3,9	67%

**Perhitungan Rendemen :**

$$\text{Rendemen} = \frac{\text{Berat kering utuh (gram)}}{\text{Berat basah utuh (gram)}} \times 100\%$$

**Rendemen herba kitolod :**

$$\begin{aligned} \text{Rendemen} &= \frac{3,9 \text{ gram}}{5,8 \text{ gram}} \times 100\% \\ &= 67\% \end{aligned}$$

### Lampiran 10. Hasil penetapan kadar air serbuk herba kitolod

Hasil penetapan kadar air serbuk herba kitolod			
No.	Bobot serbuk (gram)	Volume terbaca (mL)	Kadar air (%)
1.	20	1,6	8,0
2.	20	1,5	7,5
3.	20	1,5	7,5
Rata-rata			7,6

#### Perhitungan kadar air serbuk:

$$\text{Kadar air} = \frac{\text{Volume terbaca}}{\text{Berat bahan}} \times 100\%$$

$$\begin{aligned} - \text{Kadar air}_1 &= \frac{1,6 \text{ mL}}{20 \text{ gram}} \times 100\% \\ &= 8,0\% \end{aligned}$$

$$\begin{aligned} - \text{Kadar air}_2 &= \frac{1,5 \text{ mL}}{20 \text{ gram}} \times 100\% \\ &= 7,5\% \end{aligned}$$

$$\begin{aligned} - \text{Kadar air}_3 &= \frac{1,5 \text{ mL}}{20 \text{ gram}} \times 100\% \\ &= 7,5\% \end{aligned}$$

$$\begin{aligned} - \text{Rata-rata kadar air serbuk daun kitolod} &= \frac{\text{Kadar air 1} + \text{kadar air 2} + \text{kadar air 3}}{3} \\ &= \frac{8,0\% + 7,5\% + 7,5\%}{3} = 7,6\% \end{aligned}$$

### Lampiran 11. Hasil rendemen ekstrak etanol herba kitolod

Hasil rendemen ekstrak etanol 70% herba kitolod			
No.	Bobot serbuk (gram)	Bobot ekstrak (gram)	Rendemen (%)
1.	700	300	42,857

#### Perhitungan rendemen :

$$\% \text{ Rendemen} = \frac{\text{Bobot ekstrak (gram)}}{\text{Bobot serbuk (gram)}} \times 100\%$$

#### Rendemen ekstrak herba kitolod :

$$\begin{aligned} \% \text{ Rendemen} &= \frac{300 \text{ gram}}{700 \text{ gram}} \times 100\% \\ &= 42,857\% \end{aligned}$$

### Lampiran 12. Hasil penetapan berat jenis ekstrak herba kitolod

Hasil penetapan berat jenis ekstrak herba kitolod		
Bobot ekstrak (g)	Volume air (ml)	Bobot jenis ekstrak (g/ml)
39,9653	49,7368	0,8035

Bobot piknometer kosong = 27,6677 gr

Bobot piknometer + aquadest = 77,4045 gr

Aquadest = 77,4045 gr – 27,6677 gr = 49,7368

$$Bj \text{ air} = \frac{49,7368}{1} = 49,7368$$

Bobot piknometer kosong = 27,6677 gr

Bobot piknometer + ekstrak = 67,633 gr

Ekstrak = 67,633 gr – 27,6677 gr = 39,9653

$$Bj \text{ ekstrak} = \frac{39,9653}{49,7368} = 0,8035 \text{ g/ml}$$

## Lampiran 13. Perhitungan Dosis

### 1. Glibenklamid

Dosis terapi glibenklamid sekali pemakaian untuk manusia 70 Kg adalah 5 mg. Faktor konversi dari manusia 70 Kg ke tikus 200 gram adalah 0,018 sehingga dosis glibenklamid untuk tikus 200 gram adalah  $5 \text{ mg} \times 0,018 = 0,09 \text{ mg}/200 \text{ gram BB tikus}$  (0,45 mg/Kg BB tikus).

- Larutan stok glibenklamid 0,009 % sebanyak 100 ml

$$\frac{0,009 \text{ mg}}{100 \text{ ml}} = \frac{9 \text{ mg}}{100 \text{ ml}}$$

Tersedia di pasaran tablet glibenklamid 5 mg.

1 tablet zat aktif = 5 mg

Bobot 1 tablet = 200 mg

Maka, kebutuhan tablet =  $\frac{9 \text{ mg}}{5 \text{ mg}} \times 200 \text{ mg} = 360 \text{ mg}$  untuk 100 ml

larutan glibenklamid.

jadi, mengambil 2 tablet glibenklamid, kemudian masukkan dalam mortir lalu digerus dan diambil 360 mg serbuk glibenklamid dan ditambahkan dengan larutan suspensi CMC Na ad 100 ml.

- Volume pemberian untuk tikus 200 g BB :

$$= \frac{0,09 \text{ mg}}{0,09 \text{ mg}} \times 1 \text{ ml} = 1 \text{ ml untuk } 200 \text{ gram tikus}$$

### 2. CMC Na 0,5%

Konsentrasi CMC Na 0,5% = 0,5 gram / 100 m aquadest

= 500 mg / 100 ml aquadest

= 5 mg / mL

Serbuk CMC Na 0,5% ditimbang 0,5 gram kemudian ditambahkan dengan aquadest panas ad 100 mL hingga homogen. Suspensi ini digunakan sebagai kontrol negatif dan *suspending agent*. Volume pemberian CMC Na 0,5% untuk tikus yang memiliki berat 200 gram adalah 3 mL.

### 3. Aloksan 1%

Aloksan 1% = 1 gram / 100 mL

= 1000 mg / 100 mL

$$= 10 \text{ mg / mL}$$

Larutan aloksan 1% dibuat sebagai penginduksi diabetes dibuat dengan cara melarutkan 1 gram aloksan monohidrat ke dalam 100 mL larutan NaCl 0,9%. Dosis aloksan monohidrat untuk tikus ialah sebesar 150 mg/Kg BB tikus yang diberikan secara intraperitoneal.

$$\begin{aligned} 150 \text{ mg/Kg BB tikus} &= \frac{200 \text{ gram}}{1000 \text{ gram}} \times 150 \text{ mg} \\ &= 30 \text{ mg / 200 gram BB tikus} \end{aligned}$$

Maka, volume pemberian untuk tikus dengan berat 200 gram adalah :

$$\begin{aligned} \text{Volume pemberian aloksan} &= \frac{30 \text{ mg}}{10 \text{ mg}} \times 1 \text{ mL} \\ &= 3 \text{ mL untuk 200 gram BB tikus} \end{aligned}$$

#### 4. Dosis ekstrak herba kitolod

##### 1. Ekstrak etanol herba kitolod dosis 50 mg/kg bb tikus

- Syarat volume maksimal larutan sediaan uji yang dapat diberikan pada tikus (200 g) secara per oral (p.o) adalah sebesar 5 ml. pada penelitian ini digunakan volume pemberian larutan sediaan uji untuk tikus secara per oral sebanyak 2,5 ml.
- Dosis suspensi ekstrak herba kitolod yang akan dibuat adalah 50 mg/kg bb tikus.
- Perhitungan pembuatan suspense ekstrak etanol herba kitolod dosis 50 mg/kg

$$\frac{200 \text{ gram}}{1000 \text{ gram}} \times 50 \text{ mg} = 10 \text{ mg}$$

$$\text{Larutan stok} = \frac{10 \text{ mg}}{2,5 \text{ ml}} = \frac{400 \text{ mg}}{100 \text{ ml}} \Rightarrow \frac{0,4 \text{ g}}{100 \text{ ml}} = 0,4 \%$$

$$\text{Volume pemberian} = 0,4 \% \Rightarrow 400 \text{ mg/ 100 ml}$$

$$= \frac{10 \text{ mg}}{400 \text{ mg}} \times 100 \text{ ml} = 2,5 \text{ ml}$$

- Cara pembuatan : ditimbang 400 mg ekstrak etanol herba kitolod, kemudian dimasukkan kedalam labu takar 100 ml dan disuspensikan dengan CMC Na 0,5 % sampai batas tertera.

-

## 2. Ekstrak etanol herba kitolod dosis 100 mg/kg bb tikus

- Syarat volume maksimal larutan sediaan uji yang dapat diberikan pada tikus (200 g) secara per oral (p.o) adalah sebesar 5 ml. pada penelitian ini digunakan volume pemberian larutan sediaan uji untuk tikus secara per oral sebanyak 2,5 ml.
- Dosis suspensi ekstrak herba kitolod yang akan dibuat adalah 100 mg/kg bb tikus.
- Perhitungan pembuatan suspense ekstrak etanol herba kitolod dosis 100 mg/kg

$$\frac{200 \text{ gram}}{1000 \text{ gram}} \times 100 \text{ mg} = 20 \text{ mg}$$

$$\text{Larutan stok} = \frac{20 \text{ mg}}{2,5 \text{ ml}} = \frac{800 \text{ mg}}{100 \text{ ml}} \Rightarrow \frac{0,8 \text{ g}}{100 \text{ ml}} = 0,8 \%$$

$$\text{Volume pemberian} = 0,8 \% \Rightarrow 800 \text{ mg} / 100 \text{ ml}$$

$$= \frac{20 \text{ mg}}{800 \text{ mg}} \times 100 \text{ ml} = 2,5 \text{ ml}$$

- Cara pembuatan : ditimbang 800 mg ekstrak etanol herba kitolod, kemudian dimasukkan kedalam labu takar 100 ml dan disuspensikan dengan CMC Na 0,5 % sampai batas tertera.

## 3. Ekstrak etanol herba kitolod dosis 200 mg/kg bb tikus

- Syarat volume maksimal larutan sediaan uji yang dapat diberikan pada tikus (200 g) secara per oral (p.o) adalah sebesar 5 ml. pada penelitian ini digunakan volume pemberian larutan sediaan uji untuk tikus secara per oral sebanyak 2,5 ml.
- Dosis suspensi ekstrak herba kitolod yang akan dibuat adalah 200 mg/kg bb tikus.
- Perhitungan pembuatan suspense ekstrak etanol herba kitolod dosis 200 mg/kg

$$\frac{200 \text{ gram}}{1000 \text{ gram}} \times 200 \text{ mg} = 40 \text{ mg}$$

$$\text{Larutan stok} = \frac{40 \text{ mg}}{2,5 \text{ ml}} = \frac{1600 \text{ mg}}{100 \text{ ml}} \Rightarrow \frac{1,6 \text{ g}}{100 \text{ ml}} = 1,6 \%$$



Volume pemberian = 1,6 % => 1600 mg/ 100 ml

$$= \frac{40 \text{ mg}}{1600 \text{ mg}} \times 100 \text{ ml} = 2,5 \text{ ml}$$

- Cara pembuatan : ditimbang 1600 mg ekstrak etanol herba kitolod, kemudian dimasukkan kedalam labu takar 100 ml dan disuspensikan dengan CMC Na 0,5 % sampai batas tertera.

**Lampiran 14. Hasil perhitungan berat badan tikus**

Kelompok		T0	T1	T2	T3
I Kontrol normal	1.1	196	202	207	213
	1.2	198	204	208	216
	1.3	196	204	211	214
	1.4	198	203	210	216
	1.5	195	199	204	210
Rata-rata±SD		196,6±1,34	202,4±2,07	208±2,73	213,8±2,48
II Kontrol diabetes	2.1	194	191	187	182
	2.2	193	192	188	184
	2.3	190	189	182	178
	2.4	186	184	178	177
	2.5	190	189	182	180
Rata-rata±SD		190,6±3,13	189±3,08	183,4±4,09	180,2±2,86
III Herba kitolod 50 mg/ Kg BB	3.1	196	192	197	200
	3.2	189	187	191	197
	3.3	188	186	192	195
	3.4	187	186	189	193
	3.5	200	199	202	209
Rata-rata±SD		192±5,701	190±5,61	194,2±5,26	198,8±6,26
IV Herba kitolod 100 mg/ Kg BB	4.1	199	196	201	206
	4.2	198	195	198	230
	4.3	193	190	193	202
	4.4	198	197	201	209
	4.5	193	191	197	200
Rata-rata±SD		196,2±2,94	193,8±3,11	198±3,31	204±3,53
V Herba kitolod 200 mg/ Kg BB	5.1	190	190	197	202
	5.2	189	186	192	200
	5.3	187	185	191	199
	5.4	192	190	198	203
	5.5	191	188	194	201
Rata-rata±SD		189,8±1,92	187,8±2,28	194,4±3,04	201±1,58
IV	6.1	188	186	191	196
	6.2	186	183	192	194
	6.3	191	190	195	199
	6.4	194	193	198	204
	6.5	196	195	201	207
Rata-rata±SD		191±4,12	189,4±4,92	195,4±4,15	200±5,43

**Lampiran 15. Perhitungan dosis glibenklamid**

<b>Berat badan hewan uji</b>	<b>Dosis (gram)</b>	<b>Volume pemberian (mL)</b>
186	0,070	2,3
183	0,082	2,3
190	0,086	2,4
193	0,086	2,4
195	0,088	2,4

Contoh perhitungan :

$$\begin{aligned}
 \text{Rumus perhitungan dosis} &= \frac{\text{BB}}{1000} \times \text{dosis konversi} \\
 &= \frac{186}{1000} \times 0,45 \\
 &= 0,070
 \end{aligned}$$

$$\begin{aligned}
 \text{Volume yang diberikan} &= \frac{\text{BB}}{200} \times \text{volume maksimum} \\
 &= \frac{186}{200} \times 2,5 \text{ mL} \\
 &= 2,3
 \end{aligned}$$

**Lampiran 16. Perhitungan volume penyuntikkan dosis ekstrak herba kitolod  
50 mg/Kg BB tikus, 100 mg/Kg BB tikus, 200 mg/Kg BB tikus**

<b>Dosis ekstrak</b>	<b>Berat badan hewan uji</b>	<b>Dosis pemberian</b>
50 mg/Kg BB tikus	192	9,6
	187	9,35
	186	9,3
	186	9,3
	199	9,95
100 mg/Kg BB tikus	196	19,6
	195	19,5
	190	19,0
	197	19,7
	191	19,1
200 mg/Kg BB tikus	160	32,0
	181	36,2
	162	32,4
	171	34,2
	169	33,8

Rumus perhitungan dosis ekstrak etanol :

$$\text{Dosis pemberian} = \frac{\text{BB}}{1000} \times \text{Dosis ekstrak}$$

Berdasarkan hasil perhitungan menggunakan rumus tersebut maka diperoleh dosis pemberian pada tikus berdasarkan berat badannya seperti yang terlihat pada tabel diatas.

**Lampiran 17. Hasil pengukuran kadar gula darah tikus pada T<sub>0</sub>**

Kelompok	Kode hewan	standar	Absorbansi	Kadar glukosa	Rata-rata ± SD
I Kontrol normal	1.1	0,582	0,321	80,15	78,86±1,82
	1.2		0,385	76,17	
	1.3		0,340	82,54	
	1.4		0,355	79,01	
	1.5		0,329	77,58	
II kontrol diabetes	2.1	0,582	0,389	73,98	74,23±0,35
	2.2		0,385	77,14	
	2.3		0,353	78,74	
	2.4		0,329	71,15	
	2.5		0,344	74,47	
III Herba kitolod 50 mg/ Kg BB	3.1	0,582	0,375	80,51	81,44±1,32
	3.2		0,327	79,82	
	3.3		0,319	79,13	
	3.4		0,346	82,43	
	3.5		0,348	82,37	
IV Herba kitolod 100 mg/ Kg BB	4.1	0,582	0,350	85,87	82,79±4,35
	4.2		0,342	83,09	
	4.3		0,356	82,19	
	4.4		0,351	78,12	
	4.5		0,380	79,72	
V Herba kitolod 200 mg/ Kg BB	5.1	0,582	0,371	80,26	79,86±0,53
	5.2		0,359	81,32	
	5.3		0,332	82,45	
	5.4		0,341	77,89	
	5.5		0,360	79,51	
VI Pembanding	6.1	0,582	0,366	83,67	82,76±1,27
	6.2		0,354	81,04	
	6.3		0,332	76,11	
	6.4		0,337	78,92	
	6.5		0,339	81,86	

**Keterangan :****Kon. diabetik : kelompok kontrol negatif (CMC Na 0,5%)****Pembanding : kelompok kontrol positif (Glibenklamid 360 mg/Kg BB)**

**Lampiran 18. Hasil pengukuran kadar gula darah tikus pada T<sub>1</sub>**

Kelompok	kode hewan	standar	absorbansi	Kadar glukosa	Rata-rata ± SD
I Kontrol normal	1.1	0,541	0,401	80,73	79,46±1,81
	1.2		0,389	78,12	
	1.3		0,343	83,29	
	1.4		0,398	80,12	
	1.5		0,407	78,18	
II kontrol diabetes	2.1	0,541	1,214	205,27	203,62±2,34
	2.2		1,271	209,73	
	2.3		1,260	203,15	
	2.4		1,272	205,12	
	2.5		1,170	201,97	
III Herba kitolod 50 mg/ Kg BB	3.1	0,541	1,234	208,19	204,59±5,09
	3.2		1,172	207,28	
	3.3		1,184	209,12	
	3.4		1,263	207,79	
	3.5		1,163	200,98	
IV Herba kitolod 100 mg/ Kg BB	4.1	0,541	1,210	209,37	209,88±0,72
	4.2		1,159	209,59	
	4.3		1,138	208,91	
	4.4		1,162	202,76	
	4.5		1,086	210,39	
V Herba kitolod 200 mg/ Kg BB	5.1	0,541	1,174	210,23	210,74±0,72
	5.2		1,154	204,75	
	5.3		1,161	207,34	
	5.4		1,098	209,07	
	5.5		1,171	211,25	
VI Pemanding	6.1	0,541	1,270	205,69	206,99±1,84
	6.2		1,197	203,71	
	6.3		1,215	209,14	
	6.4		1,334	207,18	
	6.5		1,148	208,29	

**Keterangan :****Kon. diabetik : kelompok kontrol negatif (CMC Na 0,5%)****Pemanding : kelompok kontrol positif (Glibenklamid 360 mg/Kg BB)**

**Lampiran 19. Hasil pengukuran kadar gula darah tikus pada T<sub>2</sub>**

Kelompok	Kode hewan	standar	absorbansi	Kadar glukosa	Rata-rata ± SD
I Kontrol normal	1.1	0,395	0,299	80,01	78,96±1,47
	1.2		0,287	77,82	
	1.3		0,254	79,91	
	1.4		0,289	79,19	
	1.5		0,301	77,92	
II kontrol diabetes	2.1	0,395	0,889	205,52	206,24±1,35
	2.2		0,925	209,91	
	2.3		0,919	203,89	
	2.4		0,931	206,05	
	2.5		0,864	202,15	
III Herba kitolod 50 mg/ Kg BB	3.1	0,395	0,682	200,65	198,215±3,44
	3.2		0,649	188,42	
	3.3		0,669	198,12	
	3.4		0,732	197,56	
	3.5		0,664	195,78	
IV Herba kitolod 100 mg/ Kg BB	4.1	0,395	0,703	192,72	187,99±6.68
	4.2		0,721	186,87	
	4.3		0,732	181,98	
	4.4		0,740	185,84	
	4.5		0,698	183,26	
V Herba kitolod 200 mg/ Kg BB	5.1	0,395	0,656	178,02	175,42±3,68
	5.2		0,630	177,27	
	5.3		0,629	178,82	
	5.4		0,640	177,09	
	5.5		0,643	172,81	
VI Pembanding	6.1	0,395	0,652	170,82	172,05±1,73
	6.2		0,639	172,16	
	6.3		0,647	172,49	
	6.4		0,616	178,92	
	6.5		0,620	173,27	

**Keterangan :****Kon. diabetik : kelompok kontrol negatif (CMC Na 0,5%)****Pembanding : kelompok kontrol positif (Glibenklamid 360 mg/Kg BB)**

**Lampiran 20. Hasil pengukuran kadar gula darah tikus pada T<sub>3</sub>**

Kelompok	Kode hewan	standar	absorbansi	Kadar glukosa	Rata-rata ± SD
I Kontrol normal	1.1	0,409	0,310	79,01	77,52±2,11
	1.2		0,298	77,52	
	1.3		0,269	79,01	
	1.4		0,303	79,09	
	1.5		0,315	76,03	
II kontrol diabetes	2.1	0,409	0,925	204,01	202,86±1,62
	2.2		0,943	208,02	
	2.3		0,950	202,52	
	2.4		0,968	205,38	
	2.5		0,899	201,72	
III Herba kitolod 50 mg/ Kg BB	3.1	0,409	0,489	147,95	147,09±1,22
	3.2		0,452	141,63	
	3.3		0,470	145,31	
	3.4		0,489	141,52	
	3.5		0,465	146,23	
IV Herba kitolod 100 mg/ Kg BB	4.1	0,409	0,629	135,97	134,41±2,21
	4.2		0,638	131,76	
	4.3		0,644	134,28	
	4.4		0,661	138,29	
	4.5		0,630	132,85	
V Herba kitolod 200 mg/ Kg BB	5.1	0,409	0,563	111,72	112,13±0,58
	5.2		0,540	113,41	
	5.3		0,532	117,40	
	5.4		0,528	114,75	
	5.5		0,531	112,54	
VI Pembanding	6.1	0,409	0,520	98,72	96,94±2,52
	6.2		0,509	98,19	
	6.3		0,499	93,83	
	6.4		0,490	98,21	
	6.5		0,489	95,16	

**Keterangan :****Kon. diabetik : kelompok kontrol negatif (CMC Na 0,5%)****Pembanding : kelompok kontrol positif (Glibenklamid 360 mg/Kg BB)**



**Lampiran 21. Data kuantitatif rata-rata hasil pengukuran kadar gula tikus pada berbagai kelompok perlakuan selama 14 hari**

Kelompok	Rata-rata pengukuran kadar glukosa darah			
	T0	T1	T2	T3
Normal	79,09±2,44	80,09±2,13	78,97±1,05 <sup>bc</sup>	78,13±1,35 <sup>bc</sup>
Kontrol diabetes	75,10±2,94	205,05±2,90	205,5±2,89 <sup>ac</sup>	204,33±2,49 <sup>ac</sup>
Kitolod 50 mg/kg	80,85±1,50	206,67±3,25	196,11±4,64 <sup>abc</sup>	144,53±2,86 <sup>abc</sup>
Kitolod 100 mg/kg	81,80±3,01	208,2±3,09	186,13±4,17 <sup>abc</sup>	134,63±2,58 <sup>abc</sup>
Kitolod 200 mg/kg	80,29±1,74	208,53±2,56	176,8±2,33 <sup>ac</sup>	113,93±2,16 <sup>abc</sup>
Pembanding	80,32±2,91	206,8±2,16	173,53±3,14 <sup>ab</sup>	96,82±2,19 <sup>ab</sup>

**Lampiran 22. Penurunan kadar gula darah tikus dan presentase penurunan kadar gula darah tikus**

**Persentase penurunan kadar gula darah tikus T<sub>1</sub> ke T<sub>2</sub> dan T<sub>1</sub> ke T<sub>3</sub>**

Kelompok	Presentase penurunan	Presentase penurunan
	$\Delta T_1$ (%)	$\Delta T_2$ (%)
Normal	1,12 ± 1,29	1,95 ± 1,43
Kontrol diabetes	-0,46 ± 0,35	0,72 ± 0,78
Dosis 50 mg/ Kg BB	10,56 ± 5,17	62,14 ± 4,75
Dosis 100 mg/ Kg BB	22,07 ± 5,13	73,57 ± 5,42
Dosis 200 mg/ Kg BB	31,72 ± 4,29	94,26 ± 3,61
Pembanding	33,27 ± 3,36	109,98 ± 4,13

Kelompok	Presentase penurunan	Presentase penurunan
	$\Delta T_1$ (%)	$\Delta T_2$ (%)
Normal	1,36 ± 1,54	2,41 ± 1,70
Kontrol diabetes	-0,22 ± 0,17	0,34 ± 0,37
Kitolod 50 mg/ Kg BB	5,09 ± 2,47 <sup>abc</sup>	30,05 ± 1,96 <sup>abc</sup>
Kitolod 100 mg/ Kg BB	10,58 ± 2,38 <sup>abc</sup>	35,31 ± 2,13 <sup>abc</sup>
Kitolod 200 mg/ Kg BB	15,19 ± 1,88 <sup>ab</sup>	45,35 ± 1,44 <sup>abc</sup>
pembanding	16,08 ± 1,56 <sup>ab</sup>	53,17 ± 1,48 <sup>ab</sup>

**Lampiran 23. Hasil perhitungan jumlah sel normal dan sel yang mengalami karioreksis, piknosis, kariolisis serta total kerusakan**

Setiap jumlah sel yang mengalami kerusakan baik karioreksis, piknosis, kariolisis akan dikaitkan dengan skor dari setiap bentuk kerusakan seperti dibawah ini:

Skor	Bentuk kerusakan
0	Normal
1	piknosis
2	karioreksis
3	kariolisis

Kel	Kode Tikus	Jumlah sel				SKP (total)	Rata-rata kerusakan	SD
		Normal	piknosis	karioreksis	kariolisis			
I	1.1	94	8	1	0	10	9	1,73
	1.2	92	5	1	0	7		
	1.3	93	6	2	0	10		
II	2.1	71	12	13	0	38	35,34	2,52
	2.2	71	25	5	0	35		
	2.3	70	21	6	0	33		
III	3.1	85	7	8	0	23	21,67	4
	3.2	83	11	6	0	23		
	3.3	86	9	5	0	19		
IV	4.1	89	7	4	0	15	15	1
	4.2	91	4	5	0	14		
	4.3	92	5	3	0	16		
V	5.1	93	4	3	0	10	8,67	1,53
	5.2	95	3	2	0	7		
	5.3	94	3	3	0	9		
VI	6.1	94	1	5	0	11	11	0
	6.2	92	5	3	0	11		
	6.3	94	3	4	0	11		

Keterangan:

Kelompok I : kelompok kontrol normal

Kelompok II : kelompok kontrol diabetes

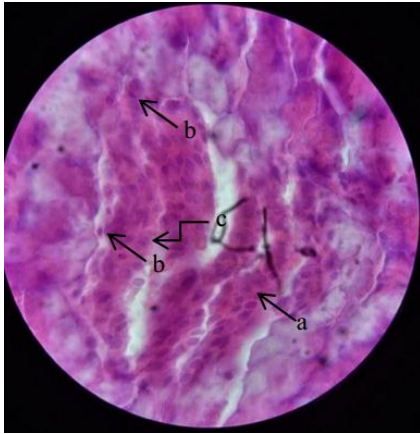
Kelompok III : kelompok uji ekstrak herba kitolod 50 mg/ Kg BB

Kelompok IV : kelompok uji ekstrak herba kitolod 100 mg/ Kg BB

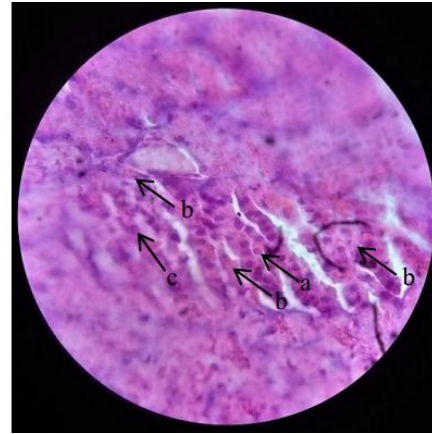
Kelompok V : kelompok uji ekstrak herba kitolod 200 mg/ Kg BB

Kelompok VI : kelompok kontrol pembanding (Gkibenklamid 360 mg/ Kg BB tikus)

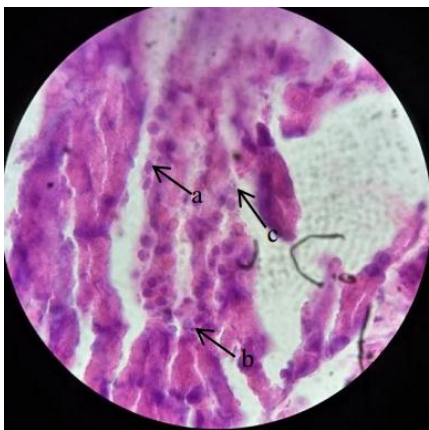
**Lampiran 24. Hasil histopatologi pankreas pada tikus**



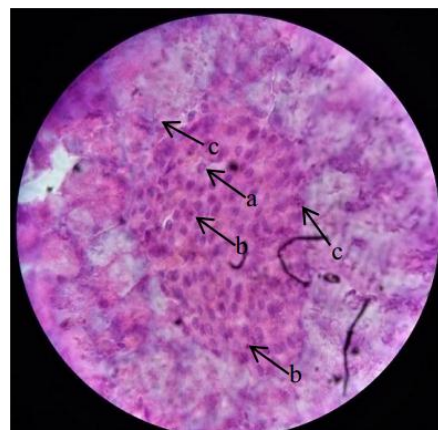
**Kontrol normal**



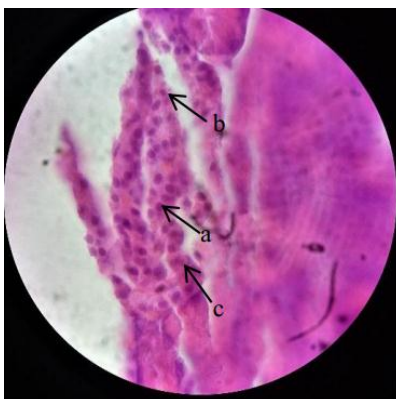
**Kontrol diabetes**



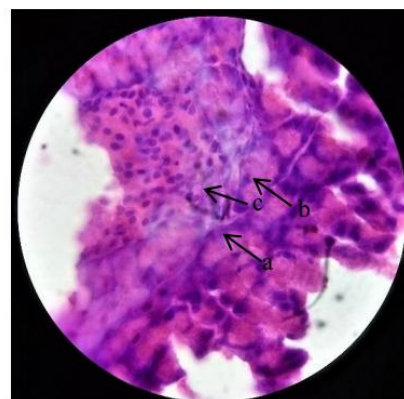
**Herba kitolod 50 mg/ Kg BB**



**Herba kitolod 100 mg/ Kg BB**



**Herba kitolod 200 mg/ Kg BB**



**Pembanding**

**Lampiran 25. Hasil uji statistik berat badan pada T<sub>0</sub>,T<sub>1</sub>,T<sub>2</sub> dan T<sub>3</sub>**

**Tests of Normality**

kelompok	Kolmogorov-Smirnov <sup>a</sup>			Shapiro-Wilk			
	Statistic	df	Sig.	Statistic	df	Sig.	
bb_T0	kontrol normal	.273	5	.200	.852	5	.201
	kontrol diabetes	.224	5	.200	.931	5	.603
	kitolod 50 mg/ Kg BB	.301	5	.158	.860	5	.227
	kitolod 100 mg/ Kg BB	.329	5	.081	.775	5	.050
	kitolod 200 mg/ Kg BB	.141	5	.200	.979	5	.928
	glibenklamid	.167	5	.200	.964	5	.832
bb_T1	kontrol normal	.224	5	.200	.842	5	.171
	kontrol diabetes	.300	5	.161	.885	5	.334
	kitolod 50 mg/ Kg BB	.304	5	.149	.808	5	.094
	kitolod 100 mg/ Kg BB	.250	5	.200	.885	5	.332
	kitolod 200 mg/ Kg BB	.233	5	.200	.884	5	.329
	glibenklamid	.167	5	.200	.961	5	.815
bb_t2	kontrol normal	.167	5	.200	.964	5	.833
	kontrol diabetes	.234	5	.200	.918	5	.516
	kitolod 50 mg/ Kg BB	.262	5	.200	.919	5	.521
	kitolod 100 mg/ Kg BB	.217	5	.200	.897	5	.394
	kitolod 200 mg/ Kg BB	.203	5	.200	.923	5	.549
	glibenklamid	.193	5	.200	.947	5	.715
bb_T3	kontrol normal	.212	5	.200	.895	5	.384
	kontrol diabetes	.179	5	.200	.962	5	.823
	kitolod 50 mg/ Kg BB	.224	5	.200	.894	5	.379
	kitolod 100 mg/ Kg BB	.211	5	.200	.965	5	.844
	kitolod 200 mg/ Kg BB	.136	5	.200	.987	5	.967
	glibenklamid	.173	5	.200	.947	5	.716

a. Lilliefors Significance Correction

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

## Oneway

Test of Homogeneity of Variances

	Levene Statistic	df1	df2	Sig.
bb_T0	4.124	5	24	.008
bb_T1	2.074	5	24	.104
bb_t2	.976	5	24	.453
bb_T3	2.196	5	24	.088

ANOVA

		Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
bb_T0	Between Groups	218.300	5	43.660	3.564	.015
	Within Groups	294.000	24	12.250		
	Total	512.300	29			
bb_T1	Between Groups	743.867	5	148.773	10.564	.000
	Within Groups	338.000	24	14.083		
	Total	1081.867	29			
bb_t2	Between Groups	1558.967	5	311.793	20.879	.000
	Within Groups	358.400	24	14.933		
	Total	1917.367	29			
bb_T3	Between Groups	3000.567	5	600.113	36.704	.000
	Within Groups	392.400	24	16.350		
	Total	3392.967	29			

## Post Hoc Tests

### Homogeneous Subsets

bb\_T0

Tukey HSD<sup>a</sup>

kelompok	N	Subset for alpha = 0.05
		1
kitolod 200 mg/ Kg BB	5	189.80
kontrol diabetes	5	190.60
glibenklamid	5	191.00
kitolod 50 mg/ Kg BB	5	192.00
kitolod 100 mg/ Kg BB	5	196.20
kontrol normal	5	196.60
Sig.		.052

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 5.000.

**bb\_T1**Tukey HSD<sup>a</sup>

kelompok	N	Subset for alpha = 0.05	
		1	2
kitolod 200 mg/ Kg BB	5	187.80	
kontrol diabetes	5	189.00	
glibenklamid	5	189.40	
kitolod 50 mg/ Kg BB	5	190.00	
kitolod 100 mg/ Kg BB	5	193.80	
kontrol normal	5		202.40
Sig.		.155	1.000

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 5.000.

**bb\_t2**Tukey HSD<sup>a</sup>

kelompok	N	Subset for alpha = 0.05		
		1	2	3
kontrol diabetes	5	183.40		
kitolod 50 mg/ Kg BB	5		194.20	
kitolod 200 mg/ Kg BB	5		194.40	
glibenklamid	5		195.40	
kitolod 100 mg/ Kg BB	5		198.00	
kontrol normal	5			208.00
Sig.		1.000	.634	1.000

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 5.000.

**bb\_T3**Tukey HSD<sup>a</sup>

kelompok	N	Subset for alpha = 0.05		
		1	2	3
kontrol diabetes	5	180.20		
kitolod 50 mg/ Kg BB	5		198.80	
glibenklamid	5		200.00	
kitolod 200 mg/ Kg BB	5		201.00	
kitolod 100 mg/ Kg BB	5		204.00	
kontrol normal	5			213.80
Sig.		1.000	.354	1.000

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 5.000.

## Lampiran 26. Hasil uji statistik kadar gula tikus pada T<sub>0</sub>

### Tests of Normality

kelompok	Kolmogorov-Smirnov <sup>a</sup>			Shapiro-Wilk		
	Statistic	df	Sig.	Statistic	df	Sig.
kgdT0 k.normal	.132	5	.200	.988	5	.974
k.diabetes	.184	5	.200	.973	5	.893
dosis 50 mg/ Kg BB	.245	5	.200	.882	5	.320
dosis 100 mg/ Kg BB	.155	5	.200	.981	5	.942
dosis 200 mg/ Kg BB	.128	5	.200	.994	5	.992
glibenklamid	.198	5	.200	.973	5	.894

a. Lilliefors Significance Correction

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

## Oneway

### Test of Homogeneity of Variances

kgdT0

Levene Statistic	df1	df2	Sig.
.747	5	24	.596

### ANOVA

kgdT0

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	139.648	5	27.930	4.481	.005
Within Groups	149.588	24	6.233		
Total	289.236	29			

## Post Hoc Tests

### Homogeneous Subsets

kgdT0

Tukey HSD<sup>a</sup>

kelompok	N	Subset for alpha = 0.05	
		1	2
k.normal	5	75.10	
k.diabetes	5	79.09	79.09
dosis 200 mg/ Kg BB	5		80.29
glibenklamid	5		80.32
dosis 50 mg/ Kg BB	5		80.85
dosis 100 mg/ Kg BB	5		81.80
Sig.		.155	.536

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 5.000.

## Lampiran 27. Hasil uji statistik kadar gula darah tikus pada T<sub>1</sub>

### Tests of Normality

kelompok	Kolmogorov-Smirnov <sup>a</sup>			Shapiro-Wilk		
	Statistic	df	Sig.	Statistic	df	Sig.
kgdT1 k.normal	.215	5	.200	.903	5	.427
k.diabetes	.270	5	.200	.917	5	.510
dosis 50 mg/ Kg BB	.374	5	.021	.749	5	.029
dosis 100 mg/ Kg BB	.390	5	.012	.718	5	.015
dosis 200 mg/ Kg BB	.184	5	.200	.958	5	.793
glibenklamid	.170	5	.200	.964	5	.835

a. Lilliefors Significance Correction

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

### Oneway

#### Test of Homogeneity of Variances

kgdT1

Levene Statistic	df1	df2	Sig.
.149	5	24	.978

### ANOVA

kgdT1

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	67203.445	5	13440.689	1805.669	.000
Within Groups	178.647	24	7.444		
Total	67382.092	29			

### Post Hoc Tests

#### Homogeneous Subsets

kgdT1

Tukey HSD<sup>a</sup>

kelompok	N	Subset for alpha = 0.05	
		1	2
k.normal	5	80.09	
k.diabetes	5		205.05
dosis 50 mg/ Kg BB	5		206.67
glibenklamid	5		206.80
dosis 100 mg/ Kg BB	5		208.20
dosis 200 mg/ Kg BB	5		208.53
Sig.		1.000	.362

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 5.000.



## Lampiran 28. Hasil uji statistik kadar gula darah tikus pada T<sub>2</sub>

### Tests of Normality

kelompok	Kolmogorov-Smirnov <sup>a</sup>			Shapiro-Wilk		
	Statistic	df	Sig.	Statistic	df	Sig.
kgdT2 k.normal	.241	5	.200	.844	5	.177
k.diabetes	.225	5	.200	.961	5	.814
dosis 50 mg/ Kg BB	.272	5	.200	.879	5	.304
dosis 100 mg/Kg BB	.230	5	.200	.923	5	.548
dosis 200 mg/ Kg BB	.349	5	.046	.817	5	.110
glibenklamid	.333	5	.072	.810	5	.098

a. Lilliefors Significance Correction

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

## Oneway

### Test of Homogeneity of Variances

kgdT2

Levene Statistic	df1	df2	Sig.
.871	5	24	.515

### ANOVA

kgdT2

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	52730.570	5	10546.114	993.594	.000
Within Groups	254.739	24	10.614		
Total	52985.308	29			

## Post Hoc Tests

### Homogeneous Subsets

kgdT2

Tukey HSD<sup>a</sup>

kelompok	N	Subset for alpha = 0.05				
		1	2	3	4	5
K.normal	5	78.97				
K.diabetes	5		173.53			
dosis 200 mg/ Kg BB	5		176.80			
dosis 100 mg/Kg BB	5			186.13		
dosis 50 mg/ Kg BB	5				196.11	
glibenklamid	5					205.50
Sig.		1.000	.614	1.000	1.000	1.000

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 5.000.

## Lampiran 29. Hasil uji statistik kadar gula darah tikus pada T<sub>3</sub>

### Tests of Normality

kelompok	Kolmogorov-Smirnov <sup>a</sup>			Shapiro-Wilk		
	Statistic	df	Sig.	Statistic	df	Sig.
T3 K.normal	.343	5	.055	.790	5	.067
K.diabetes	.166	5	.200	.955	5	.773
dosis 50 mg/ Kg BB	.245	5	.200	.887	5	.344
dosis 100 mg/ Kg BB	.154	5	.200	.971	5	.881
dosis 200 mg/ Kg BB	.195	5	.200	.944	5	.691
glibenklamid	.334	5	.070	.831	5	.142

a. Lilliefors Significance Correction

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

### Oneway

#### Test of Homogeneity of Variances

T3

Levene Statistic	df1	df2	Sig.
.812	5	24	.553

### ANOVA

T3

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	48985.028	5	9797.006	1817.411	.000
Within Groups	129.375	24	5.391		
Total	49114.404	29			

### Post Hoc Tests

#### Homogeneous Subsets

T3

Tukey HSD<sup>a</sup>

Kelompok	N	Subset for alpha = 0.05					
		1	2	3	4	5	6
Normal	5	78.13					
Glibenklamid	5		96.82				
dosis 200 mg/ Kg BB	5			113.93			
dosis 100 mg/ Kg BB	5				134.63		
dosis 50 mg/ Kg BB	5					144.53	
Diabetes	5						204.33
Sig.		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.

### Lampiran 30. Hasil uji statistik paired t-test berat badan tikus

#### T-Test

##### 1. Kontrol Normal

#### T-Test

**Paired Samples Statistics**

	Mean	N	Std. Deviation	Std. Error Mean
Pair 1 bb_T0	196.60	5	1.342	.600
bb_T1	202.40	5	2.074	.927

**Paired Samples Correlations**

	N	Correlation	Sig.
Pair 1 bb_T0 & bb_T1	5	.701	.187

**Paired Samples Test**

	Paired Differences					t	df	Sig. (2-tailed)
	Mean	Std. Deviation	Std. Error Mean	95% Confidence Interval of the Difference				
				Lower	Upper			
Pair 1 bb_T0 - bb_T1	-5.800	1.483	.663	-7.642	-3.958	-8.744	4	.001

##### 2. Kontrol diabetes

#### T-Test

**Paired Samples Statistics**

	Mean	N	Std. Deviation	Std. Error Mean
Pair 1 bb_T0	190.60	5	3.130	1.400
bb_T1	189.00	5	3.082	1.378

**Paired Samples Correlations**

	N	Correlation	Sig.
Pair 1 bb_T0 & bb_T1	5	.959	.010

**Paired Samples Test**

	Paired Differences					t	df	Sig. (2-tailed)
	Mean	Std. Deviation	Std. Error Mean	95% Confidence Interval of the Difference				
				Lower	Upper			
Pair 1 bb_T0 - bb_T1	1.600	.894	.400	.489	2.711	4.000	4	.016

**3. Kitolod 50 mg/ Kg BB****T-Test****Paired Samples Statistics**

	Mean	N	Std. Deviation	Std. Error Mean
Pair 1 bb_T0	192.00	5	5.701	2.550
bb_T1	190.00	5	5.612	2.510

**Paired Samples Correlations**

	N	Correlation	Sig.
Pair 1 bb_T0 & bb_T1	5	.977	.004

**Paired Samples Test**

	Paired Differences					t	df	Sig. (2-tailed)
	Mean	Std. Deviation	Std. Error Mean	95% Confidence Interval of the Difference				
				Lower	Upper			
Pair 1 bb_T0 - bb_T1	2.000	1.225	.548	.479	3.521	3.651	4	.022

#### 4. Kitolod 100 mg/ Kg BB

##### T-Test

Paired Samples Statistics

	Mean	N	Std. Deviation	Std. Error Mean
Pair 1 bb_T0	196.20	5	2.950	1.319
bb_T1	193.80	5	3.114	1.393

Paired Samples Correlations

	N	Correlation	Sig.
Pair 1 bb_T0 & bb_T1	5	.958	.010

Paired Samples Test

	Paired Differences					t	df	Sig. (2-tailed)
	Mean	Std. Deviation	Std. Error Mean	95% Confidence Interval of the Difference				
				Lower	Upper			
Pair 1 bb_T0 - bb_T1	2.400	.894	.400	1.289	3.511	6.000	4	.004

#### 5. Kitolod 200 mg/ Kg BB

##### T-Test

Paired Samples Statistics

	Mean	N	Std. Deviation	Std. Error Mean
Pair 1 bb_T0	189.80	5	1.924	.860
bb_T1	187.80	5	2.280	1.020

Paired Samples Correlations

	N	Correlation	Sig.
Pair 1 bb_T0 & bb_T1	5	.844	.073

**Paired Samples Test**

	Paired Differences					t	df	Sig. (2-tailed)
	Mean	Std. Deviation	Std. Error Mean	95% Confidence Interval of the Difference				
				Lower	Upper			
Pair 1 bb_T0 - bb_T1	2.000	1.225	.548	.479	3.521	3.651	4	.022

**6. Pemandangan (Glibenklamid)**

**T-Test**

**Paired Samples Statistics**

	Mean	N	Std. Deviation	Std. Error Mean
Pair 1 bb_T0	191.00	5	4.123	1.844
bb_T1	189.40	5	4.930	2.205

**Paired Samples Correlations**

	N	Correlation	Sig.
Pair 1 bb_T0 & bb_T1	5	.996	.000

**Paired Samples Test**

	Paired Differences					t	df	Sig. (2-tailed)
	Mean	Std. Deviation	Std. Error Mean	95% Confidence Interval of the Difference				
				Lower	Upper			
Pair 1 bb_T0 - bb_T1	1.600	.894	.400	.489	2.711	4.000	4	.016

### Lampiran 31. Hasil uji statistik paired t-test kadar gula darah tikus

#### 1. Kontrol normal

##### T-Test

**Paired Samples Statistics**

	Mean	N	Std. Deviation	Std. Error Mean
Pair 1 kgd_T0	79.09	5	2.441	1.092
kgd_T1	80.09	5	2.132	.953

**Paired Samples Correlations**

	N	Correlation	Sig.
Pair 1 kgd_T0 & kgd_T1	5	.978	.004

**Paired Samples Test**

	Paired Differences					t	df	Sig. (2-tailed)
	Mean	Std. Deviation	Std. Error Mean	95% Confidence Interval of the Difference				
				Lower	Upper			
Pair 1 kgd_T0 - kgd_T1	-.998	.573	.256	-1.710	-.286	-3.894	4	.018

#### 2. Kontrol diabetes

##### T-Test

**Paired Samples Statistics**

	Mean	N	Std. Deviation	Std. Error Mean
Pair 1 kgd_T0	75.10	5	2.944	1.317
kgd_T1	205.05	5	2.960	1.324

**Paired Samples Correlations**

	N	Correlation	Sig.
Pair 1 kgd_T0 & kgd_T1	5	.116	.852

**Paired Samples Test**

	Paired Differences					t	df	Sig. (2-tailed)
	Mean	Std. Deviation	Std. Error Mean	95% Confidence Interval of the Difference				
				Lower	Upper			
Pair 1 kgd_T0 - kgd_T1	-129.952	3.925	1.755	-134.825	-125.079	-74.035	4	.000

**3. Kitolid 50 mg/ Kg BB****T-Test****Paired Samples Statistics**

	Mean	N	Std. Deviation	Std. Error Mean
Pair 1 kgd_T0	80.85	5	1.495	.669
kgd_T1	206.67	5	3.253	1.455

**Paired Samples Correlations**

	N	Correlation	Sig.
Pair 1 kgd_T0 & kgd_T1	5	-.629	.255



## Paired Samples Test

	Paired Differences					t	df	Sig. (2-tailed)
	Mean	Std. Deviation	Std. Error Mean	95% Confidence Interval of the Difference				
				Lower	Upper			
Pair 1 kgd_T0 - kgd_T1	-125.820	4.351	1.946	-131.223	-120.417	-64.658	4	.000

## 4. Kitolod 100 mg/ Kg BB

## T-Test

## Paired Samples Statistics

	Mean	N	Std. Deviation	Std. Error Mean
Pair 1 kgd_T0	81.80	5	3.010	1.346
kgd_T1	208.20	5	3.090	1.382

## Paired Samples Correlations

	N	Correlation	Sig.
Pair 1 kgd_T0 & kgd_T1	5	.599	.286

## Paired Samples Test

	Paired Differences					t	df	Sig. (2-tailed)
	Mean	Std. Deviation	Std. Error Mean	95% Confidence Interval of the Difference				
				Lower	Upper			
Pair 1 kgd_T0 - kgd_T1	-126.406	2.732	1.222	-129.798	-123.014	-103.464	4	.000

## 5. Kitolod 200 mg/ Kg BB

### T-Test

Paired Samples Statistics

	Mean	N	Std. Deviation	Std. Error Mean
Pair 1 kgd_T0	80.29	5	1.739	.778
kgd_T1	208.53	5	2.563	1.146

Paired Samples Correlations

	N	Correlation	Sig.
Pair 1 kgd_T0 & kgd_T1	5	-.557	.329

Paired Samples Test

	Paired Differences					t	df	Sig. (2-tailed)
	Mean	Std. Deviation	Std. Error Mean	95% Confidence Interval of the Difference				
				Lower	Upper			
Pair 1 kgd_T0 - kgd_T1	-128.242	3.816	1.707	-132.980	-123.504	-75.148	4	.000

## 6. Glibenklamid

### T-Test

Paired Samples Statistics

	Mean	N	Std. Deviation	Std. Error Mean
Pair 1 kgd_T0	80.32	5	2.907	1.300
kgd_T1	206.80	5	2.158	.965

## Paired Samples Correlations

	N	Correlation	Sig.
Pair 1 kgd_T0 & kgd_T1	5	-.559	.327

## Paired Samples Test

	Paired Differences					t	df	Sig. (2-tailed)
	Mean	Std. Deviation	Std. Error Mean	95% Confidence Interval of the Difference				
				Lower	Upper			
Pair 1 kgd_T0 - kgd_T1	-126.482	4.486	2.006	-132.052	-120.912	-63.052	4	.000

**Lampiran 32. Hasil uji statistik presentase penurunan kadar gula darah tikus T<sub>1</sub> terhadap T<sub>2</sub>**

**Tests of Normality**

kelompok		Kolmogorov-Smirnov <sup>a</sup>			Shapiro-Wilk		
		Statistic	df	Sig.	Statistic	df	Sig.
% penurunan kgd	dosis 50 mg/ Kg BB	.274	5	.200	.909	5	.461
	dosis 100 mg/ Kg BB	.234	5	.200	.847	5	.186
	dosis 200 mg/ Kg BB	.274	5	.200	.885	5	.333
	positif	.280	5	.200	.889	5	.353

a. Lilliefors Significance Correction

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

**Oneway**

**Test of Homogeneity of Variances**

% penurunan kgd

Levene Statistic	df1	df2	Sig.
1.730	5	24	.166

**ANOVA**

% penurunan kgd

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	1219.443	5	243.889	72.423	.000
Within Groups	80.821	24	3.368		
Total	1300.265	29			

**Post Hoc Tests**

**Homogeneous Subsets**

% penurunan kgd

Tukey HSD<sup>a</sup>

Kelompok	N	Subset for alpha = 0.05			
		1	2	3	4
dosis 50 mg/ Kg BB	5		5.0982		
dosis 100 mg/ Kg BB	5			10.5847	
dosis 200 mg/ Kg BB	5				15.1981
Glibenklamid	5				16.0836
Sig.		.745	1.000	1.000	.971

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 5.000.

### Lampiran 33. Hasil uji statistik presentase penurunan kadar gula darah tikus T<sub>1</sub> terhadap T<sub>3</sub>

#### Tests of Normality

kelompok		Kolmogorov-Smirnov <sup>a</sup>			Shapiro-Wilk		
		Statistic	df	Sig.	Statistic	df	Sig.
% penurunan kgd	normal	.222	5	.200	.915	5	.500
	diabetes	.161	5	.200	.979	5	.928
	dosis 50 mg/ Kg BB	.196	5	.200	.916	5	.503
	dosis 100 mg/ Kg BB	.252	5	.200	.867	5	.253
	dosis 200 mg/ Kg BB	.229	5	.200	.919	5	.525
	Glibenklamid	.251	5	.200	.881	5	.315

a. Lilliefors Significance Correction

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

#### Oneway

##### Test of Homogeneity of Variances

% penurunan kgd

Levene Statistic	df1	df2	Sig.
1.490	5	24	.230

#### ANOVA

% penurunan kgd

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	12056.663	5	2411.333	919.574	.000
Within Groups	62.933	24	2.622		
Total	12119.596	29			

#### Post Hoc Tests

##### Homogeneous Subsets

% penurunan kgd

Tukey HSD<sup>a</sup>

Kelompok	N	Subset for alpha = 0.05				
		1	2	3	4	5
K.negatif	5	.35				
K.diabetes	5	2.41				
dosis 50 mg/ Kg BB	5		30.05			
dosis 100 mg/ Kg BB	5			35.31		
dosis 200 mg/ Kg BB	5				45.35	
Glibenklamid	5					53.17
Sig.		.362	1.000	1.000	1.000	1.000

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 5.000.

### Lampiran 34. Hasil uji statistik histopatologi pankreas tikus

#### Tests of Normality<sup>b</sup>

kelompok	Kolmogorov-Smirnov <sup>a</sup>			Shapiro-Wilk		
	Statistic	df	Sig.	Statistic	df	Sig.
kerusakan_ kontrol normal	.385	3	.	.750	3	.000
pankreas kontrol diabetes	.219	3	.	.987	3	.780
dosis 50 mg/ Kg BB	.385	3	.	.750	3	.000
dosis 100 mg/ Kg BB	.175	3	.	1.000	3	1.000
dosis 200 mg/ Kg BB	.253	3	.	.964	3	.637

a. Lilliefors Significance Correction

b. kerusakan\_pankreas is constant when kelompok = glibenklamid. It has been omitted.

### Oneway

#### Test of Homogeneity of Variances

kerusakan\_pankreas

Levene Statistic	df1	df2	Sig.
2.560	5	12	.085

#### ANOVA

kerusakan\_pankreas

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	1593.111	5	318.622	106.207	.000
Within Groups	36.000	12	3.000		
Total	1629.111	17			

## Post Hoc Tests

### Homogeneous Subsets

#### kerusakan\_pankreas

Tukey HSD<sup>a</sup>

Kelompok	N	Subset for alpha = 0.05			
		1	2	3	4
dosis 200 mg/ Kg BB	3	8.67			
kontrol normal	3	9.00			
Glibenklamid	3	11.00	11.00		
dosis 100 mg/ Kg BB	3		15.00		
dosis 50 mg/ Kg BB	3			21.67	
kontrol diabetes	3				35.33
Sig.		.585	.119	1.000	1.000

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 3.000.