

RINGKASAN

Diabetes mellitus (DM) dapat digambarkan sebagai sekelompok penyakit metabolismik multisistem yang berhubungan dengan abnormalitas metabolisme karbohidrat, lemak, protein dan menyebabkan komplikasi kronis, seperti mikrovaskular, makrovaskular, dan neuropati. Penyakit DM dapat terjadi akibat kelainan sekresi insulin, kerja insulin, atau kedua-duanya (Triplitt *et al.*, 2005).

Terapi pasien DM tipe II dimulai dengan terapi non-farmakologi terlebih dahulu, apabila usaha tersebut tidak berhasil, maka perlu dilakukan dengan menggunakan terapi farmakologi berupa obat antidiabetes oral (Khotib *et al.*, 2010). Obat antidiabetes yang telah digunakan sebagai terapi sampai saat ini antara lain adalah obat golongan sulfonilurea dan non sulfonilurea (*insulin secretagogue*) seperti golongan biguanid dan thiazolidinedion (*insulin sensitizer*), serta golongan *inhibitor α-glukosidase* (Belfiore *et al.*, 2000).

Pengobatan dengan obat tradisional yang diberikan secara tunggal tidak direkomendasikan oleh komite etik Departemen Kesehatan Republik Indonesia, karena mengingat DM merupakan penyakit kronis yang penatalaksanaannya harus menggunakan obat antidiabetes oral sintetik.

Beberapa penelitian menunjukkan bahwa buah oyong memiliki aktivitas sebagai antihiperglikemia dan antihiperlipidemia pada tikus yang diinduksi oleh streptozotosin (Pimple *et al.*, 2011). Penelitian yang dilakukan oleh Hazra dkk (2011) menunjukkan bahwa ekstrak metanol buah oyong memiliki aktivitas

antidiabetes yang sangat efektif terhadap tikus diabetes yang diinduksi aloksan dimana terjadi penurunan kadar glukosa darah yang signifikan.

Berdasarkan hasil penelitian terdahulu tentang aktivitas antidiabetes tanaman oyong, maka peneliti tertarik untuk menguji pengaruh kombinasi ekstrak etanol biji oyong dengan metformin terhadap aktivitas protein *glucose transporter* (GLUT-4) dalam proses insulin *signaling*, terutama pada jaringan otot paha (*soleus muscle*) tikus yang menderita DM tipe II resistensi insulin. Tujuan dari penelitian ini yaitu untuk mengetahui pengaruh pemberian kombinasi ekstrak etanol biji oyong dan metformin dalam menurunkan kadar glukosa darah dan aktivitas peningkatan protein GLUT-4 pada jaringan otot tikus yang mengalami DM tipe II resistensi insulin serta dosis yang paling optimal yang dapat diberikan.

Dalam penelitian digunakan tikus sebanyak 70 ekor dengan 10 kelompok uji, masing-masing kelompok uji terdiri dari 7 ekor tikus. Pengelompokan tikus dibagi menjadi dua kategori yaitu kelompok tikus normal (kelompok I) dan kelompok tikus *High Fat Diet/HFD* (kelompok II sampai kelompok X) yaitu tikus yang diberi beban glukosa monohidrat 2 g/kg BB, minyak babi dan *High Fat Diet* (terdiri dari: pakan pelet 80%, lemak sapi 15%, dan kuning telur puyuh 5%) selama 60 hari. Pengelompokan bertujuan untuk membandingkan nilai parameter resistensi insulin kelompok tikus normal dan kelompok tikus HFD.

Kelompok perlakuan tikus terdiri dari kelompok kontrol normal, kontrol positif (metformin 9 mg/kg BB tikus), dosis tunggal ekstrak etanol biji oyong (200 mg/kg BB), kelompok kombinasi metformin dan biji oyong berturut-turut

dari kelompok 4 sampai kelompok 10 (11,25:150), (22,5:100), (33,7:50), (11,25:100), (11,25:50), (22,5:50) dan (33,7:150 mg/kg BB).

Tikus diberikan sediaan uji selama 15 hari, sesuai dengan perbandingan dosis untuk setiap kelompok uji dengan durasi pemberian 2x sehari. Selanjutnya pengukuran kadar glukosa darah diukur pada hari ke 8 (T_2) dan hari ke 15 (T_3) setelah perlakuan. Tikus selanjutnya dibedah dan diambil jaringan otot paha (*soleus muscle*) dan dilakukan preparasi dan pengamatan secara imunohistokimia untuk mengamati aktivitas protein GLUT-4.

Data yang diperoleh dalam penelitian ini merupakan data yang bersifat kuantitatif dan semi kuantitatif. Data kuantitatif berupa kadar glukosa darah sedangkan data semi kuantitatif berupa data hasil kuantifikasi luas dan intensitas daerah translokasi protein GLUT-4.

Hasil pengukuran rata-rata prosentase peningkatan berat badan tikus terlihat bahwa terjadi peningkatan berat badan tikus yang signifikan antara kelompok tikus yang diberi HFD dengan kelompok tikus normal. Hal ini mengindikasikan bahwa pemberian HFD, minyak babi dan glukosa monohidrat mempengaruhi kenaikan berat badan pada kelompok tikus HFD secara bermakna dengan kelompok tikus normal

Pada uji tes toleransi glukosa dapat dinyatakan bahwa tikus yang diberi HFD mengalami DM tipe II resistensi insulin. Hal ini dapat dilihat dari nilai rata-rata peningkatan kadar glukosa darah tikus setelah dibebankan glukosa monohidrat 2g/kg BB dan diuji pada menit ke-30, 60, 90 dan menit ke-120.

Kadar glukosa darah tikus setelah pemberian HFD, glukosa monohidrat dan minyak babi sampai pada hari ke-60, tampak bahwa kenaikan kadar glukosa darah kelompok tikus yang diberi HFD berbeda bermakna dibandingkan tikus normal, hal ini membuktikan bahwa pemberian pakan HFD, minyak babi dan glukosa monohidrat dapat menginduksi terjadinya DM tipe II resistensi insulin.

Setelah diberi larutan uji terlihat bahwa terjadi penurunan kadar glukosa darah pada kelompok tikus yang diberikan larutan uji (suspensi metformin, biji oyong dan kombinasi metformin dan biji oyong) dan penurunan kadar glukosa yang lebih tinggi terlihat pada kelompok kombinasi metformin 33,7 mg/kg BB dan ekstrak etanol biji oyong 150 mg/kg BB.

Setelah dilakukan pemeriksaan ekspresi protein GLUT-4 pada jaringan otot dengan metode *Immunohistochemistry* (IHC) dapat terlihat perbedaannya, hasil perhitungan total nilai rata-rata ekspresi GLUT-4 kelompok tikus normal sebanyak 25,83, sementara pada tikus HFD pada pemberian kombinasi metformin dengan ekstrak etanol biji oyong dosis 11,25 mg : 50 mg (25:25) hanya sebanyak 6,00. Ini membuktikan bahwa pada kelompok tikus yang diberi HFD terjadi penurunan jumlah ekspresi protein GLUT-4 pada jaringan otot.

Pada kelompok kombinasi 2 (50:50) terlihat bahwa dengan dosis 50% metformin dan 50% ekstrak etanol biji oyong sudah memiliki kemampuan dalam meningkatkan jumlah translokasi protein GLUT-4 dan menurunkan kadar glukosa darah yang lebih baik jika dibandingkan dengan pemberian ekstrak etanol tunggal dan tidak terlalu berbeda signifikan dengan sediaan uji metformin, artinya sediaan uji dengan kombiansi 50% saja sudah memiliki kemampuan optimal dalam

meningkatkan jumlah translokasi protein GLUT-4 dan menurunkan kadar glukosa darah tikus yang dikondisikan DM tipe II resistensi insulin,

Senyawa kimia dalam biji oyong yang berpotensi menurunkan kadar glukosa darah tikus adalah saponin, flavonoid, glikosida dan terpenoid. Menurut Adnyana (2010) senyawa aktif dari biji oyong yang dapat menurunkan kadar glukosa darah adalah cucubitasin, dimana cucubitasin merupakan turunan dari kelompok triterpen. Cucubitasin diduga memiliki mekanisme kerja dalam menurunkan kadar glukosa darah dengan cara merangsang pengambilan glukosa ke dalam sel dan meningkatkan sensitivitas reseptor insulin melalui fosforilasi (Garcia & Michael, 2010).

Berdasarkan analisis regresi linear antara penuruna kadar glukosa darah dan peningkatan jumlah protein GLUT-4 dapat dijelaskan bahwa peningkatan jumlah protein GLUT-4 mempengaruhi persen penurunan kadar glukosa darah tikus sebesar 70.1%, sementara 29.9% dipengaruhi oleh faktor yang lain. Berdasarkan analisis dengan ANOVA terlihat adanya nilai signifikansi yang ditunjukan pada table sebesar $0.005 < 0.05$ yang artinya hubungan antara jumlah peningkatan protein GLUT -4 dengan persen penurunan kadar glukosa darah adalah linear atau saling mempengaruhi.

DAFTAR PUSTAKA

- Ahima RS. Flier JS. 2000. Adipose tissue as an endocrine organ. *Trends Endocrinol Metab.* 11: 327-332.
- Aklima S, Charunawan K RN dan Thaniawattananon P. 2013. Dietary Behavior among Patient with Type 2 Diabetes Mellitus in Indonesia. *Nurse Medical Journal Nourising.*, 3(1): 499-509.
- Aliyan AH. 2012. *Uji Penghambatan Aktivitas alfa Glukosidase dan Identifikasi Golongan Senyawa Kimia dari Fraksi Aktif Ekstrak Biji Mahoni*. [Skripsi]. FMIPA. UI.
- American Diabetes Association. 2012. *Standar of Medical Care in Diabetes-2012*. Volume 35 (Juni 2012).
- Andayani Y. 2003. *Mekanisme aktivitas antihiperglikemik ekstrak buncis (Phaseolus vulgaris Linn) pada tikus diabetes dan identifikasi komponen aktif* [disertasi]. Bogor: Program Pascasarjana, Institut Pertanian Bogor.
- Adriani. 2011. *Skrining Fitokimia dan Uji Penghambatan Aktivitas Alfa Glukosidase pada Ekstrak Etanol dari Beberapa Tanaman yang digunakan sebagai Obat Antidiabetes*.[Skripsi]. FMIPA.UI.
- Andrie M. 2012. Uji Aktivitas Antidiabetes Mellitus(DM) Tipe 2 Andrographolid dan Ekstrak Terpurifikasi Herba Sambiloto (*Andrographis paniculata* (Burm .f.) ness.) Melalui Peningkatan Translokasi Protein GLUT-4 Pada Otot Paha Tikus Resistensi Insulin. [Tesis]. Universitas Gadjah Mada. Yogyakarta.
- [Anonim]. 1986. Sediaan Galenika. Departemen Kesehatan Republik Indonesia. Jakarta.
- [Anonim]. 1989. *Materi Medika Indonesia*. Jilid III. Jakarta: Departemen Kesehatan Republik Indonesia.
- Ansel HC. 1989. *Pengantar Bentuk Sediaan Farmasi*. Edisi IV. Jakarta: Universitas Indonesia. hlm 605-607.
- Arisman MB. 2011. *Obesitas, Diabetes Mellitus dan Dislipidemia Konsep, Teori dan Penanganan Aplikatif*. Jakarta. hal.44-60, 65-67, 81, 137-138.

- Backer CAD. 1968. *Flora of Java (Spermatophytes only)*. Volume III. Noordhoff-Groningen.
- Bosenberg LH. 2008. The mechanism of action of oral antidiabetic drug: a review of recent literature. *The Journal of Endocrinology. Metabolims and Diabetes of South Africa*. 13(3): 80-88.
- Badole SL, Patel NM, Prasad A, Thakurdesai, Bodhankar SL. 2008. Interaction of Aqueous Extract of *Pleurotus pulmonarius* (Fr.) Quel-Champ. with Glyburide in Alloxan Induced Diabetic Mice, *eCAM*, 5(2): 159–164.
- Belfiore F, Mogensen CE (eds). 2000. *New Concepts in Diabetes and Its Treatment*. Basel, Karger.
- Chisholm-burns, Marie A, Wells, Barbara G, Schwinghammer, Terry L, Malone, Patrick M, Kolesar, Jill M, Rotschafer, John C, Dipiro JT. 2008. *Pharmacotherapy principles and practice*. United States of America: McGraw-Hill Companies, Inc.
- [Departemen Kesehatan RI]. 1985. *Cara Pembuatan Simplisia*. Jakarta: Departemen Kesehatan Republik Indonesia.
- DiPiro JT, Talbert RL, Yee GC, Matzke GR, Wells BG, Posey LM. 2008. *Pharmacotherapy: A Pathophysiologic Approach*, Seventh Edition. McGraw-Hill, New York.
- Direktorat Binfar Komintas dan Klinik. 2005. *Pharmaceutical Care untuk Diabetes Mellitus*. Bina Kefarmasian dan Alat Kesehatan DepKes RI.
- Fernandes Luciana CB, Luiz Augusto VC, and Benito SB. 2010. Luffa acutangula Roxb. Tea promotes developmental toxicity to rats. *Jornal of animal and verinary advance*. 9(8): 1255-1258.
- Garcia & Michael. 2010. *A Folk Remedy for NIDDM: Evidence of Antihyperglycemic Effects of H. Latiflora*. Department of Biological Chemistry, UCLA, David Geffen School of Medicine UCLA. California.
- Garvey WT, Maianu L, Zhu JH, Brechtel-Hook G, Wallace P, Baron AD. 1998. Evidence for Defects in the Trafficking and Translocation of GLUT4 Glucose Transporters in Skeletal Muscle as a Cause of Human Insulin Resistance. *The Journal of Clinical Investigation*; Volume 101(11): 2377–2386.

- Gill NS, Arora R, Kumar SR. 2011. Evaluation of Antioxidant, Antiinflammatory and Analgesic Potential of the *Luffa acutangula* Roxb. Var. amara. India. *Research Journal of Phytochemistry*, 5: 201-208.
- Gowtham KNP, Kuppast IJ, Mankani KL. 2012. International Journal of Pharma World Research. Department Of Pharmacology, National College Of Pharmacy, Karnataka, India. Vol. 3.
- Gunawan D, Mulyani S. 2004. *Ilmu Obat Alam*. Jilid I. Jakarta: Penebar Swadaya.
- Harkness R. 1989. *Interaksi Obat* (terjemahan). Penerbit ITB. Bandung.
- Hazra M, Sriparna K, Sanjib B, Pallab KH, Malaya G, Upal KM. 2011. Evaluation of hypoglycemic and antihyperglycemic effects of *Luffa cylindrica* fruit extract in rats. *Journal of Advanced Pharmacy Education & Research*.
- Holt, RIG dan Hanley, NA. 2007. *Essential Endocrinology and Diabetes*. United Kingdom: Blackwell Publising.
- Ibrahim R. (2010) Diabetes Mellitus Type II: Review Of Oral Treatment Options, *International Journal of Pharmacy and Pharmaceutical Sciences*, Vol 2 (1): 21-30.
- Irawan, Dedi. 2010. *Prevalensi dan Faktor Risiko Kejadian Diabetes Melitus Tipe 2 di Daerah Urban Indonesia (Analisa Data Sekunder Riskesdas 2007)*. [Thesis] .Universitas Indonesia.
- Isoma BO. 2001. *Chronic Diabetic Complications in Clinically. Immunologically and Genetically Defined Subgroups*. Academic Dissertation. Helsinki: Departement of Medicine University of Helsinki, Finland.
- Jadhav VB, Vishu NK, Anupama AS, Avinas DD, Suresh RN. 2010. Hepatoprotective activity of *Luffa acutangula* against CCL4 and rifampicin induce liver toxicity in rats: a biochemical and histopathological evaluation. *Indian journal of Experimental Biology*. 48:822-829.
- Jones RM, Rospond RM. 2003. *Patient Assessment in Pharmacy Practice*. Philadelphia: Lippincott William & Wilkins.
- Jyothi.V, Ambati S, Jyothi.V A. 2010. The Pharmachognostic, Phytochemical and Pharmacological Profile of *Luffa acutangula*. *International Journal of Pharmacy and Technology*. India.

- Katzung BG. 2010. *Farmakologi Dasar dan Klinik*. Jakarta: Penerbit Buku Kedokteran ECG. Hlm 704-705.
- Khotib J, Kasih E, Dorotea D, Palestin N, Aryani T, Susilo I. 2010. Pengaruh Vanadil Sulfat Terhadap Aktivitas Glucose Transporter 4 Jaringan Otodan Adiposa Mencit (*MusMusculus*) yang Menderita Diabetes Mellitus. Fakultas Farmasi Dan Fakultas Kedokteran. Airlangga.
- Kim JD, Kang SM, Seo BI, Choi HY, Choi HS, Ku SK. 2006. Anti-diabetic activity of SMK001, a poly herbal formula in streptozotocin induced diabetic rats: *Therapeutic study. Biol Pharm Bull*. 29: 477–82.
- Lay SL, Lefrere I, Trautwein C, Dugail I, Krief S. 2002. Insulin and Sterol-regulatory Element-binding Protein-1c (SREBP-1c) Regulation of Gene Expression in 3T3-L1 Adipocytes. *Journal Biology Chemistry*; 277 (38): 35625 - 35634
- Lee JM. 2006. Insulin Resistance in children and adolescent. *Rev Endocr Metab Disord*; 7: 141-7.
- Malole MBM, Pramono CSU. 1989. *Pengantar Hewan-Hewan Percobaan di Laboratorium*. Bogor. Pusat Antara Universitas Bioteknologi IPB.
- Manaf A. 2006. Insulin: mekanisme sekresi dan aspek metabolisme. Dalam: *Buku ajar ilmu penyakit dalam*. Editor: Aru W. Sudoyo, Bambang Setiyohadi, Idrus Alwi, Marcellus Simadibrata K., Siti Setiati. Jakarta: Pusat Penerbitan Departemen Ilmu Penyakit Dalam FKUI. Hal 1890.
- Manoharan S, Kumar RA, Mary AL, Singh RB, Balakrishnan S and Silvan S. (2009) Effects of *Punicagranatum* Flowers on Carbohydrate MetabolizingEnzymes, Lipid Peroxidation and Antioxidants Status in Streptozotocin Induced Diabetic Rats, *The Open Nutraceuticals Journal*, 2: 113-117.
- Mansjoer A. Triyanti K, Savitri R, Wardhani WI, Setiowulan W, editor 2001. Kapitaselekta kedokteran edisi ke 3 jilid pertama. Jakarta media Aesculapius FK UI .halam 580-587.
- Mawarti H, Ratnawati R, Lyrawati D. 2012. *Epigallocatechin Gallate Menghambat Resistensi Insulin pada Tikus dengan Diet Tinggi Lemak*. Jombang. *Jurnal Kedokteran Brawijaya*, Vol. 27, No. 1
- Merck. 1987. *Buku Pedoman Kerja Kimia Klinik*. Jakarta. Hlm 62-78.

- Misnadiarly. (2006). *Diabetes Mellitus: Ulcer, Infeksi, Gangren*. Jakarta: Penerbit Popular Obor.
- Miura T, Nishiyama Y, Ichimaru M, Kato A. 1996. Hypoglycemic activity and structure-activity relationship of iridoidal glycosides [abstract]. *Biol Pharm Bull*; 19(1): 160-1.
- Modi P. 2007. Diabetes Beyond Insulin: Review of New Drugs for Treatment of Diabetes Mellitus. *Current Drug Discovery Technologies*. 1 (4): 39-47.
- Mutschler. 1991. *Dinamika obat*. Edisi V. Bandung. Penerbit ITB.
- Nagao T, Ryuichiro T, Yukiko I, Hiroshi H, Hikaru O. 1991. Studies on the constituent of luffa acutangula Roxb. Structures of acutoside A-G, aleonane-type triterpene saponins isolate from the herbs. *Chermphar bull*. 39 (3): 599-606.
- Neal MJ. 2002. *Medical Pharmacology a Glance*. New York: Blackwell Publishing.
- Nolte, M. S., Karam, J. H. 2007. Pancreatic Hormones &Antidiabetic Drugs. In: B. G. Katzung (Eds.). *Basic and Clinical Pharmacology*, 10th Ed., Singapore: McGraw-Hill Companies, p. 683-687.
- Notoatmodjo S. 2002. *Metodologi Penelitian Kesehatan*. Jakarta: Rineka Cipta.
- Nugroho AE. 2006. *Hewan percobaan diabetes mellitus: patologi dan mekanisme aksi diabetogenik*. Biodiversitas. 4(7): 378-382
- Prihatnanto Y, Irdha F, Sukrasno. 2006. Telaah kandungan kimia ekstrak etilasetat biji oyong (*Luffa acutangula* (L.) Roxb) [abstrak]. Sekilat farmasi ITB. Bandung.
- Purwanti S. 2012. *antihyperlipidemic effect of 70% Ethanol extract of Ridged Gourd Fruit (*Luffa acutangula* (L.) Roxb) in induces high cholesterol and lipid diet male rat*. FMIPA. UI.
- Pimple BP, Kadam PV, Patil MJ. 2011. Antidiabetic and antihyperlipidemia activity of Luffaacutangula fruit extract in streptozotozin induce NIDDM rats. *Asian Journal of Pharmaceutical and Clinical Research*. 4, 156-163.
- Reid J, Rubin P, Whitin B. 2007. *Catatan kuliah farmakologi klinis*. Edisi 4. Jakarta: Penerbit buku kedokteran EGC. Hal 280-281.

- Rothman DL, Magnusson I, Cline G, Gerard D, Kahn CR, Shulman RG, Shulman GI. 1995. Decreased muscle glucose transport/phosphorylation is an early defect in the pathogenesis of noninsulin-dependent diabetes mellitus. *Proc Natl Acad Sci U S A*; 92: 983–987.
- Savage DB, Petersen KF, Shulman GI. 2005. *Mechanism of Insulin Resistance in Humans and Possible Links with Inflammation, Hypertension*. 45: 828-33.
- Sharp PE, LaRegina MC, Suckw MA. 1998. *The Laboratory Rat*. CRC Press. USA.
- Sheperd PR, Kahn BB. 1999. Glucose Transporter and Insulin Action. *The New England Journal of Medicine*.
- Shulman GI. 2000. *Cellular Mechanisms of Insulin Resistance*. The Journal of Clinical Investigation. 106 (2).
- Song J, Kwon O, Cheng S, Daruwala R, Eck P, Park JB, et all. 2002. Flavonoid inhibition of sodium-dependent vitamin c transporter 1 (svct1) and glucose transporter isoform 2 (glut2), intestinal transporters for vitamin c and glucose. *J Biol Chem* 2002. 277: 15252-60.
- Soumyanat, Amala. 2006. *Traditional Medicine for modern times; antidiabetic plant*. Bocaraton: Taylor & france.
- Sudarmadji SB. Haryono, Suhardi. 1997. *Prosedur Analisa untuk Bahan Makanan dan Pertanian*. Yogyakarta: Penerbit Liberty.
- Sudewo B. 2004. *Tanaman Obat Populer Penggempur Aneka Penyakit*. Jakarta: Agro Media Pustaka.
- Suharmiati. 2003. *Pengujian bioaktifitas anti diabetes melitus tumbuhan obat. Cermin Dunia Kedokteran*. Badan Penelitian dan Pengembangan Kesehatan. Surabaya. No.140.
- Sulistyoningrum E. 2010. Tinjauan Molekuler dan Aspek Klinis Resistensi Insulin. Purwokerto. *Mandala of Health*. Vol 4 (2): 135-136.
- Susanti E. 2006. *Hubungan Antara Atherogenic Index of Plasma, LDL kecil padat, Lechitin Cholesterol Acyl Transferase, dan Cholesterol ester transfer protein pada Diabetes Melitus Tipe 2 Terkontrol*. Bandung: Laboratorium Klinik Prodia.

- Sylvia AP, Lorraine MW. 2005. *Konsep Klinis Proses-Proses Penyakit*. EGC, Jakarta: Buku Kedokteran. Hal. 1263-1264.
- Szkudelski T. 2001. The Mechanism of Alloxan and Streptozotocin Action in B Cells of the Rat Pancreas, *Physiol. Res.* 50: 536-546.
- Tjay TH, Raharja K. 2006. *Obat - Obat Penting*. Dirjen POM Departemen Kesehatan Republik Indonesia. Jakarta.
- Triplitt CL, Reasner CA, Isley WL. 2005. DM. In: J. T. Dipiro, R. L. Talbert, G. C. Yee, G. R. Matzke, B. G. Wells, L. M. posey (Eds.). *Pharmacotherapy, A Pathofisiologic Approach, 6th Ed.* USA: McGraw-Hill Co., p. 1333-1357.
- Trisnawati SK dan Setyorogo S. 2013. *Faktor Resiko Kejadian Diabetes Mellitus Tipe II di Puskesmas Kecamatan Cengkareng Jakarta Barat Tahun 2012*. Jurnal Kesehatan, 5(1). Program Studi Kesehatan Masyarakat. STIKES MH.Thamrin. Jakarta.
- Vogel HG and Vogel WH. 1997. *Drug Discovery and Evaluation: Pharmacological Analysis*, Springer, New York.
- Voight R. 1994. *Buku Pelajaran Teknologi Farmasi*. Yogyakarta: Universitas Gadjah Mada.
- Vonguru J, Ambati S, Asha JV. 2010. The Pharmacognostic. Phytochemical and Pharmacological Profile of Luffa acutangula. *International Journal of Pharmacy and Technology*. Vol 2: 512-524.
- WHO. 2010. *Definition, Diagnosis and Classification of Diabetes Mellitus and it's Complication*. Geneva. WHO Publishing.
- Wilcox G. 2005. Insulin and Insulin Resistance. *Clin Biochem*; 26 (2): 19 –39.
- Williams CL, Hayman LL, Daniels SR, Robinson TN, Steinberger J, Paridon S. 2002. *Cardiovascular Health in Childhood A Statement for Health Professionals From the committee on atherosclerosis, hypertension and obesity in the young (AHOY) of the council on cardiovascular disease in the young, American Heart Association*, Circulation; 106:143-60.
- Wu YC, Hsu JH, Liu IM, Liou SS, Su HC, Cheng JT. 2001. Increase of Insulin Sensitivity in Diabetic Rats Received Die-Huang-Wan. A Herbal Mixture

Used in Chinese Traditional Medicine. *Acta Pharmacologica Sinica*; 23(12): 1181 – 1187

Yaman N. 2012. Efek Hipoglikemik Kapsul Sambiloto Sebagai Terapi Tambahan Pada Penyandang DM Tipe 2. FMIPA. [Tesis]. Program Magister Herbal. Depok.

LAMPIRAN

Lampiran 1. Surat keterangan hasil identifikasi biji oyong



BAGIAN BIOLOGI FARMASI
FAKULTAS FARMASI
UNIVERSITAS GADJAH MADA YOGYAKARTA
 Alamat: Sekip Utara Jl. Kaliurang Km 4, Yogyakarta 55281
 Telp., 0274.649.2568 Fax. +274-543120

SURAT KETERANGAN

No. : BF/01/Ident/Det/IX/2013

Kepada Yth. :
Sdri/Sdr. Julius Baki Korassa
NIM. SBF 021210038
Universitas Setia Budi Surakarta
Di Surakarta

Dengan hormat,

Bersama ini kami sampaikan hasil identifikasi/determinasi sampel yang Saudara kirimkan ke Bagian Biologi Farmasi UGM, adalah :

No. Pendaftaran	Jenis	Suku
05	<i>Luffa acutangula</i> (L.) Roxb.	Cucurbitaceae

Demikian, semoga dapat digunakan sebagaimana mestinya.

Yogyakarta, 4 September 2013

PROF. DR. WAHYONO, SU., APT.
NIP. 195007011977021001

Lampiran 2. Surat keterangan penelitian dari Laboratorium Histologi dan Biologi Sel. Fakultas Kedokteran, Universitas Gadjah Mada, Yogyakarta



BAGIAN HISTOLOGI DAN BIOLOGI SEL
FAKULTAS KEDOKTERAN UNIVERSITAS GADJAH MADA
Sekip, Yogyakarta 55281 telp. (0274) 902522, 546486 Email: gmumedhisto@yahoo.com

SURAT KETERANGAN

NO : UGM/KU-Histo/ 06 /PL/04/07

Yang bertanda tangan dibawah ini Kepala Bagian Histologi dan Biologi Sel FK – UGM menerangkan bahwa :

Nama : Julius Baki Korassa
 Pekerjaan : Mahasiswa S2 Farmasi
 Institusi : Universitas Setia Budi Surakarta
 Judul : PENGARUH EKSTRAK ETANOL BIJI OYONG (*Luffa acutangula* (L.) Roxb) TERHADAP AKTIVITAS GLUCOSE TRANSPORTER 4 JARINGAN OTOT PADA MODEL TIKUS RESISTENSI INSULIN
 No. Penelitian : LH P-13 / 035

Menyatakan bahwa yang bersangkutan telah selesai melaksanakan penelitian di Bagian Histologi dan Biologi Sel FK-UGM dan telah menyelesaikan kewajiban administrasinya. Demikianlah surat keterangan ini dibuat untuk dapat digunakan sebagaimana mestinya.

Yogyakarta, 15 Januari 2014

Mengetahui,

Kepala Bagian

Histologi dan Biologi Sel FK-UGM

Dewi K. Paramita, S.Si.Msi. Ph.D

Lampiran 3. Foto buah dan biji oyong (*Luffa acutangula* (L.) Roxb)

Tanaman Oyong



Buah Oyong



Biji Oyong

Lampiran 4. Botol maserasi, Evaporator, Sterling-Bidwell dan Glukometer**Botol Maserasi****Glukometer dan strip****Sterling-Bidwell****Evaporator**

Lampiran 5. Foto serbuk biji oyong, ekstrak etanol biji oyong dan kandungan kimia biji oyong



Serbuk biji oyong



Ekstrak etanol biji oyong

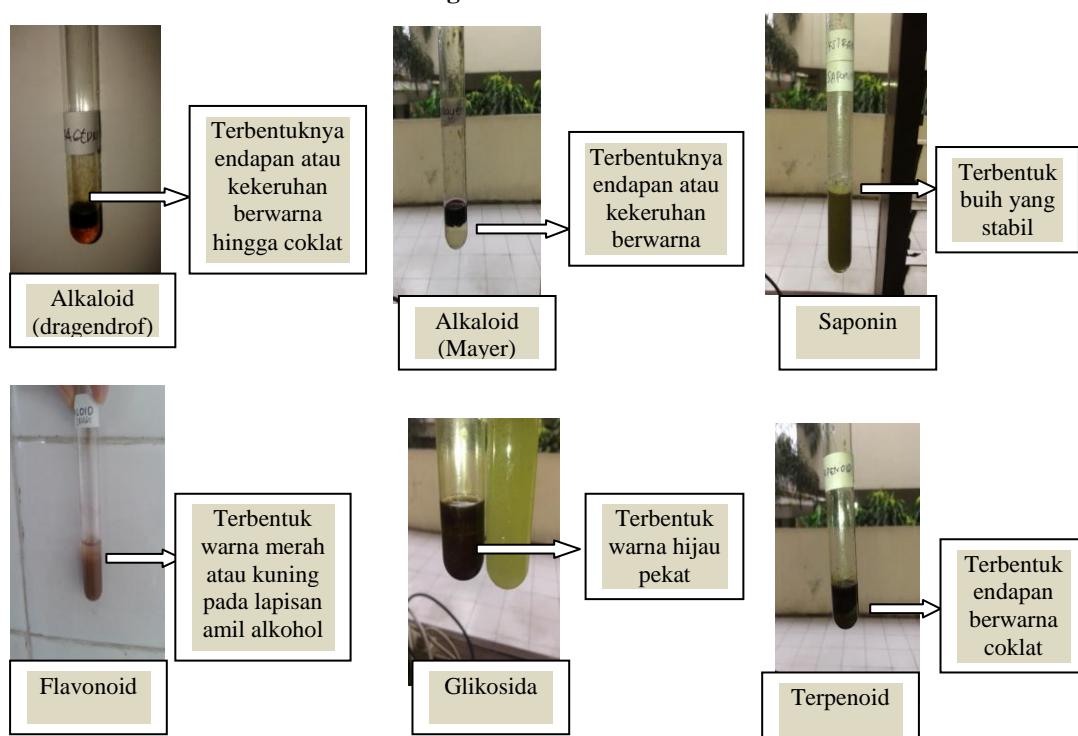


Kandungan kimia serbuk

Keterangan gambar

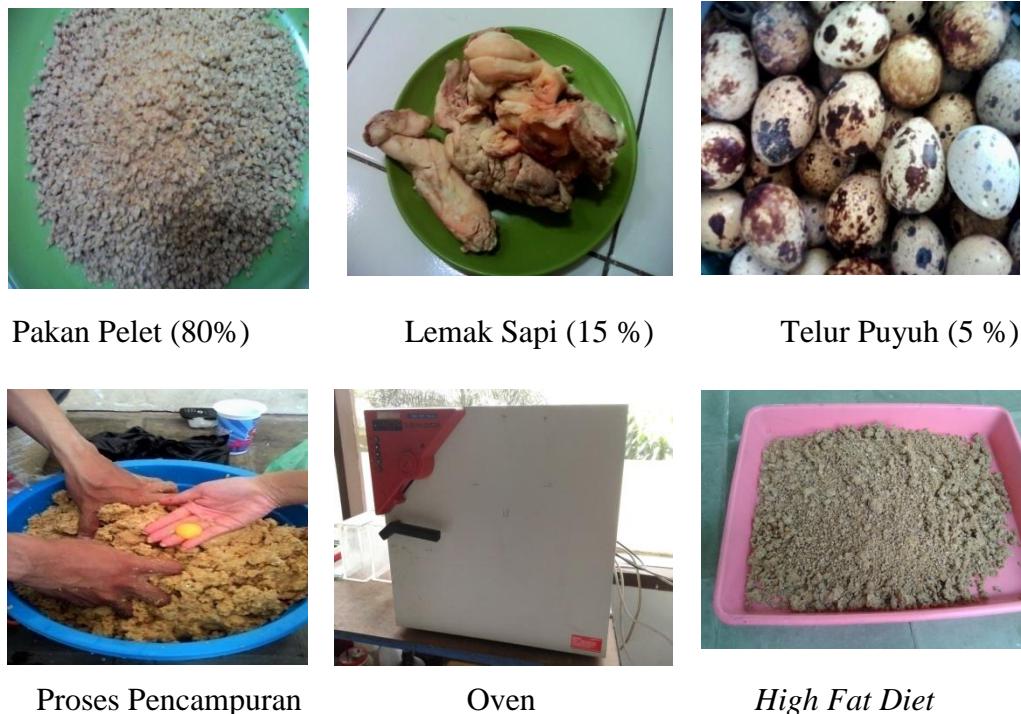
1. Saponin
2. Terpenoid
3. Alkaloid (dragendrof)
4. Flavonoid
5. Alkaloid (mayer)
6. Glikosida

Kandungan kimia ekstrak etanol



Lampiran 6. Foto pembuatan *High Fat Diet* dan hasil perhitungan

1. Pembuatan *High Fat Diet*



2. Perhitungan pembuatan *High Fat Diet*

Berdasarkan orientasi jumlah pemberian maksimal pakan untuk tikus per harinya adalah 15 gram/ekor. Pembuatan pakan kaya lemak dilakukan tiap 10 hari agar kondisi pakan kaya lemak tetap terjaga dari kerusakan.

Hewan uji terdiri dari 10 kelompok, 1 kelompok terdiri dari 7 ekor : total Tikus 70 ekor. Jumlah kelompok yang di beri pakan kaya lemak sebanyak 9 kelompok = 63 ekor. Jumlah total pakan per hari untuk 1 ekor tikus= 15 gram. $15 \text{ gram} \times 63 \text{ ekor} = 945 \text{ gram}$

$$\triangleright \text{ Pakan pelet } 80\% = \frac{80}{100} \times 945 = 756 \text{ gram}$$

$$\text{Penggunaan } 10 \text{ hari} = 756 \times 10 = 7,5 \text{ kg}$$

➤ Lemak Sapi 15% = $\frac{15}{100} \times 945 = 141,75$ gram

Penggunaan 10 hari = $141,75 \times 10 = 1,4$ kg

➤ Kuning Telur Puyuh 5% = $\frac{5}{100} \times 945 = 47,25$ gram

Penggunaan 10 hari = $47,25 \times 10 = 0,5$ kg

Semua bahan kemudian dicampur sampai merata, di bentuk pelet dan di oven pada suhu 50°C selama 3 hari.

Lampiran 7. Tikus putih (*Rattus norvegicus*)

Kelompok Tikus



Kandang Tikus



Tikus HFD



Tikus dioral minyak babi



Tikus dioral glukosa monohidrat



Tikus dioral sediaan uji

Lampiran 8. Gambar prosedur preparasi dan pewarnaan jaringan otot paha (*soleus muscle*) tikus



Keterangan gambar

1. Anastesi tikus dengan etil
2. Mengkondisikan tikus sebelum dibedah
3. tahap pengulitan
4. Pembedahan dan pengambilan soleus muscle
5. soleus muscle yang
6. pengawetan dengan formalin
7. embedding / *paraffin blocking* pada jaringan
8. hasil embedding / *paraffin blocking* pada jaringan
9. mikrotom
10. hasil pemotongan dengan mikrotom yang diletakkan pada objek gelas
11. Hematoksilin
12. alkohol 70 %, 80 %, 90 %, 96 % dan 96 %

Lampiran 9. Prosedur preparasi dan pewarnaan jaringan otot paha (*soleus muscle*) tikus**1. Preparasi *slide* sampel jaringan otot paha dan adiposa**

Preparasi *slide* sampel jaringan otot paha dan adiposa merupakan tahap awal yang dilakukan agar *slide* sampel dapat digunakan dalam proses *Immunohistochemistry* (IHC). Beberapa tahapan yang dilakukan dalam proses ini adalah sebagai berikut:

- a) Tikus sebanyak 20 ekor ditimbang satu persatu, dicatat kondisi umumnya.
- b) Dianestesi dengan eter, dilanjutkan dengan kloral hidrat 3,5%, 1 ml/ 100 gram BB.
- c) Dibuka abdomen dan thorax.
- d) Diambil *soleus muscle* pada otot paha tikus dan jaringan adiposa, kemudian beri label dengan benang.
- e) Jaringan difiksasi dalam larutan formalin 10% dalam PBS selama 2 jam.
- f) Dilakukan dehidrasi dalam alkohol 70%, 80%, 90%, 95%, dan alkohol absolut secara bertahap masing-masing selama 15 menit.
- g) Dilakukan proses *clearing (dealcoholisasi)* menggunakan larutan xylol atau toluol.
- h) Dilakukan proses infiltrasi selama 10 menit.
- i) Dilakukan *embedding/paraffin blocking* pada jaringan otot dan adiposa (*tissue paraffin-embedded preparation*).
- j) Dilakukan *tissue section* (pemotongan jaringan) menggunakan mikrotom putar Leica dengan ketebalan 4-5 μm .

- k) Dilakukan pembuatan *slide* sampel (setelah pemotongan jaringan, dilakukan pengapungan di dalam *waterbath*, penempelan jaringan pada *slide*, dan pengeringan *slide*).

2. Pengamatan struktur anatomi sel yang akan diamati

Pengamatan struktur anatomi sel bertujuan untuk mengetahui bentuk anatomi sel yang akan diamati sehingga setelah dilakukan pewarnaan, struktur sel dan protein dapat dengan mudah dibedakan. Adapun proses yang dilakukan adalah sebagai berikut:

- a) Setelah dilakukan pembuatan *slide* sampel, kemudian dilakukan proses deparafinisasi (berturut-turut direndam dengan xylol, etanol absolut, etanol 90%, etanol 80%, dan etanol 70%).
- b) Dilakukan pewarnaan dengan menggunakan Hematoksilin dan Eosin sebanyak dua *slide*, satu *slide* untuk potongan membujur dan satu slide lagi untuk potongan melintang.
- c) Hasil diamati di bawah mikroskop.

3. Optimasi pengenceran/*dilution* dan *operating time* antibodi antiGLUT-4

Optimasi pengenceran/ *dilution* dan *operating time* bertujuan untuk memperoleh perbandingan pengenceran antibodi primer antiGLUT-4 dalam PBS yang memberikan reaksi kimia antibodi-jaringan paling baik, yaitu dengan hasil pewarnaan optimum dari seri perbandingan pengenceran 1:50; 1:250; 1:500; dan 1:750 (antibodi:PBS). Proses yang dilakukan adalah sebagai berikut:

- a) Setelah dilakukan pembuatan *slide* sampel, dilakukan proses deparafinisasi.
- b) H_2O_2 *blocking*, rendam slide di dalam larutan H_2O_2 0,3% dalam metanol selama 15 menit, kemudian dibilas dengan aquadest.
- c) Dicuci 3x5 menit dengan PBS pH 7,4.
- d) *Background sniper* selama 10 menit.
- e) Antibodi primer, yaitu antiGLUT-4 perbandingan 1:50; 1:250; 1:500; dan 1:750 (antibodi:PBS), selama 1 jam pada suhu kamar.
- f) Dicuci 3x5 menit dengan PBS pH 7,4.
- g) Antibodi sekunder (*biotinylated*), menggunakan trekkie universal link, diinkubasi pada suhu kamar selama 20 menit.
- h) Dicuci 3x5 menit dengan PBS pH 7,4.
- i) *TrekAvidin-HRP (labeled)*, diinkubasi pada suhu kamar selama 10 menit.
- j) Dicuci 3x5 menit dengan PBS pH 7,4.
- k) *Betazoid DAB chromogen*, diinkubasi pada suhu kamar selama 15 menit.
- l) Dicuci dengan aquadest.
- m) *Hematoxylin mayers*, dengan perbandingan 1:3 dalam aquadest selama 30 detik.
- n) Dicuci dengan air mengalir selama 30 detik.
- o) Dilakukan dehidrasi selama 15 menit (berturut-turut menggunakan etanol 30%, etanol 50%, etanol 70%, etanol 80%, etanol 90%, etanol 95%, etanol absolut dan larutan xylol).
- p) Dilakukan proses *mouting*.

- q) Hasil pewarnaan diamati di bawah mikroskop dengan perbesaran 100 dan 400 kali dari berbagai sudut pandang.

4. Immunohistochemistry (IHC) terhadap sampel

Sampel *soleus muscle* tikus perlakuan dikelompokkan menjadi 10 kelompok yang terdiri dari Kontrol positif (Metformin 9 mg/kg BB tikus), Kontrol negatif (larutan CMC-Na 0,5%, p.o), Ekstrak kering biji oyong (10,8 mg/kg BB tikus, p.o), kombinasi metformin-ekstrak kering biji oyong (2,25 mg : 8,1 mg), (4,5 mg : 5,4 mg), (6,75 mg : 2,7mg), (2,25 mg : 2,7 mg), (2,25 mg : 5,4 mg), (4,5 mg : 2,7 mg), (6,75 mg : 8,1 mg). Masing-masing sampel dilakukan *Immunohistochemistry* dengan tahapan sebagai berikut:

- a) Setelah dilakukan pembuatan *slide* sampel, dilakukan proses deparafinisasi.
- b) H_2O_2 *blocking*, rendam *slide* di dalam larutan H_2O_2 0,3% dalam metanol selama 15 menit, kemudian dibilas dengan aquadest.
- c) Dicuci 3 x 5 menit dengan PBS pH 7,4.
- d) *Background sniper* selama 10 menit.
- e) Antibodi primer, yaitu antibodi antiGLUT-4 dengan perbandingan dan operating time yang telah ditentukan.
- f) Dicuci 3 x 5 menit dengan PBS pH 7,4.
- g) Antibodi sekunder (*biotinylated*), menggunakan *trekkie universal link*, diinkubasi pada suhu kamar selama 20 menit.
- h) Dicuci 3 x 5 menit dengan PBS pH 7,4.
- i) *TrekAvidin-HRP (labeled)*, diinkubasi pada suhu kamar selama 10 menit.

- j) Dicuci 3 x 5 menit dengan PBS pH 7,4.
- k) *Betazoid DAB chromogen*, diinkubasi pada suhu kamar selama 15 menit.
- l) Dicuci dengan aquadest.
- m) *Hematoxylin mayers*, perbandingan 1:3 dalam aquadest selama 30 detik.
- n) Dicuci dengan air mengalir selama 30 detik.
- o) Dilakukan dehidrasi selama 15 menit (berturut-turut menggunakan etanol 30%, etanol 50%, etanol 70%, etanol 80%, etanol 90%, etanol 95%, etanol absolut, dan larutan xylol).
- p) Dilakukan proses *mounting*.

5. Fotomikroskopi

Total sampel adalah sebanyak 40 sampel, yaitu 10 kelompok perlakuan masing-masing 2 ekor tikus yang diambil jaringan otot dan jaringan adiposa. Untuk 1 sampel dilakukan fotomikroskopi sebanyak 2 foto sehingga diperoleh 40 foto dengan perbesaran 400 kali.

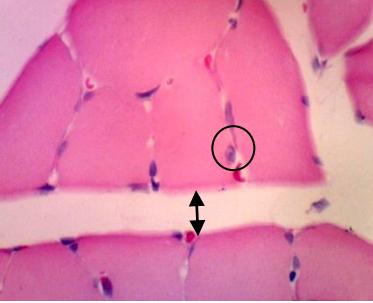
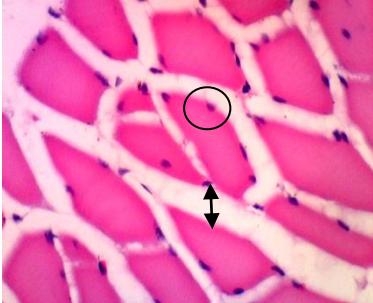
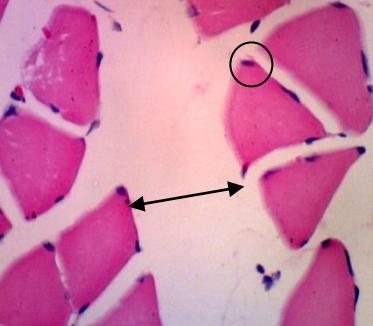
6. Kuantifikasi translokasi protein GLUT-4

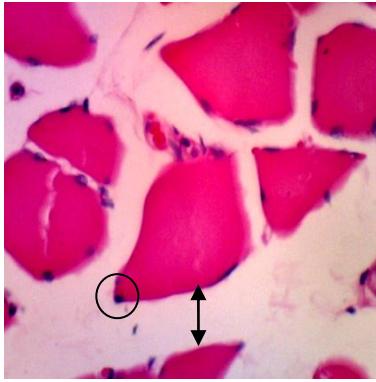
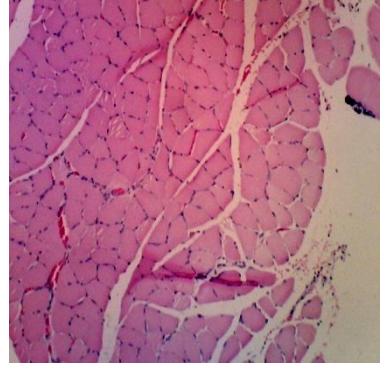
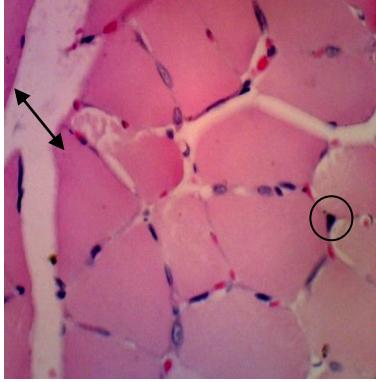
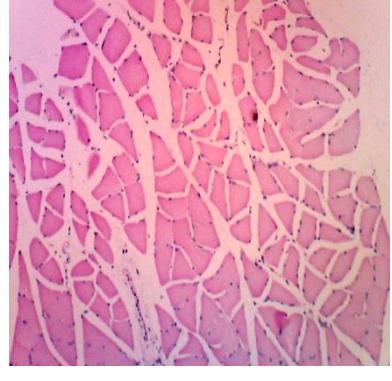
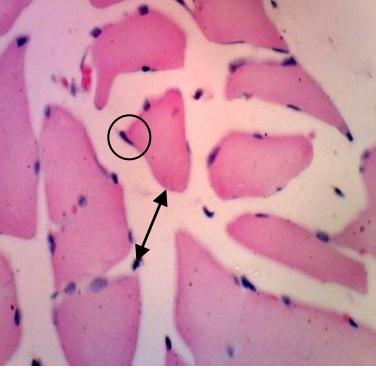
Masing-masing foto dilakukan kuantifikasi dengan menggunakan parameter luas dan intensitas translokasi protein GLUT-4. Kuantifikasi dibantu program komputer *adobe photoshop CS3* dan *macbiophotonics image J* sampai diperoleh hasil luas dan intensitas translokasi protein GLUT-4. Adapun kuantifikasi translokasi protein GLUT-4 menggunakan program *macbiophotonics image J* dilakukan dengan cara sebagai berikut:

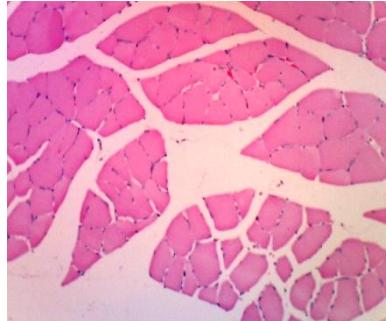
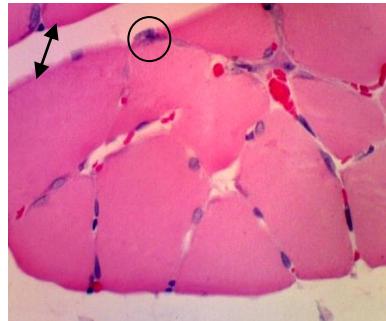
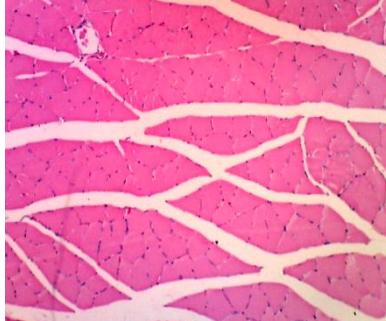
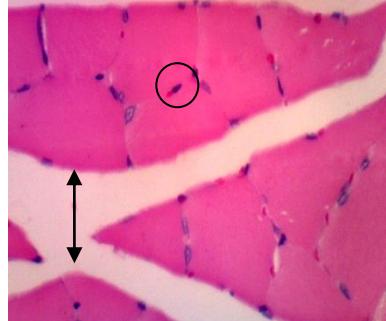
- a) Dilakukan pengambilan gambar dengan perbesaran 40 kali dimensi 1024 x 768, simpan.
- b) Buka program *adobe photoshop CS3*.
- c) Buka *file*, klik *open*, dicari *file* gambar yang telah disimpan, klik *open*.
- d) Dilakukan *editing* gambar untuk memperjelas pemisahan warna antara protein GLUT-4 dan *background*.
- e) Klik *image, adjustments, hue/saturation*, geser *saturation* ke kanan sampai nilai +60, klik *ok*.
- f) Klik *image, adjustments, colour balance*, geser *yellow-blue* ke arah *yellow* (kiri) sampai nilai -100, klik *ok*. Gambar telah selesai diedit.
- g) Klik *file, save as*, beri nama *file*, diubah format gambar menjadi JPEG, klik *save*.
- h) Buka program *macbiophotonics image J*.
- i) Klik *analyze, set measurements*, klik *area*, klik *standard deviation*, klik *min & max gray value*, dan klik *mean gray value*.
- j) Klik *file, open*, cari gambar yang telah diedit dengan *adobe photoshop CS3*, klik *open*.
- k) Setelah gambar terbuka, klik *analyze, tools*, klik *ROI manager*.
- l) Setelah tampil *ROI manager*, dilakukan *check list show all* dan *edit mode* pada bagian bawah tampilan.
- m) Dilakukan *selections* terhadap *area GLUT-4* menggunakan *polygon selections*, klik *polygon selections* pada tampilan *image J*.

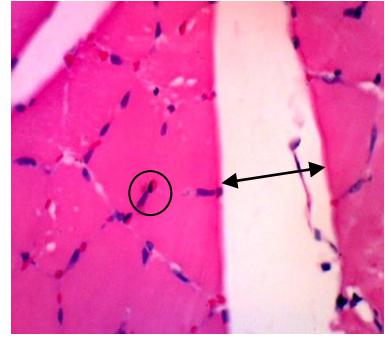
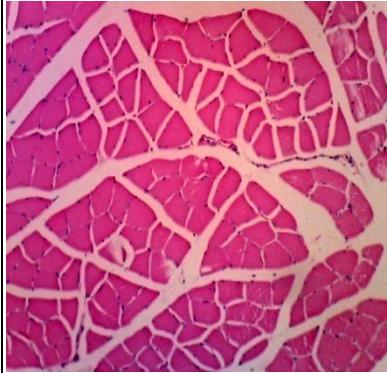
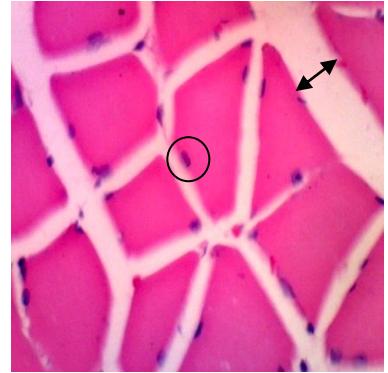
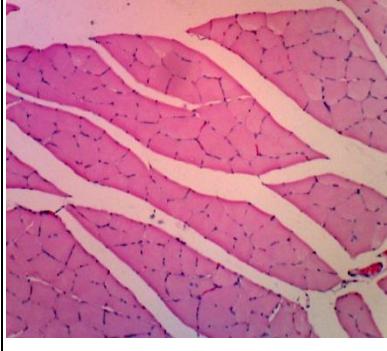
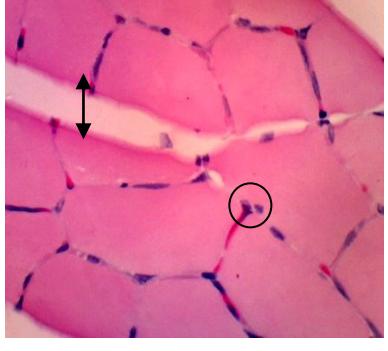
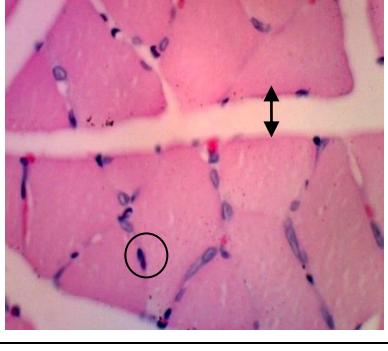
- n) Hindari *selections* pada nukleus sel otot yang terletak pada membran yang berwarna biru. Nukleus yang berwarna biru dapat memberikan intensitas yang tinggi, sehingga mempengaruhi objektivitas pengukuran.
- o) Setelah dilakukan *selections*, klik *add* pada tampilan ROI *manager*.
- p) Dilakukan *selections-selections* berikutnya, klik *add* pada tampilan ROI *manager*
- q) Apabila seluruh *selections* telah dilakukan, klik *measure*, untuk melihat hasil luas (*area*) dan intensitas (*mean*). Data hasil dapat disimpan dan dapat disalin ke program *Microsoft office excel* untuk diolah datanya secara statistik.

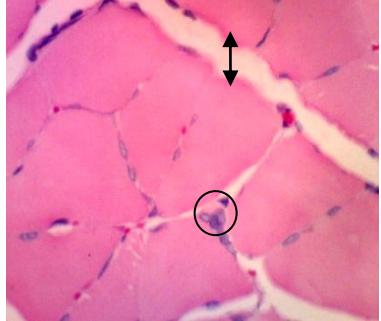
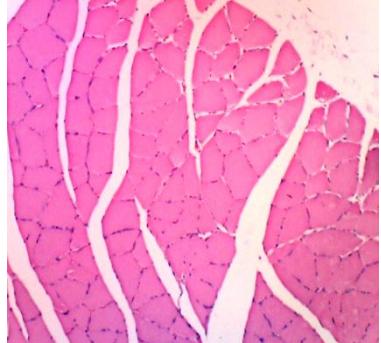
Lampiran 10. Hasil pewarnaan secara Hematoksilin Eosin (HE) tiap kelompok perlakuan

No Tikus	Kelompok Perlakuan	Perbesaran 100 x	Perbesaran 400 x
1	Kelompok I (Normal)		
2			
1	Kelompok II Kontrol Positif (Metformin)		
2			

No Tikus	Kelompok Perlakuan	Perbesaran 100 x	Perbesaran 400 x
1	Kelompok III Ekstrak Tunggal Biji Oyong		
2			
1	Kelompok IV Kombinasi Metformin : Ekstrak (25 : 75)		
2			

No Tikus	Kelompok Perlakuan	Perbesaran 100 x	Perbesaran 400 x
1	Kelompok V Kombinasi Metformin : Ekstrak (50 : 50)		
2			
1	Kelompok VI Kombinasi Metformin: Ekstrak (75 : 25)		
2			

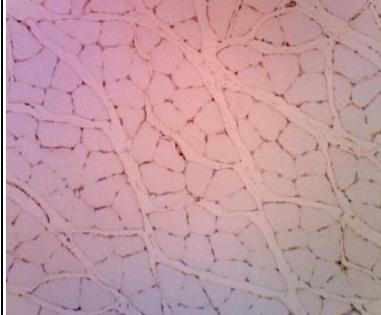
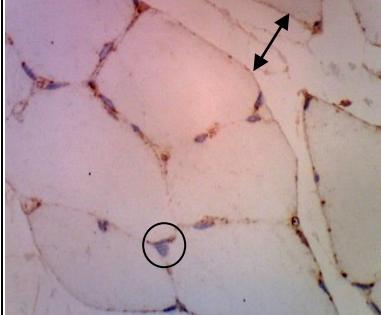
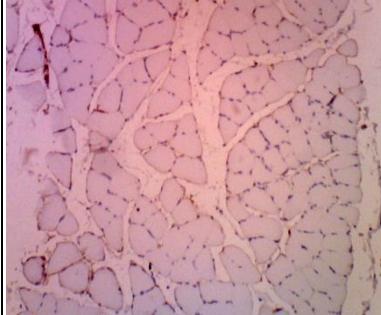
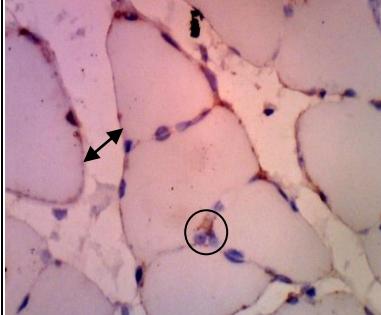
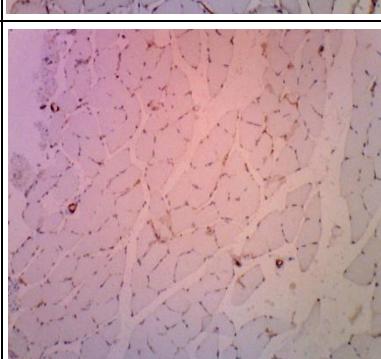
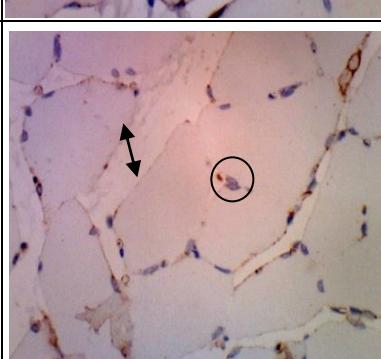
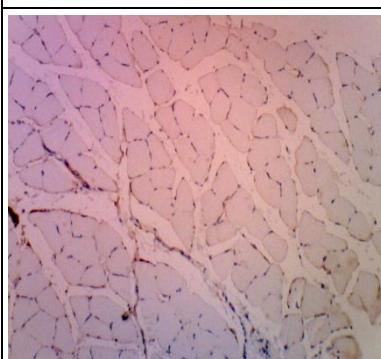
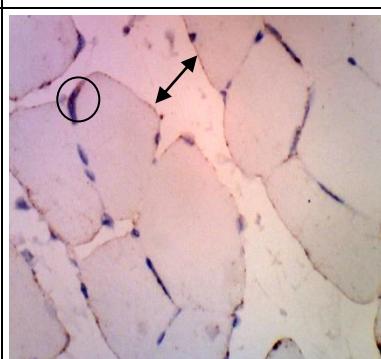
No Tikus	Kelompok Perlakuan	Perbesaran 100 x	Perbesaran 400 x
1	Kelompok VII Kombinasi Metformin: Ekstrak (25 : 50)		
2			
1	Kelompok VIII Kombinasi Metformin: Ekstrak (25 : 25)		
2			

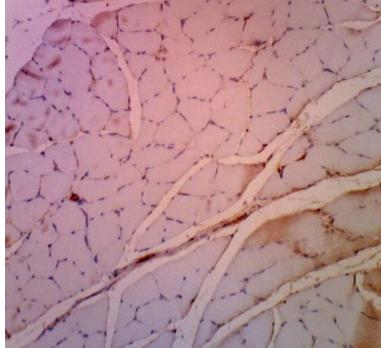
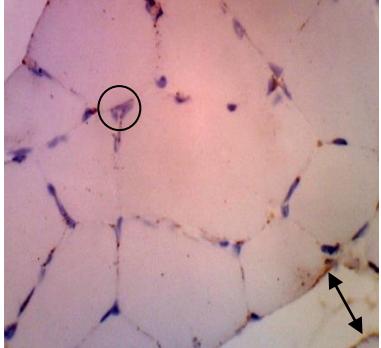
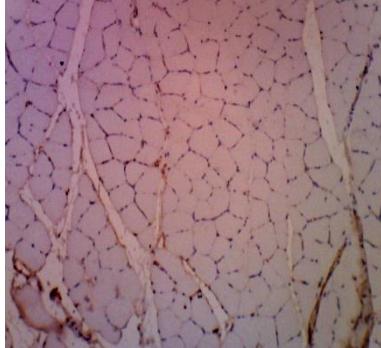
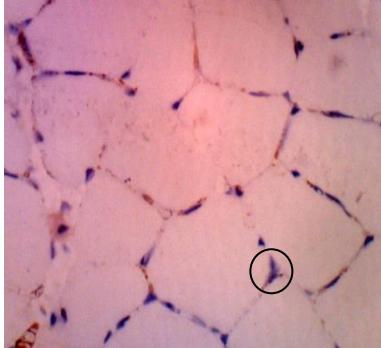
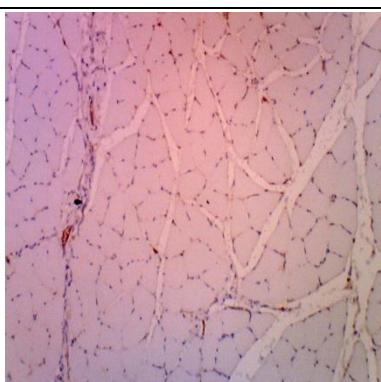
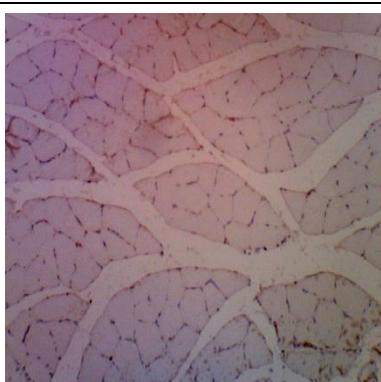
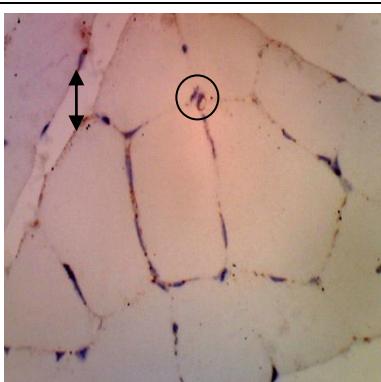
No Tikus	Kelompok Perlakuan	Perbesaran 100 x	Perbesaran 400 x
1	Kelompok IX Kombinasi Metformin: Ekstrak (50 : 25)		
2			
1	Kelompok X Kombinasi Metformin: Ekstrak (75 : 25)		
2			

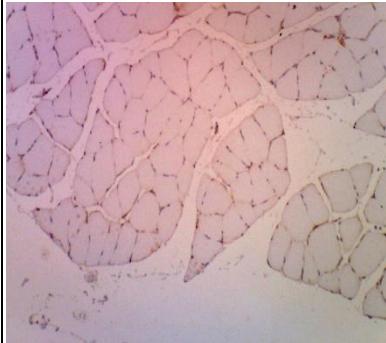
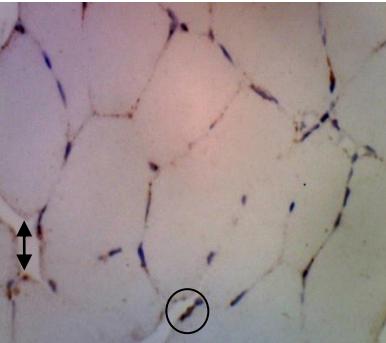
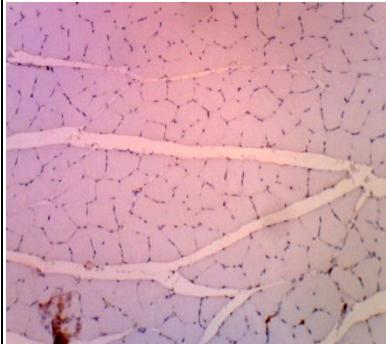
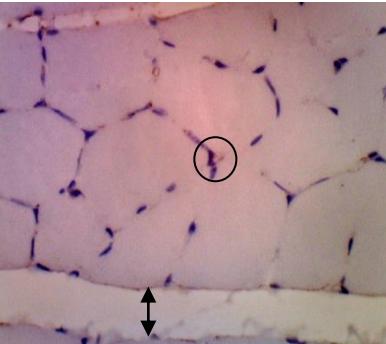
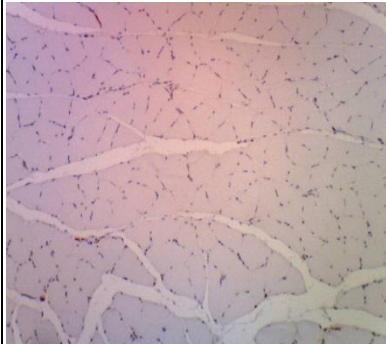
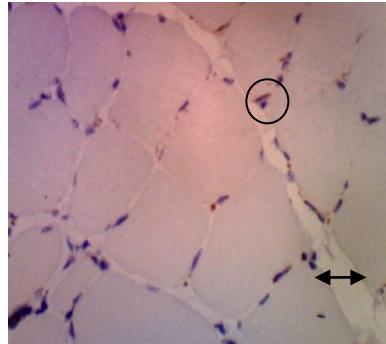
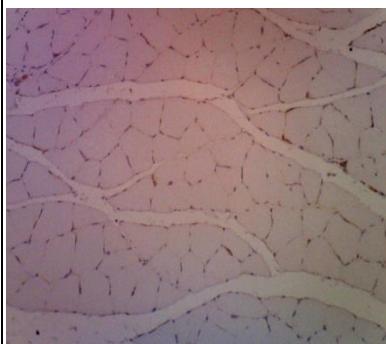
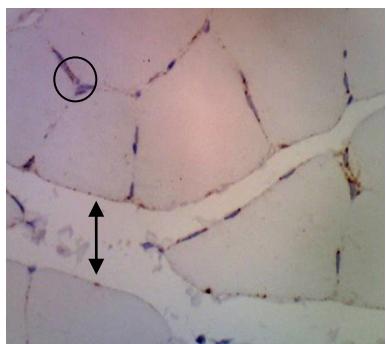
Keterangan gambar:

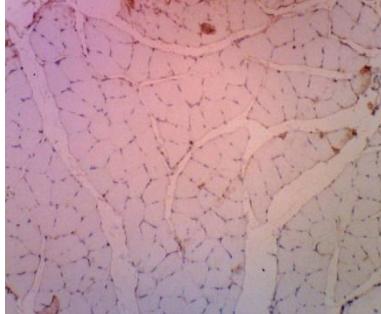
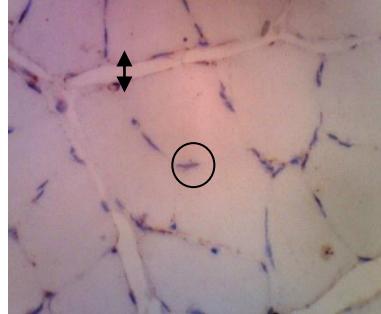
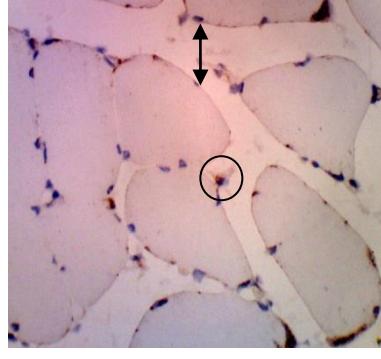
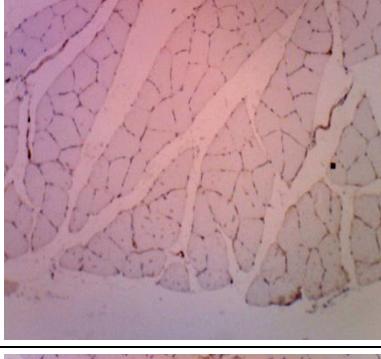
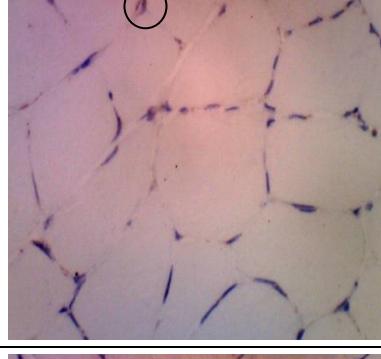
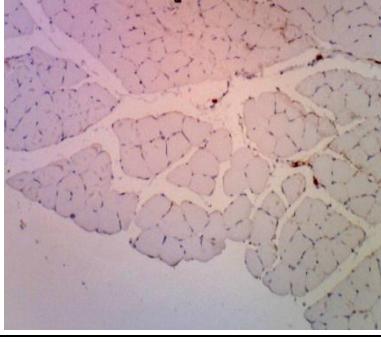
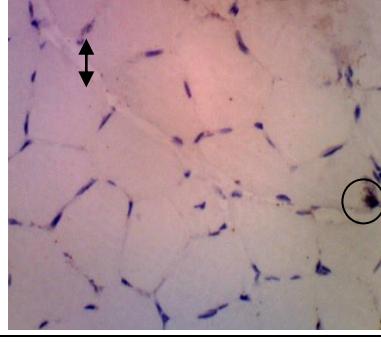
Hasil pewarnaan Hematoksin Eosin terhadap jaringan otot kelompok tikus normal (kelompok 1 dan kelompok tikus yang diberi *High Fat Diet* (*HFD*) (kelompok 2 s/d kelompok 10) dengan pembesaran 100x dan perbesaran 400 x (tanda lingkaran menunjukkan adanya inti sel berwarna biru yang dikelilingi oleh sitoplasma yang berwarna merah). Tanda panah menunjukkan diameter lemak yang berwarna putih.

Lampiran 11. Hasil pewarnaan secara Imunohistokimia tiap kelompok perlakuan

No Tikus	Kelompok Perlakuan	Perbesaran 100 x	Perbesaran 400 x
1	Kelompok I (Normal)		
2			
1	Kelompok II Kontrol Positif (Metformin)		
2			

No Tikus	Kelompok Perlakuan	Perbesaran 100 x	Perbesaran 400 x
1	Kelompok III Ekstrak Tunggal Biji Oyong		
2			
1	Kelompok IV Kombinasi Metformin: Ekstrak (25 : 75)		
2			

No Tikus	Kelompok Perlakuan	Perbesaran 100 x	Perbesaran 400 x
1	Kelompok V Kombinasi Metformin: Ekstrak (50 : 50)		
2			
1	Kelompok VI Kombinasi Metformin: Ekstrak (75 : 25)		
2			

No Tikus	Kelompok Perlakuan	Perbesaran 100 x	Perbesaran 400 x
1	Kelompok VII Kombinasi Metformin: Ekstrak (25 : 50)		
2			
1	Kelompok VIII Kombinasi Metformin: Ekstrak (25 : 25)		
2			

No Tikus	Kelompok Perlakuan	Perbesaran 100 x	Perbesaran 400 x
1	Kelompok IX Kombinasi Metformin: Ekstrak (50 : 25)		
2			
1	Kelompok X Kombinasi Metformin: Ekstrak (75 : 75)		
2			

Keterangan Gambar:

Hasil pewarnaan dengan metode imunohistokimia tampak adanya protein GLUT-4 pada jaringan otot dengan pembesaran 100x dan perbesaran 400 x (tanda lingkaran menunjukkan adanya protein GLUT-4 yang ditandai dengan inti sel berwarna biru dan dikelilingi oleh sitoplasma yang berwarna coklat. Tandah panah menunjukan diameter lemak yang berwarna putih).

Lampiran 12. Perhitungan kadar air serbuk biji oyong

Penimbangan (g)	Volume pada skala (ml)	Kadar air (%)
20	1,2	6
20	1,6	8
20	1,3	6,5
Rata - rata		6,8

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

$$1. \text{ Kadar air} = \frac{1,2}{20} \times 100\% = 6\%$$

$$2. \text{ Kadar air} = \frac{1,6}{20} \times 100\% = 8\%$$

$$3. \text{ Kadar air} = \frac{1,3}{20} \times 100\% = 6,5\%$$

$$\text{Rata - rata} = \frac{6\% + 8\% + 6,5\%}{3} = 6,8\%$$

Jadi, persentase rata-rata kadar air serbuk biji oyong adalah 6,8 %

Lampiran 13. Perhitungan rendemen ekstrak etanol 96 % biji oyong

Bobot sampel (g)	Bobot ekstrak (g)	Rendemen ekstrak (%)
250	42,81	17,12
250	39,90	15,96
250	40,75	16,3
Rata – rata		16,46

Persentase rata-rata rendemen ekstrak etanol biji oyong

$$\text{Rumus : Rendemen} = \frac{\text{berat ekstrak kental}}{\text{berat serbuk}} \times 100\%$$

$$1. \text{ Rendemen} = \frac{42,81}{250} \times 100\% = 17,12 \%$$

$$2. \text{ Rendemen} = \frac{39,90}{250} \times 100\% = 15,96 \%$$

$$3. \text{ Rendemen} = \frac{40,75}{250} \times 100\% = 16,3 \%$$

$$\text{Rata – rata} = \frac{17,12\% + 15,96\% + 16,3\%}{3} = 16,46 \%$$

Jadi, persentase rata-rata rendemen ekstrak etanol biji oyong adalah: 16,46 %

Lampiran 14. Tabel maksimum larutan sediaan uji untuk hewan.

Volume maksimum larutan sediaan uji yang dapat diberikan pada beberapa hewan uji (Ritschel, 1974).

Jenis Hewan Uji	Volume maksimum (ml) sesuai jalur pemberian				
	i.v.	i.m.	i.p.	s.c.	p.o.
Mencit (20-30 g)	0,5	0,05	1,0	0,5-1,0	1,0
Tikus (200 g)	1,0	0,1	2-5	2-5	5,0
Hamster (50 g)	-	0,1	1-2	2,5	2,5
Marmut (250 g)	-	0,25	2-5	5,0	10,0
Kelinci (2,5 kg)	5-10	0,5	10-20	5-10	20,0
Kucing (3 kg)	5-10	1,0	10-20	5-10	50,0
Anjing (5 kg)	10-20	5,0	20-50	10,0	100,0

Lampiran 15. Tabel konversi dosis hewan dengan manusia

Konversi dosis antara jenis hewan dengan manusia (Laurence & Bacharach, 1964).

	Mencit 20 g	Tikus 200 g	Marmut 400 g	Kelinci 1,2 kg	Kera 4 kg	Anjing 12 kg	Manusia 70 kg
Mencit 20 g	1,0	7,0	12,25	27,8	64,1	124,2	387,9
Tikus 200 g	0,14	1,0	1,74	3,9	9,2	17,8	56,0
Marmut 400 g	0,08	0,57	1,0	2,25	5,2	10,2	31,5
Kelinci 1,2 kg	0,04	0,25	0,44	1,0	2,4	4,5	14,2
Kera 4 kg	0,016	0,11	0,19	0,42	1,0	1,9	6,1
Anjing 12 kg	0,008	0,06	0,10	0,22	0,52	1,0	3,1
Manusia 70 kg	0,0026	0,018	0,031	0,07	0,16	0,32	1,0

Lampiran 16. Pembuatan suspensi metformin, ekstrak etanol biji oyong dan glukosa monohidrat

1. Pembuatan suspensi Metformin

- Tiap tablet Metformin mengandung 500 mg Metformin-HCl
- Dosis maksimum untuk manusia dewasa = 500 mg – 3 g
- Konversi dosis manusia (70 kg) ke dosis untuk hewan uji ‘Tikus’ dikali 0,018 (Lampiran 10)
- Syarat volume maksimum larutan sediaan uji yang diberikan pada hewan uji tikus (200 g) secara per oral (p.o.) adalah 5,0 ml (ada di lampiran 13)
- Dosis Metformin (dalam mg/kg bb) untuk tikus
- Dosis Metformin untuk tikus (200 g) = $(500 \text{ mg} - 3000 \text{ mg}) \times 0,018$
 $= 9 \text{ mg} - 54 \text{ mg}$
- Menurut FI edisi III, penetapan kadar tablet = 20 tablet, maka diambil 20 tablet Metformin, digerus dan ditimbang berat totalnya = 11934 mg
- Berat bahan aktif Metformin-HCl dalam 20 tablet Metformin adalah = 500 mg/tab x 20 tab = 10.000 mg
- Dosis Metformin-HCl untuk tikus (200 g) = 9 mg – 54 mg, maka dosis dosis Metformin-HCl yang digunakan = 10 mg untuk tikus 200 g.

$$\begin{aligned} \text{Jadi, dosis (mg/kg bb): } & \frac{10 \text{ mg}}{200 \text{ g}} = \frac{X}{1 \text{ Kg}} \\ X &= \frac{10 \text{ mg}}{200 \text{ g}} \times 1 \text{ Kg} \\ &= 50 \text{ mg} \end{aligned}$$

Maka dosis metformin HCL = 50 mg/kg BB

- Jumlah serbuk Metformin yang diambil untuk dosis 50 mg/kg bb

$$\frac{50 \text{ mg/kg bb}}{10.000 \text{ mg}} = \frac{X}{11.934 \text{ mg}}$$

$$X = 59,67 \text{ mg/kg bb} \sim 60 \text{ mg/kg bb}$$

Jadi dalam 60 mg serbuk Metformin mengandung 50 mg Metformin-HCl

- Pembuatan Suspensi Metformin:
- ✓ Suspensi metformin dosis 45 mg/kg BB (100%)

$$\frac{60 \text{ mg}}{1.000} \times 200 = 12 \text{ mg}$$

$$\frac{12 \text{ mg}}{2 \text{ ml}} \times 100 \text{ ml} = 0,6 \text{ g}$$

Ditimbang 0,6 gram serbuk Metformin-HCl dimasukan dalam labu takar 100 ml dan dilarutkan dengan CMC 1 % sedikit demi sedikit sambil digojok dan ditambahkan lagi dengan CMC 1% sampai batas tera lalu dihomogenkan.

- ✓ Suspensi metformin dosis 33,7 mg/kg BB (75%)

$$\frac{60 \text{ mg}}{1.000} \times 200 = 12 \text{ mg}$$

$$\frac{12 \times 0,75 \text{ mg}}{2 \text{ ml}} \times 100 \text{ ml} = 0,45 \text{ g}$$

Ditimbang 0,45 gram serbuk Metformin-HCl dimasukan dalam labu takar 100 ml dan dilarutkan dengan CMC 1 % sedikit demi sedikit sambil digojok dan ditambahkan lagi dengan CMC 1% sampai batas tera lalu dihomogenkan.

- ✓ Suspensi metformin dosis 22,5 mg/kg BB (50%)

$$\frac{60 \text{ mg}}{1.000} \times 200 = 12 \text{ mg}$$

$$\frac{12 \times 0,50 \text{ mg}}{2 \text{ ml}} \times 100 \text{ ml} = 0,3 \text{ g}$$

Ditimbang 0,3 gram serbuk Metformin-HCl dimasukan dalam labu takar 100 ml dan dilarutkan dengan CMC 1 % sedikit demi sedikit sambil digojok dan ditambahkan lagi dengan CMC 1% sampai batas tera lalu dihomogenkan.

- ✓ Suspensi metformin dosis 11,25 mg/kg BB (25%)

$$\frac{60 \text{ mg}}{1.000} \times 200 = 12 \text{ mg}$$

$$\frac{12 \times 0,25 \text{ mg}}{2 \text{ ml}} \times 100 \text{ ml} = 0,15 \text{ g}$$

Ditimbang 0,15 gram serbuk Metformin-HCl dimasukan dalam labu takar 100 ml dan dilarutkan dengan CMC 1 % sedikit demi sedikit sambil digojok dan ditambahkan lagi dengan CMC 1% sampai batas tera lalu dihomogenkan..

2. Pembuatan suspensi ekstrak etanol biji oyong

- Syarat volume maksimum larutan sediaan uji yang diberikan pada hewan uji tikus (200 g) secara per oral (p.o.) adalah 5,0 ml (lampiran 13).
- Dosis suspensi ekstrak etanol biji oyong yang akan dibuat adalah 200 mg/kg bb, 150 mg/kg bb, 100 mg/kg bb dan 50 mg/kg bb.
- Pembuatan suspensi ekstrak etanol biji oyong
- ✓ Suspensi ekstrak etanol biji oyong dosis 200 mg/kg BB (100%)

$$\frac{200 \text{ mg}}{1.000} \times 200 = 40 \text{ mg}$$

$$\frac{40 \text{ mg}}{2 \text{ ml}} \times 100 \text{ ml} = 2 \text{ g}$$

Ditimbang 2 gram ekstrak etanol biji oyong dimasukan dalam mortir dan dilarutkan dengan 100 ml CMC 1% kemudian dimasukan dalam labu takar

100 ml dan ditambahkan dengan CMC 1 % sedikit demi sedikit sambil digojok dan dicukupkan sampai batas tera lalu dihomogenkan.

- ✓ Suspensi ekstrak etanol biji oyong dosis 150 mg/kg BB (75%)

$$\frac{200 \text{ mg}}{1.000} \times 200 = 40 \text{ mg}$$

$$\frac{40 \times 0,75 \text{ mg}}{2 \text{ ml}} \times 100 \text{ ml} = 1,5 \text{ g}$$

Ditimbang 1,5 gram ekstrak etanol biji oyong dimasukan dalam mortir dan dilarutkan dengan 100 ml CMC 1% kemudian dimasukan dalam labu takar 100 ml dan ditambahkan dengan CMC 1 % sedikit demi sedikit sambil digojok dan dicukupkan sampai batas tera lalu dihomogenkan .

- ✓ Suspensi ekstrak etanol biji oyong dosis 100 mg/kg BB (50%)

$$\frac{200 \text{ mg}}{1.000} \times 200 = 40 \text{ mg}$$

$$\frac{40 \times 0,50 \text{ mg}}{2 \text{ ml}} \times 100 \text{ ml} = 1 \text{ g}$$

Ditimbang 1 gram ekstrak etanol biji oyong dimasukan dalam mortir dan dilarutkan dengan 100 ml CMC 1% kemudian dimasukan dalam labu takar 100 ml dan ditambahkan dengan CMC 1 % sedikit demi sedikit sambil digojok dan dicukupkan sampai batas tera lalu dihomogenkan.

- ✓ Suspensi ekstrak etanol biji oyong dosis 50 mg/kg BB (25%)

$$\frac{200 \text{ mg}}{1.000} \times 200 = 40 \text{ mg}$$

$$\frac{40 \times 0,25 \text{ mg}}{2 \text{ ml}} \times 100 \text{ ml} = 0,5 \text{ g}$$

Ditimbang 0,5 gram ekstrak etanol biji oyong dimasukan dalam mortir dan dilarutkan dengan 100 ml CMC 1% kemudian dimasukan dalam labu takar

100 ml dan ditambahkan dengan CMC 1 % sedikit demi sedikit sambil digojok dan dicukupkan sampai batas tera lalu dihomogenkan .

3. Pembuatan larutan glukosa monohidrat

Dosis yang digunakan adalah 2 g/kg BB tikus.

$$\frac{2 \text{ g}}{1.000} \times 200 \text{ g} = 0,4 \text{ g} / 0,2 \text{ kg BB tikus}$$

$$= 0,4 \text{ g}/0,2 \text{ ml}$$

$$= 0,2 \text{ g/ml}$$

$$= 20 \text{ g}/100 \text{ ml}$$

Di timbang serbuk glukosa monohidrat sebanyak 20 gram, dimakasukan dalam labu takar dan di tambahkan aquadest 100 ml sambil di aduk sampai homogen.

Lampiran 17. Data hasil pengukuran berat badan tikus hari ke-0, 30, 60 dan prosentase peningkatan berat badan tikus

No. Tikus	Kelompok perlakuan	Berat badan (gram)			Prosentase kenaikan berat badan	
		Hari ke-0	Hari ke-30	Hari ke-60		
1	Kelompok I (Normal)	190	200	220	15,78	
2		190	210	230	21,05	
3		150	190	200	33,33	
4		200	230	240	20	
5		200	210	230	15	
6		170	200	230	35,29	
7		200	230	240	20	
Rata-rata		185,71	210	227,14	22,30	
SEM		7,19	5,77	5,22	3,07	
1	Kelompok II Kontrol positif Metformin	200	240	260	30	
2		190	260	270	42,10	
3		150	230	250	66,66	
4		210	230	280	33,33	
5		200	250	260	30	
6		170	260	280	64,70	
7		200	250	260	30	
Rata-rata		118,57	245,71	265,71	40,90	
SEM		7,99	4,81	4,29	6,23	
1	Kelompok III Ekstrak Tunggal Biji Oyong	190	230	260	36,84	
2		200	220	250	25	
3		180	260	270	50	
4		170	240	290	70,58	
5		200	230	270	35	
6		230	250	260	13,04	
7		160	280	320	100	
Rata-rata		190	244,28	274,28	44,36	
SEM		8.72	7.82	8.95	11.18	
1	Kelompok IV Kombinasi metformin:ekstrak (25 : 75)	190	240	250	31,57	
2		200	250	280	40	
3		180	270	260	44,44	
4		170	220	250	47,05	
5		170	280	270	58,82	
6		150	300	300	100	
7		170	260	320	88,23	
Rata-rata		175,71	260	275,71	56,91	
SEM		6.11	10.00	9.96	9.76	
1	Kelompok V Kombinasi metformin:ekstrak (50 : 50)	170	250	260	52,94	
2		190	280	270	42,10	
3		150	250	290	93,33	
4		180	230	270	50	
5		160	260	250	56,25	
6		170	280	310	82,35	
7		190	310	300	57,89	
Rata-rata		172,85	265,71	278,57	61,15	
SEM		5.65	9.96	8.28	7.01	

1	Kelompok VI Kombinasi metformin:ekstrak (75 : 25)	150	220	280	86,66	
2		170	240	250	47,05	
3		200	230	260	30	
4		180	250	300	66,66	
5		170	250	250	47,05	
6		210	240	270	28,57	
7		150	260	260	73,33	
Rata-rata		175,71	241,42	267,14	52,03	
SEM		8.68	5.08	6.80	8.33	
1	Kelompok VII Kombinasi metformin:ekstrak (25 : 50)	170	240	270	58,82	
2		180	240	290	61,11	
3		180	250	270	50	
4		180	250	290	61,11	
5		170	270	250	47,05	
6		180	260	260	44,44	
7		160	280	310	93,75	
Rata-rata		174,28	255,71	277,14	59,01	
SEM		2.97	5.71	7.78	6.26	
1	Kelompok VIII Kombinasi metformin:ekstrak (25 : 25)	170	260	270	58,82	
2		170	250	280	64,70	
3		200	240	250	25	
4		200	250	260	30	
5		200	230	250	25	
6		200	240	290	45	
7		170	230	260	52,94	
Rata-rata		187,14	242,85	265,71	41,98	
SEM		6.06	4.20	5.71	6.25	
1	Kelompok IX Kombinasi metformin:ekstrak (50 : 25)	190	280	310	63,15	
2		160	230	250	56,25	
3		180	240	260	44,44	
4		150	250	280	86,66	
5		150	270	290	93,33	
6		180	240	270	50	
7		160	260	280	75	
Rata-rata		167,14	252,85	277,14	65,81	
SEM		6.06	6.80	7.46	7.02	
1	Kelompok X Kombinasi metformin:ekstrak (75 : 75)	200	280	300	50	
2		170	280	290	70,58	
3		160	230	310	93,75	
4		150	250	260	73,33	
5		150	230	250	66,66	
6		190	300	320	68,42	
7		170	280	320	88,23	
Rata-rata		170	264,28	292,85	72,26	
SEM		7.23	10.43	10.62	5.47	

Lampiran 18. Data hasil pengukuran glukosa darah tikus hari ke-0, 30, 60 dan prosentase penurunan kadar glukosa darah

No. Tikus	Kelompok perlakuan	Kadar glukosa darah (mg/dL)					Prosentase penurunan glukosa darah (T ₂)	Prosentase penurunan glukosa darah (T ₃)	
		Hari ke-0	Hari ke-30	Hari ke-60	T ₂	T ₃			
1	Kelompok I (Normal)	110	115	119	119	118	0	11,11	
2		108	112	124	122	117	12,5	43,75	
3		98	112	120	118	119	9,09	4,54	
4		98	119	120	119	127	4,54	0	
5		87	118	119	117	111	6,25	25	
6		98	100	117	115	115	10,5	10,52	
7		115	98	127	126	125	8,33	16,66	
Rata-rata		102	110,57	120,85	119,42	118,85	7,57	10,60	
SEM		3,59	3,16	1,29	1,36	2,09	1,57	5,54	
1	Kelompok II Kontrol positif Metformin	95	126	129	72	61	167,64	200	
2		117	127	144	106	85	140,74	218,51	
3		98	141	129	103	81	83,87	154,83	
4		89	119	168	103	76	82,27	116,45	
5		112	145	129	98	81	182,35	282,35	
6		89	110	144	105	90	70,90	98,18	
7		108	124	126	102	76	133,33	277,77	
Rata-rata		101,14	127,42	138,42	98,42	78,57	107,27	160,53	
SEM		4,25	4,58	5,68	4,50	3,46	16,79	27,67	
1	Kelompok III Ekstrak Tunggal Biji Oyong	110	119	127	96	81	182,35	270,58	
2		82	137	129	107	79	46,80	106,38	
3		111	127	158	97	81	129,78	163,82	
4		90	117	215	105	90	88	100	
5		98	129	279	118	81	88,95	109,39	
6		95	120	142	101	76	87,23	140,42	
7		103	120	229	118	81	88,09	117,46	
Rata-rata		98,42	124,14	182,71	106	81,28	91,01	120,33	
SEM		3,98	2,71	22,20	3,43	1,61	16,22	22,72	
1	Kelompok IV Kombinasi metformin:ekstrak (25 : 75)	100	209	151	96	90	107,84	119,60	
2		117	119	129	103	81	216,66	400	
3		117	126	149	101	81	150	212,5	
4		103	141	129	90	84	150	173,07	
5		98	119	129	95	76	109,67	170,96	
6		98	118	125	100	81	92,59	162,96	
7		90	155	139	118	71	42,85	138,77	
Rata-rata		103,28	141	135,85	100,42	80,57	108,77	169,73	
SEM		3,84	12,48	3,99	3,35	2,25	20,68	35,60	
1	Kelompok V Kombinasi metformin:ekstrak (50 : 50)	105	110	139	100	81	114,70	170,58	
2		110	118	129	71	65	305,26	336,84	
3		102	127	125	100	89	108,69	156,52	
4		95	126	129	98	89	91,17	117,64	
5		82	119	179	100	81	81,44	101,03	
6		118	112	129	95	60	309,09	627,27	
7		98	129	125	89	81	133,33	162,96	
Rata-rata		101,42	120,14	136,42	93,28	78	123,26	166,93	
SEM		4,34	2,82	7,31	4,01	4,25	37,65	70,93	

1	Kelompok VI Kombinasi metformin:ekstrak (75 : 25)	90	126	119	89	81	103,44	131,03	
2		110	118	119	81	81	422,22	422,22	
3		112	119	133	102	81	147,61	247,61	
4		90	137	158	110	89	70,58	101,47	
5		89	118	157	89	84	100	107,35	
6		119	122	126	95	63	442,85	900	
7		119	126	297	82	76	120,78	124,15	
Rata-rata		104,14	123,71	158,42	92,57	79,28	121,31	145,78	
SEM		5.27	2.57	23.91	3.99	3.09	60.44	110.52	
1	Kelompok VII Kombinasi metformin:ekstrak (25 : 50)	102	125	154	81	71	140,38	159,61	
2		98	126	158	98	81	100	128,33	
3		115	118	118	110	63	266,66	1833,33	
4		119	129	127	100	89	337,5	475	
5		119	209	431	110	60	102,88	118,91	
6		89	127	139	137	98	4	82	
7		117	137	119	84	82	175,0	1850	
Rata-rata		108,42	138,71	178	102,85	77,71	108,00	144,14	
SEM		4.54	11.90	42.59	7.12	5.21	17.16	236.69	
1	Kelompok VIII Kombinasi metformin:ekstrak (25 : 25)	119	126	154	82	81	205,71	208,57	
2		89	135	157	118	95	57,35	91,17	
3		89	119	174	118	81	65,88	109,41	
4		103	126	119	81	71	237,5	300	
5		98	112	129	89	81	129,03	154,83	
6		95	118	310	102	100	96,74	97,67	
7		102	126	142	137	89	12,5	132,5	
Rata-rata		99,28	123,14	169,28	103,85	85,42	93,46	119,79	
SEM		3.90	2.81	24.44	8.05	3.72	30.86	28.38	
1	Kelompok IX Kombinasi metformin:ekstrak (50 : 25)	110	127	149	89	89	153,84	153,84	
2		103	126	168	148	98	30,76	107,69	
3		98	117	135	100	60	94,59	202,70	
4		105	126	144	100	89	112,82	141,02	
5		99	119	149	95	89	108	120	
6		111	183	138	118	81	74,07	211,11	
7		117	118	199	115	112	102,43	106,09	
Rata-rata		106,14	130,85	154,57	109,28	88,28	93,51	136,87	
SEM		2.60	8.83	8.43	7.55	5.99	14.26	16.34	
1	Kelompok X Kombinasi metformin:ekstrak (75 : 75)	117	120	160	86	71	172,09	206,97	
2		119	126	163	81	95	186,36	154,54	
3		98	119	129	119	65	32,25	206,45	
4		101	135	139	118	81	55,26	152,63	
5		110	122	144	81	65	185,29	232,35	
6		119	122	127	71	63	700	800	
7		115	155	183	98	81	125	150	
Rata-rata		111,28	128,42	149,28	93,42	74,42	146,99	196,99	
SEM		3.27	4.87	7.68	7.14	4.44	85.27	88.88	

Lampiran 19. Data hasil perhitungan jumlah ekspresi protein GLUT-4 jaringan otot paha (soleus muscle) tikus.

No. tikus	Lapang pandang	Jumlah protein GLUT-4									
		Normal	metfo rmin	Biji oyong	Kom. 1	Kom. 2	Kom. 3	Kom. 4	Kom. 5	Kom. 6	Kom. 7
1	1	23	18	15	20	20	10	15	9	10	22
	2	25	20	12	15	26	12	18	10	15	20
	3	29	28	22	13	17	19	13	6	12	23
2	1	25	22	21	18	14	17	7	6	14	22
	2	30	17	7	17	17	12	10	3	12	26
	3	23	18	12	18	15	15	19	2	15	21
Rata-rata		25,83	20,5	14,83	16,83	18,16	14,16	13,66	6,00	13,00	22,33
SEM		1.222	1.668	2.358	1.014	1.778	1.400	1.892	1.291	0.816	0.843

Lampiran 20. Data hasil pengukuran tes toleransi glukosa darah tikus

No. Tikus	Kelompok perlakuan	Kadar glukosa darah (mg/dL)			
		Menit ke 30	Menit ke 60	Menit ke 90	Menit 120
1	Kelompok I (Normal)	140	159	257	119
2		121	144	168	124
3		276	218	146	120
4		418	249	139	120
5		121	319	126	119
6		227	145	129	117
7		219	121	119	127
Rata-rata		217,42	193,57	154,85	120,85
1	Kelompok II Kontrol positif Metformin	401	207	120	129
2		249	217	143	144
3		179	181	149	129
4		550	418	251	227
5		320	219	201	196
6		217	196	151	149
7		358	217	136	129
Rata-rata		324,85	236,42	164,42	157,57
1	Kelompok III Ekstrak Tunggal Biji Oyong	196	160	142	139
2		180	160	147	129
3		143	139	103	158
4		217	158	131	215
5		596	524	320	279
6		560	500	251	142
7		550	514	241	229
Rata-rata		348,85	307,85	190,71	184,42
1	Kelompok IV Kombinasi metformin:ekstrak (25 : 75)	312	217	184	151
2		276	240	179	129
3		295	158	136	149
4		449	219	143	179
5		420	233	170	129
6		402	217	191	149
7		165	147	165	139
Rata-rata		331,28	204,42	166,85	146,42
1	Kelompok V Kombinasi metformin:ekstrak (50 : 50)	240	176	114	139
2		181	176	137	151
3		257	138	171	149
4		237	156	199	129
5		216	158	143	179
6		316	223	183	151
7		384	303	143	125
Rata-rata		261,57	190	155,71	146,14
1	Kelompok VI Kombinasi metformin:ekstrak (75 : 25)	139	150	107	119
2		142	126	123	119
3		571	223	138	133
4		158	127	101	158
5		552	240	183	157
6		314	243	188	126
7		590	550	418	297
Rata-rata		352,28	237	179,71	158,42

1	Kelompok VII Kombinasi metformin:ekstrak (25 : 50)	168	164	149	154
2		158	137	123	158
3		118	316	195	118
4		590	444	215	127
5		373	342	149	431
6		358	174	143	139
7		179	193	107	119
Rata-rata		277,71	252,85	154,42	178
1	Kelompok VIII Kombinasi metformin:ekstrak (25 : 25)	174	163	158	154
2		202	158	163	157
3		158	149	124	174
4		163	182	114	119
5		220	158	137	129
6		472	264	127	310
7		183	174	138	142
Rata-rata		224,57	178,28	137,28	169,28
1	Kelompok IX Kombinasi metformin:ekstrak (50 : 25)	158	146	129	149
2		219	168	120	168
3		355	168	138	135
4		248	145	139	144
5		163	135	129	149
6		197	127	129	138
7		258	164	150	199
Rata-rata		228,28	150,42	133,42	154,57
1	Kelompok X Kombinasi metformin:ekstrak (75 : 75)	179	168	101	160
2		207	207	129	163
3		232	150	166	129
4		163	149	163	139
5		363	254	147	144
6		207	174	166	127
7		596	228	109	183
Rata-rata		278,14	190	140,14	149,28

Lampiran 21. Analisa statistik nilai peningkatan berat badan tikus dengan menggunakan metode ANOVA satu arah

Descriptives

Kelompok I. Normal

Descriptive Statistics

	N	Minimum	Maximum	Mean		Std. Deviation
	Statistic	Statistic	Statistic	Statistic	Std. Error	Statistic
T0	7	150.00	200.00	185.7143	7.19032	19.02379
T30	7	190.00	230.00	210.0000	5.77350	15.27525
T60	7	200.00	240.00	227.1429	5.21641	13.80131
Kenaikan	7	15.00	35.29	22.9214	3.06920	8.12035
Valid N (listwise)	7					

Kelompok II. Kontrol positif metformin

Descriptive Statistics

	N	Minimum	Maximum	Mean		Std. Deviation
	Statistic	Statistic	Statistic	Statistic	Std. Error	Statistic
T0	7	150.00	210.00	188.5714	7.99660	21.15701
T30	7	230.00	260.00	245.7143	4.80929	12.72418
T60	7	250.00	280.00	265.7143	4.28571	11.33893
Kenaikan	7	30.00	66.66	42.3986	6.22872	16.47965
Valid N (listwise)	7					

Kelompok III. Ekstrak tunggal biji oyong

Descriptive Statistics

	N	Minimum	Maximum	Mean		Std. Deviation
	Statistic	Statistic	Statistic	Statistic	Std. Error	Statistic
T0	7	160.00	230.00	190.0000	8.72872	23.09401
T30	7	220.00	280.00	244.2857	7.82461	20.70197
T60	7	250.00	320.00	274.2857	8.95947	23.70453
Kenaikan	7	13.04	100.00	47.2086	11.18909	29.60354
Valid N (listwise)	7					

Kelompok IV. Kombinasi metformin:ekstrak (25 : 75)

Descriptive Statistics

	N	Minimum	Maximum	Mean		Std. Deviation
	Statistic	Statistic	Statistic	Statistic	Std. Error	Statistic
T0	7	150.00	200.00	175.7143	6.11678	16.18347
T30	7	220.00	300.00	260.0000	10.00000	26.45751
T60	7	250.00	320.00	275.7143	9.96593	26.36737
Kenaikan	7	31.57	100.00	58.5871	9.76197	25.82774
Valid N (listwise)	7					

Kelompok V. Kombinasi metformin:ekstrak (50 : 50)

Descriptive Statistics

	N	Minimum	Maximum	Mean		Std. Deviation
	Statistic	Statistic	Statistic	Statistic	Std. Error	Statistic
T0	7	150.00	190.00	172.8571	5.65445	14.96026
T30	7	230.00	310.00	265.7143	9.96593	26.36737
T60	7	250.00	310.00	278.5714	8.28900	21.93063
Kenaikan	7	42.10	93.33	62.1229	7.01637	18.56356
Valid N (listwise)	7					

Kelompok VI. Kombinasi metformin:ekstrak (75 : 25)

Descriptive Statistics

	N	Minimum	Maximum	Mean		Std. Deviation
	Statistic	Statistic	Statistic	Statistic	Std. Error	Statistic
T0	7	150.00	210.00	175.7143	8.68966	22.99068
T30	7	220.00	260.00	241.4286	5.08432	13.45185
T60	7	250.00	300.00	267.1429	6.80136	17.99471
Kenaikan	7	28.57	86.66	54.1886	8.33758	22.05917
Valid N (listwise)	7					

Kelompok VII. Kombinasi metformin:ekstrak (25 : 50)

Descriptive Statistics

	N	Minimum	Maximum	Mean		Std. Deviation
	Statistic	Statistic	Statistic	Statistic	Std. Error	Statistic
T0	7	160.00	180.00	174.2857	2.97381	7.86796
T30	7	240.00	280.00	255.7143	5.71429	15.11858
T60	7	250.00	310.00	277.1429	7.78102	20.58663
Kenaikan	7	44.44	93.75	59.4686	6.26927	16.58693

Kelompok VIII. Kombinasi metformin:ekstrak (25 : 25)

Descriptive Statistics

	N	Minimum	Maximum	Mean		Std. Deviation
	Statistic	Statistic	Statistic	Statistic	Std. Error	Statistic
T0	7	170.00	200.00	187.1429	6.06092	16.03567
T30	7	230.00	260.00	242.8571	4.20560	11.12697
T60	7	250.00	290.00	265.7143	5.71429	15.11858
Kenaikan	7	25.00	64.70	43.0657	6.25059	16.53751
Valid N (listwise)	7					

Kelompok IX. Kombinasi metformin:ekstrak (50 : 25)

Descriptive Statistics

	N	Minimum	Maximum	Mean		Std. Deviation
	Statistic	Statistic	Statistic	Statistic	Std. Error	Statistic
T0	7	150.00	190.00	167.1429	6.06092	16.03567
T30	7	230.00	280.00	252.8571	6.80136	17.99471
T60	7	250.00	310.00	277.1429	7.46876	19.76047
Kenaikan	7	44.44	93.33	66.9757	7.02397	18.58368
Valid N (listwise)	7					

Kelompok X. Kombinasi metformin:ekstrak (75 : 75)

Descriptive Statistics

	N	Minimum	Maximum	Mean		Std. Deviation
	Statistic	Statistic	Statistic	Statistic	Std. Error	Statistic
T0	7	150.00	200.00	170.0000	7.23747	19.14854
T30	7	230.00	300.00	264.2857	10.43281	27.60262
T60	7	250.00	320.00	292.8571	10.62663	28.11541
Kenaikan	7	50.00	93.75	72.9957	5.47430	14.48363
Valid N (listwise)	7					

Perbandingan antara kelompok tikus normal dan kelompok tikus HFD.

NPar Tests

One-Sample Kolmogorov-Smirnov Test

		Berat_badan
N		6
Normal Parameters ^{a,,b}	Mean	221.3723
	Std. Deviation	37.84187
Most Extreme Differences	Absolute	.160
	Positive	.160
	Negative	-.128
Kolmogorov-Smirnov Z		.393
Asymp. Sig. (2-tailed)		.998

a. Test distribution is Normal.

b. Calculated from data.

T-Test

Group Statistics

Perlakuan		N	Mean	Std. Deviation	Std. Error Mean
Berat_badan	CMC 1 %	7	22.9229	8.11889	3.06865
	Pakan Lemak	7	56.3357	7.94297	3.00216

Independent Samples Test

		Levene's Test for Equality of Variances		t-test for Equality of Means						95% Confidence Interval of the Difference	
		F	Sig.	t	df	Sig. (2-tailed)	Mean Difference	Std. Error Difference	Lower		
									Lower	Upper	
Berat badan	Equal variances assumed	.246	.629	-7.783	12	.000	-33.41286	4.29297	-42.76643	-24.05928	
	Equal variances not assumed			-7.783	11.994	.000	-33.41286	4.29297	-42.76693	-24.05879	

Penelitian ini mengasumsikan bahwa kedua variabel yang diperbandingkan adalah merupakan varian yang berbeda, yaitu antara perlakuan tanpa HFD dan perlakuan dengan HFD sehingga kriteria uji yang dipakai adalah nilai Sig. (2-tailed) pada kolom *Equal variances not assumed*, yang artinya bahwa tidak diasumsikan dalam varian yang sama.

Kriteria uji:

Sig. (2-tailed).> 0,05 : tidak terdapat perbedaan signifikan

Sig. (2-tailed)< 0,05 : terdapat perbedaan signifikan

Nilai Sig. (2-tailed). = .000 (< 0,05). Jadi terdapat perbedaan yang signifikan antar perlakuan

Lampiran 22. Analisa statistik dengan *independent sample t test* terhadap nilai peningkatan kadar glukosa darah tikus setelah diberi HFD.

NPar Tests

One-Sample Kolmogorov-Smirnov Test		Kadar_Glukosa
N		4
Normal Parameters ^{a,b}	Mean	128.9900
	Std. Deviation	19.42047
Most Extreme Differences	Absolute	.258
	Positive	.258
	Negative	-.171
Kolmogorov-Smirnov Z		.516
Asymp. Sig. (2-tailed)		.953

a. Test distribution is Normal.

b. Calculated from data.

Sebelum dilakukan uji signifikansi, terlebih dahulu dilakukan uji normalitas guna mengetahui tingkat normalitas sebaran data kadar glukosa darah antara tikus normal dan tikus yang telah diberi HFD. Hasil perhitungan menunjukkan nilai Asymp. Sig. (2-tailed) 0,953 ($> 0,05$), berarti data terdistribusi normal, sehingga dilanjutkan uji parametrik (t-test) untuk membandingkan antar dua kelompok data.

T-Test

Group Statistics					
Perlakuan	N	Mean	Std. Deviation	Std. Error Mean	
Kadar_Glukosa	TIkus Normal	2	115.7100	7.26906	5.14000
	TIkus HFD	2	142.2700	19.31816	13.66000

Independent Samples Test

	Levene's Test for Equality of Variances		t-test for Equality of Means						
								95% Confidence Interval of the Difference	
	F	Sig.	t	df	Sig. (2-tailed)	Mean Difference	Std. Error Difference	Lower	Upper
Kadar_Glukosa	Equal variances assumed	2.092E-17	.000	-1.820	2	.210	-26.56000	14.59504	-89.35739
	Equal variances not assumed			-1.820	1.278	.276	-26.56000	14.59504	-139.32780

Berdasarkan hasil penelitian menunjukkan bahwa nilai Sig sebesar 0,00 (< 0,05). Dapat disimpulkan bahwa kadar glukosa darah antara tikus normal dan tikus yang telah diberi HFD, menunjukkan adanya perbedaan yang signifikan.

Lampiran 23. Analisa statistik nilai hipoglikemia ekstrak etanol biji oyong dan kombinasi ekstrak etanol biji oyong dan metformin dengan menggunakan metode anova satu arah

Perbandingan prosentase penurunan kadar glukosa darah tikus setelah diberi sediaan uji 8 hari (T_2) tiap kelompok uji.

NPar Tests

		One-Sample Kolmogorov-Smirnov Test
		Penurunan_Glukosa_T2
N		70
Normal Parameters ^{a,b}	Mean	130.1167
	Std. Deviation	113.95919
Most Extreme Differences	Absolute	.175
	Positive	.175
	Negative	-.127
Kolmogorov-Smirnov Z		1.462
Asymp. Sig. (2-tailed)		.028

a. Test distribution is Normal.

b. Calculated from data.

Sebelum dilakukan analisa statistik, pertama kali dilakukan uji normalitas untuk melihat sebaran data penelitian:

Kriteria:

Asymp. Sig. (2-tailed) > 0,05 : data terdistribusi normal

Asymp. Sig. (2-tailed) < 0,05 : data terdistribusi tidak normal

Jika data normal dilanjutkan uji parametrik (*one way ANOVA*), apabila data tidak normal maka uji yang dipakai adalah uji non-parametrik (*kruskall wallis*).

Data diatas menunjukkan nilai Asymp. Sig. (2-tailed) = .028 (< 0,05), tidak normal. Maka digunakan uji non-parametrik.

NPar Tests

Kruskal-Wallis Test

Ranks			
	Perlakuan	N	Mean Rank
Penurunan_Glukosa_T2	CMC 1 %	7	4.93
	Metformin	7	38.29
	Ekstrak Tunggal	7	30.50
	Metformin:ekstrak (25 : 75)	7	40.00
	Metformin:ekstrak (50 : 50)	7	43.36
	Metformin:ekstrak (75 : 25)	7	44.64
	Metformin:ekstrak (25 : 50)	7	43.21
	Metformin:ekstrak (25 : 25)	7	33.93
	Metformin:ekstrak (50 : 25)	7	31.57
	Metformin:ekstrak (75 : 75)	7	44.57
Total		70	

Test Statistics^{a,b}

	Penurunan_Glukosa_T2
Chi-Square	21.850
df	9
Asymp. Sig.	.009

a. Kruskal Wallis Test

b. Grouping Variable: Perlakuan

Kriteria uji:

Asymp. Sig.> 0,05 : tidak terdapat perbedaan signifikan

Asymp. Sig.< 0,05 : terdapat perbedaan signifikan

Nilai Asymp. Sig. = .009 (< 0,05). Jadi terdapat perbedaan yang signifikan antar perlakuan

Perbandingan prosentase penurunan kadar glukosa darah tikus setelah diberi sediaan uji 15 hari (T_3) tiap kelompok uji.

NPar Tests

One-Sample Kolmogorov-Smirnov Test

		Penurunan_Glukosa_T3
N		70
Normal Parameters ^{a,b}	Mean	231.9853
	Std. Deviation	319.11437
Most Extreme Differences	Absolute	.303
	Positive	.303
	Negative	-.234
Kolmogorov-Smirnov Z		2.531
Asymp. Sig. (2-tailed)		.000

a. Test distribution is Normal.

b. Calculated from data.

Sebelum dilakukan analisa statistik, pertama kali dilakukan uji normalitas untuk melihat sebaran data penelitian:

Kriteria:

Asymp. Sig. (2-tailed) > 0,05 : data terdistribusi normal

Asymp. Sig. (2-tailed) < 0,05 : data terdistribusi tidak normal

Jika data normal dilanjutkan uji parametrik (*one way ANOVA*), apabila data tidak normal maka uji yang dipakai adalah uji non-parametrik (*kruskall wallis*).

Data diatas menunjukkan nilai *Asymp. Sig. (2-tailed)* = .000 (< 0,05), normal. Maka digunakan uji parametrik.

Oneway

Descriptives

Penurunan_Glukosa_T3

	N	Mean	Std. Deviation	Std. Error	95% Confidence Interval for Mean		Minimum	Maximum
					Lower Bound	Upper Bound		
CMC 1 %	7	15.9400	14.67848	5.54794	2.3647	29.5153	.00	43.75
Metformin	7	192.5843	73.22979	27.67826	124.8580	260.3105	98.18	282.35
Ekstrak Tunggal	7	144.0071	60.11327	22.72068	88.4116	199.6026	100.00	270.58
Metformin:ekstrak (25 : 75)	7	196.8371	94.19838	35.60364	109.7182	283.9561	119.60	400.00
Metformin:ekstrak (50 : 50)	7	238.9771	187.68615	70.93870	65.3964	412.5579	101.03	627.27
Metformin:ekstrak (75 : 25)	7	290.5471	292.42070	110.52464	20.1031	560.9912	101.47	900.00
Metformin:ekstrak (25 : 50)	7	663.8829	815.15318	308.09894	-90.0081	1417.7738	82.00	1850.00
Metformin:ekstrak (25 : 25)	7	156.3071	75.08718	28.38029	86.8631	225.7512	91.17	300.00
Metformin:ekstrak (50 : 25)	7	148.9214	43.23808	16.34246	108.9329	188.9100	106.09	211.11
Metformin:ekstrak (75 : 75)	7	271.8486	235.16367	88.88351	54.3584	489.3387	150.00	800.00
Total	70	231.9853	319.11437	38.14146	155.8952	308.0754	.00	1850.00

Test of Homogeneity of Variances

Penurunan_Glukosa_T3

Levene Statistic	df1	df2	Sig.
12.222	9	60	.000

ANOVA

Penurunan_Glukosa_T3

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	1830033.145	9	203337.016	2.348	.024
Within Groups	5196511.455	60	86608.524		
Total	7026544.600	69			

Kriteria uji:

Sig.> 0,05 : tidak terdapat perbedaan signifikan

Sig.< 0,05 : terdapat perbedaan signifikan

Nilai Sig. = .024 (< 0,05). Jadi terdapat perbedaan yang signifikan antar perlakuan

Post Hoc Tests

Multiple Comparisons

Penurunan_Glukosa_T3

Tukey HSD

(I) Perlakuan	(J) Perlakuan	Mean Difference (I-J)	Std. Error	Sig.	95% Confidence Interval	
					Lower Bound	Upper Bound
CMC 1 %	Metformin	-176.64429	157.30637	.980	-693.4660	340.1775
	Ekstrak Tunggal	-128.06714	157.30637	.998	-644.8889	388.7546
	Metformin:ekstrak (25 : 75)	-180.89714	157.30637	.977	-697.7189	335.9246
	Metformin:ekstrak (50 : 50)	-223.03714	157.30637	.917	-739.8589	293.7846
	Metformin:ekstrak (75 : 25)	-274.60714	157.30637	.765	-791.4289	242.2146
	Metformin:ekstrak (25 : 50)	-647.94286*	157.30637	.004	-1164.7646	-131.1211
	Metformin:ekstrak (25 : 25)	-140.36714	157.30637	.996	-657.1889	376.4546
	Metformin:ekstrak (50 : 25)	-132.98143	157.30637	.997	-649.8032	383.8403
	Metformin:ekstrak (75 : 75)	-255.90857	157.30637	.830	-772.7303	260.9132
Metformin	CMC 1 %	176.64429	157.30637	.980	-340.1775	693.4660
	Ekstrak Tunggal	48.57714	157.30637	1.000	-468.2446	565.3989
	Metformin:ekstrak (25 : 75)	-4.25286	157.30637	1.000	-521.0746	512.5689
	Metformin:ekstrak (50 : 50)	-46.39286	157.30637	1.000	-563.2146	470.4289
	Metformin:ekstrak (75 : 25)	-97.96286	157.30637	1.000	-614.7846	418.8589
	Metformin:ekstrak (25 : 50)	-471.29857	157.30637	.103	-988.1203	45.5232
	Metformin:ekstrak (25 : 25)	36.27714	157.30637	1.000	-480.5446	553.0989
	Metformin:ekstrak (50 : 25)	43.66286	157.30637	1.000	-473.1589	560.4846
	Metformin:ekstrak (75 : 75)	-79.26429	157.30637	1.000	-596.0860	437.5575
Ekstrak Tunggal	CMC 1 %	128.06714	157.30637	.998	-388.7546	644.8889
	Metformin	-48.57714	157.30637	1.000	-565.3989	468.2446
	Metformin:ekstrak (25 : 75)	-52.83000	157.30637	1.000	-569.6518	463.9918
	Metformin:ekstrak (50 : 50)	-94.97000	157.30637	1.000	-611.7918	421.8518
	Metformin:ekstrak (75 : 25)	-146.54000	157.30637	.995	-663.3618	370.2818
	Metformin:ekstrak (25 : 50)	-519.87571*	157.30637	.048	-1036.6975	-3.0540
	Metformin:ekstrak (25 : 25)	-12.30000	157.30637	1.000	-529.1218	504.5218
	Metformin:ekstrak (50 : 25)	-4.91429	157.30637	1.000	-521.7360	511.9075
	Metformin:ekstrak (75 : 75)	-127.84143	157.30637	.998	-644.6632	388.9803
Metformin: ekstrak (25 : 75)	CMC 1 %	180.89714	157.30637	.977	-335.9246	697.7189
	Metformin	4.25286	157.30637	1.000	-512.5689	521.0746
	Ekstrak Tunggal	52.83000	157.30637	1.000	-463.9918	569.6518
	Metformin:ekstrak (50 : 50)	-42.14000	157.30637	1.000	-558.9618	474.6818
	Metformin:ekstrak (75 : 25)	-93.71000	157.30637	1.000	-610.5318	423.1118
	Metformin:ekstrak (25 : 50)	-467.04571	157.30637	.110	-983.8675	49.7760
	Metformin:ekstrak (25 : 25)	40.53000	157.30637	1.000	-476.2918	557.3518
	Metformin:ekstrak (50 : 25)	47.91571	157.30637	1.000	-468.9060	564.7375
	Metformin:ekstrak (75 : 75)	-75.01143	157.30637	1.000	-591.8332	441.8103

Metformin:	CMC 1 %	223.03714	157.30637	.917	-293.7846	739.8589
ekstrak (50 : 50)	Metformin	46.39286	157.30637	1.000	-470.4289	563.2146
	Ekstrak Tunggal	94.97000	157.30637	1.000	-421.8518	611.7918
	Metformin:ekstrak (25 : 75)	42.14000	157.30637	1.000	-474.6818	558.9618
	Metformin:ekstrak (75 : 25)	-51.57000	157.30637	1.000	-568.3918	465.2518
	Metformin:ekstrak (25 : 50)	-424.90571	157.30637	.197	-941.7275	91.9160
	Metformin:ekstrak (25 : 25)	82.67000	157.30637	1.000	-434.1518	599.4918
	Metformin:ekstrak (50 : 25)	90.05571	157.30637	1.000	-426.7660	606.8775
	Metformin:ekstrak (75 : 75)	-32.87143	157.30637	1.000	-549.6932	483.9503
Metformin:	CMC 1 %	274.60714	157.30637	.765	-242.2146	791.4289
ekstrak (75 : 25)	Metformin	97.96286	157.30637	1.000	-418.8589	614.7846
	Ekstrak Tunggal	146.54000	157.30637	.995	-370.2818	663.3618
	Metformin:ekstrak (25 : 75)	93.71000	157.30637	1.000	-423.1118	610.5318
	Metformin:ekstrak (50 : 50)	51.57000	157.30637	1.000	-465.2518	568.3918
	Metformin:ekstrak (25 : 50)	-373.33571	157.30637	.360	-890.1575	143.4860
	Metformin:ekstrak (25 : 25)	134.24000	157.30637	.997	-382.5818	651.0618
	Metformin:ekstrak (50 : 25)	141.62571	157.30637	.996	-375.1960	658.4475
	Metformin:ekstrak (75 : 75)	18.69857	157.30637	1.000	-498.1232	535.5203
Metformin:	CMC 1 %	647.94286*	157.30637	.004	131.1211	1164.7646
Ekstrak (25 : 50)	Metformin	471.29857	157.30637	.103	-45.5232	988.1203
	Ekstrak Tunggal	519.87571*	157.30637	.048	3.0540	1036.6975
	Metformin:ekstrak (25 : 75)	467.04571	157.30637	.110	-49.7760	983.8675
	Metformin:ekstrak (50 : 50)	424.90571	157.30637	.197	-91.9160	941.7275
	Metformin:ekstrak (75 : 25)	373.33571	157.30637	.360	-143.4860	890.1575
	Metformin:ekstrak (25 : 25)	507.57571	157.30637	.058	-9.2460	1024.3975
	Metformin:ekstrak (50 : 25)	514.96143	157.30637	.052	-1.8603	1031.7832
	Metformin:ekstrak (75 : 75)	392.03429	157.30637	.294	-124.7875	908.8560
Metformin:	CMC 1 %	140.36714	157.30637	.996	-376.4546	657.1889
ekstrak (25 : 25)	Metformin	-36.27714	157.30637	1.000	-553.0989	480.5446
	Ekstrak Tunggal	12.30000	157.30637	1.000	-504.5218	529.1218
	Metformin:ekstrak (25 : 75)	-40.53000	157.30637	1.000	-557.3518	476.2918
	Metformin:ekstrak (50 : 50)	-82.67000	157.30637	1.000	-599.4918	434.1518
	Metformin:ekstrak (75 : 25)	-134.24000	157.30637	.997	-651.0618	382.5818
	Metformin:ekstrak (25 : 50)	-507.57571	157.30637	.058	-1024.3975	9.2460
	Metformin:ekstrak (50 : 25)	7.38571	157.30637	1.000	-509.4360	524.2075
	Metformin:ekstrak (75 : 75)	-115.54143	157.30637	.999	-632.3632	401.2803
Metformin:	CMC 1 %	132.98143	157.30637	.997	-383.8403	649.8032
Ekstrak (50 : 25)	Metformin	-43.66286	157.30637	1.000	-560.4846	473.1589
	Ekstrak Tunggal	4.91429	157.30637	1.000	-511.9075	521.7360
	Metformin:ekstrak (25 : 75)	-47.91571	157.30637	1.000	-564.7375	468.9060
	Metformin:ekstrak (50 : 50)	-90.05571	157.30637	1.000	-606.8775	426.7660
	Metformin:ekstrak (75 : 25)	-141.62571	157.30637	.996	-658.4475	375.1960
	Metformin:ekstrak (25 : 50)	-514.96143	157.30637	.052	-1031.7832	1.8603
	Metformin:ekstrak (50 : 25)	-7.38571	157.30637	1.000	-524.2075	509.4360

	Metformin:ekstrak (75 : 75)	-122.92714	157.30637	.999	-639.7489	393.8946
Metformin:	CMC 1 %	255.90857	157.30637	.830	-260.9132	772.7303
ekstrak	Metformin	79.26429	157.30637	1.000	-437.5575	596.0860
(75 : 75)	Ekstrak Tunggal	127.84143	157.30637	.998	-388.9803	644.6632
	Metformin:ekstrak (25 : 75)	75.01143	157.30637	1.000	-441.8103	591.8332
	Metformin:ekstrak (50 : 50)	32.87143	157.30637	1.000	-483.9503	549.6932
	Metformin:ekstrak (75 : 25)	-18.69857	157.30637	1.000	-535.5203	498.1232
	Metformin:ekstrak (25 : 50)	-392.03429	157.30637	.294	-908.8560	124.7875
	Metformin:ekstrak (25 : 25)	115.54143	157.30637	.999	-401.2803	632.3632
	Metformin:ekstrak (50 : 25)	122.92714	157.30637	.999	-393.8946	639.7489

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

Homogeneous Subsets

Penurunan_Glukosa_T3

Tukey HSD^a

Perlakuan	N	Subset for alpha = 0.05	
		1	2
CMC 1 %	7	15.9400	
Ekstrak Tunggal	7	144.0071	
Metformin:ekstrak (50 : 25)	7	148.9214	148.9214
Metformin:ekstrak (25 : 25)	7	156.3071	156.3071
Metformin	7	192.5843	192.5843
Metformin:ekstrak (25 : 75)	7	196.8371	196.8371
Metformin:ekstrak (50 : 50)	7	238.9771	238.9771
Metformin:ekstrak (75 : 75)	7	271.8486	271.8486
Metformin:ekstrak (75 : 25)	7	290.5471	290.5471
Metformin:ekstrak (25 : 50)	7		663.8829
Sig.		.765	.052

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 7,000.

Lampiran 24. Analisa statistik nilai ekspresi protein GLUT-4 jaringan otot paha (*soleus muscle*) tikus ekstrak etanol biji oyong dan kombinasi ekstrak etanol biji oyong dan metformin dengan menggunakan metode anova satu arah

NPar Tests

One-Sample Kolmogorov-Smirnov Test

		Jumlah_GLUT
N		60
Normal Parameters ^{a,b}	Mean	16.5333
	Std. Deviation	6.31239
Most Extreme Differences	Absolute	.063
	Positive	.063
	Negative	-.063
Kolmogorov-Smirnov Z		.486
Asymp. Sig. (2-tailed)		.972

a. Test distribution is Normal.

b. Calculated from data.

Sebelum dilakukan analisa statistik, pertama kali dilakukan uji normalitas untuk melihat sebaran data penelitian:

Kriteria:

Asymp. Sig. (2-tailed) > 0,05 : data terdistribusi normal

Asymp. Sig. (2-tailed) < 0,05 : data terdistribusi tidak normal

Jika data normal dilanjutkan uji parametrik (*one way ANOVA*), apabila data tidak normal maka uji yang dipakai adalah uji non-parametrik (*kruskall wallis*).

Data diatas menunjukkan nilai *Asymp. Sig. (2-tailed)* = 0,972 (< 0,05), tidak normal. Maka digunakan uji non-parametrik.

Oneway

Descriptives

Jumlah_GLUT

	N	Mean	Std. Deviation	Std. Error	95% Confidence Interval for Mean		Minimum	Maximum
					Lower Bound	Upper Bound		
1	6	25.8333	2.99444	1.22247	22.6909	28.9758	23.00	30.00
2	6	20.5000	4.08656	1.66833	16.2114	24.7886	17.00	28.00
3	6	14.8333	5.77639	2.35820	8.7714	20.8953	7.00	22.00
4	6	16.8333	2.48328	1.01379	14.2273	19.4394	13.00	20.00
5	6	18.1667	4.35507	1.77795	13.5963	22.7370	14.00	26.00
6	6	14.1667	3.43026	1.40040	10.5668	17.7665	10.00	19.00
7	6	13.6667	4.63321	1.89150	8.8044	18.5289	7.00	19.00
8	6	6.0000	3.16228	1.29099	2.6814	9.3186	2.00	10.00
9	6	13.0000	2.00000	.81650	10.9011	15.0989	10.00	15.00
10	6	22.3333	2.06559	.84327	20.1656	24.5010	20.00	26.00
Total	60	16.5333	6.31239	.81493	14.9027	18.1640	2.00	30.00

Test of Homogeneity of Variances

Jumlah_GLUT

Levene Statistic	df1	df2	Sig.
1.394	9	50	.216

ANOVA

Jumlah_GLUT

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	1672.600	9	185.844	13.699	.000
Within Groups	678.333	50	13.567		
Total	2350.933	59			

Kriteria uji:

Asymp. Sig.> 0,05 : tidak terdapat perbedaan signifikan

Asymp. Sig.< 0,05 : terdapat perbedaan signifikan

Nilai Asymp. Sig. = .000 (< 0,05). Jadi terdapat perbedaan yang signifikan antar perlakuan

Post Hoc Tests

Multiple Comparisons

Jumlah_GLUT
Tukey HSD

(I) Perlakuan	(J) Perlakuan	Mean Difference (I-J)	Std. Error	Sig.	95% Confidence Interval	
					Lower Bound	Upper Bound
1	2	5.33333	2.12655	.289	-1.7061	12.3728
	3	11.00000*	2.12655	.000	3.9605	18.0395
	4	9.00000*	2.12655	.004	1.9605	16.0395
	5	7.66667*	2.12655	.023	.6272	14.7061
	6	11.66667*	2.12655	.000	4.6272	18.7061
	7	12.16667*	2.12655	.000	5.1272	19.2061
	8	19.83333*	2.12655	.000	12.7939	26.8728
	9	12.83333*	2.12655	.000	5.7939	19.8728
	10	3.50000	2.12655	.819	-3.5395	10.5395
	2	-5.33333	2.12655	.289	-12.3728	1.7061
2	3	5.66667	2.12655	.216	-1.3728	12.7061
	4	3.66667	2.12655	.777	-3.3728	10.7061
	5	2.33333	2.12655	.983	-4.7061	9.3728
	6	6.33333	2.12655	.112	-.7061	13.3728
	7	6.83333	2.12655	.064	-.2061	13.8728
	8	14.50000*	2.12655	.000	7.4605	21.5395
	9	7.50000*	2.12655	.028	.4605	14.5395
	10	-1.83333	2.12655	.997	-8.8728	5.2061
	3	-11.00000*	2.12655	.000	-18.0395	-3.9605
	2	-5.66667	2.12655	.216	-12.7061	1.3728
3	4	-2.00000	2.12655	.994	-9.0395	5.0395
	5	-3.33333	2.12655	.857	-10.3728	3.7061
	6	.66667	2.12655	1.000	-6.3728	7.7061
	7	1.16667	2.12655	1.000	-5.8728	8.2061
	8	8.83333*	2.12655	.005	1.7939	15.8728
	9	1.83333	2.12655	.997	-5.2061	8.8728
	10	-7.50000*	2.12655	.028	-14.5395	-.4605
	4	-9.00000*	2.12655	.004	-16.0395	-1.9605
	2	-3.66667	2.12655	.777	-10.7061	3.3728
	3	2.00000	2.12655	.994	-5.0395	9.0395

5	1	-7.66667*	2.12655	.023	-14.7061	-.6272
	2	-2.33333	2.12655	.983	-9.3728	4.7061
	3	3.33333	2.12655	.857	-3.7061	10.3728
	4	1.33333	2.12655	1.000	-5.7061	8.3728
	6	4.00000	2.12655	.681	-3.0395	11.0395
	7	4.50000	2.12655	.525	-2.5395	11.5395
	8	12.16667*	2.12655	.000	5.1272	19.2061
	9	5.16667	2.12655	.331	-1.8728	12.2061
	10	-4.16667	2.12655	.630	-11.2061	2.8728
6	1	-11.66667*	2.12655	.000	-18.7061	-4.6272
	2	-6.33333	2.12655	.112	-13.3728	.7061
	3	-.66667	2.12655	1.000	-7.7061	6.3728
	4	-2.66667	2.12655	.959	-9.7061	4.3728
	5	-4.00000	2.12655	.681	-11.0395	3.0395
	7	.50000	2.12655	1.000	-6.5395	7.5395
	8	8.16667*	2.12655	.012	1.1272	15.2061
	9	1.16667	2.12655	1.000	-5.8728	8.2061
	10	-8.16667*	2.12655	.012	-15.2061	-1.1272
7	1	-12.16667*	2.12655	.000	-19.2061	-5.1272
	2	-6.83333	2.12655	.064	-13.8728	.2061
	3	-1.16667	2.12655	1.000	-8.2061	5.8728
	4	-3.16667	2.12655	.890	-10.2061	3.8728
	5	-4.50000	2.12655	.525	-11.5395	2.5395
	6	-.50000	2.12655	1.000	-7.5395	6.5395
	8	7.66667*	2.12655	.023	.6272	14.7061
	9	.66667	2.12655	1.000	-6.3728	7.7061
	10	-8.66667*	2.12655	.006	-15.7061	-1.6272
8	1	-19.83333*	2.12655	.000	-26.8728	-12.7939
	2	-14.50000*	2.12655	.000	-21.5395	-7.4605
	3	-8.83333*	2.12655	.005	-15.8728	-1.7939
	4	-10.83333*	2.12655	.000	-17.8728	-3.7939
	5	-12.16667*	2.12655	.000	-19.2061	-5.1272
	6	-8.16667*	2.12655	.012	-15.2061	-1.1272
	7	-7.66667*	2.12655	.023	-14.7061	-.6272
	9	-7.00000	2.12655	.052	-14.0395	.0395
	10	-16.33333*	2.12655	.000	-23.3728	-9.2939
9	1	-12.83333*	2.12655	.000	-19.8728	-5.7939
	2	-7.50000*	2.12655	.028	-14.5395	-.4605
	3	-1.83333	2.12655	.997	-8.8728	5.2061
	4	-3.83333	2.12655	.730	-10.8728	3.2061
	5	-5.16667	2.12655	.331	-12.2061	1.8728
	6	-1.16667	2.12655	1.000	-8.2061	5.8728
	7	-.66667	2.12655	1.000	-7.7061	6.3728
	8	7.00000	2.12655	.052	-.0395	14.0395

	10	-9.33333*	2.12655	.002	-16.3728	-2.2939
10	1	-3.50000	2.12655	.819	-10.5395	3.5395
	2	1.83333	2.12655	.997	-5.2061	8.8728
	3	7.50000*	2.12655	.028	.4605	14.5395
	4	5.50000	2.12655	.251	-1.5395	12.5395
	5	4.16667	2.12655	.630	-2.8728	11.2061
	6	8.16667*	2.12655	.012	1.1272	15.2061
	7	8.66667*	2.12655	.006	1.6272	15.7061
	8	16.33333*	2.12655	.000	9.2939	23.3728
	9	9.33333*	2.12655	.002	2.2939	16.3728

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

Homogeneous Subsets

Jumlah_GLUT

Tukey HSD^a

Perlakuan	N	Subset for alpha = 0.05				
		1	2	3	4	5
8	6	6.0000				
9	6	13.0000	13.0000			
7	6		13.6667	13.6667		
6	6		14.1667	14.1667		
3	6		14.8333	14.8333		
4	6		16.8333	16.8333	16.8333	
5	6		18.1667	18.1667	18.1667	
2	6			20.5000	20.5000	20.5000
10	6				22.3333	22.3333
1	6					25.8333
Sig.		.052	.331	.064	.251	.289

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 6,000.

Lampiran 25. Analisa statistik hubungan antara prosentase penurunan kadar glukosa darah dengan peningkatan jumlah protein GLUT-4.

Regression

Notes		
Output Created		10-Feb-2014 20:07:27
Comments		
Input	Active Dataset Filter Weight Split File N of Rows in Working Data File	DataSet0 <none> <none> <none>
Missing Value Handling	Definition of Missing Cases Used	User-defined missing values are treated as missing. For each variable used, missing values are replaced with the variable mean.
Syntax		REGRESSION /DESCRIPTIVES MEAN STDDEV CORR SIG N /MISSING MEANSUB /STATISTICS COEFF OUTS CI(95) R ANOVA /CRITERIA=PIN(.05) POUT(.10) /NOORIGIN /DEPENDENT Glut4 /METHOD=ENTER Kadarglukosa.
Resources	Processor Time Elapsed Time Memory Required Additional Memory Required for Residual Plots	0:00:00.031 0:00:00.140 1372 bytes 0 bytes

Descriptive Statistics

	Mean	Std. Deviation	N
Glut-4	15.4967	4.77786	9
kadarglukosadarah	151.5656	24.80045	9

Variables Entered/Removed^b

Model	Variables Entered	Variables Removed	Method
1	kadarglukosadarah ^a		. Enter

a. All requested variables entered.

b. Dependent Variable: Glut-4

Model Summary

Model	R	R Square	Adjusted R Square	Std. Error of the Estimate
1	.837 ^a	.701	.658	2.79398

a. Predictors: (Constant), kadarglukosadarah

Dari data tersebut dapat dijelaskan bahwa jumlah GLUT-4 dipengaruhi oleh persen penurunan kadar gula darah sebesar 70.1% dan 29.9% dipengaruhi oleh faktor yang lain.

Correlations

		Glut-4	Kadar glukosa darah
Pearson Correlation	Glut-4	1.000	.837
	kadarglukosadarah	.837	1.000
Sig. (1-tailed)	Glut-4	.	.002
	kadarglukosadarah	.002	.
N	Glut-4	9	9
	kadarglukosadarah	9	9

ANOVA^b

Model	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
1 Regression	127.979	1	127.979	16.394	.005 ^a
Residual	54.644	7	7.806		
Total	182.623	8			

a. Predictors: (Constant), kadarglukosadarah

b. Dependent Variable: Glut-4

Nilai signifikansi yang ditunjukkan pada table sebesar $0.005 < 0.05$ berarti hubungan antara jumlah peningkatan protein GLUT-4 dengan persen penurunan kadar glukosa darah adalah linear atau saling mempengaruhi.

Coefficients^a

Model	Unstandardized Coefficients		Beta	t	Sig.	95.0% Confidence Interval for B	
	B	Std. Error				Lower Bound	Upper Bound
	(Constant)	-8.947	6.108			-23.391	5.497
Kadar glukosa darah	.161	.040	.837	4.049	.005	.067	.255

a. Dependent Variable: Glut-4

Persamaan regresi linier dapat ditulis

$$Y = -8.947 + 0.161X$$

$$R = 0.837$$