

**UJI AKTIVITAS ANTIHIPERGLIKEMIK EKSTRAK ETANOL DAUN
INSULIN (*Tithonia diversifolia* Gray) TERHADAP MENCIT PUTIH JANTAN
(*Mus musculus*) DENGAN METODE TOLERANSI GLUKOSA**



Oleh :

**Tantri Widiastuti
17141045B**

**PROGRAM STUDI D III FARMASI
FAKULTAS FARMASI
UNIVERSITAS SETIA BUDI
SURAKARTA
2017**

**UJI AKTIVITAS ANTIHIPERGLIKEMIK EKSTRAK ETANOL DAUN
INSULIN (*Tithonia diversifolia* Gray) TERHADAP MENCIT PUTIH JANTAN
(*Mus musculus*) DENGAN METODE TOLERANSI GLUKOSA**



Oleh :

**Tantri Widihastuti
17141045B**

**PROGRAM STUDI D III FARMASI
FAKULTAS FARMASI
UNIVERSITAS SETIA BUDI
SURAKARTA
2017**

PENGESAHAN KARYA TULIS ILMIAH

Berjudul:

**UJI AKTIVITAS ANTIHIPERGLIKEMIK EKSTRAK ETANOL DAUN
INSULIN (*Tithonia diversifolia* Gray) TERHADAP MENCIT PUTIH JANTAN
(*Musmusculus*) DENGAN METODE TOLERANSI GLUKOSA**

Oleh :

**Tantri Widihastuti
17141045B**

Dipertahankan di hadapan Panitia Penguji Karya Tulis Ilmiah
Fakultas Farmasi Universitas Setia Budi
Pada Tanggal : 17 Juni 2017

Mengetahui

Fakultas Farmasi

Universitas Setia Budi

Dekan

Pembimbing



Opstaria Saptarini, M.Si., Apt



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

Penguji :

1. Ika Purwidyaningrum, M.Sc., Apt

2. Hery Muhamaad Ansory, S.Pd., M.Sc

3. Opstaria Saptarini, M.Si., Apt

1.

2.

3.

HALAMAN PERSEMBAHAN

Karya Tulis Ilmiah ini saya persembahkan untuk

- Allah SWT tuhan semesta alam
- Nabi Muhammad saw utusan Allah SWT
- Kedua orang tua yang senantiasa memberikan semangat, motivasi untuk selalu maju, pelajaran hidup yang bermakna dan doa dari mereka dan nasehat yang membimbinku menjadi anak yang kuat
- Rini Anggarini sahabatku yang selalu memberi dukungan, motivasi dan doanya.
- Teman ponpin yang memberi dukungan
- Teman temanku yunita dan ayu yang selalu memberikan dukungan
- Teman- teman seperjuangan D-III Farmasi dan khususnya keluarga teori 2 terima kasih telah berbagi tawa dan canda.

Motto

Jalani segala sesuatu dengan rasa ikhlas, maka Allah akan memberi kemudahan.

PERNYATAAN

Saya menyatakan bahwa tugas akhir ini yang berjudul **“UJI AKTIVITAS ANTIHIPERGLIKEMIK EKSTRAK ETANOL DAUN INSULIN (*Tithonia diversifolia*) TERHADAP MENCIT PUTIH JANTAN (*Mus musculus*) DENGAN METODE TOLERANSI GLUKOSA”** adalah hasil pekerjaan saya sendiri dan tidak terdapat karya yang pernah diajukan untuk memperoleh gelar Ahli Madya di suatu Perguruan Tinggi dan sepanjang pengetahuan saya tidak terdapat karya atau pendapat yang pernah ditulis atau diterbitkan oleh orang lain, kecuali yang secara tertulis diacu dalam naskah ini dan disebutkan dalam daftar pustaka.

Apabila tugas akhir ini merupakan jiplakan atau kutipan, maka saya siap menerima sanksi, baik secara akademis maupun hukum.

Surakarta, 17 Juni 2017



Tantri Widihastuti

KATA PENGANTAR

Puji dan syukur atas kehadiran Allah SWT yang senantiasa melimpahkan rahmat, taufik serta hidayah-Nya sehingga penulis dapat menyusun dan menyelesaikan Karya Tulis Ilmiah dengan judul “Uji Aktivitas Antihiperqlikemik Ekstrak Etanol Daun Insulin (*Tithonia diversifolia* Gray) terhadap Mencit Putih Jantan (*Mus musculus*) dengan Metode Toleransi Glukosa”. Tujuan dari penulisan Karya Tulis Ilmiah adalah untuk memenuhi salah satu persyaratan untuk menyelesaikan Program Stud Diploma-III Farmasi Universitas Setia Budi Surakarta.

Dalam penulisan karya ilmiah ini, penulis banyak mendapatkan bimbingan, petunjuk dan saran-saran yang berguna dari berbagai pihak, maka pada kesempatan ini penulis mengucapkan terimakasih kepada yang terhormat:

1. Dr. Ir. Djoni Targan, MBA selaku Rektor Universitas Setia Budi.
2. Prof. Dr. R.A. Oetari, SU., MM., M.Sc., Apt, selaku Dekan Fakultas Farmasi Universitas Setia Budi.
3. Vivin Nopiyanti, M.Sc., Apt, selaku Ketua Jurusan Program D-III Farmasi Universitas Setia Budi.
4. Opstaria Saptarini M.Si., Apt, selaku dosen pembimbing yang telah meluangkan waktu, perhatian dan keikhlasannya dalam memberikan arahan dan bimbingan dalam penyusunan dan terselesaikannya Karya Tulis Ilmiah ini.

5. Ika Purwidyannglum M.Sc., Apt dan Hery Muhamad Ansory S.Pd., M.Sc, selaku dosen penguji yang telah memberikan kritik dan saran untuk perbaikan karya tulis ilmiah.
6. Bapak dan Ibu dosen Fakultas Farmasi Universitas Setia Budi yang telah memberikan ilmunya selama penulis menempuh studi dan seluruh staf laboratorium Fakultas Farmasi Universitas Setia Budi.
7. Bapak Sigit selaku penanggung jawab Laboratorium Farmakognosi, Laboratorium Teknologi Farmasi, dan Laboratorium Farmakologi.
8. Orang tua dan keluarga terimakasih atas doa, semangat, bimbingan, dorongan, motivasi, nasehat dan kasih sayangnya sampai penulis dapat menyelesaikan tugas akhir ini.
9. Teman-teman D-III farmasi angkatan 2014, teman-teman lain yang tidak dapat disebutkan satu per satu, terimakasih banyak atas dukungan.
10. Semua pihak yang tidak dapat penulis sebutkan satu per satu. Terima kasih atas kerjasamanya.

Mengingat terbatasnya pengetahuan penulis, maka penulis menyadari bahwa karya tulis ilmiah ini jauh dari sempurna, oleh karena itu penulis mengharapkan adanya saran dan perbaikan serta masukkan lainnya. Semoga hasil penelitian ini dapat bermanfaat bagi pihak-pihak yang membutuhkan.

Surakarta, 17 Juni 2017

Penulis

DAFTAR ISI

	Halaman
HALAMAN JUDUL.....	i
HALAMAN PENGESAHAN.....	ii
HALAMAN PERSEMBAHAN	iii
PERNYATAAN	iv
KATA PENGANTAR	v
DAFTAR ISI.....	vii
DAFTAR TABEL.....	xi
DAFTAR GAMBAR	xii
INTISARI.....	xiii
ABSTRACT.....	xiv
BAB I PENDAHULUAN	
A. Latar Belakang.....	1
B. Rumusan Masalah	3
C. Tujuan Penelitian.....	4
D. Manfaat Penelitian.....	4
BAB II TINJAUAN PUSTAKA	
A. Tanaman Insulin	5
1. Sistematika Tanaman.....	5
2. Nama Lain dan Nama Daerah	5
3. Habitat Tanaman Insulin	6
4. Morfologi Tanaman.....	6
5. Kandungan Kimia.....	7
5.1 Flavonoid.....	7
5.2 Saponin	8
6. Khasiat dan Kegunaan.....	8
B. Simplisia	9
1. Pengertian Simplisia	9
2. Pengumpulan Simplisia.....	9
3. Pencucian Simplisia	10

4. Pengeringan Simplisia	11
C. Ekstraksi	11
1. Ekstraksi	11
1.1 Maserasi	12
1.2 Perkolasi	13
1.3 Infundasi	14
1.4 Soxhletasi	14
1.5 Refluks.....	15
1.6 Digesti.....	15
1.7 Dekok	15
2. Pelarut	15
3.1 Etanol.....	16
D. Diabetes Melitus	16
1. Definisi Diabetes Melitus	16
2. Patofisiologi Diabetes Melitus	17
2.1 Diabetes Melitus tipe I.....	19
2.2 Diabetes Melitus tipe II	20
2.3 Diabetes Gestational	22
2.4 Diabetes Tipe Lain	22
3. Diagnosis Dabetes Melitus	22
4. Manifestasi klinis DM	23
5. Komplikasi Dabetes Melitus	23
6. Pengelolaan Dabetes Melitus	24
6.1 Terapi Non Farmakologi	24
6.1.1 Diet	24
6.1.2 Gerak Badan	25
6.1.3 Berhenti Merokok.....	25
6.2 Terapi Farmakologi Dabetes Melitus	25
6.2.1 Golongan Sulfonilurea.....	25
6.2.2 Golongan Biguanid.....	26
6.2.3 Golongan Meglitinid.....	26
6.2.4 Golongan Tiazolindindion.....	26
6.2.5 Golongan Inhibitor α -glukosidase	27
6.2.6 Insulin	27
7. Gejala Diabetes Melitus	28
7.1 Gejala Akut Penyakit Diabetes Melitus	28
7.2 Gejala Kronik Diabetes Melitus	28
E. Glibenklamid	29
F. Metode Uji.....	30
1. Uji Efek Antidiabetes	30
1.1 Metode Uji Toleransi Glukosa	31
1.2 Metode Uji Streptozotocin	33
1.3 Metode Uji Resistensi Insulin	33
1.4 Metode Uji Na ₂ EDTA	33
1.5 Metode Uji Induksi Aloksan	34
2. Metode Analisa Kadar Glukosa Darah.....	36

2.1	Glukometer	36
2.2	Metode GLU-DH.....	37
2.3	Metode GOD-PAP.....	37
2.4	Metode O-Toluidin.....	37
G.	Hewan Uji.....	38
1.	Sitematika Mencit.....	38
2.	Karakteristik Utama Mencit	38
3.	Teknik Memegang Mencit	39
4.	Cara Pemberian Obat.....	39
4.1	Pemberian Secara Oral	39
5.	Pengambilan Darah Hewan Uji	39
H.	Landasan Teori	40
I.	Hipotesis.....	42

BAB III METODE PENELITIAN

A.	Populasi dan Sampel.....	43
B.	Variabel Penelitian	43
1.	Identifikasi Variabel Utama.....	43
2.	Klasifikasi Variabel Utama	43
3.	Definisi Operasional Variabel Utama	44
C.	Alat, Bahan, dan Hewan Uji.....	45
1.	Alat	45
2.	Bahan.....	45
2.1	Bahan Sampel.....	45
2.2	Bahan Kimia.....	45
3.	Hewan Uji	45
D.	Jalannya Penelitian	46
1.	Determinasi Tanaman Insulin.....	46
2.	Persiapan Bahan Utama.....	46
3.	Pengeringan dan Pembuatan Serbuk Daun Insulin	46
4.	Pembuatan Ekstrak Etanol Daun Insulin.....	46
5.	Penetapan Kadar Air Serbuk Daun Insulin	47
6.	Identifikasi Kandungan Kimia Ekstrak dan Serbuk Daun Insulin	48
6.1	Identifikasi Saponin.....	48
6.3	Identifikasi Flavonoid.....	48
7.	Pembuatan Larutan Uji.....	48
8.	Persentase Dosis	48
8.1	Dosis Glibenklamid.....	48
8.2	Dosis Ekstrak Etanol Daun Insulin	49
9.	Perlakuan Hewan Uji.....	49
10.	Prosedur Penelitian	51
E.	Analisa Data	51

BAB IV HASIL DAN PEMBAHASAN

A.	Hasil Penelitian	53
----	------------------------	----

1. Determinasi Tanaman Insulin.....	53
1.1 Hasil Determinasi Tanaman Insulin	53
1.2 Hasil Deskripsi Tanaman Insulin	53
2. Pengumpulan Bahan Baku dan Pembuatan Serbuk Daun Insulin	54
3. Pengukuran Pemeriksaan Persentase Kadar Lembab Daun Insulin	55
4. Hasil Pembuatan Maserasi Daun Insulin.....	56
5. Hasil Identifikasi Kimia dalam Sediaan Ekstrak Etanol Daun Insulin	56
B. Hasil Pengujian Kadar Glukosa Darah dengan Metode Toleransi Glukosa	58
C. Pembahasan	61

BAB V KESIMPULAN DAN SARAN

A. Kesimpulan	65
B. Saran	65

DAFTAR PUSTAKA	66
----------------------	----

LAMPIRAN	71
----------------	----

DAFTAR TABEL

	Halaman
Tabel 1. Hasil Presentase Bobot Kering terhadap Bobot Basah Daun	58
Tabel 2. Hasil Pemeriksaan Presentase Kadar Lembab Serbuk Daun Insulin	58
Tabel 3. Hasil Presentase Rendemen Ekstrak Etanol Maserasi Daun Insulin	58
Tabel 4. Hasil Identifikasi Kandungan Senyawa Kimia Ekstrak Etanol Daun Insulin	59
Tabel 5. Hasil Pengukuran Rata-rata Kadar Glukosa Darah tiap Kelompok Perlakuan.....	61
Tabel 6. Persentase Penurunan Kadar Glukosa Darah.....	62

DAFTAR GAMBAR

	Halaman
Gambar 1. Daun Insulin (<i>Tithonia diversifolia</i> Gray)	8
Gambar 2. Struktur Kimia Glibenklamid.....	32
Gambar 3. Struktur Kimia Streptozotocin	34
Gambar 4. Struktur Kimia Aloksan	37
Gambar 5. Skema Pembuatan Ekstrak Etanol Daun Insulin	50
Gambar 6. Skema Uji Antidiabetik	53

INTISARI

WIDIHASTUTI, T. 2017, “UJI AKTIVITAS ANTIHIPERGLIKEMIK EKSTRAK ETANOL DAUN INSULIN (*Tithonia diversifolia* Gray) TERHADAP MENCIT PUTIH JANTAN (*Mus musculus*) DENGAN METODE TOLERANSI GLUKOSA”, FAKULTAS FARMASI, UNIVERSITAS SETIA BUDI SURAKARTA.

Tanaman insulin (*Tithonia diversifolia* Gray) Tumbuhan genus *Tithonia* ini telah digunakan untuk pengobatan diabetes melitus. Secara alami, tumbuhan ini dapat mengurangi atau menurunkan kadar glukosa darah ke batas normal dan mencegah timbulnya kembali DM untuk jangka waktu yang cukup lama tanpa perlu melakukan pemberian yang berkelanjutan.

Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui aktivitas dari ekstrak etanol daun insulin serta mengetahui dosis paling efektif sebagai antihiperqlikemik pada mencit putih jantan. Penelitian dilakukan dengan metode tes toleransi glukosa oral yang diinduksi glukosa dengan dosis 200 mg/20g BB.

Mencit dibagi menjadi 4 kelompok yaitu, kontrol positif, dan kelompok ekstrak daun insulin dengan dosis 7mg/20gBB mencit, 14 mg/20gBB mencit, dan 21 mg/20gBB mencit. Parameter yang diamati adalah penurunan kadar glukosa darah. Uji statistik menggunakan ANOVA dengan taraf kepercayaan 95% ($p < 0,05$). Hasil yang didapat menunjukkan bahwa ekstrak etanol daun insulin dengan dosis 21 mg/20gBB mencit mampu menurunkan kadar glukosa darah lebih efektif dibandingkan dengan dosis uji lain. Hasil penelitian menunjukkan bahwa ekstrak etanol daun insulin dapat digunakan sebagai antihiperqlikemik dengan dosis efektif 21 mg/20g BB.

Kata kunci : Daun Insulin (*Tithonia diversifolia* Gray), Antidiabetes, Tes Toleransi Glukosa Oral, Diabetes Melitus

ABSTRACT

WIDIHASTUTI, T. 2017, “UJI AKTIVITAS ANTIHIPERGLIKEMIK EKSTRAK ETANOL DAUN INSULIN (*Tithonia diversifolia* Gray) TERHADAP MENCIT PUTIH JANTAN (*Mus musculus*) DENGAN METODE TOLERANSI GLUKOSA”, FAKULTAS FARMASI, UNIVERSITAS SETIA BUDI SURAKARTA.

Insulin plant (*Tithonia diversifolia* Gray) This genus *Tithonia* plant has been used for the treatment of diabetes mellitus. Naturally, these plants can reduce or lower blood glucose levels to normal limits and prevent the re-emergence of DM for long periods of time without the need for continuous administration.

This study aims to determine the activity of insulin leaf ethanol extract and know the most effective dose as antihyperglycemic in male white mice. The study was conducted by using oral glucose-induced glucose tolerance test with a dose of 200 mg/20gBB.

The mice were divided into 4 groups namely, positive control, and group of insulin leaf extract with dose 7mg / 20gBB mice, 14 mg / 20gBB mice, and 21 mg / 20gBB mice. Parameters observed were decreased blood glucose levels. Statistical test using ANOVA with 95% confidence level ($p < 0,05$). The results showed that ethanol extract of insulin leaf with 21 mg / 20gBB dose of mice was able to lower blood glucose level more effectively than other test dose. The results showed that ethanol extract of insulin leaf can be used as antihyperglycemic with effective dose 21 mg / 20g BB.

Keywords: Leaves Insulin (*Tithonia diversifolia* Gray), Antidiabetes, Oral Glucose Tolerance Test, Diabetes Mellitus

BAB I

PENDAHULUAN

A. Latar Belakang

Diabetes melitus merupakan sekumpulan gangguan pada tubuh yang timbul akibat gangguan metabolisme karbohidrat, lemak, dan protein dengan banyak sebab lainnya. Diabetes melitus ditandai dengan adanya peningkatan kadar glukosa yang melebihi batas normal (hiperglikemia) yang diakibatkan oleh glukoneogenesis dan glikogenolisis.

Diabetes melitus menjadi salah satu masalah kesehatan yang besar. Data dari studi global menunjukkan bahwa jumlah penderita diabetes melitus pada tahun 2011 telah mencapai 366 juta orang, dan diperkirakan akan meningkat menjadi 22 juta pada tahun 2030. Pada tahun 2006, terdapat lebih dari 50 juta orang menderita diabetes melitus di Asia Tenggara. *International Diabetes Federation* (IDF) memperkirakan bahwa sebanyak 183 juta orang tidak menyadari bahwa mereka mengidap diabetes melitus. Sebesar 80% orang dengan DM tinggal di negara penghasilan rendah dan menengah. Sebagian besar penderita diabetes melitus berusia antara 40-59 tahun (Trisnawati, 2013).

Penggunaan obat kimia secara berkelanjutan dapat memicu kerusakan organ yang diakibatkan oleh efek samping obat itu sendiri, selain itu juga memiliki harga yang relatif mahal, sehingga perlu dilakukan cara pengobatan alternatif misalnya dengan terapi herbal. Disamping itu banyak pula penderita

yang berusaha mengendalikan kadar glukosa darahnya dengan cara yang tradisional menggunakan bahan alam (Widowati, 2008).

Dalam penganggulangan diabetes melitus, obat hanya merupakan pelengkap dari diet. Obat hanya perlu diberikan bila pengaturan diet secara maksimal tidak berkhasiat mengendalikan kadar glukosa darah. Obat antidiabetes oral mungkin berguna untuk penderita yang alerg terhadap insulin atau tidak menggunakan suntikan insulin. Sementara penggunaanya harus dipahami, agar ada kesesuaian dosis dengan indikasinya, tanpa menimbulkan hipoglikemia. Karena obat antidiabetes oral kebanyakan memberikan efek samping yang tidak diinginkan, maka para ahli mengembangkan sistem pengobatan tradisional untuk diabetes melitus yang relatif aman.

Salah satu tumbuhan yang banyak digunakan masyarakat untuk pengobatan diabetes melitus (DM) adalah tanaman insulin (*Tithonia diversifolia* Gray). Tumbuhan genus *Tithonia* ini telah digunakan untuk pengobatan atau perawatan gejala diabetes melitus (DM) yaitu dengan cara mengkonsumsi dalam teh atau bentuk larutan ekstrak yang dapat meredakan atau mengurangi berbagai penyebab DM. Menurut penelitian yang dilakukan oleh Miura *et al.* (2005) diketahui bahwa ekstrak etanol 80% daun insulin (*Tithonia diversifolia* (Hemsl.) A. Gray) dengan dosis 100 mg/Kg BB, 500 mg/Kg BB, dan 1500 mg/Kg BB dapat menurunkan kadar glukosa darah pada tikus model DM tipe 2 secara signifikan setelah 7 jam pemberian. Menurut Prasetyo (2016) penelitian infusa daun insulin (*Tithonia diversifolia* (Hemsl.) A. Gray) dengan dosis 250 mg/Kg BB, 500 mg/Kg BB dan 750 mg/Kg BB dapat menurunkan kadar glukosa darah

pada tikus yang diinduksi aloksan. Tanaman insulin ini dapat dimanfaatkan secara langsung yaitu dengan cara merebus beberapa helai daun yang telah dicuci, kemudian air rebusannya dikonsumsi 2 gelas per hari. Secara alami, tumbuhan ini dapat mengurangi atau menurunkan kadar glukosa darah (KGD) ke batas normal (Takahashi, 2005). Menurut Karmila (2016) rebusan daun insulin (*Tithonia diversifolia* (Hemsl.) A. Gray) dengan dosis 1373 mg/Kg BB, 3000 mg/Kg BB dapat menurunkan kadar glukosa darah pada tikus jantan galur wistar yang terbebani glukosa.

Berdasarkan uraian di atas maka penulis melakukan penelitian Uji aktivitas antihiperlikemik ekstrak etanol daun insulin (*Tithonia diversifolia* Gray) terhadap mencit putih jantan (*Mus musculus*) dengan metode toleransi glukosa.

B. Rumusan Masalah

Berdasarkan latar belakang didapatkan rumusan masalah sebagai berikut:

Pertama, apakah ekstrak etanol 70% daun insulin (*Tithonia diversifolia* Gray) memberikan antihiperlikemik pada hewan uji mencit putih jantan (*Mus musculus*) dengan metode toleransi glukosa?

Kedua, berapakah dosis ekstrak etanol 70% daun insulin (*Tithonia diversifolia* Gray) yang efektif sebagai antidiabetik terhadap mencit putih jantan (*Mus musculus*) dilihat dari penurunan kadar gula darah dengan metode toleransi glukosa?

C. Tujuan Penelitian

Tujuan dari penelitian ini yaitu untuk mengetahui:

Pertama, melakukan uji efek antihiperglikemik ekstrak etanol 70% daun insulin (*Tithonia diversifolia* Gray) terhadap mencit putih jantan (*Mus musculus*) dengan metode toleransi glukosa.

Kedua, menentukan dosis ekstrak etanol 70% daun insulin (*Tithonia diversifolia*) yang dapat memberikan efek antihiperglikemik paling efektif pada hewan uji mencit putih jantan (*Mus musculus*) dengan metode toleransi glukosa.

D. Manfaat Penelitian

Dari hasil penelitian diharapkan dapat memberikan manfaat:

Peneliti lain agar dapat menambah pengetahuan untuk melakukan penelitian lebih lanjut dalam penggunaan daun insulin sebagai obat antihiperglikemik dalam pengobatan tradisional. Peneliti sendiri agar dapat menambah ilmu dan pengetahuan dalam penelitian tanaman obat sebagai obat antihiperglikemik dalam pengobatan tradisional.

BAB II

TINJAUAN PUSTAKA

A. Tanaman Insulin (*Tithonia diversifolia* Gray)

1. Sistematika Tanaman Insulin.

Kedudukan sistematika tanaman sebagai berikut:

Divisi : Spermatophyta

Sub divisi : Angiospermae

Kelas : Dicotyledoneae

Bangsa : Asterales

Suku : Asteraceae

Marga : *Thitonia*

Jenis : *Thitonia diversifolia* Gray (Amanatie & Sulistyowati, 2015)



Gambar 1. Daun Insulin (*Tithonia diversifolia* Gray)(Amanatie & Sulistyowati, 2015)

2. Nama Lain dan Nama Daerah Tanaman Insulin.

Tanaman insulin mempunyai beberapa nama yang berbeda-beda di berbagai wilayah Indonesia, antara lain: Rondose-moyo, Harsaga (Jawa), Kirinyu

(Sunda), Kayu Paik (Minang) (Agusta, 2000; Didik dan Sulistijowati, 2001). Adapun sinonim dari tanaman insulin yaitu: *Mirasolia diversifolia* Hemsley (Hutapea, 1994). Tanaman insulin ini juga memiliki nama asing antara lain: Mary Gold, Shrub Sunflower, Mexican Sunflower (Inggris), Mirasol (Guatemala), Yellow Flower (Portugis) (Anonim, 2004).

3. Habitat Tanaman Insulin.

Tumbuhan insulin (*Tithonia diversifolia* Gray) umumnya tumbuh liar di tempat-tempat yang curam, misalnya di tebing-tebing, tepi sungai, dan selokan. Pada sekarang ini tumbuhan insulin banyak ditanam sebagai tanaman hias karena warna bunganya yang kuning indah dan sebagai pagar untuk mencegah kelongsoran tanah. Juga merupakan tumbuhan tahunan yang kerap tumbuh di tempat terang dan banyak sinar matahari langsung. Tanaman ini tumbuh dengan mudah di tempat atau di daerah dengan ketinggian yang berkisar antara 5-1500 m di atas permukaan laut (Didik dan Sulistijowati, 2001).

4. Morfologi Tanaman Insulin.

Tumbuhan insulin (*Tithonia diversifolia* Gray) merupakan tumbuhan perdu yang tegak dengan tinggi lebih kurang ± 5 m. Batang tegak, bulat, berkayu hijau. Daunnya tunggal, berseling, panjang 26-32 cm, lebar 15-25 cm, ujung dan pangkal runcing, pertulangan menyirip, hijau. Bunga merupakan bunga majemuk, di ujung ranting, tangkai bulat, kelopak bentuk tabung, berbulu halus, hijau, mahkota lepas, bentuk pita, halus, kuning, benang sari bulat, kuning, putik melengkung, kuning. Buahnya bulat, jika masih muda berwarna hijau setelah tua

berwarna coklat. Bijinya bulat, keras, dan berwarna coklat, akarnya berupa akar tunggang berwarna putih kotor (Hutapea, dkk., 1994).

5. Kandungan Kimia

Hasil uji fitokimia senyawa metabolit sekunder dari insulin (*Tithonia diversifolia* Gray) daun menunjukkan bahwa fraksi ekstrak etanol mengandung flavonoid, fenolik, alkaloid dan saponin (Darmawi *et al.*, 2015). Kandungan senyawa aktif daun insulin yang terdiri atas: triterpen/steroida, glikosida, saponin dan flavonoida (senyawa flavon dengan gugus 4-hidroksi dan gugus 4/7 dihidroksi) (Widari, 2005).

5.1 Flavonoid. Senyawa Flavonoid adalah kelompok senyawa fenol terbesar yang ditemukan di alam terutama pada jaringan tumbuhan tinggi. Senyawa ini merupakan produk metabolik sekunder yang terjadi dari sel dan terakumulasi dari tumbuhan sebagai zat beracun. Flavonoid inilah yang diduga sebagai agen antidiabetes. Flavonoid adalah senyawa organik alami yang ada pada tumbuhan secara umum. Flavonoid alami banyak memainkan peran penting dalam pencegahan diabetes dan komplikasinya (Jack, 2012). Flavonoid merupakan senyawa polar karena mempunyai gugus hidroksil atau gula, sehingga dapat larut dalam pelarut polar seperti etanol, metanol, butanol, aseton, dimetilsulfoksida, dan air. Sejumlah studi telah dilakukan untuk menunjukkan efek hipoglikemik dari flavonoid dengan menggunakan model eksperimen yang berbeda, hasilnya tanaman yang mengandung flavonoid telah terbukti memberi efek menguntungkan dalam melawan penyakit diabetes melitus, baik melalui kemampuan mengurangi penyerapan glukosa maupun dengan cara meningkatkan

toleransi glukosa (Brahmachari, 2011). Flavonoid berkhasiat untuk melancarkan peredaran darah ke seluruh tubuh dan mencegah terjadinya penyumbatan pada pembuluh darah, mengurangi kolesterol serta mengurangi penimbunan lemak pada dinding pembuluh darah, mengurangi kadar resiko penyakit jantung koroner, mengandung anti-inflamasi (anti radang), sebagai antioksidan dan membantu mengurangi rasa sakit jika terjadi pendarahan atau pembengkakan (Hakimah, 2010).

5.2 Saponin. Saponin dapat menurunkan kadar glukosa darah karena mempunyai mekanisme kerja yaitu dengan menghambat aktivitas enzim α glukosidase yaitu enzim yang bertanggung jawab pada perubahan karbohidrat menjadi glukosa (Makalalag *et al.*, 2013).

6. Khasiat dan Kegunaan

Tumbuhan insulin (*Tithonia diversifolia* Gray) umum digunakan sebagai obat luka atau luka lebam, dan sebagai obat sakit perut kembung. Banyak juga digunakan sebagai obat lepra, penyakit liver, obat diabetes dan dapat digunakan sebagai penggugur kandungan (Anonim, 2004).

Tumbuhan Insulin (*Tithonia diversifolia* Gray) umumnya dimanfaatkan pada bagian daunnya. Dari daun tersebut dapat digunakan untuk antidiabetes, anti virus, anti malaria, liver, dan radang tenggorokan, serta penggunaannya sebagai bahan pestisida. Menurut Karmila (2016) rebusan daun insulin (*Tithonia diversifolia* (Hemsl.) A. Gray) dengan dosis 1373mg/KgBB, 3000mg/KgBB dapat menurunkan kadar glukosa darah pada tikus jantan galur wistar yang terbebani

glukosa. Daun Insulin mengandung senyawa flavonoid, alkaloid, terpenoid, saponin, tanin, serta polifenol (Amanatie & Sulistyowati, 2015).

B. Simplisia

1. Pengertian Simplisia

Simplisia adalah bahan alam yang digunakan sebagai obat yang belum mengalami pengolahan apapun juga, kecuali dinyatakan lain berupa berupa bahan yang telah dikeringkan. Simplisia nabati adalah simplisia berupa tanaman utuh, bagian tanaman dan eksudat tanaman. Eksudat tanaman adalah isi yang spontan keluar dari tanaman, atau isi sel yang dikeluarkan dari selnya dengan cara tertentu atau zat yang dipisahkan dari tanamannya dengan cara tertentu yang masih belum berupa zat kimia murni.

Simplisia ada yang lunak seperti rimpang, daun, akar kelembak dan ada yang keras seperti biji, kulit kayu, kulit akar. Simplisia yang lunak mudah ditembus oleh cairan penyari. Karena itu pada penyarian tidak perlu diserbuk sampai halus.

2. Pengumpulan Simplisia

Simplisia berdasarkan bahan bakunya dapat diperoleh dari tanaman liar atau tanaman yang dibudidayakan. Jika simplisia diambil dari tanaman budidaya maka keseragaman umur, masa panen dan galur (asal-usul, garis keturunan) tanaman dapat dipantau. Tetapi jika pengambilan simplisia dari tanaman liar akan banyak kendala dan variabilitas yang tidak bisa dikendalikan seperti asal tanaman, umur, dan tempat tumbuh.

Waktu panen sangat erat hubungannya dengan pembentukan senyawa aktif di dalam bagian tanaman yang akan dipanen. Waktu panen yang tepat adalah pada saat bagian tanaman tersebut mengandung senyawa aktif dalam jumlah besar. Senyawa aktif terbentuk secara maksimal dalam bagian tanaman pada umur tertentu. Simplisia yang digunakan adalah simplisia nabati dan bagian yang digunakan adalah daun (Gunawan & Mulyani, 2004).

Simplisia yang sepenuhnya murni tidak mungkin selalu diperoleh. Bahan asing yang tidak berbahaya dalam jumlah yang sangat kecil yang terdapat dalam simplisia atau yang ditambahkan atau dicampurkan pada umumnya tidak merugikan.

Simplisia nabati harus bebas dari serangga, fragmen hewan atau kotoran hewan, tidak boleh menyimpang bau dan warnanya, tidak boleh mengandung lendir atau menunjukkan tanda-tanda pengotor lain, tidak boleh mengandung bahan lain yang beracun dan berbahaya.

Simplisia hewani harus bebas dari fragmen hewan asing atau kotoran hewan, tidak boleh menyimpang bau dan warnanya, tidak boleh mengandung pengotor lain, tidak boleh mengandung bahan lain yang beracun dan berbahaya.

Simplisia pelican atau mineral harus bebas dari pengotor oleh tanah, batu, hewan, fragmen hewan, dan bahan asing lain (Gunawan & Mulyani, 2004).

3. Pencucian Simplisia

Pencucian simplisia dilakukan untuk membersihkan kotoran yang melekat, terutama bahan-bahan yang berasal dari tanah dan juga banah-bahan yang

tercemar pestisida. Pencucian bisa dilakukan dengan menggunakan air yang berasal dari beberapa sumber seperti: mata air, sumur, PAM.

Hasil penelitian yang dilakukan oleh Frazier (1978) dilaporkan bahwa untuk pencucian yang dilakukan sebanyak satu kali akan menurunkan jumlah mikroba sebanyak 25%. Namun pencucian yang dilakukan sebanyak tiga kali hanya akan menurunkan mikroba sebesar 58% (Gunawan & Mulyani, 2004).

4. Pengerinan Simplisia

Proses pengerinan simplisia bertujuan untuk menurunkan kadar air sehingga bahan tersebut tidak mudah ditumbuhi kapang dan bakteri, menghilangkan aktivitas enzim yang bisa menguraikan lebih lanjut kandungan zat aktif, memudahkan dalam hal pengelolaan proses selanjutnya. Cara pengerinan untuk bahan yang berupa daun yang akan diambil minyak atsirinya maka pengerinan yang dianjurkan adalah menghindari penguapan terlalu cepat dan proses oksidasi udara (Gunawan & Mulyani, 2004).

C. Ekstraksi

1. Ekstraksi

Ekstraksi atau penyarian adalah peristiwa memindahkan zat aktif yang semula di dalam sel oleh cairan penyari, sehingga zat aktif larut dalam cairan penyari. Secara umum penyarian akan bertambah baik apabila permukaan simplisia yang bersentuhan semakin luas.

Sistem pelarut yang digunakan dalam ekstraksi harus dipilih berdasarkan kemampuannya dalam melarutkan jumlah yang maksimum dari zat aktif dan

seminimal mungkin bagi unsur yang tidak diinginkan. Kriteria cairan penyari yang baik harus memenuhi syarat antara lain: murah dan mudah didapat, stabil secara fisika dan kimia, bereaksi netral, tidak menguap dan mudah terbakar, serta selektif dalam menarik zat yang berkhasiat dan diperbolehkan oleh peraturan.

Ekstrak menurut sifat-sifatnya dikelompokkan menjadi tiga yaitu ekstrak kering, ekstrak kental, dan ekstrak cair. Ekstrak kering merupakan sediaan berbentuk serbuk yang dibuat dari ekstrak tumbuhan yang diperoleh melalui penguapan bahan pelarut dan memiliki kandungan lembab tidak lebih dari 5%. Ekstrak kental merupakan sediaan bentuk liat dalam keadaan dingin dan tidak dapat dituang, kandungan airnya berjumlah sampai 30%. Ekstrak cair diartikan sebagai sediaan cair yang dibuat sedemikian rupa sehingga satu bagian simplisia sesuai dengan dua bagian atau kadang-kadang satu bagian. Terdapat beberapa cara ekstraksi dengan menggunakan pelarut yaitu ekstraksi dingin yang meliputi maserasi dan perkolasi dan ekstraksi panas yaitu infudasi, soxhletasi, refluks, digesti, dan dekok (Aktsar, 2012).

1.1 Maserasi. *Macerase* (mengairi, melunakkan, merendam) adalah proses ekstraksi nabati yaitu direndam menggunakan pelarut bukan air (pelarut non polar) atau setengah air, misalnya etanol encer, selama periode waktu tertentu sesuai dengan aturan dalam buku resmi kefarmasian. Maserasi merupakan cara ekstraksi yang paling sederhana. Bahan simplisia yang dihaluskan sesuai dengan syarat farmakope (umumnya terpotong-potong atau berupa serbuk kasar) disatukan dengan bahan pengestraksi. Selanjutnya rendaman tersebut disimpan di tempat terlindung dari cahaya langsung (mencegah reaksi yang dikatalis cahaya

atau perubahan warna) dan dikocok berulang-ulang (kira-kira tiga kali sehari). Pelarut akan menembus dinding sel dan masuk ke dalam rongga sel yang menandung zat aktif. Zat aktif akan larut dan karena adanya perbedaan konsentrasi antara larutan zat aktif di dalam sel dengan di luar sel, maka larutan yang terpekat didesak keluar. Peristiwa tersebut terjadi secara berulang sehingga terjadi keseimbangan antara larutan di dalam sel dan di luar sel (Anonim, 1986).

Secara teoritis pada suatu maserasi tidak memungkinkan terjadinya ekstraksi absolut. Semakin besar perbandingan simplisia terhadap cairan pengestraksi, akan semakin banyak hasil yang diperoleh. Waktu lamanya maserasi berbeda-beda, masing-masing farmakope mencantumkan 4-10 hari, kira-kira 5 hari menurut pengalaman sudah memadai untuk memungkinkan berlangsungnya proses yang menjadi dasar dari cara ini.

Remaserasi merupakan metode ekstraksi dengan pengulangan penambahan pelarut setelah dilakukan penyaringan maserat pertama. Pelarut kedua ditambahkan sebanyak penambahan pelarut pertama. Keuntungan cara penyarian dengan maserasi adalah pengerjaan dan peralatan yang digunakan sederhana dan mudah dilakukan, sedangkan kerugian maserasi adalah pengerjaannya lama dan penyariannya kurang sempurna (Depkes, 1986).

1.2 Perkolasi. Metode perkolasi adalah cara penyarian yang dilakukan dengan mengalirkan cairan penyari melalui serbuk simplisia yang telah dibasahi. Prinsip perkolasi adalah serbuk simplisia ditempatkan dalam wadah berbentuk silinder atau kerucut yang bagian bawahnya diberi sekat berpori. Cairan penyari dialirkan pada wadah kerucut dari atas ke bawah melalui serbuk tersebut, cairan

penyari akan melarutkan zat aktif sel-sel yang dilalui sampai mencapai keadaan jenuh.

1.3 Infundasi. Metode infundasi adalah proses penyarian yang umumnya digunakan untuk penyari kandungan zat aktif yang larut dalam air dari bahan-bahan nabati. Cara ini sangat sederhana dan sering digunakan oleh perusahaan tradisional. Infus adalah sediaan cair yang dibuat dengan menyari simplisia dengan air pada suhu 90°C selama 15 menit. Pembuatan infus dilakukan dengan mencampurkan simplisia dengan derajat halus yang cocok dalam panci dengan air secukupnya, dipanaskan di atas penangas air selama 15 menit terhitung mulai suhu 90°C sambil berkali-kali diaduk, kemudian diserkai selagi panas melalui kain flanel, ditambahkan air panas secukupnya melalui ampas sehingga diperoleh volume infus yang dikehendaki (Depkes, 1986).

1.4 Soxhletasi. Metode soxhletasi merupakan penyarian dimana bahan yang diekstraksi berada dalam sebuah kantung ekstraksi (kertas, karton dan sebagainya) di dalam sebuah alat ekstraksi dari gelas yang bekerja secara berkesinambungan (perkolator). Wadah gelas yang mengandung kantung diletakkan di antara labu suling dan suatu pendingin aliran listrik balik dan dihubungkan dengan labu melalui pipa. Labu berisi bahan pelarut yang menguap tercapai ke dalam pendingin aliran balik melalui pipa pipet. Lalu terkondensasi didalamnya menetes ke atas bahan yang diekstraksi dan membawa keluar bahan yang diekstraksi. Larutan berkumpul di dalam wadah gelas dan setelah mencapai tinggi maksimal secara otomatis ditarik ke dalam labu, dengan demikian zat yang diekstraksi tertimbun melalui penguapan berkesinambungan dari bahan pelarut

murni. Metode ini memerlukan bahan pelarut dalam jumlah kecil, juga simplisia selalu baru, artinya suplai bahan pelarut bebas bahan aktif berlangsung secara terus-menerus (Voight, 1994).

1.5 Refluks. Ekstraksi cara ini pada dasarnya adalah ekstraksi berkesinambungan. Bahan yang akan diekstraksi direndam dengan cairan penyari dalam labu alas bulat yang dilengkapi dengan alat pendingin tegak, lalu dipanaskan sampai mendidih. Cairan penyari akan menguap, uap tersebut akan terkondensasi dengan pendingin tegak dan akan kembali menyari zat aktif dalam simplisia tersebut, demikian seterusnya. Ekstraksi ini biasanya dilakukan tiga kali dan setiap kali ekstraksi selama 4 jam (Aktsar, 2012).

1.6 Digesti. Digesti adalah maserasi kinetik (dengan pengadukan kontinyu) pada temperatur yang lebih tinggi dari temperatur ruangan (kamar) yaitu secara umum dilakukan pada temperatur 40°-50°C (Aktsar, 2012).

1.7 Dekok. Dekok adalah infus pada waktu yang lebih lama ($\geq 30^{\circ}\text{C}$) dan temperatur sampai titik didih air (Aktsar, 2012).

2. Pelarut

Pelarut adalah suatu zat untuk melarutkan zat farmasi lain atau suatu obat dalam preparat larutan. Pemilihan pelarut yang akan digunakan adalah ekstraksi dari bahan mentah obat tertentu berdasarkan pada daya larut zat aktif dan zat yang tidak aktif.

Pemilihan penyari harus mempertimbangkan berbagai faktor berdasarkan sifat fisika kimianya dan ditinjau dari segi ekonomi dan keberadaannya mudah diperoleh. Cairan penyari yang baik mempunyai kestabilan fisika kimia yang baik,

tidak mudah menguap, tidak mudah terbakar, tidak mempengaruhi zat berkhasiat yang akan disari dan selektif dalam menarik zat berkhasiat yang dikehendaki (Depkes, 1986).

2.1 Etanol. Etanol dipertimbangkan sebagai penyari, karena lebih selektif, dalam etanol 20% keatas sulit ditumbuhi kapang dan kuman, tidak beracun, netral, absorpsinya baik, etanol dapat bercampur dengan air pada segala perbandingan, panas yang diperlukan untuk pemekatan lebih sedikit, sedangkan kerugiannya adalah mahal harganya. Etanol dapat melarutkan alkaloid basa, minyak menguap, glikosida, kurkumin, antrakinon, flavonoid, steroid, damar, klorofil, lemak malam, tanin, dan saponin. Dengan demikian zat pengganggu yang larut hanya terbatas. Etanol tidak menyebabkan pembengkakan sel dan memperbaiki stabilitas bahan pelarut. Penggunaan etanol (70% b/v) sering dapat menghasilkan suatu bahan aktif yang optimal, dimana bahan pengotor yang ikut terlarut hanya dalam skala kecil yang turut dalam penyarian (Voight, 1995).

D. Diabetes Melitus

1. Definisi Diabetes Melitus

Diabetes melitus adalah gangguan metabolisme yang ditandai dengan hiperglikemia yang berhubungan abnormalitas metabolisme karbohidrat, lemak, protein yang disebabkan oleh penurunan sekresi insulin atau penurunan sensitivitas insulin, atau keduanya dan menyebabkan komplikasi kronis mikrovaskuler, makrovaskuler dan neuropati. Kriteria diagnosis diabetes melitus adalah jika kadar glukosa darah ketika puasa lebih dari 126 mg/dL atau 2 jam

setelah minum larutan glukosa 75 gram menunjukkan kadar glukosa darah lebih dari 200 mg/dL. Kedua, seseorang dikatakan menderita DM tergantung toleransi glukosanya jika kadar glukosa dalam darah ketika puasa 110-125 mg/dL atau 2 jam setelah minum larutan glukosa 75 gram menunjukkan kadar glukosa darah 140-199 mg/dL. Ketiga, seseorang dikatakan normal atau tidak menderita DM jika kadar glukosa dalam darah ketika puasa kurang dari 110 mg/dL, kadar glukosa darah 1 jam setelah minum larutan glukosa 75 gram menunjukkan kadar glukosa kurang dari 180 mg/dL, dan kadar glukosa darah setelah 2 jam minum larutan glukosa kurang dari 140 mg/dL (Utami *et al.*, 2003).

Hiperglikemia yang berkaitan dengan diabetes melitus terjadi akibat sekresi insulin yang tidak kuat atau tidak ada dengan atau tanpa gangguan kerja insulin (Katzung, 2010). Pada kondisi DM, terjadi kelainan insulin maupun sekresi insulin oleh pankreas, sebagai akibatnya glukosa tidak dapat masuk ke dalam sel dan glukosa akan tetap berada di pembuluh darah yang berarti kadar di dalam darahnya meningkat. Apabila kadar glukosa darah melewati ambang ginjal, maka glukosa akan keluar melalui urin, ini sebabnya penyakit DM juga disebut sebagai kencing manis (Suyono, 2002).

2. Patofisiologi Diabetes Melitus

Diabetes melitus adalah suatu penyakit yang terdiri dari sejumlah gangguan seperti hiperglikemia, perubahan metabolisme lipid, karbohidrat, dan protein, serta adanya peningkatan risiko komplikasi yang disebabkan oleh penyakit vaskular. Menurut Asosiasi Diabetes Amerika kriteria diabetes melitus memiliki konsentrasi gula plasma acak lebih besar dari 200 mg/dL, konsentrasi

gula plasma puasa lebih besar dari 126 mg/dL, atau konsentrasi glukosa plasma lebih besar dari 200 mg/dL pada 2 jam setelah ingesti muatan glukosa oral.

Secara umum diabetes melitus disebabkan oleh adanya penurunan konsentrasi insulin yang bersirkulasi atau defisiensi insulin dan penurunan respon jaringan perifer terhadap insulin atau disebut dengan resistensi insulin. Insulin merupakan hormon yang berfungsi untuk menurunkan konsentrasi gula darah dengan cara menghambat produksi glukosa hepatic dan menstimulasi ambilan serta metabolisme glukosa oleh otot dan jaringan adiposa (Manurung, 2011).

Umumnya DM tipe 1 terjadi karena kerusakan sel-sel β pulau Langerhans akibat reaksi otoimun secara selektif. Destruksi otoimun pada sel-sel β pulau Langerhans kelenjar pankreas secara langsung menyebabkan defisiensi insulin. Defisiensi insulin inilah yang menjadi penyebab atas adanya gangguan metabolisme diabetes melitus tipe 1.

Patofisiologis DM tipe 2 disebabkan karena sel-sel sasaran insulin tidak mampu merespon insulin secara normal, keadaan ini disebut sebagai resistensi insulin. Penderita DM tipe 2 tidak mengalami kerusakan pada sel-sel β Langerhans secara otoimun sebagaimana DM tipe 1, sehingga penanganannya tidak diperlukan terapi insulin. Tetapi pada kondisi tertentu penderita DM tipe 2 membutuhkan terapi insulin. Hal tersebut dikarenakan sel-sel β pulau Langerhans pankreas dalam mensekresi insulin terjadi dalam 2 fase. Fase 1 terjadi segera setelah pemberian rangasangan glukosa yang ditandai dengan meningkatnya kadar gula darah, sedangkan fase 2 terjadi setelah 20 menit pemberian rangasangan. Tahap awal terjadinya DM tipe 2 yaitu terdapat gangguan sekresi insulin pada

fase 1 yang artinya sekresi insulin gagal dalam mengkompensasi resistensi insulin. Penanganan yang kurang baik pada tahap awal DM tipe 2 berdampak pada kerusakan sel-sel β pulau Langerhans sehingga penderita mengalami defisiensi insulin yang akhirnya harus mendapatkan terapi insulin (Anonim, 2005).

2.1 Diabetes Melitus tipe I. DM tipe 1 diperantarai oleh degenerasi sel β Langerhans pankreas akibat infeksi virus, pemberian senyawa toksin, diabetogenik (streptozotosin, aloksan), atau secara genetik (*wolfram syndrome*) yang mengakibatkan produksi insulin sangat rendah atau berhenti sama sekali. Hal tersebut mengakibatkan penurunan pemasukan glukosa dalam otot dan jaringan adiposa. Secara patofisiologi, penyakit DM ini terjadi lambat dan membutuhkan waktu bertahun-tahun, biasanya terjadi sejak anak-anak atau awal remaja. Penurunan berat badan merupakan ciri khas penderita DM 1 yang tidak terkontrol. Gejala yang sering mengiringi DM tipe 1 yaitu poliuria, polidipsia, dan polifagia. Peningkatan volume urin yang terjadi disebabkan oleh diuresis osmotik (akibat peningkatan kadar glukosa darah atau hiperglikemik) dan benda-benda keton dalam urin. Lebih lanjut, diuresis osmotik tersebut akan mengakibatkan kondisis dehidrasi, kelaparan dan shock. Gejala haus dan lapar merupakan akibat dari kehilangan cairan dan ketidakmampuan tubuh menggunakan nutrisi.

Pada DM tipe 1, kadar glukosa darah sangat tinggi, tetapi tubuh tidak dapat memanfaatkannya secara optimal untuk membentuk energi. Oleh karena itu, energi diperoleh melalui peningkatan katabolisme protein dan lemak. Seiring dengan kondisi tersebut, terjadi rangsangan lipolisis (proses pemecahan lemak)

serta peningkatan kadar asam lemak bebas dan gliserol darah. Dalam hal ini terjadi peningkatan produksi asetil Ko-A oleh hati, yang pada gilirannya diubah menjadi asetoasetat dan pada akhirnya direduksi menjadi asam β -hidroksibutirat atau mengalami dekarboksilasi menjadi aseton. Pada kondisi normal, konsentrasi benda-benda keton relatif rendah karena insulin dapat menstimulasi sintesis asam lemak dan menghambat lipolisis. Hanya dibutuhkan kadar insulin yang kecil untuk menghambat lipolisis (Rahardjo, 2009).

2.2 Diabetes Melitus tipe II. Pada kondisi DM tipe II, insulin masih cukup untuk mencegah terjadinya benda-benda keton sehingga jarang dijumpai ketosis. Namun demikian, koma hiperosmolar non-ketotik dapat terjadi. DM tipe II tersebut cenderung terjadi pada individu usia lanjut dan biasanya didahului oleh keadaan sakit atau stres yang membutuhkan kadar insulin tinggi. Pada DM tipe II, kehadiran insulin tidak cukup untuk mencegah glukosuria. Seiring dengan itu, terjadi kehilangan cairan dan elektrolit tubuh yang diikuti dengan dehidrasi berat. Lebih lanjut, terjadi penurunan ekskresi glukosa dan pada akhirnya menghasilkan peningkatan osmolaritas serum (hiperosmolaritas) dan glukosa darah (hiperglikemik) (Rahardjo, 2009).

Secara patofisiologi, DM tipe II disebabkan karena dua hal yaitu, (1) penurunan respon jaringan perifer terhadap insulin, peristiwa tersebut dinamakan resistensi insulin, dan (2) penurunan kemampuan sel β pankreas untuk mensekresi insulin sebagai respon terhadap beban glukosa. Sebagian besar DM tipe II diawali dengan kegemukan karena kelebihan makan. Sebagai kompensasi, sel β pankreas merespon dengan mensekresi insulin lebih banyak sehingga kadar

insulin meningkat (hiperinsulinemia). Konsentrasi insulin yang tinggi mengakibatkan reseptor insulin berupaya melakukan pengaturan sendiri (*self regulation*) dengan menurunkan jumlah reseptor atau *down regulation*. Hal ini membawa dampak pada penurunan respon reseptornya dan lebih lanjut mengakibatkan terjadinya resistensi insulin. Di lain pihak, kondisi hiperinsulinemia juga dapat mengakibatkan desensitisasi reseptor insulin pada tahap postreseptor, yaitu penurunan aktivasi kinase reseptor, translokasi *glukose transporter* dan aktivasi *glycogen synthase*. Kejadian ini mengakibatkan terjadinya resistensi insulin. Dua kejadian tersebut terjadi pada permulaan proses terjadinya DM tipe II.

Secara patologis, pada permulaan DM tipe II terjadi peningkatan kadar glukosa plasma dibanding normal, namun masih diiringi dengan sekresi insulin yang berlebihan (hiperinsulinemia). Hal tersebut mengindikasikan telah terjadi efek pada reseptor maupun postreseptor insulin. Pada resistensi insulin, terjadi peningkatan produksi glukosa dan penurunan penggunaan glukosa sehingga mengakibatkan peningkatan kadar gula darah (hiperglikemik). Seiring dengan kejadian tersebut, sel β pankreas mengalami adaptasi diri sehingga respon untuk mensekresi insulin menjadi kurang sensitif, dan pada akhirnya membawa akibat pada defisiensi insulin. Sedangkan pada DM tipe II akhir telah terjadi penurunan kadar insulin plasma akibat penurunan kemampuan sel β pankreas untuk mensekresi insulin, dan diiringi dengan peningkatan kadar glukosa plasma dibandingkan normal. Pada penderita DM tipe II, pemberian obat-obatan oral antidiabetes sulfonilurea masih dapat merangsang kemampuan sel β pankreas

untuk mensekresi insulin agar mencapai kadar glukosa darah yang normal (Rahardjo, 2009).

2.3 Diabetes Gestational (Diabetes pada Kehamilan). Pada wanita hamil dengan penyakit gula regulasi glukosa yang ketat adalah penting sekali untuk menurunkan resiko akan keguguran spontan, cacat pada janin, dan *overweight* bayi atau kematian perinatal (Rubenstein, 2007). DM gestational ini menyulitkan kira-kira 7% dari semua kehamilan. Penemuan klinik sangat penting sebagai terapi yang mengurangi jumlah kesakitan dan jumlah kematian bayi baru lahir (Dipiro *et al.*, 2008).

2.4 Diabetes Melitus Tipe Lain. Diabetes melitus tipe ini meliputi beberapa penyakit seperti defek genetik, fungsi sel β , defek genetik kerja insulin, penyakit eksokrin pankreas, endokrinopati, karena obat atau zat kimia, infeksi, sebab-sebab imunologi yang jarang dan sindroma genetik lain yang berkaitan dengan DM (Suyono, 2005).

3. Diagnosis Diabetes Melitus

Diagnosis DM awalnya dengan adanya gejala yang khas berupa *polifagia*, *poliuria*, *olidipsia*, lemas dan berat badan menurun. Gejala lain yang mungkin dikeluhkan pasien adalah kesemutan, gatal, mata kabur, dan impotensi pada pria, serta pruritus vulva pada wanita (Mansjoer, 2001). Keluhan dan gejala yang khas ditambah hasil pemeriksaan glukosa darah sewaktu >200 mg/dL atau glukosa darah puasa ≥ 126 mg/dL sudah cukup untuk menegakkan diagnosis DM. Bila hasil pemeriksaan glukosa darah meragukan, pemeriksaan TTGO (Tes Toleransi Glukosa Oral) diperlukan untuk memastikan diagnosis DM. Untuk mendiagnosis

DM dan gangguan toleransi glukosa lainnya perlu dilakukan pemeriksaan glukosa darah 2 jam setelah diberi beban glukosa. Sekurang-kurangnya diperlukan kadar glukosa darah 2 kali abnormal untuk konfirmasi diagnosis DM pada hari yang lain atau TTGO yang abnormal. Konfirmasi tidak diperlukan pada keadaan khas hiperglikemia dengan dekomposisi metabolik akut seperti ketoasidosis dan berat badan yang menurun cepat (Mansjoer, 2001).

4. Manifestasi Klinis DM

DM dikaitkan dengan konsekuensi metabolik defisiensi insulin. Pasien dengan defisiensi insulin mempertahankan kadar glukosa plasma puasa yang normal atau setelah makan karbohidrat. Hiperglikeminya berat dan melebihi ambang ginjal akan menimbulkan glikosuria. Glikosuria akan mengakibatkan diuresis osmotik yang menyebabkan pengeluaran urin (poliuria) dan menimbulkan rasa haus (polidipsia). Karena glukosa darah hilang bersama dengan urin maka pasien akan mengalami keseimbangan kalori negatif dan berat badan yang berkurang. Rasa lapar yang semakin besar (polifagia) mungkin karena timbul sebagai akibat kehilangan kalori. Pasien biasanya akan mengeluh lelah dan mengantuk (Scheingart, 2006 dalam Wardhana, 2010).

5. Komplikasi Diabetes Melitus

Penyakit DM atau keadaan kadar gula darah yang tinggi menyebabkan timbulnya berbagai komplikasi. Komplikasi pada DM dibagi menjadi dua yaitu komplikasi akut dan komplikasi kronis. Komplikasi akut meliputi ketoasidosis, diabetik, hiperosmolar non ketotik, dan hipoglikemia. Sedangkan yang termasuk komplikasi kronik adalah makrovaskuler dan mikrovaskuler. Komplikasi

makrovaskuler meliputi jantung koroner, serebrovaskuler, hipertensi, penyakit pembuluh darah tepi dan infeksi. Komplikasi mikrovaskuler yang meliputi retinopati diabetik, nefropati diabetik, ulkus kaki diabetik, dan juga neuropati diabetik yang berdampak terhadap fungsi pupil, fungsi kardiovaskuler, gastrointestinal dan genitourinari (Perkeni, 2011).

6. Pengelolaan Diabetes Melitus

Pengelolaan Diabetes Melitus mempunyai tujuan akhir untuk menurunkan morbiditas (kesakitan) dan mortalitas (kematian) yang secara spesifik ditujukan untuk mencapai dua target utama, yaitu menjaga agar kadar glukosa plasma berada dalam kisaran normal dan mencegah atau meminimalkan kemungkinan terjadinya komplikasi (Depkes, 2005)

Pengelolaan DM dimulai dengan pengaturan makan dan latihan jasmani selama 2-4 minggu. Apabila kadar glukosa darah belum mencapai sasaran, dilakukan intervensi farmakologi dengan obat diabetik oral atau suntikan insulin. Pada keadaan tertentu, obat dapat segera diberikan secara tunggal atau kombinasi sesuai indikasi. Sedangkan insulin dapat segera diberikan jika pasien dalam keadaan dekompensasi metabolik berat, misalnya ketoasidosis, stres berat, berat badan yang menurun dengan cepat, dan adanya ketonuria (Perkeni, 2011).

6.1 Terap non Farmakologi Diabetes Melitus

6.1.1 Diet. Pokok pangkal penanganan DM adalah makan dengan teratur. Semua pasien harus selalu memulai diet dengan pembatasan kalori, terutama pada pasien dengan *overweight* (DM tipe 2). Makanan perlu dipilih secara teratur

terutama pembatasan lemak total dan lemak jenuh untuk mencapai normalisasi kadar glukosa dan lemak darah (Tjay & Raharja, 2002).

6.1.2 Gerak Badan. Apabila terdapat resistensi insulin, maka dengan gerak badan secara teratur seperti jalan kaki, bersepeda dan olahraga perlu dilakukan. Hasilnya insulin dapat dipergunakan secara lebih baik oleh sel tubuh dan pada umumnya dosis obat dapat diturunkan (Tjay & Raharja, 2002).

6.1.3 Berhenti Merokok. Kandungan nikotin dalam rokok dapat mempengaruhi secara buruk penyerapan glukosa sel. Merokok perlu dihentikan agar pemburukan lebih lanjut dari arteriol terhambat (Tjay & Raharja, 2002).

6.2 Terapi farmakologi Diabetes Mellitus. Senyawa obat dapat menurunkan kadar glukosa darah dan diberikan secara oral disebut Oral Anti Diabetes (OAD). Obat-obat ini mempengaruhi metabolisme glukosa dengan merangsang sekresi insulin dan mungkin juga dengan mengurangi resistensi terhadap insulin. Indikasi obat-obat ini adalah penatalaksanaan penderita DM tipe 2 dan jenis lain (Corwin, 2009).

6.2.1 Golongan Sulfonilurea. Mekanisme aksi yang utama dari golongan sulfonilurea adalah meningkatkan sekresi insulin pada pankreas sehingga hanya efektif bila sel β pankreas masih dapat diproduksi. Peningkatan sekresi insulin dari pankreas bergerak melalui pembuluh darah portal dan secara terus-menerus menekan produksi glukosa pada hepar. Efek samping yang mungkin timbul dari sulfonilurea adalah hipoglikemia dan peningkatan berat badan (Dipiro *et al.*, 2008). Obat-obat golongan sulfonilurea meliputi klorproramid, glikazid,

glibenklamid, glipizid, glikuidon, glimepirid, dan tolbutamid (Sukandar *et al.*, 2008).

6.2.2 Golongan Biguanid. Obat golongan biguanid merupakan obat yang bekerja menghambat glukoneogenesis dan meningkatkan penggunaan glukosa di jaringan. Berbeda dengan obat sulfonilurea, biguanid tidak mempunyai efek langsung pada sekresi insulin dan tidak menyebabkan hipoglikemia. Pada penderita diabetes yang obesitas, pemberian obat golongan biguanid dapat juga menurunkan berat badan. Efek samping yang timbul antara lain gangguan saluran pencernaan, mual, muntah, kembung, sering kentut, diare, dan tidak nafsu makan (Dalimartha, 2008). Contoh obat golongan biguanid adalah metformin hidroklorida (Sukandar *et al.*, 2008).

6.2.3 Golongan Meglitinid. Obat golongan meglitinid bekerja dengan memodulasi pelepasan insulin dari sel β pankreas dengan mengatur refluks kalium melalui kanal kalium. Terdapat tumpang tindih cara kerja molekularnya dengan sulfonilurea. Contoh obat golongan meglitinid adalah Repaglanid. Repaglanid memiliki onset kerja yang cepat dengan konsentrasi dan efek puncak dalam waktu satu jam setelah ditelan, namun cara kerjanya 5-8 jam. Karena onsetnya cepat, penggunaan diindikasikan untuk mengendalikan lonjakan kadar glukosa setelah makan (Katzung, 2010).

6.2.4 Golongan Tiazolidindion. Golongan ini bekerja dengan meningkatkan sensitivitas insulin pada otot dan jaringan adiposa dan menghambat glukoneogenesis hepatic (Sukandar *et al.*, 2008) sehingga tempat kerja utama tiazolidindion adalah pada jaringan adiposa dimana obat ini meningkatkan

ambilan dan pemakaian glukosa serta memodulasi sintesis hormon lipid atau sitokin dan protein lain yang terlibat dalam pengaturan energi (Katzung, 2010). Contoh obat-obat yang termasuk golongan tiozolidindion meliputi pioglitazon dan rosiglitazon (Sukandar *et al*, 2008).

6.2.5 Golongan Inhibitor α -glukosidase. Golongan ini bekerja dengan menghambat α -glukosidase sehingga mencegah penguraian sukrosa dan karbohidrat kompleks dalam usus halus. Dengan demikian, agen ini akan memperlambat dan menghambat penyerapan karbohidrat. Inhibitor α -glukosidase umumnya digunakan dalam kombinasi dengan senyawa antidiabetik oral lain dan atau insulin. Inhibitor α -glukosidase tidak mengakibatkan hipoglikemia, tetapi dapat menyebabkan malabsorpsi terkait dosis, sering kentut, diare, dan perut kembung (Goodman & Gilman, 2008). Contoh obat golongan ini adalah akarbose dan miglitol (Sukandar *et al.*, 2008).

6.2.6 Insulin. Insulin menurunkan kadar glukosa dalam darah dengan menstimulasi pengambilan glukosa perifer dan menghambat produksi glukosa hepatic (Sukandar *et al.*, 2008). Insulin disintesa oleh sel β pankreas. Kontrol utama atas sekresi insulin adalah sistem umpan balik negatif langsung antara sel β pankreas dengan konsentrasi glukosa dalam darah. Peningkatan kadar glukosa dalam darah seperti yang terjadi setelah penyerapan makanan secara langsung akan merangsang sintesis dan merangsang pengeluaran insulin oleh sel β Langerhans pankreas. Efek hormon insulin secara keseluruhan adalah mendorong penyimpanan energi dan meningkatkan pemakaian glukosa di dalam tubuh (Sacher dan Mc Pherson, 2004).

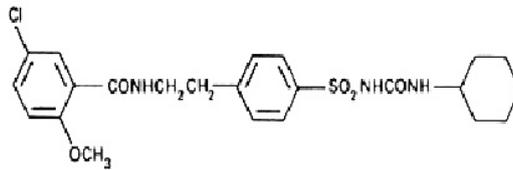
7. Gejala Diabetes Melitus

Gejala diabetes melitus dapat digolongkan menjadi gejala akut dan gejala kronik (Parkeni, 2011).

7.1 Gejala Akut Penyakit Diabetes Melitus. Permulaan gejala yang ditunjukkan oleh penderita DM meliputi serba banyak (poli) yaitu banyak makan (polifagia), banyak minum (polidipsia), dan banyak kencing (poliuria). Gejala utama penderita diabetes yaitu poliuria (peningkatan pengeluaran urine) karena air mengikuti glukosa yang keluar melalui urine (Corwin, 2009). Keadaan tersebut jika tidak segera diobati maka akan timbul gejala lain seperti banyak minum, banyak kencing, nafsu makan mulai berkurang atau berat badan turun dengan cepat (turun 5-10 kg dalam waktu 2-4 minggu), mudah lelah dan apabila tidak lekas diobati akan timbul rasa mual, bahkan penderita akan jatuh koma yang disebut koma diabetik (Perkeni, 2011).

7.2 Gejala Kronik Diabetes Melitus. Gejala kronik yang sering dialami oleh penderita DM adalah kesemutan, kulit terasa panas, seperti tertusuk-tusuk jarum, rasa tebal di kulit, kram, capai, mudah mengantuk, mata kabur, biasanya sering gantiacamata, gatal sekitar kemaluan terutama wanita, gigi mudah goyah atau mudah lepas, kemampuan seksual menurun, bahkan impotensi dan para ibu hamil sering mengalami keguguran atau kematian janin dalam kandungan, atau dengan bayi berat lahir lebih dari 4 kg (Soegondo, 2007).

E. Glibenklamid



Gambar 2. Struktur kimia Glibenklamid (Anonim, 1995)

Glibenklamid merupakan obat golongan sulfonilurea yang bekerja meningkatkan sekresi insulin pada pankreas sehingga efektif bila sel β pankreas masih dapat memproduksi (Sukandar *et al.*, 2008). Glibenklamid mempunyai sifat kelarutan yang praktis tidak larut dalam air dan eter, sukar larut dalam etanol dan metanol, larut sebagian dalam kloroform. Glibenklamid diindikasikan pada pengobatan DM tipe onset maturitas stabil yang tidak terkomplikasi ringan atau parah dan tidak dapat diobati hanya dengan diet saja. Glibenklamid mempunyai sifat kontra indikasi dengan hipersensitif, penderita diabetes dengan komplikasi ketoasidosis, koma diabetik, demam, atau fungsi ginjal yang tidak sempurna (Anonim, 2008). Glibenklamid mempunyai dosis dimulai dari dosis yang paling rendah yaitu 2,5 mg diberikan pada pagi hari, dengan pemanataan profil mingguan glukosa serum maksimal adalah 2x sehari 10 mg (Tjay & Rahaja, 2002).

Glibenklamid mempunyai mekanisme kerja merangsang sekresi insulin dari pankreas, menghambat *ATP sensitive potassium channel* di sel β pankreas sehingga membantu untuk mengurangi jumlah gula dalam darah seseorang, mengurangi kadar glukogen dalam serum dan meningkatkan pengikatan insulin pada jaringan target dan reseptor (Mycek *et al.*, 2001). Glibenklamid mempunyai

efek samping gangguan saluran cerna berupa mual, diare, sakit perut, hipersekresi asam lambung, dan efek samping di daerah jantung, gejala di susunan saraf pusat berupa vertigo, bingung, ataksia, gejala hematologi berupa leukopenia dan agranulositosis, gejala hipertiroidisme dan gejala ikterus obstruktif. Hipoglikemia dapat terjadi bila dosis tidak tepat, tidak cukup makan dan terjadi gangguan hati atau ginjal (Sukandar *et al.*, 2008).

F. Metode Uji

1. Uji Efek Antidiabetes.

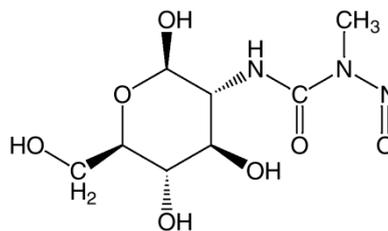
Keadaan DM dapat diinduksi dengan cara pankreatomi dan juga secara kimia. Zat-zat yang dapat digunakan untuk induktor (diabetogen) adalah aloksan, glukogen, insulin, Na₂EDTA, streptozotocin yang pada umumnya diberikan secara parenteral

1.1 Metode Uji Toleransi Glukosa. Prinsip metode ini adalah hewan uji yang telah dipuasakan selama 16 jam, diberikan larutan glukosa per oral, setengah jam setelah pemberian sediaan uji. Pada awal percobaan sebelum pemberian sediaan uji, dilakukan pengambilan cuplikan darah vena telinga dari masing-masing hewan uji sejumlah 0,5ml sebagai kadar glukosa awal. Pengambilan cuplikan darah vena diulangi setelah perlakuan pada waktu tertentu misalnya pada menit ke 30, 60, 90, 120 (Anonim, 1993).

Pada penderita diabetes melitus terjadi penumpukan glukosa dalam aliran darah, terutama terjadi setelah makan. Bila beban glukosa diberikan pada seseorang penderita diabetes melitus maka glukosa plasma akan meningkat lebih

tinggi dan kembali ke nilai normal lebih lambat dari pada yang terjadi pada orang normal. Respons terhadap dosis uji glukosa oral standar, uji toleransi glukosa, digunakan secara klinis untuk mendiagnosa diabetes melitus (Ganong, 2002).

1.2 Metode Uji Streptozotocin. Metode ini dilakukan dengan cara menginduksi melalui intra vena.



Gambar 3. Struktur kimia Streptozotocin.

Streptozotocin (STZ) atau *2-deoksi-2-[3(metil-3-nitrosourido)-D-glukopiranoze]* diperoleh dari *Streptomyces achromogenes* dapat digunakan untuk menginduksi baik DM tipe 1 maupun tipe II pada hewan uji. Dosis yang digunakan untuk menginduksi DM tipe 1 intravena adalah 40-60mg/kg, sedangkan dosis intraperitoneal adalah lebih dari 40 mg/kg BB. STZ juga dapat diberikan secara berulang, untuk menginduksi DM tipe 1 yang diperantarai aktivasi sistem imun. Untuk menginduksi DM tipe II, STZ diberikan secara intravena atau intraperitoneal dengan dosis 100mg/kgBB pada tikus yang berumur 2 hari kelahiran, pada 8-10 minggu tikus tersebut mengalami gangguan respon terhadap glukosa dan sensitivitas sel β terhadap glukosa. Di lain pihak, sel α dan δ tidak dipengaruhi secara signifikan oleh pemberian streptozotocin pada neonatal tersebut sehingga tidak membawa dampak terhadap perubahan glukagon dan somatostatin. Patofisiologi tersebut identik dengan diabetes melitus (DM) tipe II (Szkudelski, 2001; Jackerott *et al.*, 2006; Tormo *et al.*, 2006).

Streptozotosin menembus sel β Langerhans melalui transporter glukosa GLUT 2. Aksi STZ intraseluler menghasilkan perubahan DNA sel β pankreas. Alkilasi DNA oleh STZ melalui gugus nitrosourea mengakibatkan kerusakan pada sel β pankreas. STZ merupakan donor NO (*nitric oxide*) yang mempunyai kontribusi terhadap kerusakan sel tersebut melalui peningkatan aktivitas guanilil siklase dan pembentukan cGMP. NO dihasilkan sewaktu STZ mengalami metabolisme dalam sel. Selain itu, STZ juga mampu membangkitkan oksigen reaktif yang mempunyai peran tinggi dalam kerusakan sel β pankreas. Pembentukan anion superoksida karena aksi STZ dalam mitokondria dan peningkatan aktivitas xantin oksidase. Dalam hal ini, STZ menghambat siklus Krebs dan menurunkan konsumsi oksigen mitokondria. Produksi ATP pada mitokondria yang terbatas selanjutnya akan mengakibatkan pengurangan secara drastis nukleotida sel β pankreas (Szkudelski, 2001).

Peningkatan defosforilasi ATP akan memacu peningkatan substrat untuk enzim xantin oksidase (sel β pankreas mempunyai aktivitas tinggi terhadap enzim ini), lebih lanjut meningkatkan produksi asam urat. Xantin oksidase mengkatalis reaksi pembentukan anion superoksida aktif. Dari pembangkitan anion superoksida, terbentuk hidrogen peroksida dan radikal superoksida. NO dan oksigen aktif tersebut adalah penyebab utama kerusakan sel β pankreas. Kerusakan DNA akibat STZ dapat mengaktifasi poli ADP-ribosilasi yang kemudian mengakibatkan penekanan NAD^+ seluler, selanjutnya penurunan jumlah ATP, dan akhirnya terjadi penghambatan sekresi dan sintesis insulin. Selain itu, kalsium berlebih mempunyai kemungkinan dapat menginduksi

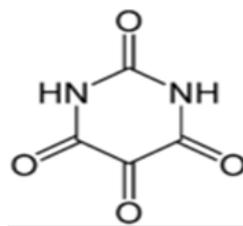
nekrosis, tidak mempunyai peran yang signifikan pada nekrosis yang diinduksi STZ (Szkudelski, 2001).

1.3 Metode Uji Resistensi Insulin. Prinsip dari metode ini yaitu induksi diabetes dilakukan pada hewan uji yang diinduksi obesitas dengan pemberian pakan kaya lemak dan karbohidrat serta asupan glukosa tinggi yang dilakukan sampai terjadi peningkatan kadar glukosa darah, yang dapat terjadi dalam waktu 4 minggu setelah pemberian pakan tersebut. Pada kondisi demikian diasumsikan hewan uji sudah mengalami resistensi insulin. Pemeriksaan untuk melihat sensitivitas larutan insulin diinjeksi secara intraperitonium dengan dosis 0,75 U/kg berat badan (Lian *et al.*, 2007). Kadar glukosa dalam darah dipantau setiap 15-30 menit selama 60-90 menit setelah insulin diinjeksikan dengan menggunakan glukometer (Ayala *et al.*, 2010).

1.4 Metode Uji Na₂EDTA. *Ethylendiaminetetracetic acid* (EDTA) pada awalnya dibuat untuk mengikat ion Ca dan Mg. Senyawa EDTA tidak terlalu bisa larut, nama garamnya (Na₂EDTA) jauh lebih mudah larut dalam air maupun garam *saline*. Bila diberikan pada binatang, maka garam ini dengan cepat membentuk persenyawaan kalsium dengan ion Ca yang berada di dalam serum. Hal ini menyebabkan terjadinya penurunan yang cepat dari jumlah ion Ca bebas yang ada dalam serum (*extra-celuler*). Bila Na₂EDTA diberikan secara intravena terlalu cepat, maka akan terjadi persenyawaan yang cepat dengan ion Ca dalam serum. Ca dalam serum bisa habis dengan cepat. Pengangkatan senyawa Na₂EDTA dalam mengikat ion Mg yang berfungsi untuk mempertahankan seluruh struktur selubung sel, sehingga pemberian Na₂EDTA dengan dosis toksik

(40-100mg/kgBB) dapat membuat membran sel mudah rusak (lisis). Fase awal terjadinya hiperglikemik yang diinduksi Na₂EDTA terlihat setelah 2 jam, diikuti dengan fase normoglikemik setelah 8 jam dan menimbulkan hiperglikemik permanen yang kedua setelah 24-72 jam (Anonim, 1993).

1.5 Metode Uji Induksi Aloksan. Metode ini dilakukan dengan cara menginduksi hewan uji dengan diabetogen aloksan. Prinsip metode ini adalah pemberian suntikan aloksan monohidrat yang dilakukan secara intraperitoneal yaitu penyuntikan pada ekor tikus dan perkembangan hiperglikemik diperiksa setiap hari. Dosis aloksan yang digunakan adalah 100mg/kgBB mencit (Studiawan *et al.*, 2005).



Gambar 4. Struktur kimia aloksan (Nugroho, 2006).

Aloksan (*2,4,5,6-tetraoksopirimidin; 5,6-dioksiurasil*) merupakan senyawa hidrofilik dan tidak stabil. Waktu paruh pada suhu 37°C dan pH netral adalah 1,5 menit dan bisa lebih lama pada suhu yang lebih rendah. Sebagai diabetogenik, aloksan dapat digunakan secara intravena, intraperitoneal, dan subkutan. Dosis intravena yang biasa digunakan adalah 65mg/kgBB, sedangkan intraperitoneal dan subkutan adalah 2-3 kalinya (Szkudelsk, 2001; Rees dan Alcolado, 2005).

Aloksan secara tepat dapat mencapai pankreas, aksinya diawali oleh pengambilan yang cepat oleh sel β Langerhans. Pembentukan oksigen relatif, merupakan faktor utama pada kerusakan sel tersebut. Pembentukan oksigen

reaktif diawali dengan proses reduksi aloksan terhadap sel β Langerhans. Aloksan mempunyai aktivitas tinggi terhadap senyawa seluler yang mengandung gugus SH, glutation tereduksi (GSH), sistein dan senyawa sulfidril terikat protein (misalnya *SH-containing enzyme*). Hasil dari proses reduksi aloksan adalah asam dialurat, yang kemudian mengalami reoksidasi menjadi aloksan, menentukan siklus redoks untuk membangkitkan radikal superoksida. Reaksi antara aloksan dengan asam dialurat merupakan proses yang diperantarai oleh radikal aloksan intermediet (HA) dan pembentukan “compound 305”. Radikal superoksida dapat membebaskan ion ferri dari ferinitin, dan mereduksi menjadi ion ferro. Selain itu, ion ferri juga dapat direduksi oleh radikal aloksan. Radikal superoksida mengalami dismutasi menjadi hidrogen peroksida, berjalan dengan spontan dan kemungkinan dikatalis oleh superoksida dismutase. Salah satu target dari oksigen reaktif adalah DNA pulau Langerhans pankreas. Kerusakan DNA tersebut menstimulasi *poly ADP-ribosylation*, proses yang terlibat pada DNA *repair*. Adanya ion ferro dan hidrogen peroksida membentuk radikal hidroksi reaktif melalui reaksi fenton (Szkudelski, 2001; Walde *et al.*, 2002).

Faktor lain selain pembentukan oksigen reaktif adalah gangguan pada homeostatis kalsium intaseluler. Aloksan dapat meningkatkan konsentrasi ion kalsium bebas sitosolik pada sel β Langerhans pankreas. Efek tersebut diikuti oleh beberapa kejadian: influks kalsium dari cairan ekstraseluler, mobilisasi kalsium dari simpanannya secara berlebihan, dan eliminasinya yang terbatas dari sitoplasma. Influks aloksan tersebut mengakibatkan depolarisasi sel β pankreas, lebih lanjut membuka kanal kalsium tergantung voltase dan semakin menambah

masuknya ion kalsium ke sel. Pada kondisi tersebut, konsentrasi insulin meningkat sangat cepat, dan secara signifikan mengakibatkan gangguan pada sensitivitas insulin perifer dalam waktu singkat. Selain kedua faktor tersebut di atas, aloksan juga diduga dapat berperan dalam penghambatan glukokinase dalam proses metabolisme energi yang terjadi (Szkudelski, 2001; Walde *et al.*, 2002). Penelitian lain secara *in vitro* mengatakan mekanisme kerja aloksan menginduksi pengeluaran ion kalsium dari mitokondria sehingga mengakibatkan gangguan homeostatis yang merupakan awal matinya sel (Suharmiati, 2003).

2. Metode Analisa Kadar Glukosa Darah

2.1 Glukometer. Metode ini banyak digunakan karena cepat dan mudah dilakukan. Mekanisme kerja glukometer yaitu sampel darah akan masuk ke dalam test strip melalui aksi kapiler. Glukosa yang ada dalam akan bereaksi dengan glukosa oksidase dan kalium ferisianida yang ada dalam strip dan akan dihasilkan ferisianida. Kalium ferisianida yang dihasilkan sebanding dengan konsentrasi glukosa yang ada dalam sampel darah. Oksidasi kalium ferisianida akan menghasilkan muatan listrik yang akan diubah oleh glukometer untuk ditampilkan sebagai konsentrasi glukosa pada layar.

Glukometer secara otomatis akan menyala ketika strip dimasukkan dan mati ketika strip dicabut. Dengan menyentuhkan setetes darah ke strip, reaksi dari wadah strip akan otomatis menyerap darah ke dalam strip melalui aksi kapiler. Ketika wadah terisi penuh oleh darah, alat akan mulai mengukur kadar glukosa darah. Hasil pengukuran yang diperoleh selama 10 detik (Raja, 2008).

2.2 Metode GLUC-DH (*Glukose dehidrogenase*). GLUC-DH adalah sebuah metode rutin enzimatik yang dibedakan dari yang lain oleh kespesifikannya yang tinggi, kepraktisan, dan keluwesannya. Pengukuran dilakukan dengan spektrofotometri UV-Vis daerah 546nm. Prinsip metode ini adalah glukosa dehidrogenase mengkatalisa oksidasi dari glukosa menurut persamaan berikut:



Metode ini dapat digunakan pada bahan sampel yang dideproteinisasi maupun yang tidak dideproteinisasi (Mulyani, 2014).

2.3 Metode GOD-PAP. Merupakan reaksi kalorimetri-enzimatik untuk pengukuran pada daerah cahaya yang terlihat oleh mata. Penentuan glukosa dengan GOD-PAP dapat digunakan sebagai beban sampel dengan atau tanpa deprotenisasi. Glukosa oksidase (GOD) mengkatalisa oksidasi dari glukosa menurut persamaan berikut:



Hidrogen peroksida yang terbentuk bereaksi dengan *4-amminoantipyrine* dan *2,4-diclorophenol* dengan adanya peroksidase (POD) dan menghasilkan *antipyryliquinonimine*, yakni suatu zat warna merah, jumlah zat warna yang terbentuk sebanding dengan kadar glukosa darah (Mulyani, 2014).

2.4 Metode O-Toluidin. Penentuan kadar glukosa darah dengan O-Toluidin dapat digunakan untuk bahan sampel yang dideproteinisasi maupun yang tidak dideproteinisasi. Glukosa bereaksi dengan O-Toluidin dalam asam

asetat panas dan menghasilkan senyawa berwarna hijau yang dapat ditentukan secara fotometris (Mulyani, 2014).

G. Hewan Uji

1. Sistematika Mencit

Sistematika mencit menurut Akbar (2010) adalah sebagai berikut:

Filum	: Chordata
Sub Filum	: Vertebrata
Classis	: Mamalia
Sub Classis	: Plasentalia
Ordo	: Rodentia
Familia	: Muridae
Genus	: Mus
Spesies	: <i>Mus Musculus</i>

2. Karakteristik Mencit

Mencit (*Mus musculus*) termasuk golongan hewan pengerat, memiliki siklus perkembangbiakan yang cepat, mudah dalam pemeliharaan, variasi genetiknya cukup besar, dan memiliki karakteristik anatomi dan fisiologi yang baik.

Mencit (*Mus musculus*) yang sering digunakan dalam penelitian merupakan hasil perkawinan dari tikus putih *inbreed* maupun *outbreed*. Mencit (*Mus musculus*) memiliki bentuk tubuh yang kecil berwarna putih, berat mencit betina dewasa (*Mus musculus*) 18-35 gram, kelangsungan hidup dapat mencapai 3

tahun, masa reproduksi berlangsung 1,5 tahun. Ruang pemeliharaan mencit (*Mus musculus*) harus selalu dalam kondisi bersih, kering, dan bebas dari kebisingan.

Penggunaan mencit (*Mus musculus*) sebagai hewan percobaan memiliki beberapa pertimbangan diantaranya memiliki daur estrus yang teratur dan dapat dideteksi, periode kebuntingan yang singkat dengan jumlah anak yang banyak, dan pertumbuhannya memiliki keselarasan dengan manusia (Akbar, 2010).

Mencit yang digunakan berkelamin jantan karena memiliki kondisi biologis yang lebih stabil dan memiliki kecepatan metabolisme obat yang lebih cepat daripada mencit betina (Hikmah, 2016).

3. Teknik Memegang Mencit.

Mencit mempunyai ekor yang bermanfaat untuk memudahkan memegang mencit. Supaya mencit dapat dipegang dan tidak bergerak, mencit diletakkan pada permukaan kasar, kemudian lipatan kulit tengkuk dipegang diantara dua jari telunjuk dan ibu jari. Ekor mencit dipegang dengan jari kelingking tangan yang sama.

4. Cara Pemberian Obat

4.1 Pemberian secara oral yaitu dengan menggunakan jarum khusus, ukuran 20 dan panjang kira-kira 5 cm untuk memasukkan senyawa ke dalam lambung melalui esofagus. Jarum tersebut ujungnya ulat dan berlubang ke samping.

5. Pengambilan Darah Hewan Uji

Pengambilan darah dengan volume sedikit dapat dilakukan dengan memotong ujung ekor, namun cara ini tidak baik untuk pengambilan berulang.

Cara lain adalah dengan mengambilnya dari vena lateralis ekor dengan menggunakan jarum intradermal yang sangat kecil. Pengambilan darah dengan volume yang cukup banyak dilakukan melalui sinus orbitalis darah diambil dari medial canthus sinus orbitalis dan yang penting adalah posisi tabung kapiler harus benar-benar tepat. Kadar glukosa darah normal pada mencit mencit adalah normal yaitu ≥ 126 mg/dl untuk kadar glukosa darah puasa dan ≥ 200 mg/dl untuk kadar glukosa darah acak (*American Diabetes Association*, 2011).

H. Landasan Teori

Diabetes melitus yaitu penyakit metabolik dengan karakteristik hiperglikemia yang disebabkan kelainan sekresi insulin. Gejala DM yaitu *polifagia*, *poliuria*, *olidipsia*, lemas dan berat badan menurun. Gejala lain yang mungkin dikeluhkan pasien adalah kesemutan, gatal, mata kabur, dan impotensi pada pria, serta pruritus vulva pada wanita (Mansjoer, 2001). Menurut penelitian yang dilakukan oleh Prasetyo (2016) menunjukkan bahwa infusa daun insulin (*Tithonia diversifolia* (Hemsl.) A. Gray) dapat menurunkan kadar glukosa darah. Menurut Purba (2003), daun insulin mengandung flavonoid, saponin, dan tanin. Adanya flavonoid dapat menghindari absorpsi gula, menstimulasi pengambilan glukosa pada jaringan perifer, juga dapat bertindak seperti insulin dengan cara mempengaruhi mekanisme *insulin signaling*, saponin dapat menghambat absorpsi glukosa, tanin memiliki aktivitas hipoglikemik dengan meningkatkan glikogenesis.

Flavonoid merupakan salah satu kelompok senyawa fenolik yang banyak terdapat pada jaringan tanaman dapat berperan sebagai antioksidan. Aktivitas antioksidatif flavonoid bersumber pada kemampuan mendonasikan atom hidrogennya. Kandungan flavonoid diketahui dapat menurunkan kadar gula darah dengan cara menghambat enzim α -amilase (Tadera *et al.*, 2006). Enzim yang terlibat dalam pemecahan pati adalah enzim amilase dalam air liur.

Glukosa merupakan stimulus yang paling kuat untuk pelepasan insulin dari sel-sel β langerhans. Terdapat sekresi basal yang kontinu dengan lonjakan pada waktu makan. Saat glukosa darah meningkat, lebih banyak glukosa yang memasuki sel β dan metabolismenya menyebabkan peningkatan ATP intra selular yang menutup kanal ATP. Depolarisasi sel β diakibatkannya mengawali influks ion Ca^{2+} melalui kanal Ca^{2+} yang sensitif tegangan dan memicu pelepasan insulin.

Prinsip dari uji tes toleransi glukosa oral yaitu pada hewan uji yang telah dipuasakan selama \pm 16 jam diberikan larutan glukosa secara per oral setengah jam setelah pemberian sediaan obat yang diuji. Pada awal percobaan sebelum pemberian obat, dilakukan pengambilan cuplikan darah vena dari masing-masing hewan uji sebagai kadar glukosa awal. Pengambilan darah vena diulangi setelah perlakuan pada waktu tertentu.

I. Hipotesis

Berdasarkan uraian diatas, maka dapat disusun hipotesis dalam penelitian ini yaitu:

1. Ekstrak etanol 70% daun insulin (*Tithonia diversifolia* Gray) mempunyai efek antihiperglikemik terhadap mencit putih jantan (*Mus musculus*) dengan metode toleransi glukosa.
2. Ekstrak etanol 70% daun insulin (*Tithonia diversifolia* Gray) dengan dosis 21 mg/kg BB dapat memberikan efek antihiperglikemik paling efektif pada hewan uji mencit putih jantan (*Mus musculus*) dengan metode toleransi glukosa.

BAB III

METODE PENELITIAN

A. Populasi dan Sampel

Populasi adalah semua objek yang menjadi sasaran penelitian. Populasi yang digunakan dalam penelitian ini adalah daun insulin yang diperoleh dari daerah Sukoharjo, Jawa Tengah.

Sampel yang digunakan dalam penelitian ini adalah daun insulin yang masih segar dan berwarna hijau muda dan dipanen pada bulan November 2016 yang diperoleh dari daerah Sukoharjo, Jawa Tengah.

B. Variabel Penelitian

1. Identifikasi Variabel Utama

Variabel utama dalam penelitian ini adalah ekstrak daun insulin dari hasil maserasi dengan pelarut etanol 70% yang diuji daya antihiperqlikemik nya terhadap mencit putih jantan dengan metode toleransi glukosa.

2. Klasifikasi variabel utama

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

Variabel bebas adalah variabel yang sengaja diubah-ubah untuk dipelajari pengaruhnya terhadap variabel tergantung. Variabel bebas dalam penelitian ini adalah ekstrak etanol daun insulin dalam berbagai dosis.

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

Variabel kendali adalah variabel yang mempengaruhi variabel tergantung sehingga perlu dinetralisir atau ditetapkan kualifikasinya agar hasil yang didapatkan tidak tersebar dan dapat diulang oleh peneliti lain secara tepat.

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

3. Definisi Operasional Variabel utama.

Pertama, daun insulin adalah daun yang dipetik dalam kondisi masih segar yang diperoleh dari daerah Sukoharjo, Jawa Tengah.

Kedua, serbuk adalah simplisia kering dari daun insulin yang dihaluskan dengan menggunakan alat penyerbuk simplisia dan diayak dengan ayakan no 40.

Ketiga, ekstrak etanolik daun insulin adalah sediaan pekat cair yang diperoleh dengan cara maserasi serbuk daun insulin menggunakan pelarut etanol 70%, kemudian diuapkan di evaporator dan dilanjutkan dengan penangas air untuk mendapatkan ekstrak kental.

Keempat, glukosa (200 mg/20g BB) adalah bahan yang diberikan secara peroral untuk meningkatkan kadar gula darah pada mencit sehingga mencit mengalami kenaikan kadar gula darah.

Kelima, kadar glukosa darah adalah kadar glukosa yang diambil melalui vena lateralis ekor mencit putih jantan dan ditetapkan dengan alat glukometer.

C. Alat, Bahan dan Hewan Uji

1. Alat

Alat untuk maserasi antara lain: gelas ukur, corong kaca, gelas beaker, kain flanel, dan botol gelap. Alat yang digunakan untuk mengukur kadar glukosa darah adalah glukometer, *glucose strip test*, pipet mikro, kapiler, timbangan mencit, jarum suntik, neraca analitik, dan alat-alat gelas lainnya.

2. Bahan

2.1 Bahan sampel. Bahan sampel yang digunakan dalam penelitian ini adalah daun insulin yang masih segar dan menempel pada pohon yang diperoleh dari daerah Sukoharjo, Jawa Tengah.

2.2 Bahan Kimia. Bahan kimia yang digunakan untuk pembuatan ekstrak adalah etanol 70%. Bahan yang digunakan untuk membuat hewan uji memiliki kadar gula darah yang tinggi adalah glukosa. Bahan kimia yang digunakan sebagai kontrol negatif adalah *Carboksi Metil Cellulose* (CMC) 1% dan kontrol positif yang digunakan adalah glibenklamid. Bahan kimia yang digunakan sebagai identifikasi adalah serbuk Mg, HCL pekat 1 ml, amil alkohol, reagen Fehling A dan Fehling B, FeCl_3 1%.

3. Hewan Uji. Hewan uji dalam penelitian ini adalah mencit putih berjenis kelamin jantan dengan galur balb, usianya 2-3 bulan dengan berat badan 20-30 g.

D. Jalannya Penelitian

1. Determinasi Tanaman Insulin

Tahap pertama yang dilakukan dalam penelitian ini adalah melakukan determinasi tanaman insulin. Determinasi ini bertujuan untuk menetapkan kebenaran sampel yang digunakan dalam penelitian ini, selain determinasi harus diperhatikan pula ciri-ciri morfologi tanaman terhadap kepustakaan dan dibuktikan.

2. Persiapan Bahan Utama

Daun insulin yang digunakan dalam penelitian ini adalah daun insulin yang masih segar, bebas dari hama.

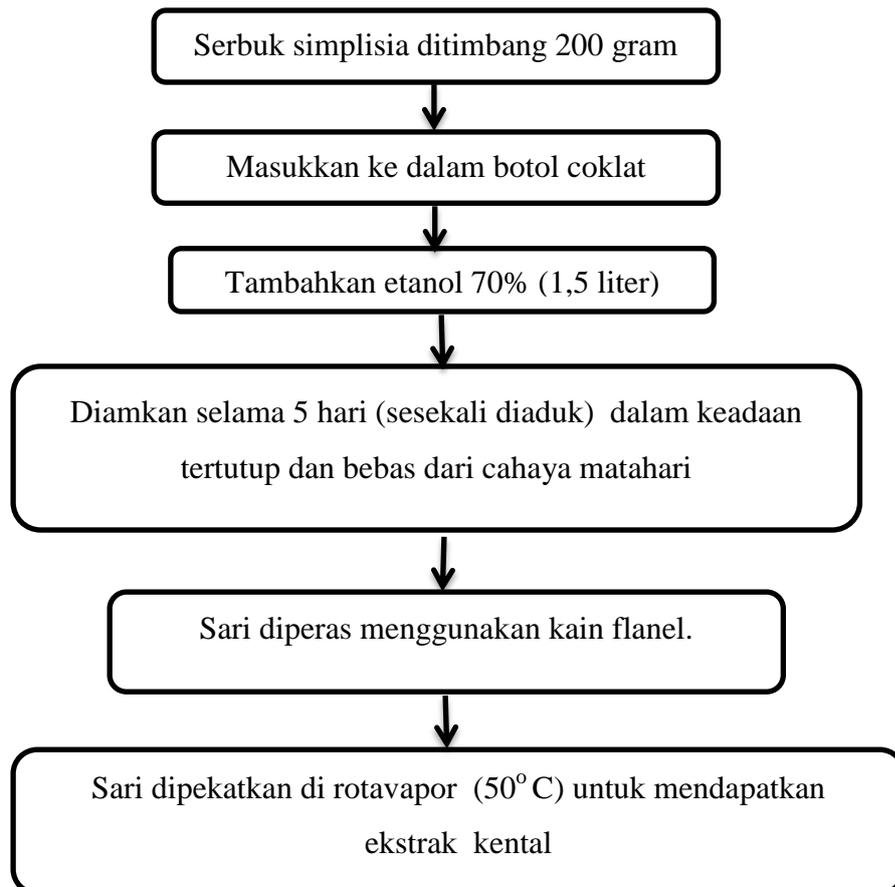
3. Pengeringan dan Pembuatan Serbuk Daun Insulin

Daun insulin yang diperoleh disortasi basah kemudian dicuci dengan air bersih menggunakan air mengalir atau bak bertingkat dan ditiriskan, hal ini bertujuan untuk menghilangkan kotoran yang melekat pada daun insulin. Daun insulin yang sudah dibersihkan kemudian dikeringkan dengan cara dijemur dibawah sinar matahari dan juga menggunakan oven pada suhu 40°C selama 24 jam. Pengeringan tersebut bertujuan untuk mengurangi kadar air sehingga mencegah terjadinya pembusukan oleh mikroorganisme yaitu bakteri, selain itu bahan yang telah dikeringkan, kemudian dikeringkan dengan menggunakan alat penghalus simplisia menjadi serbuk kemudian diayak dengan ayakan no 40.

4. Pembuatan Ekstrak Etanol Daun Insulin

Simplisia yang telah diserbuk ditimbang sebanyak 200 g, basahi serbuk dengan 1500 ml cairan penyari etanol 70% (setengah bagian dari bobot bahan)

dan maserasi. Botol ditutup dan didiamkan selama 5 hari dengan pengocokan berulang. Setelah 5 hari, sari yang diperoleh disaring menggunakan kain flanel. Sari daun insulin dipekatkan menggunakan *rotary evaporator* untuk memisahkan cairan penyari sehingga didapatkan ekstrak kental daun insulin.



Gambar 5. Skema pembuatan ekstrak daun insulin

5. Penetapan Kadar Lembab.

Penetapan kadar air serbuk daun insulin (*Tithonia diversifolia* Gray) dilakukan di Laboratorium Teknologi Farmasi dengan menggunakan alat *mouisture balance* yaitu dengan cara menimbang dengan seksama serbuk daun insulin sebanyak 2 gram menggunakan alat *mouisture balance*. Kemudian alat

ditutup sampa memberikan tanda atau bunyi, kemudian catat angka yang muncul pada alat *mouisture balance*.

6. Identifikasi Kandungan Kimia Ekstrak dan Serbuk Daun Insulin.

6.1 Identifikasi Saponin. Sebanyak 0,05 gram ekstrak dan serbuk daun insulin ditambah air 10ml, kemudian dididihkan selama beberapa menit. Larutan disaring dan filtratnya dikocok kuat-kuat. Timbulnya buih yang stabil selama 10 menit setelah dilakukan pengocokkan menunjukkan adanya kandungan saponin (Depkes, 1995).

6.2 Identifikasi Flavonoid. Sebanyak 0,05 gram ekstrak dan serbuk daun insulin ditambah dengan 10 ml air. Campuran kemudian dipanaskan selama 5 menit, disaring, dan diambil filtratnya. Filtrat ditambah 0,1 gram serbuk Mg, 1ml HCl pekat, dan 1ml amil alkohol. Campuran dikocok kuat-kuat. Uji positif flavonoid ditandai dengan munculnya warna merah, kuning, atau jingga pada lapisan amil alkohol (Depkes, 1978).

7. Pembuatan Larutan Uji

Larutan CMC 1% dibuat dengan cara serbuk CMC ditimbang 1 gram kemudian dilarutkan dalam aquadest panas 100ml dengan pengadukan. Larutan glukosa dengan konsentrasi 50% dibuat dengan cara menimbang glukosa sebanyak 5g kemudian dilarutkan dengan aquades sebanyak 100 ml.

8. Presentase Dosis

8.1 Dosis Glibenklamid. Dosis terapi glibenklamid untuk manusia dengan berat badan 70kg adalah 5mg. Faktor konversi manusia dengan berat badan 70 kg

ke mencit dengan berat badan 20 g adalah 0,026 maka dosis untuk mencit 20 mg adalah $0,0026 \times 5 \text{ mg} = 0,013 \text{ mg}$.

8.2 Dosis Ekstrak Etanol Daun Insulin. Penentuan dosis ekstrak daun insulin didasarkan pada dosis penelitian sebelumnya terhadap aktivitas antidiabetes ekstrak daun insulin yaitu 250 mg/ kg BB tikus, 500 mg/ kg BB tikus, dan 750 mg/ kg BB tikus. Dosis tersebut kemudian dikonversikan ke dalam dosis mencit menjadi 7 mg/ 20 g BB mencit; 14 mg/ 20 g BB mencit; dan 21 mg/ 20 g BB mencit.

9. Perlakuan Hewan Uji

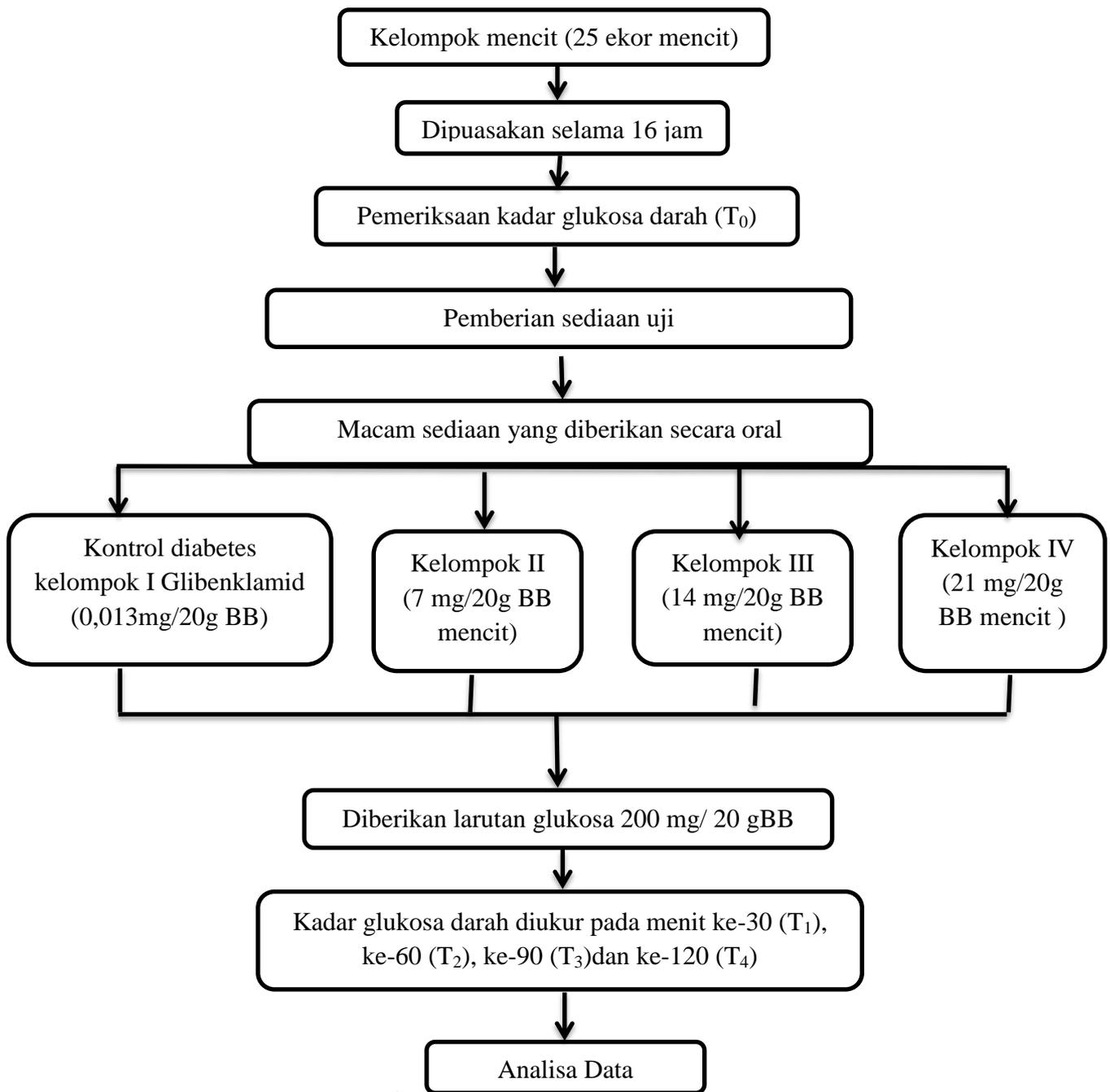
Hewan uji dalam penelitian ini adalah mencit putih berjenis kelamin jantan, usianya 2-3 bulan dengan berat badan 20-30 gram. Mencit ditimbang dan dibagi menjadi 5 kelompok, masing masing terdiri dari 5 ekor mencit yang sebelumnya sudah dipuasakan selama 16 jam.

Kelompok I, kontrol positif : glibenklamid (0,013 mg/ 20 g BB mencit)

Kelompok II, perlakuan : ekstrak etanol daun insulin 7 mg/20g BB mencit.

Kelompok III, perlakuan : ekstrak etanol daun insulin 14 mg/20g BB mencit.

Kelompok IV, perlakuan : ekstrak etanol daun insulin 21 mg/20g BB mencit.



Gambar 6. Skema uji antidiabetik

10. Prosedur Penelitian

Mencit yang telah ditimbang kemudian dikelompokkan, dipuasakan terlebih dahulu selama 16 jam. Kemudian dilakukan pengambilan darah awal sebelum mencit diberi perlakuan. Kemudian dilakukan pengukuran kadar gula darah awal (T_0). Kemudian masing-masing kelompok mencit diberi perlakuan glibenklamid (kontrol pembanding), ekstrak etanol daun insulin 7 mg/20g BB mencit, ekstrak etanol daun insulin 14 mg/20g BB mencit, ekstrak etanol daun insulin 21 mg/20g BB mencit secara oral. Setelah 30 menit kemudian berikan larutan glukosa secara per oral. Setelah pemberian larutan uji selanjutnya diukur kadar gula darah setelah perlakuan. Sampel darah diambil dari ekor mencit dengan cara menusukkan jarum pada bagian ekor hewan uji, kemudian darah diteteskan pada strip glukometer dan dimasukkan ke dalam glukometer untuk dibaca kadar glukosanya.

E. Analisa Data

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

Jika data yang dihasilkan terdistribusi normal, maka dilanjutkan dengan uji homogenitas varian untuk mengetahui ada tidaknya kesamaan varian. Varian data sama jika $p > 0,05$, sedangkan tidak sama jika $p < 0,05$. Jika data varian dinyatakan sama, berarti uji selanjutnya yang sudah dilakukan valid untuk menggunakan uji parametrik.

Tahap berikutnya dilakukan uji *one way anova* untuk mendapatkan informasi ada tidaknya perbedaan bermakna antar kelompok perlakuan. Bila $p < 0,05$ memiliki arti bahwa terdapat perbedaan bermakna antar kelompok, sedangkan jika $p > 0,05$ memiliki arti bahwa tidak terdapat perbedaan bermakna antar kelompok apapun. Apabila terdapat perbedaan bermakna maka dilakukan uji *Tukey post hoc test* untuk mengetahui sebenarnya kelompok-kelompok mana yang memiliki perbedaan.

BAB IV

HASIL DAN PEMBAHASAN

A. Hasil Penelitian

1. Determinasi Tanaman Insulin

Penelitian ini menggunakan daun insulin yang diperoleh di daerah Sukoharjo, Jawa Tengah pada bulan November 2016. Determinasi tanaman insulin dilakukan di Laboratorium Morfologi Sistematis Tumbuhan Universitas Setia Budi Surakarta. Determinasi ini bertujuan untuk mengetahui kebenaran tanaman yang akan digunakan sebagai objek penelitian dengan cara mencocokkan ciri-ciri tanaman yang tercantum dalam literatur. Tujuan lainnya yaitu untuk menghindari kesalahan dalam mengumpulkan bahan dan menghindari kemungkinan tercampurnya bahan dengan tanaman lain.

1.1 Hasil determinasi tanaman insulin. Hasil determinasi tanaman insulin menurut Steenis : FLORA (1978) adalah sebagai berikut:

1b – 2b – 3b – 4b – 6b – 7b -9b – 10b – 11b – 12b – 13b – 14a – 15a. golongan 8.
109b – 119b – 120b – 128b – 129b – 135b – 136b – 139b – 140b – 142b – 143b –
146b – 154a. familia 121. Compositae 1b – 12a – 13b – 15b – 16b – 18a. 17.
Thitonia. *Thitonia divesifolia* Gray.

1.2 Hasil deskripsi tanaman insulin. Tumbuhan insulin (*Tithonia diversifolia* Gray) merupakan tumbuhan perdu yang tegak, bertunas merayap dalam tanah dengan tinggi 1 – 3 m. Batang bulat dengan empelur putih, dekat pangkal setiap daun dengan 2 daun penumpu oval melintang. Daunnya tunggal, bertangkai, bangun bulat telur, berangsur runcing hingga pangkal, berlekuk 3 – 5

dangkal hingga dalam atau bercangap 3 – 5, bergerigi, berambut dan berkelenjar 1 putih, jarang, bentuk boal, 7,5 – 12,5 cm kali 5 – 7 cm, tajuk meruncing tajam. Bunga bongkol, kebanyakan terminal, berdiri sendiri, bertangkai panjang. Tangkai mendukung beberapa daun pelindung, puncaknya membesar dan berongga. Pembalut berbentuk lonceng. Dasar bunga bersama bentuk kerucut lebar, sisik jerami lk 1 cm panjangnya. Bunga tepi lk 13, mandul; tabung berambut rapat, pendek; helaian bentuk lanset, begigi 2 – 3, kuning keemasan. Bunga cakram sangat banyak, berkelamin 2, kuning. Tabung kepala sari coklat tua, cabang tangkai putik 2, melengkung kembali, kuning, dimahkotai dengan alat tambahan kuning, berambut.

2. Pengumpulan bahan baku dan pembuatan serbuk daun insulin

Tanaman insulin dalam penelitian ini diperoleh dari daerah Sukoharjo, Jawa Tengah. Daun insulin yang berwarna hijau muda dibersihkan dari kotoran dengan cara dicuci dengan air bersih kemudian dikeringkan dengan oven pada suhu $\pm 40^{\circ}\text{C}$ selama 3-4 hari sampai diperoleh daun kering. Pengeringan dimaksudkan untuk mengurangi kadar air sehingga mencegah timbulnya jamur yang dapat menyebabkan terjadinya perubahan kimia dan dapat menurunkan mutu dan khasiat daun insulin. Daun insulin yang telah dikeringkan dihaluskan dan dibuat serbuk dengan penyerbuk kemudian diayak dengan ayakan no 40 untuk memperoleh serbuk yang halus. Penentuan persentase bobot kering terhadap bobot basah dilakukan dengan cara menimbang daun insulin yang masih basah, kemudian hasilnya dibandingkan dengan bobot daun insulin yang sudah kering.

Hasil persentase bobot kering terhadap bobot basah daun insulin dapat dilihat dibawah ini.

Tabel 1. Hasil persentase bobot kering terhadap bobot basah daun insulin

No	Bobot basah (g)	Bobot kering (g)	Rendemen (%)
1	5.400	433	8,02

Daun insulin sebanyak 5400 gram dikeringkan dan didapatkan persentase bobot kering terhadap bobot basah adalah 8,02%. Hasil perhitungan bobot kering terhadap bobot basah dapat dilihat pada lampiran 6.

3. Pengukuran pemeriksaan persentase kadar lembab serbuk daun insulin.

Penetapan kadar lembab serbuk bunga kol dilakukan menggunakan alat ukur kadar kelembaban *Moisture Ballance*. Uji kadar lembab serbuk dimaksudkan untuk mengetahui kadar air yang terkandung didalam serbuk simplisia. Kadar kelembaban serbuk simplisia yang baik pada umumnya kurang dari 10%. Kadar kelembaban yang demikian dapat menghindarkan serbuk dari kerusakan ketika penyimpanan (Anonim, 1985).

Tabel 2. Hasil pemeriksaan persentase kadar lembab serbuk daun insulin

No	Serbuk daun insulin (g)	% kadar lembab
1	2,00	6,5 %
2	2,00	7,0 %
3	2,00	6,5 %
Persentase rata-rata kadar lembab		6,67 %

Hasil rata-rata kadar lembab serbuk daun insulin adalah 6,67% hasil ini sudah memenuhi syarat kadar air yaitu kurang dari 10% yang berarti tidak ada reaksi enzimatik. Perhitungan kadar lembab dapat dilihat pada lampiran 7.

4. Hasil Pembuatan Ekstrak Maserasi Daun Insulin

Ditimbang sebanyak 200 gram serbuk bunga kol dimasukkan ke dalam alat maserasi kemudian ditambahkan pelarut etanol 70% sebanyak 1500 mL. Campuran dimaserasi selama 5 hari dengan penggojogan secara berkala. Kemudian disaring menggunakan kain flanel sehingga terpisah antara ekstrak dengan residu atau ampas. Ekstrak hasil maserasi diuapkan menggunakan *rotary evaporator* supaya diperoleh ekstrak yang kental. Selanjutnya ekstrak kental ditimbang dan dihitung rendemennya.

Tabel 3. Hasil Persentase Rendemen Ekstrak Maserasi Daun Insulin

Bobot sampel (g)	Berat Ekstrak	% Rendemen
200	69,735	34,87 %

Hasil rata-rata persentase rendemen ekstrak maserasi daun insulin adalah 34,87 %. Perhitungan persentase rendemen ekstrak maserasi daun insulin dapat dilihat pada lampiran 8.

5. Hasil Identifikasi Kimia dalam Sediaan Ekstrak Etanol Daun Insulin

Ekstrak etanol yang diperoleh dari hasil maserasi kemudian dilakukan uji fitokimia menggunakan tabung reaksi. Reaksi ini menggunakan perubahan warna yang ditimbulkan untuk mengetahui adanya kandungan kimia seperti flavonoid. Uji fitokimia ini dilakukan untuk mengidentifikasi ekstrak etanol secara kualitatif sehingga dapat diketahui bahwa masih terdapat kandungan kimia didalam ekstrak setelah menjalani serangkaian proses ekstraksi.

Tabel 4. Hasil Identifikasi Kandungan Senyawa Kimia Ekstrak Daun Insulin

No	Identifikasi	Prosedur	Hasil penelitian	pustaka	Kesimpulan
1	Flavonoid	1 ml larutan + 0,1 gram serbuk Mg, + 2 ml larutan alkohol : asam klorida (1:1) + pelarut amil alkohol kemudian kocok kuat-kuat	Membentuk warna merah atau jingga pada lapisan amil alkohol	Depkes 1995	Positif (mengandung flavonoid)
2	Saponin	1 ml larutan dimasukkan dalam tabung reaksi kemudian ditambah 10 ml air panas dan dibiarkan menjadi dingin sesudah itu dikocok kuat-kuat	Membentuk busa atau buih yang stabil selama 10 detik	Depkes 1995	Positif (mengandung saponin)

Berdasarkan hasil identifikasi kualitatif kandungan kimia ekstrak daun insulin dapat dilihat bahwa flavonoid dan saponin dinyatakan positif karena terdapat kesesuaian hasil pengamatan dengan pustaka. Uji kandungan kimia ini dilakukan di Laboratorium Kimia Analisa Universitas Setia Budi Surakarta. Dapat disimpulkan bahwa ekstrak daun insulin mengandung flavonoid dan

saponin. Gambar hasil identifikasi senyawa flavonoid dan saponin dapat dilihat di lampiran 9.

B. Hasil pengujian kadar glukosa darah dengan metode toleransi glukosa

Pengujian dilakukan untuk mengetahui efek penurunan kadar glukosa darah dari ekstrak etanol daun insulin dengan membandingkan glibenklamid sebagai kelompok obat. Uji efek penurunan glukosa darah dilakukan dengan menggunakan hewan uji mencit putih jantan yang berumur 2-3 bulan dengan berat 20-30 g dalam kondisi sehat dengan metode toleransi glukosa.

Metode beban glukosa merupakan metode yang lebih sensitif untuk dapat mengetahui adanya kelainan dalam metabolisme glukosa dengan cara mengukur kadar glukosa plasma setelah pemberian beban glukosa. Apabila beban glukosa diberikan pada seorang penderita diabetes melitus maka glukosa plasma akan meningkat lebih tinggi dan kembali ke nilai normal lebih lambat dari orang normal, sehingga dapat digunakan secara klinis untuk mendiagnosis diabetes (Ganong, 2002).

Pengukuran kadar glukosa darah dapat dilakukan dengan menggunakan alat ukur glukosa darah Glukometer *Easy Touch GCU*. Data kuantitatif hasil pengukuran kadar glukosa darah pada berbagai kelompok perlakuan dapat dilihat pada tabel 5. Data selengkapnya dapat dilihat pada lampiran 21.

Tabel 5. Hasil rata-rata pengukuran kadar glukosa darah tiap kelompok perlakuan

Kelompok	Rata-rata Kadar Glukosa Darah (mg/dL)				
	Menit ke				
	0	30	60	90	120
I	80,00 \pm 7,120	119,2 \pm 10,43	99,80 \pm 8,440	91,00 \pm 7,420	81,20 \pm 8,470
II	92,00 \pm 5,430	120,4 \pm 8,990	101,6 \pm 8,290	93,60 \pm 8,170	86,40 \pm 7,006
III	89,80 \pm 8,530	135,8 \pm 7,430	114,2 \pm 6,540	103,8 \pm 9,650	94,80 \pm 9,810
IV	88,20 \pm 10,55	140,0 \pm 6,330	117,6 \pm 9,090	106,4 \pm 6,310	97,20 \pm 8,080

Keterangan:

Kelompok I : Kelompok Obat (Glibenklamid 0,013 mg/ 20 gBB)

Kelompok II : Ekstrak Daun Insulin Dosis I (7mg/20g BB)

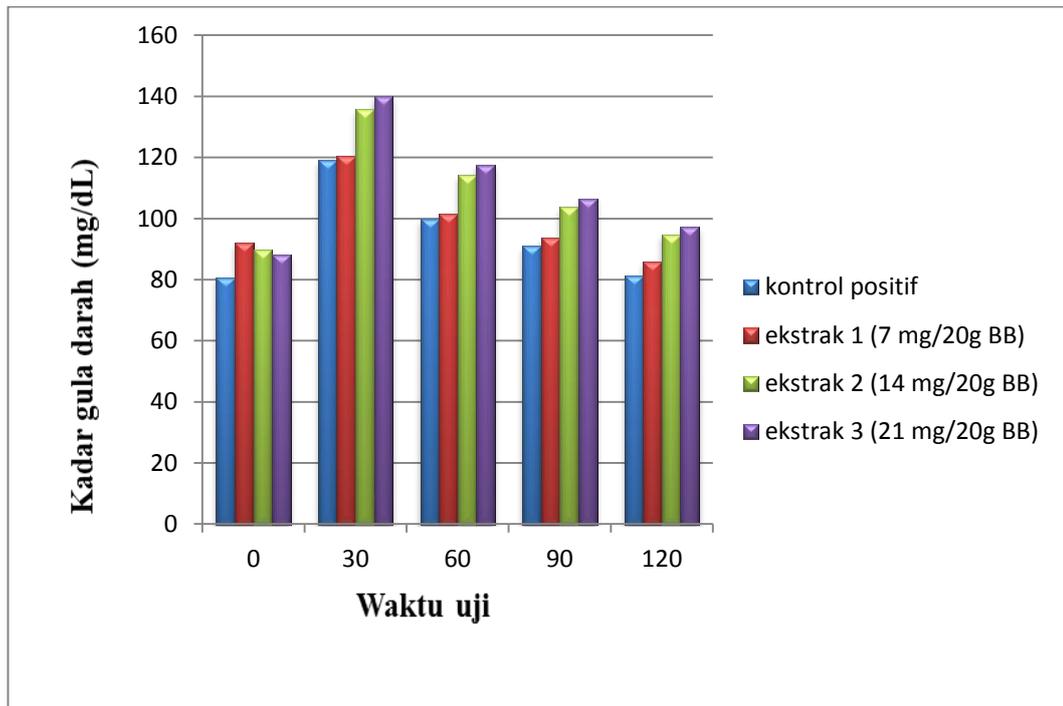
Kelompok III : Ekstrak Daun Insulin Dosis II (14mg/20g BB)

Kelompok IV : Ekstrak Daun Insulin Dosis III(21mg/20g BB)

*(p<0,05) : terdapat perbedaan bermakna terhadap kontrol diabetes

Tabel 6. Persentase Penurunan Kadar Glukosa Darah

Kelompok	% Penurunan Kadar Glukosa Darah			
	Δ T30	Δ T60	Δ T90	Δ T120
I	47,53	23,52	12,62	0,5
II	38,87	10,44	1,74	-6,08
III	51,23	27,17	15,59	5,57
IV	58,75	33,33	20,64	10,2



Gambar. Grafik hubungan rata-rata kadar glukosa darah (mg/dL) dosis ekstrak daun insulin dibandingkan dengan kontrol positif (glibenklamid)

Berdasarkan grafik pada gambar terlihat adanya kenaikan kadar glukosa darah dari tiap kelompok pada menit ke-30. Hal ini terjadi karena pada menit pertama glukosa yang diinduksi pada mencit mulai bekerja dengan meningkatkan kadar glukosa darah. Sedangkan pada menit ke-60 kelompok obat dan kelompok ekstrak mengalami penurunan kadar glukosa darah, namun pada kelompok diabetes masih mengalami kenaikan kadar glukosa darah. Pada kelompok diabetes masih termasuk hiperglikemia karena kadar glukosa darah masih di atas kadar glukosa normal (90 ± 140 mg/dL) (Maulana, 2008). Pada menit ke-90 semua kelompok mengalami penurunan kadar glukosa darah. Pada kelompok obat dan kelompok ekstrak sudah termasuk dalam kadar glukosa darah normal dalam rentang 90 ± 140 mg/dL. Pada menit ke-120 kelompok obat adalah kelompok yang mengalami penurunan paling besar, sedangkan pada kelompok ekstrak dengan

dosis 7mg/20g BB mencit, 14mg/20g BB mencit, 21mg/20g BB mencit penurunan yang paling besar terjadi pada kelompok ekstrak 3 dengan dosis 21mg/20g BB mencit.

Berdasarkan grafik, pada menit ke-60 dan ke-120 semua kelompok mengalami penurunan kadar glukosa darah. Berdasarkan hasil analisa statistik kelompok obat (glibenklamid) dengan kelompok ekstrak dengan dosis 21mg/20g BB mencit menunjukkan penurunan kadar glukosa darah pada menit ke-60, 90, dan 120 berbeda secara bermakna ($p < 0,05$) dengan kelompok obat.

C. PEMBAHASAN

Pengujian dilakukan dengan menggunakan glukosa untuk menginduksi kondisi hiperglikemi pada mencit putih jantan. Sebelum perlakuan masing-masing mencit dipuasakan selama ± 16 jam untuk menghindari kemungkinan adanya pengaruh makanan terhadap kandungan bahan yang berkhasiat pada daun insulin, selain itu untuk memudahkan selama pemberian ekstrak daun insulin secara oral pada mencit.

Penelitian ini menggunakan glibenklamid sebagai pembanding dengan tujuan untuk menentukan efektifitas ekstrak daun insulin dari beberapa macam dosis. Glibenklamid digunakan sebagai pembanding karena obat ini memiliki aktivitas sebagai antidiabetik dengan mekanisme kerja merangsang sekresi insulin dari pankreas, menghambat *ATP sensitive potassium channel* di sel β pankreas sehingga membantu untuk mengurangi jumlah gula dalam darah

seseorang, mengurangi kadar glukogen dalam serum dan meningkatkan pengikatan insulin pada jaringan target dan reseptor.

Penelitian ini menggunakan tiga tingkatan dosis ekstrak daun insulin yaitu dosis 7mg/20gBB, 14mg/20gBB, dan 21mg/20gBB dan dua kelompok kontrol yaitu kontrol obat menggunakan glibenklamid. Kontrol obat berfungsi untuk membandingkan daya antidiabetik dengan tiga dosis yang diteliti.

Berdasarkan data yang diperoleh, pada menit ke-30 terjadi peningkatan kadar glukosa darah pada semua perlakuan. Hal ini disebabkan karena pada waktu tersebut (menit ke-30) glukosa yang diinduksi pada mencit mulai bekerja untuk meningkatkan kadar gula darah.

Pada menit ke-60 persentase penurunan kadar glukosa darah paling besar yaitu pada kelompok IV dengan dosis 21mg/20g BB mencit. Pada kelompok obat mengalami penurunan kadar glukosa darah sebesar 23,52%. Sedangkan pada kelompok ekstrak dengan dosis 7mg/20g BB mencit dan 14mg/20g BB mencit juga mengalami penurunan kadar glukosa darah yang hampir sama.

Pada menit ke-90 penurunan yang paling besar terjadi pada kelompok I yaitu kelompok obat, hal ini dikarenakan mekanisme glibenklamid yaitu membebaskan insulin yang dapat dimobilisasi dari sel β pankreas dan pada saat yang sama memperbaiki tanggapan terhadap rangsang glukosa fisiologik. Sedangkan pada kelompok ekstrak daun insulin mengalami penurunan yang signifikan dibandingkan dengan kelompok diabetes.

Pada menit ke-120 semua kelompok mengalami penurunan kadar glukosa darah pada kelompok ekstrak daun insulin mengalami penurunan kadar glukosa

darah yang besar sehingga mempunyai perbedaan yang signifikan antara kelompok diabetes. Hal ini menunjukkan bahwa kandungan flavonoid yang terdapat dalam ekstrak etanol daun insulin mampu berperan sebagai senyawa yang dapat menetralkan radikal bebas dan dapat mencegah kerusakan sel β pankreas yang memproduksi insulin sehingga dapat menurunkan kadar glukosa darah. Jadi untuk persentase penurunan kadar glukosa darah terbesar pada kelompok ekstrak daun insulin yaitu pada kelompok IV dengan dosis 21mg/20g BB mencit. Karena dosis ini penurunan yang dihasilkan mendekati kadar glukosa normal pada mencit putih jantan yang diinduksi glukosa sehingga tidak menyebabkan hipoglikemia.

Berdasarkan uji statistik yang dilakukan kelompok IV atau kelompok ekstrak dengan dosis 21 mg/20g BB menunjukkan perbedaan bermakna dengan kelompok lain. Pada kelompok obat dapat menurunkan kadar glukosa darah karena glibenklamid memiliki mekanisme kerja merangsang sekresi insulin dari pankreas, menghambat *ATP sensitive potassium channel* di sel β pankreas sehingga membantu untuk mengurangi jumlah gula dalam darah seseorang, mengurangi kadar glukogen dalam serum dan meningkatkan pengikatan insulin pada jaringan target dan reseptor. Sedangkan pada kelompok ekstrak dapat menurunkan kadar glukosa darah karena ekstrak etanol daun insulin mengandung flavonoid, saponin. Flavonoid pada DM dapat menghindari absorpsi gula, menstimulasi pengambilan glukosa pada jaringan perifer, juga dapat bertindak seperti insulin dengan cara mempengaruhi mekanisme *insulin signaling*. Mekanisme kerja saponin yaitu dengan menghambat GLUT-1 sehingga menurunkan absorpsi glukosa.

Hasil uji ANOVA menunjukkan bahwa kelompok IV menunjukkan perbedaan yang signifikan. Kelompok IV menurunkan kadar glukosa darah paling efektif dibandingkan dengan kelompok I, II, III. Karena mempunyai persen penurunan kadar glukosa darah paling tinggi diantara semua kelompok.

BAB V

KESIMPULAN DAN SARAN

A. Kesimpulan

Berdasarkan hasil penelitian yang telah dilakukan dapat disimpulkan bahwa:

1. Pemberian ekstrak etanol daun insulin (*Tithonia diversifolia* Gray) dapat menurunkan kadar gula darah pada mencit putih jantan (*Mus musculus*) dengan metode toleransi glukosa.
2. Dosis ekstrak etanol daun insulin yang paling efektif dalam menurunkan kadar glukosa darah adalah dosis 21mg/20g BB mencit .

B. Saran

Penelitian ini masih banyak kekurangan saran untuk para peneliti selanjutnya adalah:

1. Perlu dilakukan penelitian untuk mengetahui aktivitas antidiabetik pada bagian tanaman insulin lainnya misal bunga, batang, akar.
2. Perlu dilakukan penelitian tentang toksisitas akut daun insulin (*Tithonia diversifolia* Gray) pada hewan uji untuk mengevaluasi batas keamanannya jika digunakan jangka panjang.

DAFTAR PUSTAKA

- Agusta, A. 2000. *Minyak Atsiri Tumbuhan Tropika Indonesia*. Bandung: penerbit Institut Teknologi Bandung. Hal. 101.
- Amanatie, Sulistyowati, E., 2015, Structure Elucidation of the Leaf of *Tithonia diversifolia* (Hemsl) Gray, *Jurnal Sains dan Matematika (JSM)*, Fakultas MIPA, Universitas Diponegoro, Yogyakarta, 23 (4): 101-106.
- Anonim. 2004. *Kumpulan Kuliah Farmakologi*. Penerbit Buku Kedokteran EGC, Jakarta.
- Anonym. 2008. *Tithonia diversifolia* (hemsl) A. Grey. <http://www.ipitek.net>. 3-149[1]
- Corwin, Elizabeth J. 2009. *Buku Saku Patofisiologi Corwin*. Jakarta: Aditya Media
- Dalimartha, Setiawan. 2008. *Care Your Self Hipertensi*. Penebar Plus : Jakarta.
- Darmawi, A.R. dkk. 2015. *Aktivitas Antihiperlipidemik Dari Ekstrak Etanol dan N-Heksana Daun Kembang Bulan [Tithonia Diversifolia A.Gray] Pada Tikus Putih Jantan*. *Jurnal Kimia Mulawarman*. Vol. 12 (2)
- Departemen Kesehatan Republik Indonesia (Depkes RI), 1986, *Sediaan Galenika*, Departemen Kesehatan Republik Indonesia, Jakarta.
- Departemen Kesehatan Republik Indonesia., 2005. *Pharmaceutical care untuk penyakit diabetes melitus*. Jakarta, pp. 14-22.
- Departemen Kesehatan Republik Indonesia., 2008. *Farmakope Herbal Indonesia Edisi 1*. Jakarta: Departemen Kesehatan Republik Indonesia.
- Dipiro, J.T., et al, 2008. *Pharmacotherapy A Pathophysiologic Approach, 7th ed*. Washington DC.
- Dipiro.JT., 2009, *Pharmacoterapy Handbook 7th edition*, New York :Mc Graw Hill,.
- Ganong. 2002. *Buku Ajar Fisiologi Kedokteran*. Jakarta : EGC. Hal. 255-256, 259, 261
- Geethaa, Saghal, Ramathan, S., et al., 2010. Brine Shrimp Lethality and Acute Oral Toxicity Studies on *Swetenia Mhagoni* (Linn) Jacq. Seed Methanolic Extract, *Pharmacognosy Research* 2 (4), pp. 215-220.
- Gilman, A.G., 2007, *Goodman & Gilman Dasar Farmakologi Terapi*, Diterjemahkan Oleh Tim Alih Bahasa Sekolah Farmasi ITB, Edisi X, 877, Penerbit Buku Kedokteran, EGC, Jakarta.
- Goodman, Gilman. 2008. *Manual of Pharmacology and Therapeutics*. USA The Mc Graw Hill..
- Gunawan, D dan Mulyani, S. (2004). *Ilmu Obat Alam (Farmakognosi)*. Jilid 1. Jakarta: Penerbit Penebar Swadaya. Hal 107.
- Gunawan, D. dan Sulistijowati, A. 2001. *Efek Ekstrak daun Kembang Bulan Terhadap candida albicans serta profil Kromatogramnya*. Dalam: *Cermin Dunia Kedokteran* No. 130. Jakarta: UI-Press. Hal. 31-32, 35

- Hakimah, Indy. A. 2010. *81 Macam Buah Berkhasiat Istimewa*. Jawa Tengah: Syura Media Utama.
- Harbourne, J.B. 1987. *Metode Fitokimia: Penuntun Cara Modern Menganalisis Tumbuhan* (Kosasih Padmawinata dan Iwang Soediro, Penerjemah). Bandung: Penerbit ITB.
<http://www.delphion.com/details=US0577004> 8 language=en
- Hutapea, JR. 1994. *Inventaris Tanaman Obat Indonesia*. Edisi III. Jakarta: Depkes RI.
- Jackerott, M., Moldrup, A., Thams, P., Galsgaard, E.D., Knudsen, J., Lee, Y.C., Nielsen, J.H., 2006, *STAT5 activity in pancreatic beta-cells influences the severity of diabetes in animal models of type 1 and 2 diabetes*, *Diabetes*, 55(10):2705-2712.
- Karam, J.H., Patricia, P.R., Salber, and Forsham, P.H., 1996, *Pancreatic Hormones and Diabetes Mellitus*, In Greenspan, F.S., *Basic and Clinical Endocrinology*, 3rd Ed, 593-649, Prentice-Hall International Inc., London.
- Karmila, S.S.M. 2016. *Pengaruh Air Rebusan Daun Insulin (Tithonia diversifolia (Hemsl.) A. Gray) terhadap Kadar Glukosa Darah Tikus Jantan Galur Wistar yang Terbebani Glukosa*. Yogyakarta: penerbit Universitas Sanata Dharma Yogyakarta.
- Katzung, Bertram G. (2010). *Farmakologi Dasar dan Klinik* (terjemahan), Ed.10, Penerbit Buku Kedokteran EGC, Jakarta.
- Lawrence, J.C. 1994. *Insulin and Oral Hypoglycemic Agents*, In Brody, T.M. Larner, J. Minneman, K.P., and Neu, H.C (Ed). *Human Pharmacology*, 2nd Ed., 523-539, Mosby, London.
- Makalalag. I.W., Wullur, A., Wiyono, W., 2013. *Uji Ekstrak Daun Binahong (Anredera cordifolia Steen.) Terhadap kadar Gula Darah Pada Tikus Putih Jantan Galur Wistar (Rattus norvegicus) yang Diinduksi Sukrosa*, *Jurnal Ilmiah Farmasi*, 2, 28-32.
- Mansjoer. 2001. *Kapita Selekta Kedokteran*. Jakarta: Media Aesculapius.
- Miura, T., Nosaka, K., Ishii, H., Ishida, T., 2005. Antidiabetic Effect of Nitobegiku, the Herb *Tithonia diversifolia*, in KK-Ay Diabetic Mice, *Biol. Pharm. Bull*, 28 (11), pp. 2152-2154
- Mycek, M.J., Harvey, R.A., Pamela, C.C., Dan Fisher, B.D., 2001, *Farmakologi Ulasan Bergambar*, Diterjemahkan Oleh Agoes, A.H., Edisi II, 153, 157, 158, 159, 162,160, 163, Widya Medika.
- Perkeni, 2015, *Konsensus Pengelolaan dan Pencegahan Diabetes Melitus Tipe 2 di Indonesia*. Perkeni, Jakarta.
- Prasetyo, A. dkk., 2016. *Perbandingan Efek Hipoglikemik Infusa Daun Kembang Bulan (Tithonia diversifolia (Hemsley) A. Gray) dan Metformin pada Tikus yang Diinduksi Aloksan*. CDK. Vol 43 no. 2
- Purba, E.D., 2003. *Analisi Senyawa kimia dan Uji Hipoglikemik Ekstrak Etanol Daun Kembang Bulan (Tithonia diversifolia (Hamsley) A. Gray) terhadap Kelinci*. Skripsi, 34 Universitas Sumatra Utara, Medan.
- Rees, D.A. dan Alcolado, J.C. 2005. *Animal Models of Diabetes Mellitus*, *Diabetic Medicine*, (22), 359-370.

- Robinson, T. 1991. *Kandungan Organik Tumbuhan Tinggi*. Edisi ke – 6. a.b. Kosasih Padmawinata. Bandung: Penerbit ITB..
- Robinson, T. 1995. *Kandungan Organik Tumbuhan Tinggi*. Edisi Kedua. a.b. Kosasih Padmawinata. Bandung: Penerbit ITB.
- Rowland, N.E. dan Bellush. 1989. *Diabetes Mellitus: Stress Neurochemistry, and Behavior. Neuroscience and Biobehavioral Reviews*. 13(4): 99-206.
- Ruberstein, D. Wayne, D. Bradley, J. 2007. *Penyakit Metabolik* in: Amalia, S. Edisi Indonesia Lecture Notes: Kedokteran Klinis. Penerbit Erlangga.pp 190-3.
- Sacher, Ronald, A. dan Ricard, A. McPherson. 2004. *Tinjauan Klinis Hasil Pemeriksaan Laboratorium edsi 11*. Alih Bahasa : Bhram U. Pedit dan Dewi Wulandari. ECG. Jakarta.
- Schteingart, D.E. 2006. Pankreas: Metabolisme Glukosa dan Diabetes Melitus dalam *Pathophysiology: Clinical Concept of Disease Process Volume 2 (6th ed.)*. Pedit, B.U., 2006 (Alih Bahasa). ECG, Jakarta. 63: 1259-1274
- Sherwood, L. 1996. *Fisiologi Manusia Dari Sel Ke Sistem*. Jakarta: ECG.
- Smith JB dan Mangkoewidjojo, S. 1988. *Pemeliharaan dan Penggunaan Hewan Percobaan di Daerah Tropis*. Jakarta: Penerbit Universitas Indonesia.
- Soegondo, S. Soewondo, P. Dan Subekti, I. 2005. *Penatalaksanaan Diabetes Mellitus Terpadu*. Jakarta: Penerbit FKUI.
- Studiawan, S. dan Santoso, M.H. 2005. *Uji Aktivitas Penurunan Kadar Glukosa Darah Eugenia Polyantha Pada Mencit Yang Diinduksi Aloksan*. Media Kedokteran Hewan. Vol. 21, No. 2.
- Sugiyanto. 1995. *Penuntun Praktikum Farmakologi Edisi IV*. Yogyakarta: Universitas Gadjah Mada.
- Suharmiati. 2003. *Pengujian Bioaktivitas Antidiabetes Mellitus Tumbuhan Obat Cermin Dunia Kedokteran*; 140. Available from: <http://www.kalbefarma.com/files/cdk/files/06pengujianbioaktivitasantidiabetes.pdf/06-pengujianbioaktivitasantidiabeteshtml> [10 Januari 2015].
- Sukandar, E.Y.,*et al.* 2008. *Iso Farmakoterapi Farmakope*, Jakarta: Penerbitan PT.ISFI
- Suyono, S. 2005. Patofisiologi Diabetes Mellitus Di dalam: Soegondo, S. *et. al.*, editor. *Penatalaksanaan Diabetes Mellitus Terpadu*. Jakarta: Penerbit FKUI.
- Szkudelski, T. 2001. *The mechanism of alloxan and streptozotocin action in B cells of the rat pancreas*. Physiological Research.
- Takahashi, M. 2005. *Compositions for Curing Diabetes Mellitus. Process for the Preparation of Same, and Usage of Same*
- Tjay Dan Rahardja, 2002, *Obat-Obat Penting, Khasiat, Penggunaan dan Efek Sampingnya*, Edisi V, PT Elex Media Komputindo Kelompok Gramedia, Jakarta.

- Tormo, M.A., Gil-Exojo, I., Romero de Tejada A., Campillo, J.E., 2006, *White bean amylase inhibitor administered orally reduces glycaemia in type 2 diabetic rats*, British Journal of Nutrition, 96(3):539-544.
- Unger, R.H. dan Foster, D.W. 1992. *Diabetes Mellitus*, In Wilson, J.D dan Foster, D.W., *Endocrinology*, 1225-1317, W.B Saunders, Company, London.
- Utami, P. 2003. *Tanaman Obat Untuk Mengatasi Diabetes Mellitus*. Cetakan Pertama. Jakarta: Agro Medika Pustaka.
- Voight, R.1995. *Buku Pelajaran Teknologi Farmasi*, Diterjemahkan oleh Soendani N. S., Yogyakarta: UGM Press.
- Walde, S.S., Dohle, C., Schott-Ohly, P., Gleichmann, H., 2002, *Molecular target structures in alloxan-induced diabetes in mice*, Life Sciences, 71, 1681–1694.
- Watt, J.M. and Maria Gerdina B.B. 1962. *Medical and Poisonous Plants of Southern and Eastern Africa*. 2nd edition. Vol 1. E and S. Livingstone LTD, Edinburgh and London.
- Widowati, W. 2008. *Efek Toksik Logam*. Penerbit Andi. Yogyakarta. Hal. 63, 109,119.
- Wilson, G.L., Patton, N.J., McCord, J.M., Mullins, D.W Mossman, B.T., 1984. *Mechanisms of Streptozotocin and Aloxan – Induced damage in rat β cells*, Diabetologia., 27(6): 587-591.
- Woodley, M. Dan whelan, a. 1995. *Pedoman Pengobatan*. Edisi 1. Yayasan Essentia Medica dan Penerbit Andi Ofiset. Yogyakarta, Hal: 571-572.

L

A

M

P

I

R

A

N

Lampran 1. Surat Determinasi Tanaman Insulin



No : 116/DET/UPT-LAB/22/X/2016
Hal : Surat Keterangan Determinasi Tumbuhan

Menerangkanbahwa :

Nama : Tantri Widiastuti
NIM : 17141046 A
Fakultas : Farmasi Universitas Setia Budi

Telah mendeterminasikan tumbuhan : **Daun insulin (*Tithonia diversifolia* Gray.)**

Determinasi berdasarkan Steenis : FLORA

1b – 2b – 3b – 4b – 6b – 7b – 9b – 10b – 11b – 12b – 13b – 14a – 15a. golongan 8. 109b – 119b – 120b – 128b – 129b – 135b – 136b – 139b – 140b – 142b – 143b – 146b – 154a. familia 121. Compositae. 1b – 12a – 13b – 15b – 16b – 18a. 17. *Tithonia diversifolia* Gray.

Deskripsi :

- Habitus : Perdu tegak, bertunas merayap dalam tanah; tinggi 1 – 3 meter.
Batang : bulat, dengan empulur putih; dekat pangkal setiap daun dengan 2 daun penumpu oval melintang.
Daun : Tunggal, bertangkai, bangun bulat telur, berangsur runcing hingga pangkal. Berlekuk 3 – 5 dangkal hingga dalam atau bercangap 3 – 5, bergerigi, berambut dan berkelenjar 1 putih, jarang, bentuk bola, 7,5 – 12,5 cm kali 5 – 7 cm, taju meruncing tajam.
Bunga : Bongkol, kebanyakan terminal, berdiri sendiri, bertangkai panjang. Tangkai mendukung beberapa daun pelindung, puncaknya membesar dan berongga. Pembaluk berbentuk lonceng. Dasar bunga bersama bentuk kerucut lebar; sisik jerami lk 1 cm panjangnya. Bunga tepi lk 13, mandul; tabung berambut rapat, pendek; helaian bentuk lanset, bergigi 2 – 3, kuning keemasan. Bunga cakram sangat banyak, berkelamin 2, kuning. Tabung kepala sari coklat tua, cabang tangkai putik 2, melengkung kembali, kuning, dimahkotai dengan alat tambahan kuning, berambut.
Pustaka : Steenis C.G.G.J., Bloembergen S. Eyma P.J. (1978): *FLORA*, PT Pradnya Paramita. Jl. Kebon Sirih 46. Jakarta Pusat, 1978.



Surabaya, 22 Oktober 2016

Tim Determinasi

Kartinah Wirjosoendjojo, SU.

Lampiran 2. Surat Keterangan Hewan Uji



PETERNAKAN TIKUS PUTIH "MOUSE FOR LABS"

Dieng, Metuk, Mojosongo, Boyolali
Telp : 082234850645 ; Email : ariftf9@gmail.com

SURAT KETERANGAN

Yang bertanda tangan dibawah ini :

Nama : Kharisma Putri S, S.Farm., Apt
Alamat : Dieng, Metuk, Mojosongo, Boyolali
Telp : 082234850645

Selaku penanggung jawab pengembangan hewan percobaan di Peternakan Tikus Putih "Mouse for Labs" menerangkan bahwa :

Nama : Tantri Widiastuti
NIM : 17141045B

Selaku pemakai/pembeli tikus dari Peternakan Tikus "Mouse for Labs".
Menyatakan bahwa tikus mencit (*Mus Musculus*) strain / galur Balb/C yang dikembangkan di Peternakan Tikus Putih "Mouse for Labs" adalah galur murni dan telah memenuhi syarat sebagai hewan uji untuk penelitian atau kegiatan praktikum.

Demikian surat keterangan ini dibuat dengan sebenar benarnya dan untuk digunakan sebagaimana mestinya.

Boyolali, 30 Januari 2017

Penanggung jawab



Kharisma Putri S, S.Farm., Apt

Lampiran 3. Gambar Tanaman Daun Insulin, Daun Insulin Kering, Serbuk Daun Insulin, Ekstrak Etanol Daun Insulin.



Tanaman Insulin

Daun Insulin Kering



Serbuk Daun Insulin

Ekstrak Etanol Daun Insulin

Lampiran 4. Gambar Alat Evaporator, *Moisture Balance*, Jarum Oral, Timbangan Analitik.



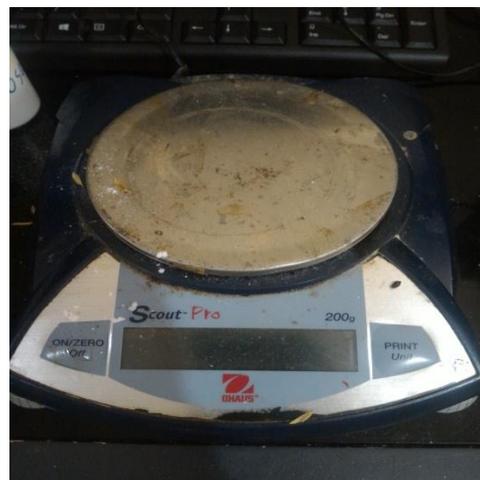
Alat Evaporator



Alat *Moisture Balance*



Jarum Oral



Timbangan Analitik.

Lampiran 5. Gambar Pelaksanaan Penelitian**Pengoralan Ekstrak****Pengecekan Kgd****Mencit Putih Jantan****Larutan Stok**

Lampiran 6. Hasil Perhitungan Bobot Kering Terhadap Bobot Basah Daun**Insulin**

Hasil perhitungan persentase bobot kering terhadap bobot basah daun insulin.

No.	Bobot basah (gram)	Bobot kering (gram)	Rendemen (%)
1.	5.400	433	8,02

Perhitungan rendemen bobot kering terhadap bobot basah

$$\begin{aligned}\text{Rumus} &= \frac{\text{bobot kering}}{\text{bobot basah}} \times 100\% \\ &= \frac{750 \text{ gram}}{12.410 \text{ gram}} \times 100\% \\ &= 8,02\%\end{aligned}$$

Jadi persentase bobot kering terhadap bobot basah bunga kol pada penelitian ini adalah 8,02%.

Lampiran 7. Hasil Penetapan Kadar Lembab Serbuk Daun Insulin

Hasil penetapan persentase kadar lembab serbuk daun insulin

No.	Serbuk bunga kol	% Kadar lembab
1.	2,00	6,5%
2.	2,00	7,0%
3.	2,00	6,5%
	Persentase rata-rata kadar lembab	6,67%

Analisa statistik yang digunakan:

$$SD = \sqrt{\frac{\sum x - \bar{x}}{n-1}}$$

Keterangan: $x - \bar{x}$ = deviasi

n = banyaknya percobaan

SD = standart deviasi

No.	X	\bar{x}	$ x - \bar{x} $	$ x - \bar{x} ^2$
1.	6,5	} 6,67	0,17	0,0289
2.	7,0		0,33	0,1089
3.	6,5		0,17	0,0289
				$\Sigma = 0,1667$

$$SD = \sqrt{\frac{0,1667}{2}}$$

$$SD = 0,288675 \quad 2 \times SD = 0,57735$$

Penolakan data menggunakan rumus $X - \bar{x} > 2SD$

Data yang dicurigai (X) adalah 7,0

$$\begin{aligned} \text{Rata-rata} &= \frac{6,5+6,5}{2} \\ &= 6,5 \end{aligned}$$

$$\text{Kriteria penolakan} = 7,0 - 6,5 = 0,5 < 0,57735$$

$$\begin{aligned} \text{Sehingga data diterima} &= \frac{6,5+7,0+6,5}{3} \\ &= 6,67 \end{aligned}$$

Jadi rata-rata persentase kadar lembab serbuk daun insulin adalah 6,67%.

Lampiran 8. Perhitungan Persentase Rendemen Ekstrak Etanol Daun Insulin

Perhitungan persentase rendemen ekstrak etanol daun insulin

Berat serbuk (gram)	Berat ekstrak (gram)	% Rendemen
200	69,735	34,87%

Perhitungan persentase rendemen ekstrak etanol daun insulin

Berat ekstrak + berat gelas = 223,211 gram

Berat gelas = 153,476 gram _

Berat ekstrak = 69,735 gram

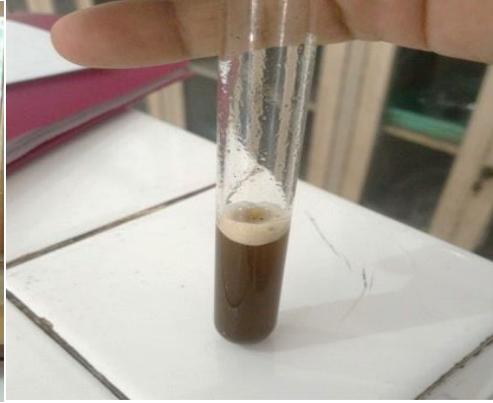
$$\text{Rumus} = \frac{\text{berat ekstrak}}{\text{berat serbuk}} \times 100\%$$

$$= \frac{156,516 \text{ gram}}{500 \text{ gram}} \times 100\%$$

$$= 34,868\% \sim 34,87\%$$

Jadi persentase rendemen ekstrak etanol daun insulin pada penelitian ini yaitu

34,87%.

Lampiran 9. Gambar Hasil Identifikasi Senyawa Ekstrak Etanoldaun Insulin**Flavonoid****Saponin**

Lampiran 10. Pembuatan Larutan Glibenklamid

- Penetapan Dosis Glibenklamid

Perhitungan awal yang diberikan adalah dosis yang digunakan masyarakat.

Dosis terapi glibenklamid sekali pemakaian untuk manusia adalah 5 mg/70 kg BB manusia.

$$\begin{aligned} \text{Kadar glibenklamid} &= \frac{5 \text{ mg}}{100 \text{ mL}} \\ &= 0,005\% \end{aligned}$$

- Larutan stok dibuat 0,005% $= \frac{0,005 \text{ g}}{100 \text{ mL}}$
 $= \frac{5 \text{ mg}}{100 \text{ mL}}$
 $= 0,05 \text{ mg/ 1 mL}$

Dosis glibenklamid = 5 mg/ 70 kgBB manusia

Konversi manusia → mencit = 5 mg x 0,0026
 $= 0,013 \text{ mg/ 20 gBB mencit}$

- Volume pemberian $= \frac{0,013}{0,05} \times 1 \text{ mL}$
 $= 0,26 \text{ mL}$

Lampiran 11. Perhitungan Dosis Ekstrak Etanol Daun Insulin

Dosis ekstrak etanol daun insulin diperoleh dari hasil penelitian sebelumnya yaitu 250 mg/ kg BB tikus, 500 mg/ kg BB tikus, dan 750 mg/ kg BB tikus.

Dosis pada mencit:

$$1. \quad 200 \text{ mg/ kg BB tikus} = \frac{250 \text{ mg}}{1000 \text{ g}} \times 200 \text{ g} = 50 \text{ mg/ 200 g BB tikus}$$

$$\text{Konversi tikus} \rightarrow \text{mencit} = 50 \text{ mg} \times 0,14 = 7 \text{ mg/ 20 g BB mencit}$$

$$2. \quad 400 \text{ mg/ kg BB tikus} = \frac{500 \text{ mg}}{1000 \text{ g}} \times 200 \text{ g} = 100 \text{ mg/ 200 g BB tikus}$$

$$\text{Konversi tikus} \rightarrow \text{mencit} = 100 \text{ mg} \times 0,14 = 14 \text{ mg/ 20 g BB mencit}$$

$$3. \quad 800 \text{ mg/ kg BB tikus} = \frac{750 \text{ mg}}{1000 \text{ g}} \times 200 \text{ g} = 150 \text{ mg/ 200 g BB tikus}$$

$$\text{Konversi tikus} \rightarrow \text{mencit} = 150 \text{ mg} \times 0,14 = 21 \text{ mg/ 20 g BB mencit}$$

Jadi, dosis yang digunakan dalam penelitian ini adalah 7 mg/ 20 g BB mencit, 14mg/ 20 g BB mencit dan 21 mg/ 20 g BB mencit.

Lampiran 12. Perhitungan Pembuatan Larutan Stok Ekstrak Etanol Daun**Insulin**

$$\begin{aligned}\text{Larutan stok dibuat 5\%} &= \frac{5 \text{ gram}}{100 \text{ mL}} \\ &= \frac{5000 \text{ mg}}{100 \text{ mL}} \\ &= 50 \text{ mg/ 1 mL}\end{aligned}$$

Menimbang 5 gram ekstrak etanol daun insulin, larutkan dalam 100 ml suspensi

CMC

Lampiran 13. Perhitungan Volume Pemberian Ekstrak Etanol Daun Insulin

$$\text{Larutan stok dibuat } 5\% = \frac{5 \text{ g}}{100 \text{ ml}} = \frac{5000 \text{ mg}}{100 \text{ ml}} = \frac{50 \text{ mg}}{1 \text{ ml}}$$

Jadi, setiap 1 ml stok ekstrak etanol daun insulin 5% mengandung 50mg ekstrak etanol daun insulin.

1. Pemberian ekstrak etanol daun insulin 7 mg/ 20 gBB mencit

$$\frac{7 \text{ mg}}{50 \text{ mg}} \times 1 \text{ mL} = 0,14 \text{ mL}$$

2. Pemberian ekstrak etanol daun insulin 14 mg/ 20 gBB mencit

$$\frac{14 \text{ mg}}{50 \text{ mg}} \times 1 \text{ mL} = 0,28 \text{ mL}$$

3. Pemberian ekstrak etanol daun insulin 21 mg/ 20 gBB mencit

$$\frac{21 \text{ mg}}{50 \text{ mg}} \times 1 \text{ mL} = 0,42 \text{ mL}$$

Lampiran 14. Perhitungan Pembuatan Larutan Stok Glukosa 50%

$$\text{Konsentrasi glukosa 50\%} = \frac{5 \text{ g}}{100 \text{ mL}}$$

$$= \frac{5000 \text{ mg}}{100 \text{ mL}}$$

$$= 500 \text{ mg/ 1 mL}$$

$$\text{Dosis glukosa} = 75 \text{ g/ 70 kgBB manusia}$$

$$\text{Konversi manusia} \rightarrow \text{mencit} = 75 \text{ g} \times 0,0026$$

$$= 0,195 \text{ g} \sim 0,2 \text{ g} = 200 \text{ mg/ 20 gBB mencit}$$

$$\text{Larutan stok 50\%} = 50 \text{ g/ 100 mL}$$

$$= 0,5 \text{ g/ 1 mL}$$

$$= 500 \text{ mg/ 1 mL}$$

Lampiran 15. Tabel Dosis dan Volume Pemberian Ekstrak Etanol Daun

Insulin

BB Mencit (g)	Dosis mg/20 g BB Mencit			Volume Pemberian (ml)		
	7mg/20g BB	14 mg/20g BB	21mg/20g BB	7mg/20g BB	14mg/20g BB	21mg/20g BB
20	7	14	21	0,14	0,28	0,42
21	7,35	14,7	22,05	0,147	0,29	0,44
22	7,7	15,4	23,1	0,154	0,3	0,46
23	8,05	16,1	24,15	0,161	0,32	0,48
24	8,4	16,8	25,2	0,168	0,33	0,5
25	8,75	17,5	26,25	0,175	0,34	0,52
26	9,1	18,2	27,3	0,182	0,36	0,54
27	9,45	18,9	28,35	0,189	0,37	0,56
28	9,8	19,6	29,4	0,196	0,38	0,58
29	10,15	20,3	30,45	0,203	0,39	0,6
30	10,5	21	31,5	0,21	0,41	0,63

Lampiran 16. Tabel Pemberian Dosis Glibenklamid

BB Mencit	Dosis (mg/20 g BB Mencit)	Volume Pemberian (ml)
20	0,013	0,26 ml
21	0,0136	0,273 ml
22	0,0143	0,286 ml
23	0,0149	0,298 ml
24	0,0156	0,312 ml
25	0,0162	0,324 ml
26	0,0169	0,338 ml
27	0,0175	0,35 ml
28	0,0182	0,364 ml
29	0,0188	0,376 ml
30	0,0195	0,39 ml

Lampiran 17. Tabel Pemberian Dosis CMC 1%

BB Mencit	Dosis (mg/20 g BB Mencit)	Volume Pemberian (ml)
20	1,3	0,13 ml
21	1,365	0,136 ml
22	1,43	0,143 ml
23	1,495	0,149 ml
24	1,56	0,156 ml
25	1,625	0,162 ml
26	1,69	0,169 ml
27	1,755	0,175 ml
28	1,82	0,182 ml
29	1,885	0,188 ml
30	1,95	0,195 ml

Lampiran 18. Tabel Pemberian Dosis Glukosa 50%

BB Mencit	Dosis (mg/20 g BB Mencit)	Volume Pemberian (ml)
20	200	0,4 ml
21	210	0,42 ml
22	220	0,44 ml
23	230	0,46 ml
24	240	0,48 ml
25	250	0,5 ml
26	260	0,52 ml
27	270	0,54 ml
28	280	0,56 ml
29	290	0,58 ml
30	300	0,6 ml

Lampiran 19. Hasil Pengukuran Kadar Glukosa Darah (mg/dL)

Perlakuan	Kadar Glukosa Darah (mg/dL)				
	Menit ke				
	0	30	60	90	120
Glibenklamid	72	108	87	79	68
	84	117	101	92	82
	79	125	109	96	88
	78	112	97	90	79
	91	134	105	98	89
rara-rata	80,8	119,2	99,8	91	81,2
SD	7,120393	10,42593	8,438009	7,416198	8,467585
Ekstrak 1	96	129	111	105	98
	88	112	99	91	86
	99	131	109	99	89
	86	117	91	86	80
	91	113	98	87	79
rata-rata	92	120,4	101,6	93,6	86,4
SD	5,43139	8,988882	8,294577	8,173127	7,700649
Ekstrak 2	99	145	122	117	109
	89	137	118	107	98
	97	133	111	99	89
	78	125	105	91	83
	86	139	115	105	95
rata-rata	89,8	135,8	114,2	103,8	94,8
SD	8,526429	7,42967	6,534524	9,654015	9,80816
Ekstrak 3	87	135	114	107	97
	93	146	129	112	107
	99	133	107	99	85
	71	139	113	101	96
	91	147	125	113	101
rata-rata	88,2	140	117,6	106,4	97,2
SD	10,54514	6,324555	9,099451	6,308724	8,074652

Lampiran 20. Tabel Persentase Perubahan Kadar Glukosa Darah

Kelompok	% Penurunan Kadar Glukosa Darah			
	$\Delta T30$	$\Delta T60$	$\Delta T90$	$\Delta T120$
I	47,53	23,52	12,62	0,5
II	38,87	10,44	1,74	-6,08
III	51,23	27,17	15,59	5,57
IV	58,75	33,33	20,64	10,2

Rumus Persen Penurunan Kadar Glukosa Darah :

$$\% \text{ Penurunan } \Delta T30 = \frac{\Delta T30 - \Delta T0}{\Delta T0} \times 100\%$$

$$\% \text{ Penurunan } \Delta T60 = \frac{\Delta T60 - \Delta T0}{\Delta T0} \times 100\%$$

$$\% \text{ Penurunan } \Delta T90 = \frac{\Delta T90 - \Delta T0}{\Delta T0} \times 100\%$$

$$\% \text{ Penurunan } \Delta T120 = \frac{\Delta T120 - \Delta T0}{\Delta T0} \times 100\%$$

Lampiran 21. Hasil Analisis Statistik SPSS

a. Kadar Glukosa Darah menit ke-30

NPar Tests

Descriptive Statistics

	N	Mean	Std. Deviation	Minimum	Maximum
Kadar Glukosa Darah	20	128,85	12,193	108	147

One-Sample Kolmogorov-Smirnov Test

		Kadar Glukosa Darah
N		20
Normal Parameters ^{a,b}	Mean	128,85
	Std. Deviation	12,193
Most Extreme Differences	Absolute	,134
	Positive	,134
	Negative	-,133
Kolmogorov-Smirnov Z		,601
Asymp. Sig. (2-tailed)		,863

a. Test distribution is Normal.

b. Calculated from data.

Oneway

Test of Homogeneity of Variances

Kadar Glukosa Darah

Levene Statistic	df1	df2	Sig.
,862	3	16	,481

ANOVA

Kadar Glukosa Darah

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	1685,750	3	561,917	7,895	,002
Within Groups	1138,800	16	71,175		
Total	2824,550	19			

Post Hoc Tests

Multiple Comparisons

Kadar Glukosa Darah

Tukey HSD

(I) Perlakuan	(J) Perlakuan	Mean Difference (I-J)	Std. Error	Sig.	95% Confidence Interval	
					Lower Bound	Upper Bound
Glibenklamd	ekstrak dosis 7 mg/20g BB	-1,200	5,336	,996	-16,47	14,07
	ekstrak dosis 14 mg/20g BB	-16,600*	5,336	,031	-31,87	-1,33
	ekstrak dosis 21 mg/20g BB	-20,800*	5,336	,006	-36,07	-5,53
ekstrak dosis 7 mg/20g BB	Glibenklamd	1,200	5,336	,996	-14,07	16,47
	ekstrak dosis 14 mg/20g BB	-15,400*	5,336	,048	-30,67	-,13
	ekstrak dosis 21 mg/20g BB	-19,600*	5,336	,010	-34,87	-4,33
ekstrak dosis 14 mg/20g BB	glibenklamd	16,600*	5,336	,031	1,33	31,87
	ekstrak dosis 7 mg/20g BB	15,400*	5,336	,048	,13	30,67
	ekstrak dosis 21 mg/20g BB	-4,200	5,336	,859	-19,47	11,07
ekstrak dosis 21 mg/20g BB	glibenklamd	20,800*	5,336	,006	5,53	36,07
	ekstrak dosis 7 mg/20g BB	19,600*	5,336	,010	4,33	34,87
	ekstrak dosis 14 mg/20g BB	4,200	5,336	,859	-11,07	19,47

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

Homogeneous Subsets

Kadar Glukosa Darah

Tukey HSD^a

Perlakuan	N	Subset for alpha = 0.05	
		1	2
Glibenklamd	5	119,20	
ekstrak dosis 7 mg/20g BB	5	120,40	
ekstrak dosis 14 mg/20g BB	5		135,80
ekstrak dosis 21 mg/20g BB	5		140,00
Sig.		,996	,859

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 5,000.

b. Kadar Glukosa Darah menit ke-60

NPar Tests

Descriptive Statistics

	N	Mean	Std. Deviation	Minimum	Maximum
KGD	20	108,30	10,892	87	129

One-Sample Kolmogorov-Smirnov Test

		KGD
N		20
Normal Parameters ^{a,b}	Mean	108,30
	Std. Deviation	10,892
Most Extreme Differences	Absolute	,081
	Positive	,069
	Negative	-,081
Kolmogorov-Smirnov Z		,362
Asymp. Sig. (2-tailed)		,999

a. Test distribution is Normal.

b. Calculated from data.

Oneway

Test of Homogeneity of Variances

KGD

Levene Statistic	df1	df2	Sig.
,390	3	16	,762

ANOVA

KGD

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	1192,200	3	397,400	5,987	,006
Within Groups	1062,000	16	66,375		
Total	2254,200	19			

Post Hoc Tests

Multiple Comparisons

KGD

Tukey HSD

(I) PERLAKUAN	(J) PERLAKUAN	Mean Differen ce (I-J)	Std. Error	Sig.	95% Confidence Interval	
					Lower Bound	Upper Bound
Glibenklamid	ekstrak dosis 7 mg/20g BB	-1,800	5,153	,985	-16,54	12,94
	ekstrak dosis 14 mg/20g BB	-14,400	5,153	,057	-29,14	,34
	ekstrak dosis 21 mg/20g BB	-17,800*	5,153	,016	-32,54	-3,06
ekstrak dosis 7 mg/20g BB	glibenklamid	1,800	5,153	,985	-12,94	16,54
	ekstrak dosis 14 mg/20g BB	-12,600	5,153	,108	-27,34	2,14
	ekstrak dosis 21 mg/20g BB	-16,000*	5,153	,031	-30,74	-1,26
ekstrak dosis 14 mg/20g BB	glibenklamid	14,400	5,153	,057	-,34	29,14
	ekstrak dosis 7 mg/20g BB	12,600	5,153	,108	-2,14	27,34
	ekstrak dosis 21 mg/20g BB	-3,400	5,153	,911	-18,14	11,34
ekstrak dosis 21 mg/20g BB	glibenklamid	17,800*	5,153	,016	3,06	32,54
	ekstrak dosis 7 mg/20g BB	16,000*	5,153	,031	1,26	30,74
	ekstrak dosis 14 mg/20g BB	3,400	5,153	,911	-11,34	18,14

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

Homogeneous Subsets

KGD

Tukey HSD^a

PERLAKUAN	N	Subset for alpha = 0.05	
		1	2
Glibenklamid	5	99,80	
ekstrak dosis 7 mg/20g BB	5	101,60	
ekstrak dosis 14 mg/20g BB	5	114,20	114,20
ekstrak dosis 21 mg/20g BB	5		117,60
Sig.		,057	,911

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 5,000.

c. Kadar Glukosa Darah menit ke-90

NPar Tests

Descriptive Statistics

	N	Mean	Std. Deviation	Minimum	Maximum
KGD	20	98,70	9,927	79	117

One-Sample Kolmogorov-Smirnov Test

		KGD
N		20
Normal Parameters ^{a,b}	Mean	98,70
	Std. Deviation	9,927
Most Extreme Differences	Absolute	,100
	Positive	,100
	Negative	-,087
Kolmogorov-Smirnov Z		,448
Asymp. Sig. (2-tailed)		,988

a. Test distribution is Normal.

b. Calculated from data.

Oneway

Test of Homogeneity of Variances

KGD

Levene Statistic	df1	df2	Sig.
,288	3	16	,834

ANOVA

KGD

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	853,000	3	284,333	4,464	,018
Within Groups	1019,200	16	63,700		
Total	1872,200	19			

Post Hoc Tests

Multiple Comparisons

KGD

Tukey HSD

(I) PERLAKUAN	(J) PERLAKUAN	Mean Difference (I-J)	Std. Error	Sig.	95% Confidence Interval	
					Lower Bound	Upper Bound
Glibenklamid	Ekstrak dosis 7mg/ 20g BB	-2,600	5,048	,954	-17,04	11,84
	Ekstrak dosis 14mg/ 20g BB	-12,800	5,048	,092	-27,24	1,64
	Ekstrak dosis 21mg/ 20g BB	-15,400*	5,048	,035	-29,84	-,96
Ekstrak dosis 7mg/ 20g BB	Glibenklamid	2,600	5,048	,954	-11,84	17,04
	Ekstrak dosis 14mg/ 20g BB	-10,200	5,048	,222	-24,64	4,24
	Ekstrak dosis 21mg/ 20g BB	-12,800	5,048	,092	-27,24	1,64
Ekstrak dosis 14mg/ 20g BB	Glibenklamid	12,800	5,048	,092	-1,64	27,24
	Ekstrak dosis 7mg/ 20g BB	10,200	5,048	,222	-4,24	24,64
	Ekstrak dosis 21mg/ 20g BB	-2,600	5,048	,954	-17,04	11,84
Ekstrak dosis 21mg/ 20g BB	Glibenklamid	15,400*	5,048	,035	,96	29,84
	Ekstrak dosis 7mg/ 20g BB	12,800	5,048	,092	-1,64	27,24
	Ekstrak dosis 14mg/ 20g BB	2,600	5,048	,954	-11,84	17,04

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

Homogeneous Subsets

KGD

Tukey HSD^a

PERLAKUAN	N	Subset for alpha = 0.05	
		1	2
Glibenklamid	5	91,00	
Ekstrak dosis 7mg/ 20g BB	5	93,60	93,60
Ekstrak dosis 14mg/ 20g BB	5	103,80	103,80
Ekstrak dosis 21mg/ 20g BB	5		106,40
Sig.		,092	,092

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 5,000.

d. Kadar Glukosa Darah menit ke-120

NPar Tests

Descriptive Statistics

	N	Mean	Std. Deviation	Minimum	Maximum
Kadar Glukosa Darah	20	89,90	10,249	68	109

One-Sample Kolmogorov-Smirnov Test

		Kadar Glukosa Darah
N		20
Normal Parameters ^{a,b}	Mean	89,90
	Std. Deviation	10,249
Most Extreme Differences	Absolute	,135
	Positive	,135
	Negative	-,094
Kolmogorov-Smirnov Z		,604
Asymp. Sig. (2-tailed)		,859

a. Test distribution is Normal.

b. Calculated from data.

Oneway

Test of Homogeneity of Variances

Kadar Glukosa Darah

Levene Statistic	df1	df2	Sig.
,094	3	16	,962

ANOVA

Kadar Glukosa Darah

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	826,200	3	275,400	3,767	,032
Within Groups	1169,600	16	73,100		
Total	1995,800	19			

Post Hoc Tests

Multiple Comparisons

Kadar Glukosa Darah

Tukey HSD

(I) Perlakuan	(J) Perlakuan	Mean Difference (I-J)	Std. Error	Sig.	95% Confidence Interval	
					Lower Bound	Upper Bound
Glibenklamid	ekstrak dosis 7 mg/20g BB	-5,200	5,407	,773	-20,67	10,27
	ekstrak dosis 14 mg/20g BB	-13,600	5,407	,095	-29,07	1,87
	ekstrak dosis 21 mg/20g BB	-16,000*	5,407	,041	-31,47	-,53
ekstrak dosis 7 mg/20g BB	Glibenklamid	5,200	5,407	,773	-10,27	20,67
	ekstrak dosis 14 mg/20g BB	-8,400	5,407	,431	-23,87	7,07
	ekstrak dosis 21 mg/20g BB	-10,800	5,407	,230	-26,27	4,67
ekstrak dosis 14 mg/20g BB	Glibenklamid	13,600	5,407	,095	-1,87	29,07
	ekstrak dosis 7 mg/20g BB	8,400	5,407	,431	-7,07	23,87
	ekstrak dosis 21 mg/20g BB	-2,400	5,407	,970	-17,87	13,07
ekstrak dosis 21 mg/20g BB	Glibenklamid	16,000*	5,407	,041	,53	31,47
	ekstrak dosis 7 mg/20g BB	10,800	5,407	,230	-4,67	26,27
	ekstrak dosis 14 mg/20g BB	2,400	5,407	,970	-13,07	17,87

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

Homogeneous Subsets

Kadar Glukosa Darah

Tukey HSD^a

Perlakuan	N	Subset for alpha = 0.05	
		1	2
Glibenklamid	5	81,20	
ekstrak dosis 7 mg/20g BB	5	86,40	86,40
ekstrak dosis 14 mg/20g BB	5	94,80	94,80
ekstrak dosis 21 mg/20g BB	5		97,20
Sig.		,095	,230

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

Kadar Glukosa Darah

Tukey HSD^a

Perlakuan	N	Subset for alpha = 0.05	
		1	2
Glibenklamid	5	81,20	
ekstrak dosis 7 mg/20g BB	5	86,40	86,40
ekstrak dosis 14 mg/20g BB	5	94,80	94,80
ekstrak dosis 21 mg/20g BB	5		97,20
Sig.		,095	,230

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 5,000.