

**PENGARUH EKSTRAK ETANOL BUAH BUNCIS (*Phaseolus vulgaris* L.)
TERHADAP KADAR GLUKOSA DARAH DAN KADAR
MALONDIALDEHID PADA TIKUS DIABETES
YANG DIINDUKSI ALOKSAN**



Oleh:

**Normalisa
20144065A**

**FAKULTAS FARMASI
UNIVERSITAS SETIA BUDI
SURAKARTA
2018**

**PENGARUH EKSTRAK ETANOL BUAH BUNCIS (*Phaseolus vulgaris* L.)
TERHADAP KADAR GLUKOSA DARAH DAN KADAR
MALONDIALDEHID PADA TIKUS DIABETES
YANG DIINDUKSI ALOKSAN**



Oleh:

**Normalisa
20144065A**

**FAKULTAS FARMASI
UNIVERSITAS SETIA BUDI
SURAKARTA
2018**

PENGESAHAN SKRIPSI

Berjudul

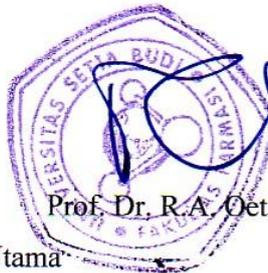
**PENGARUH EKSTRAK ETANOL BUAH BUNCIS (*Phaseolus vulgaris* L.)
TERHADAP KADAR GLUKOSA DARAH DAN KADAR
MALONDIALDEHID PADA TIKUS DIABETES
YANG DIINDUKSI ALOKSAN**

Oleh :
Normalisa
20144065A

Dipertahankan dihadapan Panitia Penguji Skripsi
Fakultas Farmasi Universitas Setia Budi
Pada tanggal : 29 Juni 2018

Mengetahui,
Fakultas Farmasi
Universitas Setia Budi

Dekan,



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

Pembimbing Utama

Dr. Rina Herowati, M.Si., Apt

Pembimbing Pendamping

Ghani Nurfiana Fadma Sari, M.Farm., Apt

Penguji:

1. Dr. Wiwin Herdwiani, M.Sc., Apt
2. Reslely Harjanti, M.Sc., Apt
3. Iswandi, M.Farm., Apt
4. Dr. Rina Herowati, M.Si., Apt

1. 

2. 

3. 

4. 

PERSEMBAHAN

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

**Tugas akhir ini saya persembahkan untuk :
Bapak Ibu tercinta, kakak dan adikku tersayang**

Niscaya Allah akan meninggikan orang-orang yang beriman di antaramu dan orang-orang yang diberi ilmu pengetahuan beberapa derajat. dan Allah Maha mengetahui apa yang kamu kerjakan
(QS. Al-Mujadalah -11)

Seutama-utama manusia ialah seorang mukmin yang berilmu. Jika ia dibutuhkan, maka ia memberi manfaat. Dan jika ia tidak dibutuhkan maka ia dapat memberi manfaat pada dirinya sendiri”.
(HR. Al-Baihaqi)

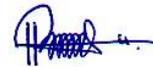
Niat adalah ukuran dalam menilai benarnya suatu perbuatan, oleh karenanya, ketika niatnya benar, maka perbuatan itu benar, dan jika niatnya buruk, maka perbuatan itu buruk.
(Imam An Nawaw)

PERNYATAAN

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

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

Surakarta, Juni 2018



Normalisa

KATA PENGANTAR

Puji syukur kepada Allah SWT yang telah melimpahkan rahmat, hidayah, dan karunia-Nya sehingga penulis dapat menyelesaikan skripsi yang berjudul **“PENGARUH EKSTRAK ETANOL BUAH BUNCIS (*Phaseolus vulgaris* L.) TERHADAP KADAR GLUKOSA DARAH DAN KADAR MALONDIALDEHID PADA TIKUS DIABETES YANG DIINDUKSI ALOKSAN”**. Skripsi ini disusun sebagai syarat untuk memperoleh derajat sarjana di Fakultas Farmasi Universitas Setia Budi Surakarta.

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

1. Dr. Ir. Djoni Tarigan, MBA selaku rektor Universitas Setia Budi.
2. Prof. Dr. R. A. Oetari, SU., MM., M.Sc., Apt, selaku dekan Fakultas Farmasi Universitas Setia Budi.
3. Dr. Rina Herowati, M.Si., Apt., selaku pembimbing utama yang telah memberikan bimbingan, arahan, nasehat, dan ilmunya sehingga penulis dapat menyelesaikan skripsi ini.
4. Ghani Nurfiana Fadma Sari, M.Farm., Apt., selaku pembimbing pendamping yang telah memberikan bimbingan, pengarahan, dan nasehat sehingga penulis dapat menyelesaikan skripsi ini.
5. Tim penguji yang telah meluangkan waktu serta memberikan kritik dan saran sehingga skripsi ini menjadi lebih baik.
6. Bapak, ibu, kakak, adik dan semua keluarga terima kasih untuk do'a, dukungan dan semangat yang diberikan
7. Rekan-rekan khususnya Hanif, Nyoman, Yuli, dan Sopan terimakasih atas kerjasama dan bantuannya selama ini untuk menyelesaikan penelitian skripsi ini.
8. Para sedulur khususnya Udin, Hadrah, Jemmy, Marwan, Sukron dan teman-teman yang lain terimakasih banyak atas bantuan dan supportnya selama ini untuk supaya skripsi ini selesai.

9. Segenap dosen, staff, laboran, dan asisten laboratorium, perpustakaan Fakultas Farmasi Universitas Setia Budi yang telah memberikan bantuan selama penelitian.
10. Semua pihak yang tidak dapat penulis sebutkan satu persatu yang telah membantu dalam menyelesaikan skripsi ini.

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

Surakarta, Juni 2018

Penulis

DAFTAR ISI

Halaman

HALAMAN JUDUL	i
PENGESAHAN SKRIPSI	ii
PERSEMBAHAN.....	iii
PERNYATAAN	iv
KATA PENGANTAR	v
DAFTAR ISI	vii
DAFTAR GAMBAR	xi
DAFTAR TABEL	xii
DAFTAR LAMPIRAN.....	xiii
INTISARI.....	xv
ABSTRACT	xvi
BAB I PENDAHULUAN	1
A. Latar Belakang Masalah	1
B. Perumusan Masalah	3
C. Tujuan Penelitian	3
D. Kegunaan Penelitian.....	4
BAB II TINJAUAN PUSTAKA.....	5
A. Tanaman Buncis.....	5
1. Sistematika tanaman buncis	5
2. Nama lain.....	5
3. Deskripsi tanaman	5
4. Khasiat tanaman	6
5. Kandungan kimia	6
B. Simplisia	7
1. Definisi Simplisia	7
2. Perajangan.....	7
3. Pengeringan	7
4. Penyarian	8
4.1 Metode maserasi.	8
4.2 Metode perkolasi.....	9
4.3 Metode infundasi.....	9

4.4	Metode soxhletasi.....	9
5.	Ekstrak.....	9
6.	Pelarut.....	10
C.	Diabetes Mellitus	10
1.	Klasifikasi diabetes mellitus	11
1.1	Diabetes mellitus tipe 1.	11
1.2	Diabetes mellitus tipe 2.	11
1.3	Diabetes mellitus gestasional.	12
1.4	Diabetes mellitus lain.	12
2.	Diagnosis diabetes mellitus	12
3.	Manifestasi klinik diabetes mellitus	13
4.	Komplikasi diabetes mellitus	13
5.	Terapi farmakologi diabetes mellitus	14
5.1	Meningkatkan sekresi insulin.	14
5.2	Sensitiser insulin.	14
5.3	Inhibitor katabolisme karbohidrat.	15
6.	Terapi non farmakologi	15
6.1	Terapi gizi medis (diet).	15
6.2	Olahraga.....	15
6.3	Berhenti merokok.....	16
7.	Stress oksidatif pada diabetes mellitus	16
D.	Antioksidan.....	16
1.	Penggolongan antioksidan	17
1.1	Antioksidan primer.....	17
1.2	Antioksidan sekunder.....	18
1.3	Antioksidan tersier.	18
2.	Radikal bebas.....	18
3.	Mekanisme kerja antioksidan	19
E.	Malondialdehid (MDA).....	20
1.	Pengukuran kadar MDA.....	20
1.1	<i>Tes thiobarbituric acid-reactive substance.</i>	21
1.2	Pengukuran MDA-TBA dengan HPLC (<i>High Performance Liquid Chromatography</i>).	21
1.3	Pengukuran kadar MDA serum bebas dengan metode HPLC (<i>High Performance Liquid Chromatography</i>)... ..	21
F.	Uji Antidiabetes	22
1.	Metode uji induksi zat diabetogenik	22
1.1	Induksi aloksan.	22
1.2	Induksi streptozotocin.	22
2.	Metode uji toleransi glukosa.....	23
3.	Metode uji resistensi insulin	23
G.	Metode Analisa Kadar Glukosa Darah.....	23
1.	Metode analisa glukosa darah dengan alat glucometer	23
2.	Metode GLUC-DH (<i>Glucose dehydrogenase</i>)	24
3.	Metode GOD-PAP	24
H.	Hewan Uji.....	25

1.	Sistematika hewan uji.....	25
2.	Karakteristik utama tikus putih.....	25
3.	Kondisi ruangan dan pemeliharaan hewan uji.....	25
4.	Cara pemegangan dan penandaan hewan uji.....	26
5.	Pemberian sediaan uji.....	26
I.	Landasan Teori.....	26
J.	Hipotesis.....	28
 BAB III METODE PENELITIAN.....		29
A.	Populasi dan sampel.....	29
1.	Populasi.....	29
2.	Sampel.....	29
B.	Variabel penelitian.....	29
1.	Identifikasi variabel utama.....	29
2.	Klasifikasi variabel utama.....	29
3.	Definisi operasional variabel utama.....	30
C.	Bahan, alat dan hewan uji.....	31
1.	Bahan.....	31
1.1	Bahan sampel.....	31
1.2	Bahan kimia.....	31
2.	Alat.....	31
3.	Hewan uji.....	31
D.	Jalannya Penelitian.....	32
1.	Determinasi buah buncis.....	32
2.	Pengambilan sampel dan pembuatan serbuk buah buncis.....	32
3.	Penetapan kadar air.....	32
4.	Pembuatan ekstrak etanol buah buncis.....	32
5.	Identifikasi senyawa kimia berdasarkan warna.....	33
5.1	Identifikasi alkaloid.....	33
5.2	Identifikasi senyawa flavonoid.....	33
5.3	Identifikasi saponin.....	33
5.4	Identifikasi steroid.....	33
6.	Uji bebas alkohol ekstrak etanol buah buncis.....	33
7.	Pembuatan larutan uji.....	34
7.1	Larutan suspensi CMC Na 0,5%.....	34
7.2	Larutan glibenklamid.....	34
7.3	Larutan garam fisiologis.....	34
7.4	Larutan aloksan monohidrat.....	34
8.	Penentuan dosis.....	34
8.1	Penentuan dosis glibenklamid.....	34
8.2	Dosis sediaan uji.....	34
8.3	Dosis aloksan monohidrat.....	35
9.	Perlakuan hewan uji.....	35
10.	Pengorbanan hewan uji.....	35
11.	Perlakuan hewan uji pasca bedah.....	36
12.	Pengukuran kadar glukosa darah.....	36

13. Pengukuran kadar malondialdehid	36
E. Skema Penelitian.....	38
F. Analisis Statistik	40
BAB IV HASIL PENELITIAN DAN PEMBAHASAN	41
A. Tanaman Buah Buncis.....	41
1. Hasil determinasi buah buncis	41
2. Pengambilan sampel dan pembuatan serbuk	41
3. Hasil penetapan kadar air.....	42
4. Hasil pembuatan ekstrak etanol buah buncis	42
5. Hasil identifikasi kandungan senyawa kimia.....	42
6. Hasil uji bebas alkohol ekstrak etanol buah buncis	43
7. Persiapan hewan uji.....	43
8. Hasil penimbangan berat badan hewan uji	44
9. Hasil pengukuran kadar glukosa	46
10. Hasil pengukuran kadar malondialdehid (MDA).....	52
11. Hubungan antara kadar glukosa darah dan kadar malondialdehid (MDA)	56
BAB V KESIMPULAN DAN SARAN	57
A. Kesimpulan	57
B. Saran.....	57
DAFTAR PUSTAKA	58
LAMPIRAN	65

DAFTAR GAMBAR

	Halaman
Gambar 1. Pembuatan ekstrak Buah buncis	38
Gambar 2. Skema jalannya penelitian	39
Gambar 3. Grafik profil berat badan tikus	44
Gambar 4. Grafik profil kadar glukosa darah.....	48
Gambar 5. Reaksi MDA dengan TBA	53

DAFTAR TABEL

	Halaman
Tabel 1. Pengukuran kadar glukosa.....	36
Tabel 2. Pengukuran kadar MDA.....	37
Tabel 3. Hasil rendemen simplisia buah buncis	42
Tabel 4. Hasil penetapan kadar air serbuk buah buncis.....	42
Tabel 5. Hasil rendemen ekstrak etanol buah buncis.....	42
Tabel 6. Hasil identifikasi kandungan senyawa kimia serbuk dan ekstrak etanol buah buncis.....	43
Tabel 7. Rata-rata berat badan tikus	45
Tabel 8. Data kuantitatif rata-rata hasil penurunan kadar glukosa darah berbagai kelompok perlakuan	49
Tabel 9. Rata-rata hasil pengukuran kadar malondialdehd (MDA) pada hati tikus.....	53

DAFTAR LAMPIRAN

	Halaman
Lampiran 1. Surat keterangan determinasi tumbuhan	66
Lampiran 2. Surat <i>ethical clearence</i>	67
Lampiran 3. Buncis segar, buncis kering, serbuk buncis, dan ekstrak buncis ...	68
Lampiran 4. Perhitungan rendemen berat kering terhadap berat basah buah buncis	69
Lampiran 5. Perhitungan penetapan kadar air	70
Lampiran 6. Perhitungan rendemen ekstrak	71
Lampiran 7. Hasil identifikasi kandungan senyawa kimia serbuk dan ekstrak..	72
Lampiran 8. Perhitungan penyesuaian dosis	74
Lampiran 9. Hewan uji yang digunakan dan perlakuan.....	77
Lampiran 10. Alat dan bahan yang digunakan.....	78
Lampiran 11. Hasil penimbangan berat badan dan rata-rata berat badan hewan uji	79
Lampiran 12. Kadar glukosa darah hewan uji T0	80
Lampiran 13. Kadar glukosa darah hewan uji T1	81
Lampiran 14. Kadar glukosa darah hewan uji T2	82
Lampiran 15. Kadar glukosa darah hewan uji T3	83
Lampiran 16. Persamaan regresi linear kurva baku TEP.....	84
Lampiran 17. Kadar MDA hewan uji	85
Lampiran 18. Hasil statistik berat badan tikus T ₂	86
Lampiran 19. Hasil statistik berat badan tikus T ₃	88
Lampiran 20. Hasil statistik kadar glukosa darah T1	90

Lampiran 21. Hasil statistik kadar glukosa ΔT_1 (penurunan kadar glukosa darah dari T_1 ke T_2).....	92
Lampiran 22. Hasil statistik kadar glukosa ΔT_2 (penurunan kadar glukosa darah dari T_1 ke T_3).....	94
Lampiran 23. Hasil statistik kadar MDA	95
Lampiran 24. Hasil statistik korelasi antara kadar glukosa dengan kadar MDA .	99

INTISARI

NORMALISA., 2018, PENGARUH EKSTRAK ETANOL BUAH BUNCIS (*Phaseolus vulgaris* L.) TERHADAP KADAR GLUKOSA DARAH DAN KADAR MALONDIALDEHID PADA TIKUS DIABETES YANG DIINDUKSI ALOKSAN, SKRIPSI, FAKULTAS FARMASI, UNIVERSITAS SETIA BUDI, SURAKARTA.

Penyakit degeneratif seperti diabetes, akan menyebabkan peningkatan stress oksidatif dalam tubuh dan mengakibatkan ketidakseimbangan antara antioksidan protektif (pertahanan antioksidan) dan peningkatan produksi radikal bebas. Salah satu sumber antioksidan alami sebagai antidiabetes adalah buah buncis (*Phaseolus vulgaris* L.). Tujuan penelitian ini adalah mengetahui aktivitas ekstrak etanol buah buncis dalam menurunkan kadar glukosa darah dan menurunkan kadar malondialdehid (MDA) dan mengetahui dosis efektif ekstrak buah buncis yang mampu sebanding dengan glibenklamid.

Penelitian ini dilakukan dengan menggunakan 30 ekor tikus wistar jantan yang diinduksi dengan aloksan dosis tunggal 150 mg/kg bb secara intraperitoneal. Dibagi menjadi 6 kelompok, masing-masing 5 ekor tikus. Kelompok I: kontrol normal, kelompok II: kontrol negatif, kelompok III kontrol positif menggunakan glibenklamid, kelompok IV, V, dan VI adalah kelompok perlakuan dengan ekstrak etanol buah buncis dosis 105 mg/kg bb, 210 mg/kg bb dan 420 mg/kg bb. Perlakuan diberikan selama 14 hari. Efek hipoglikemi dan antioksidan dievaluasi dengan menggunakan parameter kadar glukosa darah dan kadar malondialdehid (MDA) pada hati tikus.

Hasil penelitian ini menunjukkan bahwa ekstrak etanol buah buncis dapat menurunkan kadar glukosa darah dan kadar MDA pada tikus diabetes yang diinduksi aloksan. Dosis efektif yang mampu sebanding dengan glibenklamid dalam menurunkan kadar glukosa darah tikus dan kadar MDA adalah dosis 420 mg/kg bb.

Kata kunci : Buah buncis, antihiperglikemia, malondialdehid, antioksidan

ABSTRACT

NORMALISA., 2018 EFFECT OF ETHANOLIC EXTRACT BUNCIS (*Phaseolus vulgaris* L.) ON BLOOD GLUCOSE LEVELS AND MALONDIALDEHYDE LEVELS IN DIABETIC RATS INDUCED ALLOXAN, THESIS, FACULTY OF PHARMACY, SETIA BUDI UNIVERSITY, SURAKARTA,

Degenerative diseases such as diabetes, increased oxidative stress in the body will cause an imbalance between antioxidant protective and increased free radical production. *Phaseolus vulgaris* one source of natural antioxidants as antidiabetic. The purpose of this study was to determine the activity of the ethanol extract of *Phaseolus vulgaris* as activity in lowering blood glucose levels and levels of malondialdehyde (MDA) and knowing the effective dose of extract *Phaseolus vulgaris* which is able to be equal to glibenclamide.

This study was conducted using 30 male Wistar rats induced by alloxan single dose of 150 mg / kg bw intraperitoneally. Divided into six groups, each of 5 rats, group I: normal control, group II: negative control (0,5% CMC Na), group III: positive control using glibenclamide dose of 0,45 mg/kg bw, group IV, V and VI were treated with ethanol extract of *Phaseolus vulgaris* dose of 105 mg / kg bw, 210 mg / kg bw and 420 mg / kg bw respectively. Treatment was given for 14 days. Hypoglycaemic and antioxidant effects were evaluated using the parameters of blood glucose levels and malondialdehyde (MDA) level in rat liver.

The results of this study showed that the ethanol extract of *Phaseolus vulgaris* can lower blood glucose levels of mice and MDA level. An effective dose comparable with glibenclamide in lowering blood glucose levels of mice and MDA levels is a dose of 420 mg / kg bw.

Keywords : *Phaseolus vulgaris*, antihyperglycemic, malondiadehyde, antioxidant

BAB I

PENDAHULUAN

A. Latar Belakang Masalah

Berkembangnya penyakit degeneratif seperti penyakit diabetes mellitus (DM) di Indonesia yang meningkat dari tahun ke tahun diduga berkaitan dengan kebiasaan pola makan masyarakat Indonesia yang berubah. Masyarakat cenderung lebih memilih makanan cepat saji, *junk food* atau disebut juga *fast food* karena rasa malas maupun waktu dan kesibukan yang membatasi, akhirnya lama-kelamaan menyebabkan masyarakat tidak memperhatikan keseimbangan kandungan gizi makanan yang dikonsumsi (Adji 2008).

Penyakit DM dikategorikan sebagai gangguan sistem endokrin dengan prevalensi paling tinggi, dikarakteristikan dengan kegagalan atau penurunan kemampuan proses sekresi insulin dan peningkatan kadar glukosa darah (hiperglikemia). Hiperglikemia menyebabkan autooksidasi glukosa, glikasi protein, dan aktivasi jalur metabolisme poliol yang selanjutnya mempercepat pembentukan senyawa oksigen reaktif. Pembentukan senyawa oksigen reaktif tersebut dapat meningkatkan modifikasi lipid, DNA, dan protein pada berbagai jaringan (Ueno *et al.* 2002). Modifikasi molekuler pada berbagai jaringan tersebut mengakibatkan ketidakseimbangan antara antioksidan protektif (pertahanan antioksidan) dan peningkatan produksi radikal bebas. Hal itu merupakan awal kerusakan oksidatif yang dikenal sebagai stres oksidatif (Nuttal *et al.* 1999).

Stres oksidatif yang terjadi pada penderita DM berasal dari peningkatan produksi radikal bebas akibat autooksidasi glukosa, konsentrasi antioksidan di jaringan rendah, dan gangguan aktivitas pertahanan antioksidan enzimatik (Kowluru *et al.* 2001). Glukolipotoksisitas yang terjadi pada penderita DM akan diperberat dengan adanya disfungsi endotel dan menyebabkan penderita menjadi rentan terhadap stres oksidatif karena kadar glukosa darah yang lebih tinggi terkait dengan terjadinya peroksidasi lipid yang dimediasi oleh radikal bebas. Radikal bebas pada penyakit DM akan menyebabkan kerusakan peroksidatif fosfolipid yang mengakibatkan akumulasi malondialdehid (MDA) (Bhutia *et al.*

2011). Aktivitas radikal bebas dapat ditandai dengan adanya MDA yang merupakan produk hasil peroksidasi lipid pada membran sel (Adji 2008).

Antioksidan diperlukan untuk meredam kerusakan oksidatif tersebut. Peningkatan suplai antioksidan yang cukup akan membantu pencegahan komplikasi klinis DM (Rahbani-Nobar *et al.* 1999). Penelitian pada hewan percobaan membuktikan bahwa antioksidan dapat menghambat tahap awal retinopati, nefropati, dan neuropati (Kowluru *et al.* 2001; Ueno *et al.* 2002). Demikian juga penelitian pada manusia, antioksidan dapat menghambat komplikasi mikrovaskular, penurunan insidensi penyakit jantung koroner, perbaikan sistem saraf otonom jantung, dan perbaikan vasodilatasi (Beckman *et al.* 2001).

Salah satu tanaman yang mampu berperan sebagai antioksidan dan mampu menurunkan kadar glukosa darah pada penderita DM adalah buah buncis karena mengandung senyawa flavonoid yang memiliki aktivitas sebagai antioksidan dan kandungan β -sitosterol dan stigmasterol yang diduga mampu merangsang pankreas untuk menghasilkan insulin (Perdana *et al.* 2010; Achmad *et al.* 2016). Dari penelitian yang dilakukan Luka *et al.* (2013) melaporkan bahwa ekstrak air buncis memiliki potensi hipoglikemik dan antidiabetes yang bisa digunakan sebagai terapi komplementer penderita DM. Hasil penelitian Atchibri *et al.* (2010) menunjukkan bahwa biji buncis mengandung alkaloid, flavonoid, glikosida, polifenol, saponin, steroid, tanin, dan terpenoid yang merupakan senyawa fitokimia dengan aktivitas biologis yang mampu menurunkan risiko berbagai penyakit kronis dan degeneratif seperti kanker, obesitas, penyakit kardiovaskular, dan diabetes. Penelitian lain yang dilakukan Putra (2013) menyatakan bahwa ekstrak etanol buncis memiliki efek menurunkan kadar glukosa darah pada mencit yang diinduksi aloksan. Skrining fitokimia dari ekstrak buah buncis memiliki kandungan poliphenol seperti saponin, fenol, alkaloid, flavonoid, dan triterpenoid (Nugrahani *et al.* 2016). Senyawa flavonoid yang terdapat dalam kandungan buncis memiliki aktivitas sebagai antioksidan yang menekan apoptosis sel beta tanpa mengubah proliferasi dari sel beta pankreas yaitu dengan mengikat radikal bebas sehingga dapat mengurangi resistensi insulin. Antioksidan dapat

menurunkan *Reactive Oxygen Spesies* (ROS), pada proses pembentukan ROS oksigen akan berikatan dengan elektron bebas yang menghasilkan ROS dalam mitokondria. Aktivitas antioksidan pada senyawa flavonoid bekerja dengan menyumbangkan atom hidrogennya, senyawa flavonoid akan teroksidasi dan berikatan dengan radikal bebas sehingga radikal bebas menjadi senyawa yang lebih stabil sehingga mencegah kerusakan pada sel beta pankreas (Oktarlina & Rachmawani 2017).

Berdasarkan latar belakang ini, penulis tertarik untuk memastikan khasiat dan pengaruh buah buncis dalam menurunkan kadar glukosa darah dan kadar malondialdehid pada tikus diabetes yang diinduksi aloksan, karena buah buncis mampu menurunkan kadar glukosa darah pada tikus diabetes karena kandungan senyawa stigmasterol dan sitosterol serta diduga mampu menurunkan kadar MDA karena kandungan flavonoid yang beraktivitas sebagai antioksidan (Perdana *et al.* 2010; Achmad *et al.* 2016) dan penggunaan induksi aloksan karena senyawa aloksan secara cepat dapat mencapai pankreas.

B. Perumusan Masalah

Pertama, apakah ekstrak etanol buah buncis memiliki efek menurunkan kadar glukosa darah pada tikus diabetes yang diinduksi aloksan ?

Kedua, apakah ekstrak etanol buah buncis mampu menurunkan kadar malondialdehid pada tikus diabetes yang diinduksi aloksan ?

Ketiga, berapakah dosis efektif ekstrak etanol buah buncis dalam menurunkan kadar glukosa darah dan kadar malondialdehid pada tikus diabetes yang diinduksi aloksan ?

C. Tujuan Penelitian

Pertama, mengetahui aktivitas ekstrak etanol buah buncis dalam menurunkan kadar glukosa darah pada tikus diabetes yang diinduksi aloksan.

Kedua, mengetahui aktivitas ekstrak etanol buah buncis dalam menurunkan kadar malondialdehid pada tikus diabetes yang diinduksi aloksan.

Ketiga, mengetahui dosis efektif ekstrak etanol buah buncis dalam menurunkan kadar glukosa darah dan kadar malondialdehid pada tikus diabetes yang diinduksi aloksan.

D. Kegunaan Penelitian

Hasil penelitian ini diharapkan dapat menambah ilmu pengetahuan tentang bahan alam yang dapat dijadikan obat tradisional serta berperan dalam pencegahan dan pengobatan diabetes. Hasil penelitian dapat berguna untuk acuan masyarakat dan industri obat bahan alam khususnya IOT dalam pengembangan obat tradisional untuk masyarakat yang menderita diabetes.

BAB II

TINJAUAN PUSTAKA

A. Tanaman Buncis

1. Sistematika tanaman buncis

Kingdom	: Plantae
Famili	: Papilionaceae
Tribe	: Phaseolae
Sub tribe	: Phaseolinae
Genus	: <i>Phaseolus</i>
Spesies	: <i>vulgaris</i>
Sinonim	: <i>Phaseolus aborigineus</i> Burkat (Saleem <i>et al.</i> 2016).

2. Nama lain

Kacang merah (Malaysia), mula (Filipina), kacang buncis (Sunda), boncis (Jawa), bai fan dou (Tionghoa), french bean, haricot bean (Inggris) (Wijayakusuma 2005; Dalimartha 2008)

3. Deskripsi tanaman

Tanaman buncis bukanlah tanaman asli Indonesia, tetapi berasal dari Amerika di wilayah selatan Meksiko dan wilayah panas Guatemala. Tanaman buncis berbentuk semak atau perdu. Tinggi tanaman buncis tipe tegak berkisar antara 30-50 cm sedangkan tipe merambat dapat mencapai 2 m. Tanaman buncis mulai berbunga pada umur 45-48 hari setelah ditanam dan mulai dapat dipanen pada umur 55-58 hari setelah ditanam. Batangnya bersegi empat atau hampir berbentuk silindris, daunnya berselang-seling, bunga buncis tersusun dalam karangan yang berbentuk tandan, kuntum bunga berwarna putih, merah jambu, atau lembayung. Polong muda berwarna hijau muda, bentuk agak bulat masif (tidak berongga), agak melengkung pada ujung seperti pancing, rasanya manis, panjang 15,5-17,25 cm, lebar 0,9 cm dan berserat halus (*stringless*) serta bobot per polong 8,6-9 gram. Ukuran, bentuk serta warna dari biji buncis bervariasi (Andayani 2003; Waluyo & Djuariah 2013)

4. Khasiat tanaman

Buah buncis memiliki banyak khasiat antara lain berguna sebagai tambahan pada pengobatan kanker payudara, nasofaring, suplemen pada kemoterapi atau radioterapi, juga berkhasiat untuk beri-beri, diuretik, hipertensi, menurunkan kadar glukosa darah, meningkatkan fungsi limpa, dan mempunyai aktivitas sebagai antikanker. Komponen PHA pada biji dapat menghambat sarcoma-180 dan *Ehrlich-Ascites* kanker pada mencit. Selain itu, juga dapat menghambat sintesis asam nukleat pada sel kanker dan meningkatkan fagositosis dari makrofag (Wijayakusuma 2005; Dalimartha 2008). Buah buncis juga memiliki khasiat sebagai antioksidan karena kandungan flavonoid yang berfungsi melindungi sel beta pankreas dari kerusakan akibat radikal bebas, dapat meningkatkan sensitivitas insulin dan juga berfungsi sebagai *α -amylase inhibitor*. Aktivitas antioksidan pada flavonoid yang terdapat pada buah buncis juga dapat menekan apoptosis sel beta tanpa mengubah proliferasi dari sel beta pankreas dengan mengikat radikal bebas sehingga dapat mengurangi resistensi insulin (Oktarlina & Rachmawani 2017).

Luka *et al.* (2013) melaporkan hasil penelitiannya ekstrak air buncis selain sebagai antidiabetes ekstrak air buncis juga mampu menurunkan kadar ALT dan AST pada hewan uji.

5. Kandungan kimia

Buah buncis mengandung kalori, karbohidrat, lemak, protein, dan serat. Buah buncis juga mengandung mineral, dan vitamin seperti kalsium, fosfor, besi, natrium, kalium, vitamin A, vitamin B1, vitamin B3, dan vitamin C. Komponen kimia yang terkandung dalam buah buncis yang pernah dilaporkan antara lain alkaloid, flavonoid, steroid dan triterpenoid (Andayani 2003)

Biji buncis mengandung glukoprotein, hemagglutinine, tripsin inhibitor, stigmasterol, sitosterol, campesterol, lectins, allantoin, dan inositol. Kulit biji mengandung leucopelargonidin, leucocyanidin, leucodelphinidin, kaempferol, quercetin, myricetin, pelargonidin, dan malvidin. Cotyledon dan hypocotyl mengandung stigmasterol, sitosterol, campesterol dan phytohemagglutinin (PHA) (Wijayakusuma 2005).

Pada penelitian Nugrahani *et al.* (2016) skrining fitokimia dari serbuk dan ekstrak buah buncis mengandung senyawa kimia golongan flavonoid, alkaloid, fenol, saponin, steroid dan triterpenoid.

B. Simplisia

1. Definisi Simplisia

Simplisia adalah bahan alamiah yang digunakan sebagai obat yang belum mengalami proses pengolahan apapun kecuali dinyatakan lain simplisia merupakan bahan yang telah dikeringkan. Berdasarkan bahan bakunya simplisia terbagi menjadi tiga macam, diantaranya yaitu simplisia nabati, simplisia hewani, dan simplisia pelikan atau mineral. Simplisia nabati adalah simplisia berupa tanaman utuh, bagian tanaman atau eksudat (isi sel yang secara spontan keluar dari tanaman atau dengan cara tertentu dikeluarkan dari selnya atau zat-zat nabati lainnya yang dengan cara tertentu dipisahkan dari tanamannya dan belum berupa zat kimia murni). Simplisia hewani adalah simplisia yang merupakan hewan utuh, bagian hewan atau zat-zat berguna yang dihasilkan oleh hewan dan belum berupa zat kimia murni. Simplisia pelikan atau mineral adalah simplisia yang berupa bahan pelikan atau mineral yang belum diolah atau telah diolah dengan cara yang sederhana dan belum berupa zat kimia murni (Katno 2008)

2. Perajangan

Bahan baku simplisia seringkali harus diubah bentuknya agar memudahkan dalam proses pengeringan, pengemasan, penggilingan, dan penyimpanan serta pengolahan selanjutnya. Perajangan juga dimaksudkan untuk memperbaiki tampilan fisik, memenuhi standar kualitas (keseragaman ukuran), dan membuat lebih praktis. Perajangan harus dilakukan hati-hati agar kualitas simplisia tidak menurun dan tidak rusak. Semakin tipis hasil perajangan maka akan semakin mempercepat proses pengeringan, tetapi jangan terlalu tipis karena bisa menyebabkan simplisia rusak (Katno 2008).

3. Pengeringan

Pengeringan merupakan suatu upaya untuk menurunkan kadar air pada bahan simplisia hingga tingkat yang diinginkan. Tujuan pengeringan ini adalah

untuk menghentikan reaksi enzimatik yang ada pada tumbuhan, mencegah timbulnya jamur dan bakteri yang membutuhkan air dalam jumlah tertentu untuk kelangsungan hidupnya.

Pengeringan simplisia dapat dilakukan dengan dua cara, yaitu secara alamiah dan buatan. Pengeringan secara alamiah dapat dilakukan dengan dua cara, yaitu pengeringan di bawah sinar matahari dan pengeringan di tempat teduh. Pengeringan secara alamiah sangat bergantung dengan cuaca yang tidak stabil, berbeda dengan pengeringan secara buatan dengan alat pengering lebih stabil sehingga pengeringan lebih terkontrol dan kualitas yang dihasilkan bisa lebih baik. Pengeringan buatan dilakukan dengan menggunakan alat yang memanfaatkan energi panas, listrik, atau api. Penggunaan alat pengering mampu mempercepat proses pengeringan, menekan kerusakan simplisia, dan meminimalkan kontaminan jamur. Hal-hal yang perlu diperhatikan selama proses pengeringan yaitu suhu pengeringan, kelembaban udara, aliran udara, waktu pengeringan, dan luas permukaan bahan. Pengeringan simplisia harus dilakukan dengan benar agar dapat menghindari terjadinya *face barding* yang berarti bagian luarnya kering tetapi bagian dalamnya masih basah.

Suhu pengeringan tergantung pada bahan simplisia dan cara pengeringannya. Bahan simplisia umumnya dikeringkan pada suhu kurang dari atau sama dengan 60°C, bahan simplisia yang mengandung senyawa volatil dan termolabil sebaiknya dikeringkan pada suhu (30° - 40°C) (Katno 2008).

4. Penyarian

Penyarian adalah kegiatan penarikan zat yang dapat larut dari bahan yang tidak dapat larut dengan pelarut cair. Simplisia yang disari mengandung senyawa aktif yang dapat larut dan zat yang tidak dapat larut seperti serat, protein, karbohidrat, dan lain-lain (Depkes 1985). Beberapa metode penyarian antara lain :

4.1 Metode maserasi. Maserasi berasal dari kata “macerare” yang berarti melunakkan. Maserasi adalah cara penarikan zat aktif simplisia dengan cara merendam simplisia tersebut dalam cairan penyari (Syamsuni 2006). Metode ini dilakukan dengan memasukkan serbuk tanaman dan pelarut yang sesuai ke dalam wadah inert yang tertutup rapat pada suhu kamar. Proses ekstraksi dihentikan

ketika tercapai kesetimbangan antara konsentrasi senyawa dalam pelarut dengan konsentrasi dalam sel tanaman. Setelah proses ekstraksi, pelarut dipisahkan dari sampel dengan penyaringan (Mukhriani 2014).

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

4.3 Metode infundasi. Infundasi adalah proses yang umum untuk melakukan penyarian zat aktif dari bahan-bahan nabati yang larut dalam air. Cara ini sangat sederhana dan sering digunakan oleh perusahaan obat tradisional. Infusa adalah sediaan cair yang dibuat dengan menyari simplisia dengan air selama 15 menit pada suhu 90° C. Pembuatan infus dilakukan dengan cara mencampur simplisia dengan air secukupnya, dipanaskan di atas penangas air selama 15 menit dihitung mulai suhu mencapai 90° sambil diaduk, kemudian diserkai selagi panas melalui kain flannel, ditambahkan air secukupnya melalui ampas sehingga diperoleh volume (Depkes 1986).

4.4 Metode soxhletasi. Soxhletasi merupakan penyarian dimana bahan yang akan diekstraksi berada dalam sarung selulosa (dapat digunakan kertas saring) dalam klonsong yang ditempatkan di atas labu dan di bawah kondensor. Pelarut yang sesuai dimasukkan ke dalam labu dan suhu penangas diatur di bawah suhu reflux. Keuntungan dari metode ini adalah proses ekstraksi yang kontinyu, sampel terekstraksi oleh pelarut murni hasil kondensasi sehingga tidak membutuhkan banyak pelarut dan tidak memakan banyak waktu. Kerugiannya adalah senyawa yang bersifat termolabil dapat terdegradasi karena ekstrak yang diperoleh terus-menerus berada pada titik didih (Mukhriani 2014).

5. Ekstrak

Ekstrak adalah hasil penyarian zat-zat aktif atau berkhasiat dari bagian tanaman obat, hewan, dan beberapa jenis ikan termasuk biota laut. Sel tanaman

dan sel hewan berbeda dalam ketebalannya, sehingga diperlukan metode dan pelarut tertentu dalam mengekstraknya untuk mengambil zat aktifnya (Harborne 1987). Ekstrak merupakan sediaan sari pekat tumbuhan atau hewan yang diperoleh dengan cara melepaskan zat aktif dari masing-masing bahan obat menggunakan pelarut yang cocok dan menguapkan semua atau hampir semua pelarutnya dan sisa endapan atau serbuk diatur untuk penetapan standarnya. Sediaan ekstrak dibuat agar kadar zat berkhasiat yang diperoleh dari simplisia tinggi, sehingga memudahkan dalam menentukan dosis (Ansel 1989).

6. Pelarut

Pelarut adalah cairan yang digunakan untuk ekstraksi. Pemilihan pelarut yang akan digunakan sesuai dengan daya larut dari zat aktif, zat yang tidak aktif serta zat yang tidak diinginkan tergantung preparat yang digunakan dari bahan obat tertentu. Pelarut yang biasanya digunakan dalam penelitian adalah air, etanol atau campuran air dan etanol (Ansel 1989).

Pelarut yang biasa digunakan adalah etanol 96% dengan indeks polaritas 4,3 dan titik didih 78°C. Pemilihan etanol sebagai pelarut karena etanol memiliki sifat selektif, kapang dan kuman sulit tumbuh dalam etanol, mempunyai absorpsi yang baik, dapat bercampur dengan air pada segala perbandingan, dan panas yang diperlukan untuk pemekatan lebih sedikit (Depkes 1986).

Pelarut etanol merupakan pelarut yang baik digunakan pada ekstraksi pendahuluan, selain etanol dapat juga digunakan methanol, butanol, air dan lain-lain. Etanol sangat efektif menghasilkan jumlah bahan aktif yang optimal, keuntungan menggunakan pelarut etanol yaitu tidak menyebabkan pembengkakan membran sel dan memperbaiki stabilitas bahan obat terlarut, etanol juga mempunyai sifat yang mampu mengendapkan albumin dan menghambat kerja enzim (Voight 1994).

C. Diabetes Mellitus

Diabetes mellitus (DM) adalah kelompok kelainan metabolik yang ditandai dengan hiperglikemia dan kelainan metabolisme karbohidrat, lemak, dan protein. Ini akibat kelainan pada sekresi insulin, sensitivitas insulin, atau

keduanya. Bisa terjadi komplikasi mikrovaskuler, makrovaskular, dan neuropati kronis (Dipiro *et al.* 2009).

1. Klasifikasi diabetes mellitus

Klasifikasi diabetes mellitus menurut World Health Organization (WHO) adalah:

1.1 Diabetes mellitus tipe 1. Diabetes tipe ini merupakan diabetes yang jarang atau sedikit populasinya, diperkirakan kurang dari 5-10% dari keseluruhan populasi penderita diabetes. Destruksi sel β umumnya menjurus ke arah defisiensi insulin absolut melalui proses imunologik atau idiopatik. Gangguan produksi insulin pada DM tipe 1 umumnya terjadi karena kerusakan sel-sel β pulau Langerhans yang disebabkan oleh reaksi autoimun, selain karena autoimun DM tipe 1 juga ada yang disebabkan oleh virus, diantaranya virus *Cocksakie*, *Rubella*, CMVirus, Herpes, dan lain sebagainya (Depkes 2005). Pengobatan satu-satunya terhadap DM tipe 1 adalah dengan pemberian insulin seumur hidup (Tjay & Rahardja 2007).

Insulin merupakan salah satu hormon di dalam tubuh manusia yang dihasilkan oleh sel β pulau Langerhans yang berada di dalam kelenjar pankreas. Kelenjar pankreas ini terletak di dalam rongga perut bagian atas tepatnya di belakang lambung. Insulin merupakan suatu polipeptida, sehingga dapat juga disebut protein (Dalimartha 2005). Insulin dapat meningkatkan simpanan lemak maupun glukosa (sumber energi) dalam sel sasaran khusus, serta mempengaruhi pertumbuhan sel dan fungsi medan metabolisme berbagai jaringan.

1.2 Diabetes mellitus tipe 2. Diabetes tipe 2 merupakan diabetes yang umumnya banyak diderita oleh masyarakat usia 45 tahun keatas, tetapi sekarang tidak hanya pada usia 45 tahun, diabetes pada anak-anak dan remaja pun prevalensinya semakin meningkat (Depkes 2005). Diabetes tipe 2 ditandai dengan gangguan aksi insulin dan sekresi insulin yang merupakan ciri utama (WHO 1999).

Pada penderita DM tipe 2, terutama yang berada pada tahap awal umumnya dapat dideteksi dengan adanya jumlah insulin yang cukup di dalam darahnya, disamping kadar glukosa yang juga tinggi. Jadi, awal patofisiologis DM

tipe 2 bukan disebabkan oleh kurangnya sekresi insulin, tetapi karena sel-sel sasaran insulin gagal atau tak mampu merespon insulin secara normal. Keadaan ini lazim disebut sebagai “Resistensi Insulin”. Resistensi insulin banyak terjadi sebagai akibat dari obesitas, gaya hidup, kurang gerak atau olahraga, dan penuaan. Selain resistensi insulin, pada penderita DM tipe 2 dapat juga timbul gangguan sekresi insulin dan produksi glukosa hepatic yang berlebihan. Tidak terjadi pengrusakan sel-sel β Langerhans secara autoimun pada DM tipe 2 sebagaimana yang terjadi pada DM tipe 1. Defisiensi fungsi insulin pada penderita DM tipe 2 hanya bersifat relatif, tidak absolut (Depkes 2005). Sebagian besar penderita DM tipe 2 tidak memerlukan insulin eksogen untuk kelangsungan hidupnya, tetapi banyak memerlukan suplemen eksogen dari sekresi endogen untuk mencapai kesehatan yang optimum (Katzung 2002). Penanganan pasien DM tipe 2 umumnya tidak memerlukan terapi pemberian insulin. (Depkes 2005).

1.3 Diabetes mellitus gestasional. Diabetes mellitus gestasional (GDM) adalah keadaan diabetes atau intoleransi glukosa yang timbul selama masa kehamilan, dan biasanya berlangsung hanya sementara atau temporer. Sekitar 4-5% wanita hamil diketahui menderita GDM, dan umumnya terdeteksi pada atau setelah trimester kedua (Depkes 2005). Pada wanita hamil dengan resiko penyakit glukosa reglukosasi glukosa yang ketat sangat penting untuk menurunkan resiko akan keguguran, bayi cacat, dan *overweight* atau kematian perinatal (Tjay & Rahardja 2007)

1.4 Diabetes mellitus lain. Diabetes lain yaitu diabetes yang disebabkan oleh penyakit lain yang berakibat tingginya kadar glukosa dalam darah karena infeksi berat, penggunaan obat-obatan, dan lain-lain.

2. Diagnosis diabetes mellitus

Diagnosis klinis penyakit DM umumnya ada keluhan khas berupa poliuria, polidipsia, polifagia, dan penurunan berat badan yang tidak dapat dijelaskan penyebabnya. Keluhan lain yang mungkin dilaporkan penderita antara lain badan terasa lemah, sering kesemutan, gatal-gatal, mata kabur, disfungsi ereksi pada pria, dan pruritus vulvae pada wanita. Jika pasien memiliki keluhan khas, hasil pemeriksaan kadar glukosa darah sewaktu > 200 mg/dl sudah cukup untuk

menegakkan diagnosis DM. Hasil pemeriksaan kadar glukosa darah puasa > 126 mg/dl juga dapat digunakan sebagai patokan diagnosis (Depkes 2005).

3. Manifestasi klinik diabetes mellitus

Penderita DM tipe 1 biasanya memiliki tubuh yang kurus dan cenderung berkembang menjadi ketoasidosis karena insulin sangat kurang dan disertai peningkatan hormon glukagon. Jumlah pasien yang mengalami ketoasidosis 20-40% setelah beberapa hari mengalami poliuria, polidipsia, polifagia, dan kehilangan berat badan (Sukandar *et al.* 2008)

Pasien DM tipe 2 sering mengalami asimtomatik. Munculnya komplikasi dapat mengindikasikan bahwa pasien telah menderita diabetes mellitus sudah bertahun-tahun, umumnya muncul komplikasi neuropati dan terdeteksi latargi, poliuria, nokturia dan polidipsia, sedangkan penurunan berat badan secara signifikan jarang terjadi (Sukandar *et al.* 2008).

4. Komplikasi diabetes mellitus

Diabetes yang tidak terkontrol dengan baik dapat menimbulkan komplikasi akut dan kronis. Komplikasi yang sering terjadi pada penyakit DM diakibatkan karena kelainan pembuluh darah seperti makro dan mikroangiopati. Timbulnya komplikasi kronis ini memang bukan disebabkan oleh beratnya penyakit DM, tetapi lebih disebabkan oleh lamanya pasien menderita penyakit DM (Dalimartha 2005).

Komplikasi yang biasa diderita pasien diabetes tersebut antara lain berupa penyakit vaskular sistemik (percepatan aterosklerosis), penyakit jantung, penyakit mikrovaskular pada mata sebagai penyebab kebutaan dan degenerasi retina (retinopati diabetik), katarak, kerusakan ginjal sebagai penyebab gagal ginjal serta kerusakan saraf tepi (neuropati diabetik) (Halliwell & Gutteridge 1999). Komplikasi lainnya yang bisa terjadi adalah impotensi pada pria, infeksi *stafilokok* pada kulit (gatal-gatal) dan keluhan *claudication* (penyakit etalase) yang ditunjukkan dengan nyeri dibetis setelah jalan beberapa meter (Tjay & Rahardja 2007). Biasanya begitu diabetes terdeteksi, sindrom ini sudah berkembang dan telah terdapat satu atau dua komplikasi. Luasnya komplikasi pada diabetes tampaknya berkorelasi dengan konsentrasi glukosa darah sehingga

glukosa berlebih diduga menjadi penyebab utama kerusakan jaringan (Rahbani-Nobar *et al.* 1999).

5. Terapi farmakologi diabetes mellitus

Terapi farmakologi dengan obat-obatan antihiperqlikemik oral biasanya lebih ditujukan untuk penderita DM tipe 2 yang tidak dapat dikontrol dengan terapi non farmakologi. Obat hipoglikemik oral dapat digunakan satu jenis atau kombinasi dengan jenis lain tergantung tingkat keparahan serta penyakit penyerta yang mungkin ada pada pasien (Depkes 2005). Berdasarkan mekanisme kerja obat hipoglikemik oral dapat digolongkan menjadi tiga golongan, yaitu:

5.1 Meningkatkan sekresi insulin. Obat-obat yang meningkatkan sekresi insulin, meliputi obat hipoglikemik oral golongan glinida (meglitinida dan turunan fenilalanin) dan sulfonilurea (glibenklamid). Glibenklamid merupakan pengobatan farmakologis lini pertama untuk orang dengan diabetes tipe 2 yang telah gagal dalam diet dan terapi olahraga. Dapat juga digunakan sebagai terapi tambahan pada pasien yang tidak efektif dengan monoterapi (Alldredge *et al.* 2013). Pengobatan dengan glibenklamid dimulai dari dosis rendah (2,5 mg) diberikan pada pagi hari, sedangkan profil mingguan glukosa serum dipantau. Dosis permulaan 1 kali sehari 2,5-5 mg, bila perlu dinaikkan setiap minggu sampai maksimal 2 kali sehari 10 mg (Tjay & Raharja 2002). Mekanisme kerja dari glibenklamid yaitu merangsang pelepasan insulin dari sel β pankreas dan meningkatkan sensitivitas sel β terhadap glukosa. Reseptor sulfonilurea spesifik yang terkait erat dengan saluran ion *ATP-sensitive potassium* yang ada pada sel β . Glibenklamid menghambat saluran ion kalium, sehingga menghalangi efisiensi kalium dan menurunkan potensi membran untuk menyebabkan depolarisasi. Efek samping glibenklamid umumnya ringan dan frekuensinya rendah, antara lain gangguan saluran cerna dan gangguan susunan syaraf pusat. Gangguan saluran cerna berupa mual, diare, sakit perut, hipersekresi asam lambung dan sakit kepala. Gangguan susunan syaraf pusat berupa vertigo, bingung, ataksia dan lain sebagainya (Depkes 2005)

5.2 Sensitiser insulin. Obat-obat yang dapat meningkatkan sensitivitas sel terhadap insulin, meliputi obat-obat hipoglikemik golongan biguanida dan

tiazolidindion yang dapat membantu tubuh untuk memanfaatkan insulin secara lebih efektif.

5.3 Inhibitor katabolisme karbohidrat. Obat yang bekerja dengan menghambat kerja α glukosidase didalam saluran cerna antara lain inhibitor α -glukosidase yang bekerja menghambat absorpsi glukosa dan umum digunakan untuk mengendalikan hiperglikemia post-prandial (*post-meal hyperglycemia*). Disebut juga “starch-blocker” (Depkes 2005).

6. Terapi non farmakologi

6.1 Terapi gizi medis (diet). Terapi gizi medis menurut Depkes (2005) diet yang baik merupakan kunci keberhasilan penatalaksanaan terapi untuk penyakit diabetes mellitus. Diet yang dianjurkan adalah dengan mengkonsumsi makanan dengan komposisi yang seimbang seperti karbohidrat (60-70%), protein (10-15%) dan lemak (20-25%). Jumlah kalori yang dibutuhkan tiap orang berbeda, jumlah kalori biasanya disesuaikan dengan pertumbuhan, umur, status gizi, stress akut dan kegiatan fisik guna mempertahankan berat badan yang ideal. Selain jumlah kalori, pilihan jenis makanan lainnya juga perlu diperhatikan seperti kolestrol tidak lebih dari 300 mg per hari. Sumber lemak yang baik berasal dari lemak nabati yang hanya mengandung sedikit lemak jenuh. Dan disarankan protein diperoleh dari ikan, ayam (bagian dada), tahu dan tempe karena tidak banyak mengandung lemak.

Konsumsi serat juga penting bagi penderita diabetes, setidaknya konsumsi serat 25 g per hari, selain membantu menghambat penyerapan lemak, serat juga membantu mengatasi rasa lapar yang kerap dirasakan penderita diabetes mellitus. Makanan berserat seperti buah dan sayuran juga kaya akan kandungan vitamin dan mineral (Depkes 2005)

6.2 Olahraga. Olahraga secara teratur akan membantu menurunkan dan menjaga kadar glukosa dalam darah dalam keadaan normal. Olahraga yang dilakukan tidak perlu olahraga yang berat, cukup olahraga yang ringan tetapi dilakukan secara teratur dan terus-menerus seperti lari atau jalan pagi, bersepeda, berenang, senam dan sebagainya. Olahraga tidak hanya menurunkan kadar

glukosa dalam darah, tetapi olahraga juga akan membantu meningkatkan aktivitas reseptor insulin dalam tubuh (Depkes 2005)

6.3 Berhenti merokok. Kandungan nikotin yang terdapat pada rokok akan menghasilkan radikal bebas di dalam tubuh dan dapat mempengaruhi penyerapan glukosa oleh sel, akibatnya kadar glukosa dalam darah menjadi meningkat (Tjay & Rahardja 2007).

7. Stress oksidatif pada diabetes mellitus

Stres oksidatif adalah ketidakseimbangan antara radikal bebas dan antioksidan yang dipicu oleh adanya dua kondisi umum yaitu kekurangan antioksidan serta kelebihan produksi radikal bebas. Stres oksidatif bisa menyebabkan kerusakan oksidatif mulai dari tingkat sel, jaringan hingga kerusakan organ tubuh dan munculnya berbagai patogenesis penyakit (Benhar *et al.* 2002).

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

Stres oksidatif dan gangguan pertahanan antioksidan merupakan keistimewaan penyakit DM yang terjadi sejak awal penyakit, stres oksidatif juga memiliki kontribusi pada perburukan dan perkembangan kejadian komplikasi. Beberapa studi mengungkapkan penurunan status antioksidan dalam plasma dan serum sampel dibandingkan kontrol berdasarkan usia. Fenomena ini dapat terjadi sejak anak-anak serta berjalan secara progresif dan memburuk sesuai perjalanan waktu dan berkembangnya komplikasi (Nuttal *et al.* 1999).

D. Antioksidan

Secara umum antioksidan didefinisikan sebagai senyawa yang mampu menunda, memperlambat dan mencegah proses oksidasi lipid. Secara khusus arti

antioksidan adalah senyawa yang mampu menunda atau mencegah terjadinya reaksi oksidasi radikal bebas dalam oksidasi lipid (Kochhar & Rosseli 1990).

Secara biologis, pengertian antioksidan adalah senyawa yang dapat menangkal atau meredam dampak negatif dari oksidan. Secara kimia senyawa antioksidan adalah senyawa yang mendonorkan elektronnya kepada oksidan, sehingga antioksidan mampu menghambat aktivitas senyawa oksidan (Winarti 2010).

Antioksidan merupakan agen yang dapat membatasi efek dari reaksi oksidasi dalam tubuh. Efek yang secara langsung diberikan oleh antioksidan dalam tubuh yaitu mereduksi radikal bebas yang terdapat dalam tubuh dan secara tidak langsung yaitu dengan mencegah terbentuknya radikal di dalam tubuh (Wildman 2001). Antioksidan juga mampu menghambat reaksi oksidasi dengan cara mengikat radikal bebas dan molekul yang sangat reaktif sehingga kerusakan sel dapat dicegah. Reaksi oksidasi dengan radikal bebas sering terjadi dengan molekul asam nukleat, lemak, protein dan polisakarida (Winarsi 2007)

1. Penggolongan antioksidan

Antioksidan berdasarkan fungsi dan mekanisme kerjanya dibagi menjadi:

1.1 Antioksidan primer. Antioksidan primer adalah antioksidan yang sifatnya sebagai pemutus reaksi berantai (*chain-breaking antioxidant*) yang bisa bereaksi dengan radikal-radikal lipid dan bisa mengubahnya menjadi produk yang lebih stabil.

Antioksidan primer bekerja untuk mencegah terbentuknya radikal baru, yaitu mengubah senyawa radikal bebas menjadi senyawa yang dampak negatifnya berkurang sebelum radikal bebas bereaksi. Antioksidan primer mengikuti mekanisme pemutusan rantai reaksi radikal dengan mendonorkan atom hidrogen secara cepat pada senyawa lipid yang radikal, produk yang dihasilkan akan lebih stabil dari produk awal.

Superoksida Dismutase (SOD), *Glutation Peroksidase* (GPx), katalase dan protein pengikat logam adalah contoh antioksidan primer. *Superoksida Dismutase* (SOD), GPx disebut juga dengan antioksidan enzimatis yaitu antioksidan yang

melindungi jaringan dari kerusakan oksidatif yang disebabkan oleh radikal bebas oksigen (Sayuti & Yenrina 2015).

1.2 Antioksidan sekunder. Antioksidan sekunder bekerja sebagai pengkelat logam yang bertindak sebagai pro-oksidan, menangkap radikal dan mencegah terjadinya reaksi berantai. Antioksidan sekunder berperan sebagai pengikat ion-ion logam, penangkap oksigen, pengurai hidroperoksida menjadi senyawa non radikal, menyerap radiasi UV atau deaktivasi singlet oksigen.

Senyawa pengelat logam yang membentuk ikatan-ikatan σ dengan logam sifatnya efektif sebagai antioksidan sekunder karena hanya senyawa ini yang menurunkan potensil redoks dan mampu menstabilkan bentuk teroksidasi dari ion-ion logam.

Asam sitrat, EDTA dan turunan asam fosfat adalah senyawa –senyawa pengkelat ion-ion logam. Asam sitrat yang banyak digunakan pada produk pangan adalah asam sitrat yang lemah, walaupun asam sitrat tersebut lemah, senyawa asam sitrat yang terdapat pada makanan tersebut sangat efektif dalam menghambat kerusakan oksidatif dari lipida dalam bentuk produk pangan. Contoh antioksidan sekunder vitamin E, vitamin C, β -caroten, isoflavin, bilirubin dan albumin (Sayuti & Yenrina 2015).

1.3 Antioksidan tersier. Antioksidan tersier bekerja dengan memperbaiki kerusakan biomolekul yang disebabkan radikal bebas. Contoh antioksidan tersier adalah enzim-enzim yang memperbaiki DNA dan metionin sulfida reduktase (Sayuti & Yenrina 2015).

2. Radikal bebas

Menurut ahli biokimia radikal bebas adalah salah satu senyawa oksigen yang reaktif dan memiliki elektron yang tidak berpasangan. Radikal bebas adalah atom, molekul atau senyawa yang mampu berdiri sendiri yang mempunyai elektron tidak berpasangan, oleh sebab itu radikal bebas sangat reaktif dan tidak stabil. Elektron radikal bebas cenderung akan reaktif untuk mencari pasangan electron, sehingga mudah berikatan atau bereaksi dengan zat lain (protein, DNA dan lemak) dalam tubuh (Winarti 2010).

Tubuh manusia mengandung molekul oksigen yang stabil dan molekul yang tidak stabil. Molekul yang stabil sangat penting untuk memelihara

kehidupan sel, dan radikal bebas dalam jumlah tertentu juga diperlukan untuk kesehatan, akan tetapi radikal bebas bersifat merusak dan sangat berbahaya bagi kesehatan. Fungsi radikal bebas dalam tubuh untuk melawan radang, membunuh bakteri dan mengatur tonus otot polos dalam organ dan pembuluh darah (Giriwijoyo 2004).

3. Mekanisme kerja antioksidan

Antioksidan di dalam tubuh mempunyai mekanisme tertentu dalam aktivitasnya. Tingginya kadar MDA dalam plasma merupakan salah satu indikasi telah terjadi aktivitas oksidasi. Konsumsi antioksidan yang cukup mampu menekan aktivitas oksidasi (Rice-Evans *et al.* 1995). Antioksidan dapat menghentikan proses perusakan sel dengan cara memberikan elektron kepada radikal bebas. Antioksidan akan menetralkan radikal bebas sehingga tidak mempunyai kemampuan mengambil elektron dari sel DNA.

Prinsip kerja antioksidan dalam menghambat ootoksidan pada lemak dapat dilihat sebagai berikut :

Oksigen bebas di udara akan mengoksidasi ikatan rangkap pada asam lemak yang tidak jenuh. Kemudian radikal bebas yang terbentuk akan bereaksi dengan oksigen sehingga akan menghasilkan peroksida aktif (Sayuti & Yenrina 2015).

Suatu asam lemak yang terdapat dalam minyak tidak mengandung antioksidan, maka peroksida aktif akan bereaksi dengan ikatan rangkap lemak. Peroksida aktif ditambah satu antioksidan, maka akan bereaksi dengan antioksidan tersebut sehingga pembentukan radikal bebas dapat dihentikan dengan penambahan antioksidan. Mekanisme antioksidan primer adalah dengan cara mencegah pembentukan senyawa radikal bebas baru atau mengubah radikal bebas yang telah terbentuk menjadi lebih stabil dan kurang reaktif dengan cara memutus reaksi berantai (polimerisasi) atau dikenal dengan istilah *chain-breaking antioxidant* (Winarsi 2007).

Mekanisme kerja antioksidan sekunder adalah dengan cara memotong reaksi oksidasi berantai dari radikal bebas atau dengan cara menangkap radikal bebas (*free radical scavenger*), akibatnya radikal bebas tidak akan bereaksi

dengan komponen seluler. Antioksidan sekunder ini bekerja dengan satu atau lebih mekanisme seperti memberikan suasana asam pada medium (sistem makanan), meregenerasi antioksidan utama, mengkelat atau mendeaktifkan kontaminan logam prooksidan, menangkap oksigen dan mengikat singlet oksigen dan mengubahnya ke bentuk triplet oksigen (Sayuti & Yenrina 2015).

Mekanisme antioksidan dalam menghambat oksidasi atau menghentikan reaksi berantai pada radikal bebas dari lemak yang teroksidasi dapat disebabkan oleh 4 macam reaksi yaitu pelepasan hidrogen dari antioksidan, pelepasan elektron dari antioksidan, penambahan lemak ke dalam cincin aromatik pada antioksidan, pembentukan senyawa kompleks antara lemak dan cincin aromatik dari antioksidan (Ketaren 1986).

Pada antioksidan tersier enzim-enzim tersebut berfungsi dalam perbaikan biomolekuler yang rusak akibat aktivitas radikal bebas. Kerusakan DNA akibat radikal bebas dapat dicirikan oleh rusaknya *single* atau *double strand* pada gugus basa dan non-basa (Winarsi 2007).

E. Malondialdehid (MDA)

Malondialdehid adalah ketoaldehid fisiologis yang dihasilkan oleh dekomposisi peroksidatif lipida tak jenuh sebagai produk sampingan dari metabolisme arakidonat. Tingginya kadar MDA dalam plasma, merupakan ukuran di mana terjadi peningkatan radikal bebas dan penurunan antioksidan dalam tubuh. MDA bersifat toksin terhadap sel dan dapat menimbulkan perubahan pada DNA bahkan sampai oksidasi lesi mutagenik (Dalle-Donne *et al.* 2006; Winarsih 2011).

1. Pengukuran kadar MDA

Radikal bebas memiliki waktu paruh yang sangat pendek sehingga sulit diukur dalam laboratorium. Kerusakan jaringan lipid akibat ROS dapat diperiksa dengan mengukur senyawa MDA yang merupakan produk peroksidasi lipid. Produksi ROS secara tidak langsung dinilai dengan kadar peroksidasi lipid.

Pengukuran kadar MDA serum dapat dilakukan melalui beberapa cara, yaitu sebagai berikut :

1.1 Tes thiobarbituric acid-reactive substance. Dasar pemeriksaan adalah reaksi spektrofotometrik sederhana, dimana satu molekul MDA akan terpecah menjadi 2 molekul 2-asam thiobarbiturat. Reaksi ini berjalan pada pH 2-3. TBA akan memberikan warna pink-chromogen yang dapat diperiksa secara spektrofotometrik.

Tes TBA selain mengukur kadar MDA yang terbentuk karena proses peroksidasi lipid juga mengukur produk aldehid lainnya termasuk produk non-volatil yang terjadi akibat panas yang ditimbulkan pada saat pengukuran kadar MDA serum yang sebenarnya. Kadar MDA dapat diperiksa baik di plasma, jaringan maupun urin (Arkhaesi 2008). Beberapa metode pengukuran TBA adalah sebagai berikut :

1.1.1 Pengukuran reaksi TBA dengan metode kolorimetri. Pengukuran reaksi TBA dengan metode kolorimetri dengan spektrofotometer merupakan kadar MDA yang paling sering dilakukan. Metode yang digunakan adalah metode Yagi. Metode ini mudah dilakukan akan tetapi bersifat tidak spesifik oleh karena mengukur produk aldehid lainnya (Dalle-Donne *et al.* 2006).

1.1.2 Pengukuran reaksi TBA dengan metode fluorosens. Metode ini memiliki keunggulukan dibanding metode kolorimetri oleh karena tidak terganggu oleh beberapa substansi produk reaksi TBA yang larut air. Pemeriksaan dilakukan dengan metode spektrofluorometri (Arkhaesi 2008).

1.2 Pengukuran MDA-TBA dengan HPLC (*High Performance Liquid Chromatography*). Metode ini secara spesifik dapat mengukur kompleks MDA-TBA, sehingga pengukuran kadar MDA lebih akurat. Metode ini membutuhkan kondisi asam dengan suhu tinggi sehingga tetap ada kemungkinan terbentuknya MDA yang bukan karena peroksidasi lipid (Arkhaesi 2008).

1.3 Pengukuran kadar MDA serum bebas dengan metode HPLC (*High Performance Liquid Chromatography*). Metode pengukuran kadar MDA serum yang paling sensitif dan spesifik. MDA bukan produk yang spesifik dari proses peroksidasi lipid sehingga dapat menimbulkan positif palsu yang berakibat

nilai duga positif yang rendah, dan telah dilaporkan dapat meningkatkan spesifisitas pada pemeriksaan kadar MDA serum (Arkhaesi 2008).

F. Uji Antidiabetes

1. Metode uji induksi zat diabetogenik

1.1 Induksi aloksan. Aloksan merupakan suatu substrat yang secara struktural merupakan derivat pirimidin sederhana. Aloksan murni diperoleh dari oksidasi asam urat oleh asam nitrat. Aloksan adalah senyawa kimia tidak stabil dan senyawa hidrofilik. Waktu paruh aloksan pada pH 7,4 dan suhu 37° C adalah 1,5 menit. Aloksan merupakan bahan kimia yang digunakan untuk menginduksi diabetes pada binatang percobaan. Aloksan bersifat toksik selektif terhadap sel β pankreas yang memproduksi insulin karena terakumulasinya aloksan secara khusus melalui transporter glukosa yaitu GLUT2. Aloksan bereaksi dengan merusak substansi esensial di dalam sel β pankreas sehingga menyebabkan berkurangnya granula – granula pembawa insulin di dalam sel β pankreas. Sehingga pemberian aloksan adalah cara yang cepat untuk menghasilkan kondisi diabetik eksperimental (hiperglikemik) pada binatang percobaan (Yuriska 2009).

Metode induksi aloksan bisa digunakan untuk semua hewan percobaan dengan dosis 140-180 mg/kg bb (umumnya 150 mg/kg bb) yang disuntikkan secara intravena ke vena telinga kelinci atau secara intraperitoneal untuk tikus. Sebelum hewan uji diinduksi aloksan, hewan uji dipuasakan selama 18 jam, setelah dipuasakan hewan uji disuntikkan aloksan 150 mg/kg bb untuk menginduksi hiperglikemia pada tikus percobaan. Setelah disuntikkan aloksan pantau kadar glukosa darah pada hewan uji menggunakan glucometer (Etuk 2010).

1.2 Induksi streptozotocin. Streptozotocin (STZ) digunakan untuk menginduksi DM tipe 1 atau DM tipe 2 pada hewan uji (Szkudelski 2001). Pada tikus dan anjing, STZ dosis 50 mg/kg secara IV dapat menginduksi DM sedangkan dosis 40 mg/kg berulang secara IP dapat menginduksi DM tipe 1 (Martindale 1989). Pemberian dosis tinggi dilaporkan banyak menyebabkan kematian pada minggu pertama setelah pemberian karena kerusakan sel beta

pankreas secara menyeluruh yang mengakibatkan kenaikan glukosa dalam darah tidak terkendali, sedangkan pada pemberian dosis kecil kerusakan sel beta pankreas hanya sebagian sehingga memungkinkan hewan uji bertahan lama dan memudahkan pengamatan terhadap kelainan kronis lainnya (Zulkarnain 2013).

2. Metode uji toleransi glukosa.

Prinsip metode uji toleransi glukosa yaitu kelinci dipuasakan selama 20-24 jam, diberikan larutan glukosa peroral setengah jam setelah pemberian larutan uji. Pada awal percobaan sebelum pemberian sediaan uji, dilakukan pengambilan cuplikan darah vena dari masing-masing kelinci sebanyak 0,5 ml sebagai kadar glukosa darah awal. Pengambilan cuplikan darah vena diulangi setelah perlakuan pada waktu-waktu tertentu (Depkes 1993).

3. Metode uji resistensi insulin

Prinsip dari metode ini yaitu induksi diabetes dilakukan pada mencit yang diinduksi obesitas dengan pemberian pakan kaya lemak dan karbohidrat serta asupan glukosa tinggi dilakukan sampai terjadinya peningkatan kadar glukosa darah yang dapat terjadi dalam waktu 4 minggu. Pada kondisi demikian mencit diasumsikan sudah mengalami resistensi insulin pemeriksaan untuk melihat sensitivitas insulin dilakukan dengan cara mencit dipuasakan selama 5 jam kemudian larutan insulin diinjeksikan secara intraperitoneal dengan dosis 0,75 U/kgbb (Lian *et al.* 2007). Kadar glukosa dipantau setiap 15-30 menit selama 60-90 menit setelah insulin diinjeksikan dengan menggunakan glucometer (Ayala *et al.* 2010).

G. Metode Analisa Kadar Glukosa Darah

Metode analisa kadar glukosa darah ada beberapa macam, berikut ini metode-metode analisa glukosa darah yaitu :

1. Metode analisa glukosa darah dengan alat glucometer

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

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

Prinsip glukometer yaitu sampel darah akan masuk ke dalam strip melalui aksi kapiler. Glukosa yang ada dalam darah akan bereaksi dengan glukosa oksidase dan kalium ferisianida yang ada dalam strip dan akan dihasilkan kalium 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.

β -D-Glukosa + kalium ferisianida $\xrightarrow{\text{glukosa}}$ oksidase as. Glukonat + Kalium ferisianida

Kalium ferisianida $\xrightarrow{\text{oksidasi}}$ kalium ferisianida + e⁻ (Linghuat 2008).

2. Metode GLUC-DH (*Glucose dehydrogenase*)

GLUC-DH adalah sebuah metode rutin enzimatik yang dibedakan dari yang lain oleh kespesifikannya yang tinggi, kepraktisan dan keluwesannya. Pengukuran dilakukan pada daerah UV. Prinsip metode ini adalah glucose dehydrogenase mengkatalisa oksidasi dari glucose menurut persamaan berikut :

3-D-Glukose + NAD $\xrightarrow{\text{Gluc.,DH}}$ D-Glukonolactone + NADH + H⁺ + (1) Metode

Gluc-DH dapat digunakan pada bahan sampel yang dideproteinisasi atau yang tidak dideproteinisasi, serta untuk hemolisate (Merck 1987).

3. Metode GOD-PAP

Metode GOD-PAP yaitu reaksi kolorimetrik-enzimetik untuk pengukuran pada daerah cahaya yang terlihat oleh mata. Prinsip dari metode ini adalah glucose oxidase (GOD) mengkatalisa oksidasi dari glucose menurut persamaan berikut :

Glukosa + O₂ + H₂O $\xrightarrow{\text{GOD}}$ asam glukonat + H₂O₂ (2) Hidrogen peroksida yang

terbentuk bereaksi dengan 4-aminoantipyrin dan 2,4-dichlorohenol dengan adanya peroxidase (POD) dan menghasilkan antipirylquinonimine, yaitu suatu zat warna merah. Jumlah zat warna yang terbentuk ini sebanding dengan konsentrasi glukosa (Merck 1987).

H. Hewan Uji

1. Sistematika hewan uji

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

Dunia	: Animalia
Filum	: Chordata
Sub Filum	: Vertebrata
Classis	: Mamalia
Sub classis	: Placentalia
Ordo	: Rodentia
Subordo	: Sciurognathi
Familia	: Muridae
Genus	: Rattus
Species	: <i>Rattus norvegicus</i> .

2. Karakteristik utama tikus putih

Tikus sering digunakan pada berbagai macam penelitian medis. Tikus putih pada umumnya tenang, mudah untuk ditangani dan tidak begitu fobia. Tikus putih akan menjadi galak apabila mendapat perlakuan kasar dan sering menyerang pemegang (Sugiyanto 1995).

Tikus putih sering digunakan dalam penelitian karena memiliki beberapa kelebihan antara lain: dalam populasi sangat banyak tikus putih mudah dipelihara, berkembang biak dengan pesat, dan memiliki ukuran yang lebih besar dengan tikus, sehingga untuk beberapa penelitian penggunaan tikus lebih menguntungkan (Sharp *et al.* 1998).

3. Kondisi ruangan dan pemeliharaan hewan uji

Suhu 22°C (\pm 30°C) merupakan suhu yang digunakan untuk hewan pengerat, sedangkan untuk penerangannya adalah 12 jam terang dan 12 jam gelap. Hewan dikelompokkan dalam kandang berdasarkan jenis kelamin. Ukuran kandang yang digunakan sesuai dengan jumlah hewan perkandang (Lu 1995). Ukuran kandang dapat disesuaikan dengan jumlah hewan tikus (berat 200-300 g) luas kandang 148,4 cm², tinggi 17,8 cm (BPOM 2014).

4. Cara pemegangan dan penandaan hewan uji

Pemegangan dilakukan dengan cara mengangkat pangkal ekor dengan menggunakan tangan kanan, lalu tikus diletakkan diatas permukaan kasar atau kawat. Tangan kiri diletakkan diatas punggung tikus kearah kepala. Kepala tikus diletakan diantara ibu jari dan jari tengah, kemudian jari manis dan kelingking disekitar perut sehingga kaki depa kiri dan kanan terselip diantara jari-jari (Harmita & Radji 2005).

Penandaan hewan uji dilakukan dengan cara memberikan larutan asam pikrat 10% dalam alkohol. Tujuan penandaan hewan uji dilakukan untuk membedakan antara hewan satu dengan hewan yang lainnya. Penandaan biasanya dilakukan pada bagian kepala, punggung, ekor, serta kaki (BPOM 2014).

5. Pemberian sediaan uji

Pada penelitian ini, hewan uji diberikan sediaan secara peroral dengan sonde lambung yaitu alat suntik berupa *sput* oral berujung tumpul. *Sput* diisi dengan sediaan uji kemudian tikus dipegang dibagian tengkuk dan ekor dijepit dengan jari manis dan jari kelingking. Ujung sonde lambung dimasukkan sampai rongga tekak dan sediaan uji disuntikkan perlahan, atau sediaan uji dapat juga disemprotkan diantara gigi dan pipi bagian dalam hingga tikus bisa menelan sendiri (Permatasari 2012).

I. Landasan Teori

Tanaman buncis (*Phaseolus vulgaris* L.) berkhasiat sebagai tambahan pada pengobatan kanker payudara dan nasofaring, suplemen pada kemoterapi dan radioterapi, busung air dan juga biri-biri (Wijayakusuma 2005). Buncis juga berkhasiat meluruhkan kencing (diuretik), mengeluarkan racun, menurunkan tekanan darah tinggi (hipertensi), dan menurunkan kadar glukosa darah (hipoglikemi) (Dalimartha 2008).

Kandungan kimia dari buncis meliputi phytohemagglutinin (PHA), stigmasterol, sitosterol, campesterol, glukoprotein, tripsin inhibitor, allantoin dan inositol (Wijayakusuma 2005). Kulit biji buncis mengandung luecopelargonidin,

leucocyanidin, leucodelphinidin, kaempferol, quercetin, myricetin, pelargonidin, cyanidin, dan malvidin. Cotyledon dan hypocotyl mengandung PHA, campesterol, stigmasterol, dan sitosterol (Dalimartha 2008). Stigmasterol dan sitosterol yang terdapat dalam kandungan buncis mampu merangsang pankreas untuk memproduksi insulin (Perdana *et al.* 2010). Penelitian lain yang dilakukan Nugrahani *et al.* (2016) juga melaporkan ekstrak buncis mengandung komponen senyawa polifenol seperti saponin, alkaloid, fenol, triterpenoid, dan flavonoid. Flavonoid memiliki aktivitas sebagai antioksidan yang mampu melindungi pankreas dari kerusakan akibat radikal bebas, juga dapat meningkatkan sensitivitas insulin dan juga berfungsi sebagai *α -amylase inhibitor*. Aktivitas antioksidan dari senyawa flavanoid dalam kandungan buncis dapat menekan apoptosis sel beta tanpa mengubah proliferasi dari sel beta pankreas yaitu dengan mengikat radikal bebas sehingga dapat mengurangi resistensi insulin. Antioksidan dapat menurunkan *Reactive Oxygen Spesies* (ROS) (Oktarlina & Rachmawani 2017).

Pada penelitian sebelumnya yang dilakukan Andayani (2003) menyatakan bahwa ekstrak etanol buncis 300 mg/kg bb tikus memiliki efek antihiperqlikemi lebih lama dibanding ekstrak kloroform buncis dengan dosis yang sama. Penelitian lain yang dilakukan Luka *et al.* (2013) melaporkan bahwa ekstrak buncis dengan dosis 400 mg/kg bb mampu menurunkan kadar glukosa darah dengan cara merangsang sel β pankreas untuk menghasilkan lebih banyak insulin. Aktivitas hipoglikemi karena adanya kandungan alkaloid, saponin, flavonoid, dan terpenoid. Terpenoid dilaporkan sebagai komponen bioaktif yang bertanggung jawab pada aktivitas antidiabetes pada beberapa tanaman. Putra (2013) melakukan penelitian yang menyatakan bahwa ekstrak etanol buncis 300 mg/kg bb mencit memiliki khasiat sebagai antidiabetes karena kandungan zat aktif, dosis pada penelitian Putra (2013) akan digunakan sebagai dosis literatur dalam penelitian ini yang akan dikonversikan ke dosis untuk tikus yaitu sebesar 210 mg/kg bb.

Pengujian aktivitas antidiabetes dan antioksidan dapat dilakukan secara *in vivo*. Pengujian antioksidan secara *in vivo* dilakukan dengan melihat status kadar glukosa darah dan kadar malondialdehid pada jaringan pankreas tikus diabetes

yang diinduksi oleh aloksan. Malondialdehid (MDA) adalah senyawa aldehid yang merupakan produk akhir peroksidasi lemak tak jenuh dalam tubuh oleh radikal bebas. Tingginya kadar MDA dalam tubuh, merupakan tanda dimana terjadi peningkatan radikal bebas dan penurunan antioksidan dalam tubuh.

J. Hipotesis

Berdasarkan landasan teori dapat diambil kesimpulan untuk menyusun hipotesis dalam melaksanakan penelitian ini adalah sebagai berikut:

Pertama, ekstrak etanol buah buncis dapat menurunkan kadar glukosa darah pada tikus diabetes yang diinduksi aloksan.

Kedua, ekstrak etanol buah buncis dapat menurunkan kadar malondialdehid pada tikus diabetes yang diinduksi aloksan.

Ketiga, ekstrak etanol buah buncis 210 mg/kg bb mampu menurunkan kadar glukosa darah dan kadar malondialdehid pada tikus diabetes yang diinduksi aloksan.

BAB III

METODE PENELITIAN

A. Populasi dan sampel

1. Populasi

Populasi adalah semua obyek yang menjadi sasaran penelitian. Populasi pada penelitian ini adalah buah buncis yang diperoleh dari daerah Tawangmangu, Jawa Tengah.

2. Sampel

Sampel adalah sebagian kecil dari populasi yang digunakan dalam melakukan penelitian. Sampel yang digunakan dalam penelitian ini adalah buah buncis yang diambil secara acak berwarna hijau, umur 52-54 hari setelah ditanaman, masih segar dan tidak rusak yang diperoleh pada bulan Februari 2018 dari daerah Tawangmangu, Jawa Tengah.

B. Variabel penelitian

1. Identifikasi variabel utama

Variabel utama pertama pada penelitian ini adalah ekstrak etanol buah buncis (*Phaseolus vulgaris* L.) dalam berbagai variasi dosis yang diperoleh dari hasil maserasi dengan etanol. Variabel utama kedua pada penelitian ini adalah aktivitas penurunan kadar glukosa darah dan kadar MDA ekstrak etanol buah buncis. Variabel utama ketiga pada penelitian ini adalah hewan uji tikus putih jantan.

2. Klasifikasi variabel utama

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

Variabel bebas adalah variabel yang diteliti pengaruhnya terhadap variabel tergantung. Variabel bebas pada penelitian ini adalah ekstrak etanol buah buncis (*Phaseolus vulgaris* L.) dalam berbagai dosis yang diberikan pada tikus putih jantan.

Variabel tergantung pada penelitian ini adalah kadar glukosa darah dan kadar MDA pada tikus setelah pemberian ekstrak etanol buah buncis (*Phaseolus vulgaris* L.) dengan dosis yang berbeda-beda. Variabel tergantung merupakan variabel akibat dari variabel utama, variabel tergantung dalam penelitian ini adalah selisih penurunan kadar glukosa darah pada hewan uji sesudah dan sebelum diberi perlakuan.

Variabel terkendali 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 terkendali pada penelitian ini adalah metode ekstraksi buah buncis, kondisi fisik hewan uji meliputi berat badan tikus, galur, jenis kelamin, kondisi percobaan, laboratorium, zat penginduksi, dan peneliti.

3. Definisi operasional variabel utama

Pertama, buah buncis adalah seluruh buah pada tanaman buncis yang segar, berwarna hijau, tidak terlalu tua dan tidak terlalu muda dan tidak rusak

Kedua, serbuk adalah simplisia kering buah buncis yang dihaluskan dengan penggiling dan diayak dengan pengayak ukuran mesh 40,

Ketiga, ekstrak etanol buah buncis adalah cairan hasil dari penarikan sari dari buah buncis dengan cara maserasi menggunakan pelarut etanol 96%, kemudian diuapkan dengan evaporator untuk mendapatkan ekstrak kental.

Keempat, hewan uji yang dipakai adalah tikus jantan galur wistar dengan berat badan 150-200 g.

Kelima, glibenklamid yang digunakan adalah glibenklamid konvensional.

Keenam, aloksan adalah bahan yang diberikan secara intra peritoneal untuk merusak sel β pankreas pulau Langerhans yang fungsinya menghasilkan insulin sehingga terjadi diabetes.

Ketujuh, kadar glukosa darah adalah kadar glukosa dalam darah yang diambil melalui vena ekor tikus dan ditetapkan dengan alat glukometer dalam satuan mg/dl.

Kedelapan, kadar MDA adalah kadar MDA yang diamati kadarnya pada hati tikus yang telah dipreparasi.

C. Bahan, alat dan hewan uji

1. Bahan

1.1 Bahan sampel. Bahan sampel yang digunakan pada penelitian ini adalah buah buncis (*Phaseolus vulgaris* L.) yang diperoleh dari daerah Tawangmangu, Jawa Tengah.

1.2 Bahan kimia. Bahan kimia yang digunakan pada penelitian ini adalah etanol 96% sebagai larutan penyari. Bahan untuk uji farmakologi digunakan aloksan monohidrat, glibenklamid, CMC Na 0,5%, larutan fisiologis (NaCl 0,9%). Bahan untuk uji identifikasi senyawa tanaman antara pereaksi Dragendroff, ammonia pekat, asam sulfat, pereaksi Mayer, serbuk magnesium, asam klorida, alkohol, dan asam asetat.

2. Alat

Alat untuk membuat simplisia yaitu oven dengan suhu rendah dan konstan, mesin penggiling dan ayakan no. 40, Alat penyari yang digunakan adalah seperangkat alat maserasi, evaporator, kain flannel, neraca elektrik, pipet, tabung reaksi, *beaker glass*. Alat untuk perlakuan hewan uji adalah timbangan analitik, jarum oral, spuit injeksi 1.0 ml merck, pipa kapiler, gelas ukur dan *beaker glass*.

3. Hewan uji

Hewan uji yang digunakan pada penelitian ini adalah tikus putih galur wistar kelamin jantan, umur 2-3 bulan dengan berat badan rata-rata 150-200 g sebanyak 30 ekor. Pengelompokan dilakukan secara acak masing-masing 5 ekor per kelompok. Semua tikus dipelihara dengan cara yang sama, mendapat diet yang sama, ukuran kandang yang sesuai dengan temperature $30\pm 10^{\circ}\text{C}$.

Penerangan diatur dengan siklus 12 jam terang dan 12 jam gelap. Selama penelitian kebutuhan makanan dan minuman harus selalu terkontrol agar mencegah kematian tikus terutama saat diinduksi aloksan untuk membuat tikus diabetes.

D. Jalannya Penelitian

1. Determinasi buah buncis

Tahap pertama yang dilakukan dalam penelitian ini adalah melakukan determinasi tanaman untuk menetapkan kebenaran sampel tanaman berkaitan dengan ciri-ciri mikroskopis dan makroskopis, serta ciri-ciri morfologis yang ada pada tanaman terhadap pustaka yang dilakukan di laboratorium biologi Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam (MIPA) Universitas Sebelas Maret.

2. Pengambilan sampel dan pembuatan serbuk buah buncis

Sampel yang digunakan dalam penelitian ini adalah buah buncis segar, tidak rusak, dan dipanen pada umur 52-54 hari setelah ditanam yang diperoleh pada bulan Februari dari Tawangmangu, Jawa Tengah.

Dicuci buah buncis untuk membersihkan kotoran atau bahan asing lainnya yang menempel pada buncis. Buah buncis dikeringkan dengan cara di oven atau dijemur langsung di bawah sinar matahari dengan ditutupi kain hitam yang bertujuan untuk mengurangi kadar air dan mendapatkan simplisia yang tidak mudah rusak sehingga dapat disimpan dalam waktu yang lama. Setelah itu dibuat serbuk dengan cara digiling, lalu diayak dengan ayakan nomor mesh 40, kemudian dilakukan perhitungan persentase bobot kering terhadap bobot basah.

3. Penetapan kadar air

Penetapan kadar air buah buncis dilakukan dengan cara menimbang serbuk buah buncis sebanyak 20 gram dimasukkan ke dalam labu destilasi dan ditambahkan pelarut sampai serbuk terendam, kemudian memasang alat *Sterling-Bidwell*. Tahap selanjutnya dipanaskan, pemanasan dihentikan bila air pada penampung tidak menetes lagi (kurang lebih 1 jam), kemudian diukur kadar airnya dengan melihat volume pada skala alat tersebut dan dihitung % air dari berat sampel (Sudarmadji *et al.* 1997)

4. Pembuatan ekstrak etanol buah buncis

Pada penelitian ini ekstrak etanol buah buncis dilakukan dengan metode maserasi. Serbuk simplisia buah buncis diekstraksi menggunakan pelarut etanol 96%, dengan cara merendam serbuk simplisia buah buncis dengan pelarut etanol 96% dengan perbandingan 1 : 10, Rendam selama 6 jam pertama sambil sekali-

sekali diaduk, kemudian didiamkan selama 18 jam. Maserat dipisahkan dengan cara filtrasi. Proses diulangi sekurang-kurangnya satu kali dengan setengah dari jumlah pelarut awal (Kemenkes 2010).

5. Identifikasi senyawa kimia berdasarkan warna

5.1 Identifikasi alkaloid. Sebanyak 1 gram sampel dimasukkan dalam tabung reaksi dan ditambah dengan 5 tetes amonia pekat. Setelah itu, disaring kemudian ditambah 2 ml asam sulfat 2N dan dikocok hingga memberi lapisan atas dan bawah. Larutan dibagi menjadi 3 bagian, pada tabung pertama ditambahkan 1 tetes larutan mayer, adanya alkaloid ditandai dengan terbentuknya endapan putih keruh, jika pada tabung kedua ditambah 1 tetes pereaksi *Dragendorf* dan terbentuknya endapan menandakan adanya alkaloid (Harborne 1987).

5.2 Identifikasi senyawa flavonoid. Sejumlah tertentu ekstrak dilembabkan dengan 100 ml air panas kemudian dididihkan selama 5 menit, saring dan ambil filtratnya 5 ml masukkan ke dalam tabung reaksi tambahkan serbuk magnesium secukupnya, 1 ml asam klorida dan 2 ml amil alkohol, dikocok kuat-kuat kemudian dibiarkan memisah. Terbentuknya warna merah/kuning/jingga pada lapisan amil alkohol menunjukkan positif flavonoid (Sarker 2006).

5.3 Identifikasi saponin. Sebanyak 0,05 gram serbuk dan ekstrak ditambah air kemudian dididihkan selama beberapa menit. Larutan disaring dan filtratnya dikocok kuat-kuat. Timbulnya buih yang stabil selama 10 menit setelah pengocokkan menunjukkan terdapatnya saponin (Depkes 1995).

5.4 Identifikasi steroid. Sejumlah tertentu ekstrak ditambahkan dengan satu tetes Liebermann Bouchard yang terdiri dari 1 ml asam asetat anhidrat dan asam sulfat pekat 1 tetes. Terbentuk warna merah berubah menjadi hijau, ungu dan terakhir biru, menunjukkan positif steroid dan triterpenoid (Sarker 2006).

6. Uji bebas alkohol ekstrak etanol buah buncis

Uji bebas alkohol ekstrak etanol buah buncis dilakukan dengan cara esterifikasi alkohol dimana ekstrak etanol buah buncis ditambahkan asam asetat dan asam sulfat pekat kemudian dipanaskan, bila tidak terdapat bau ester berarti pada ekstrak sudah tidak terdapat alkohol (Depkes 1993).

7. Pembuatan larutan uji

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

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

7.3 Larutan garam fisiologis. Larutan fisiologis 0,9% dibuat dengan cara melarutkan 0,9 g NaCl dalam air suling pada volume 100 ml.

7.4 Larutan aloksan monohidrat. Larutan aloksan monohidrat adalah larutan yang digunakan sebagai penginduksi diabetes. Dibuat dengan cara melarutkan aloksan monohidrat 1.5 g dalam larutan garam fisiologis 0,9% pada volume 100 ml.

7.5 Larutan ekstrak buah buncis. Banyaknya ekstrak buah buncis yang akan digunakan, dihitung berdasarkan berat tikus dari masing-masing tikus, kemudian ditambahkan dalam suspensi CMC Na 0,5% yang sudah dikembangkan dan diaduk hingga homogen.

8. Penentuan dosis

8.1 Penentuan dosis glibenklamid. Dosis glibenklamid dihitung dari dosis lazim yang biasa digunakan penderita diabetes mellitus. Dari dosis lazim yang biasa digunakan untuk manusia diubah ke dosis untuk tikus dengan faktor konverensi. Faktor konversi manusia dengan berat badan 70 kg ke tikus dengan berat badan 200 g adalah 0,018. Dosis terapi glibenklamid untuk manusia 70 kg adalah 5 mg. dosis untuk tikus (sekitar 200 g) adalah 5 mg dikali 0,018 sehingga didapatkan 0,09 mg.

8.2 Dosis sediaan uji. Dosis sediaan uji yang diberikan sesuai dengan literatur. Dosis sediaan uji dibuat menjadi 3 variasi dosis ekstrak etanol buah buncis yaitu 105 mg/kg bb, 210 mg/kg bb dan 420 mg/kg bb.

8.3 Dosis aloksan monohidrat. Dosis aloksan yang digunakan untuk membuat tikus diabetes adalah 150 mg/kg bb secara injeksi intraperitoneal (Sujono & Sutrisna 2010). Tikus yang digunakan adalah tikus yang memiliki berat sekitar 200 g, sehingga didapatkan dosis aloksan yang digunakan pada penelitian ini adalah 150 mg/kg bb tikus.

9. Perlakuan hewan uji

Pengujian dilakukan dengan metode induksi aloksan secara injeksi intraperitoneal terhadap 6 kelompok tikus. Tikus ditimbang dan masing-masing diberi tanda pengenalan, tikus yang digunakan sebanyak 30 ekor. Semua tikus dipuasakan terlebih dahulu selama 18 jam dan diperiksa kadar glukosa darah awalnya dan diinduksi dengan aloksan kecuali pada tikus kelompok I sebagai kontrol negatif pada penelitian ini. Induksi aloksan dengan dosis 150 mg/kg bb tikus, kemudian dilihat kadar glukosa darahnya pada hari ke 3. Darah diambil dari *Plexus Retroorbitalis* melalui mata hewan uji. Jika kadar glukosa darah lebih dari 200 mg/dl maka tikus dikatakan sudah diabetes. Pemberian sediaan uji secara peroral selama 14 hari pada kelompok tikus. Kemudian diukur kadar glukosa darahnya pada hari ke 7 dan hari ke 14 setelah pemberian sediaan uji. Tikus dibagi menjadi 6 kelompok secara acak, masing-masing kelompok terdiri dari 5 ekor.

Kelompok I = Kontrol normal (hanya diberi makan dan minum)

Kelompok II = Kontrol negatif (CMC)

Kelompok III = Kontrol positif (glibenklamid 0,09 mg/200 gbb)

Kelompok IV = Ekstrak etanol buah buncis dosis 105 mg/kg bb

Kelompok V = Ekstrak etanol buah buncis dosis 210 mg/kg bb

Kelompok VI = Ekstrak etanol buah buncis dosis 420 mg/kg bb

10. Pengorbanan hewan uji

Pada akhir penelitian, hewan uji dikorbankan dan langsung segera dibedah untuk dilakukan pengambilan organ hati yang dilakukan pada hari ke-15. Hewan uji dianestesi terlebih dahulu untuk mengurangi rasa sakit dengan metode inhalasi dengan menuangkan dietil eter kedalam toples tertutup yang berisi kapas, kemudian setelah beberapa saat dimasukkan tikus kedalam toples yang berisi dietil eter, setelah tikus sudah tidak sadar dislokasi leher tikus kemudian

dilakukan pembedahan. Pembedahan dimulai dengan merebahkan tikus dengan rebah dorsal pada papan pembedahan. Keempat kaki tikus difiksasi menggunakan jarum. Pembedahan dilakukan dengan mengincisi peritoneum. Incisi dilakukan selebar mungkin untuk memudahkan pengambilan organ. Hati terletak di bagian dextra abdomen. Hati terlihat berwarna merah bata dan berlobus-lobus. Organ hati diambil dan dicuci dengan larutan NaCl-fisiologis 0,9% kemudian dimasukkan ke dalam formalin 10% untuk pengukuran kadar MDA.

11. Perlakuan hewan uji pasca bedah

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

12. Pengukuran kadar glukosa darah

Pengukuran kadar glukosa darah dilakukan sebelum diinduksi aloksan (T_0), 3 hari setelah diinduksi aloksan (T_1), hari ke-7 (T_2) dan hari ke-14 (T_3) setelah pemberian sediaan uji. Pengukuran kadar glukosa darah dengan metode GOD-PAP. Darah sebanyak 0,5 ml ditampung di dalam tabung ependorf kemudian disentrifugasi dengan kecepatan 4.000 rpm selama 15 menit agar didapatkan serum. Serum (bagian bening) sebanyak 10 μ l ditambah reagen GOD-PAP sebanyak 1000 μ l. Larutan diinkubasi pada suhu ruang selama 20 menit, kemudian diukur dengan menggunakan Spektrofotometer UV-Vis.

Tabel 1. Pengukuran kadar glukosa

	Sampel	Standart	Blanko
Aquades	-	-	10 μ l
Sampel	10 μ l	-	-
Standart	-	10 μ l	-
Reagen	1000 μ l	1000 μ l	1000 μ l

13. Pengukuran kadar malondialdehid

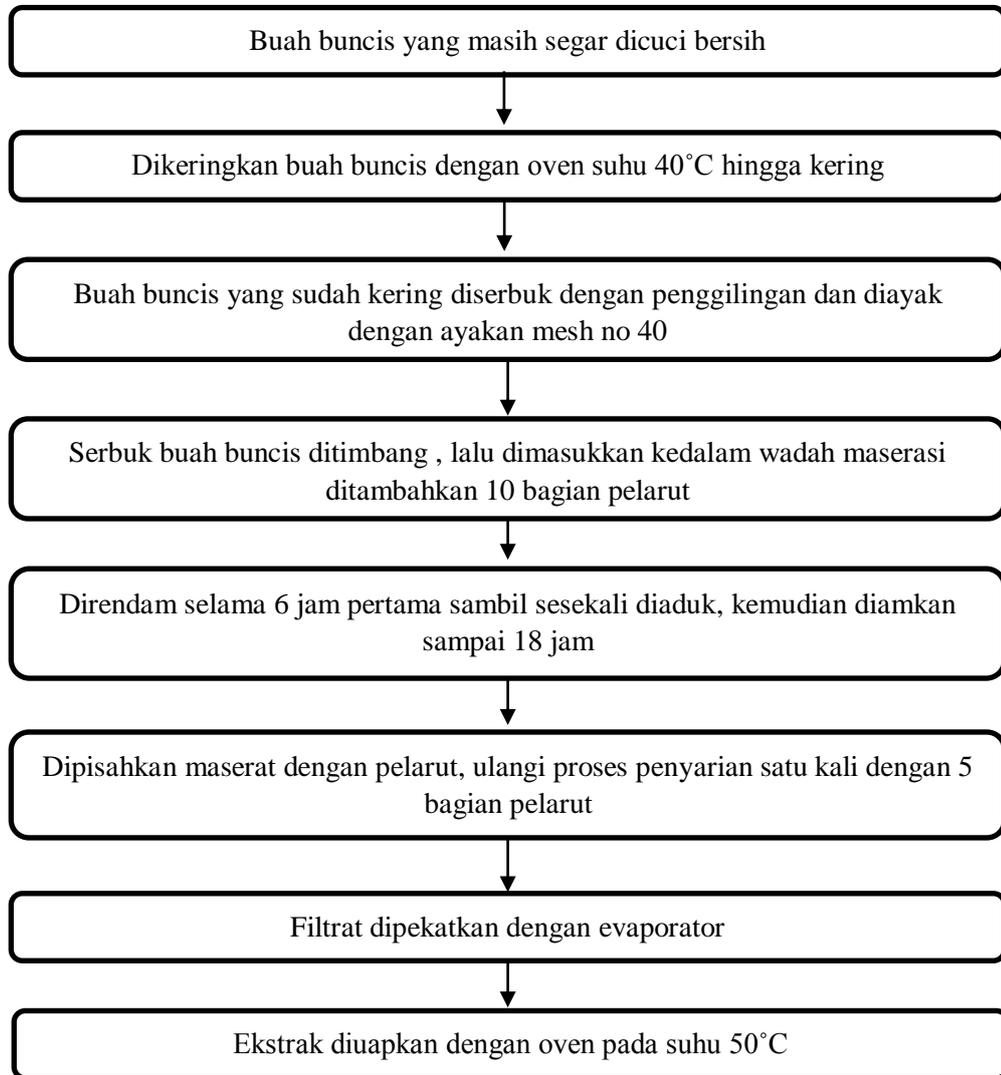
Sebanyak \pm 1,25 g hati segar dicacah dalam kondisi dingin dalam 2,5 mL larutan PBS yang mengandung 11,5 g/L KCl. Homogenat disentrifugasi pada 4.000 rpm selama 10 menit. Sebanyak 0,5 mL sampel atau standar ditambah

dengan 2 mL campuran HCl 0,25 N dingin yang mengandung 15% *trichloro acetic acid* (TCA), 0,38% *thio barbituric acid* (TBA) dan 0,5% *butylated hydroxytoluene* (BHT). Campuran larutan ini dipanaskan 80⁰C selama 1 jam, setelah dingin campuran larutan dan standar disentrifugasi 3.500 rpm selama 10 menit. Absorbansi supernatan diukur pada λ 532 nm, sebagai larutan standar digunakan 1,1,3,3-tetraetoksipropana (TEP) (Suarsana *et al.* 2013). Larutan TEP dibuat seri konsentrasi yaitu 0 ; 375 ;750 ;1500 ;3000 $\mu\text{mol/ml}$ menggunakan larutan stok dengan konsentrasi 30,000 $\mu\text{mol/ml}$. Kadar malondialdehid diukur dengan menggunakan persamaan $y = a + bx$ dimana y adalah absorbansi dan x adalah konsentrasi.

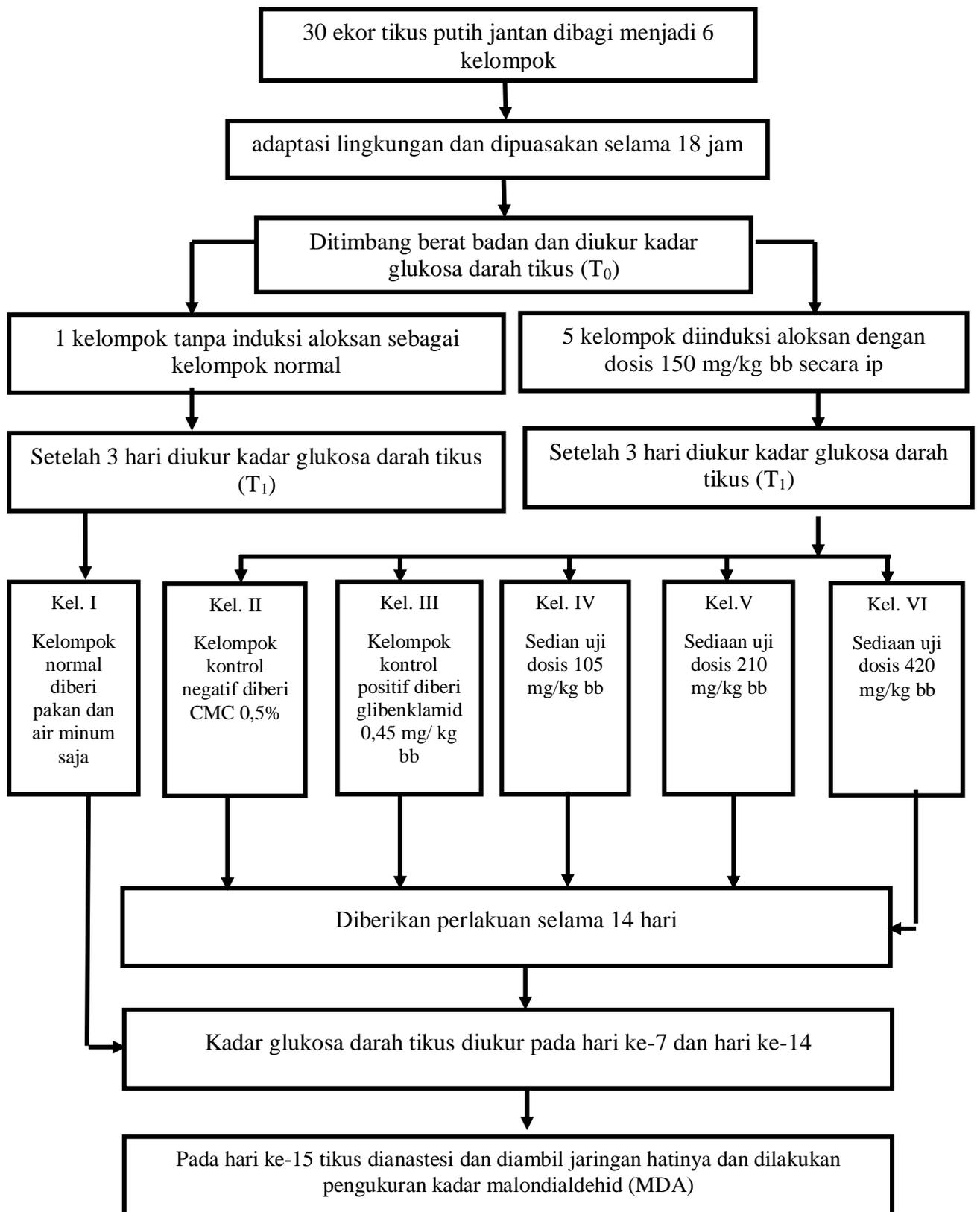
Tabel 2. Pengukuran kadar MDA

	Serum	Larutan standar (TEP)	HCl 0,25N	TCA	TBA	BHT
Sampel	0,5 ml	-	2 ml	15%	0,38%	0,5%
Standar	-	0,5 ml	2 ml	15%	0,38%	0,5%
Blanko	-	-	-	-	0,38%	-

E. Skema Penelitian



Gambar 1. Pembuatan ekstrak Buah buncis



Gambar 2. Skema jalannya penelitian

F. Analisis Statistik

Data yang didapat pada penelitian ini adalah penurunan kadar glukosa darah dan penurunan kadar malondialdehid. Analisa statistik yang pertama digunakan dalam penelitian ini untuk melihat apakah data tersebut terdistribusi normal atau tidak yaitu dengan menggunakan uji distribusi normal (*Saphiro Wilk*), sedangkan untuk menguji kehomogenitasan digunakan uji *Levene*. Jika data terdistribusi normal ($p > 0,05$), analisis data dilanjutkan dengan uji parametrik (*One Way ANOVA*) untuk mengetahui perbedaan yang nyata diantara perlakuan. Jika hasil uji *One Way ANOVA* dan uji *Levene* menunjukkan hasil normal ($p > 0,05$), selanjutnya dilakukan uji *Post Hoc* untuk melihat penurunan kadar glukosa darah dan penurunan kadar malondialdehid yang efektif diantara kelompok perlakuan. Namun, jika hasilnya tidak normal ($p < 0,05$), maka dilakukan uji non parametrik untuk mengetahui perbedaan antar perlakuan.

BAB IV

HASIL PENELITIAN DAN PEMBAHASAN

A. Tanaman Buah Buncis

1. Hasil determinasi buah buncis

Determinasi buah buncis dilakukan di Laboratorium Program Studi Biologi Universitas Sebelas Maret dengan cara mengamati bagian dari buah buncis. Tujuan dilakukannya determinasi adalah untuk memastikan dan membuktikan bahwa tanaman yang digunakan dalam penelitian ini benar-benar buah buncis (*Phaseolus vulgaris* L.).

Hasil determinasi yang diperoleh dapat dilihat pada kunci sebagai berikut:

1b-2b-3b-4b-12b-13b-14b-17b- 18b-19b-20b-21b-22b-23b-24b- 25b-26b-27a-
28b-29b-

30a_____108.Papilionaceae/Fabaceae lc-

13b-23a-24b-25b-26b-27b-28c-29b-32b-39a-40b-50b-51b-75a-76a_____79.

Phaseolus 1a-2a-3b-4a-5a_____ *Phaseolus vulgaris* L.

Deskripsi lengkap dari tanaman buncis dapat dilihat pada Lampiran 1.

2. Pengambilan sampel dan pembuatan serbuk

Sampel yang digunakan dalam penelitian ini adalah simplisia buah buncis yang diperoleh dari petani di daerah Tawangmangu, Karanganyar, Jawa Tengah pada bulan Februari 2018 dalam keadaan bersih dan tidak busuk.

Buah buncis dikeringkan menggunakan oven pada suhu 40°C selama 3 hari untuk menghindari terurainya kandungan kimia dan kontaminasi debu. Pengeringan dimaksudkan untuk mencegah timbulnya kuman, kapang dan khamir yang dapat menyebabkan pembusukan. Simplisia buah buncis yang sudah kering dihaluskan dengan menggunakan blender dan diayak dengan ayakan mesh 40 dimaksudkan untuk memperkecil ukuran dan memperluas permukaan partikel yang akan memudahkan proses maserasi. Hasil penimbangan berat basah buah buncis sebanyak 5 kg didapatkan berat keringnya sebesar 413 gram, sehingga diperoleh persentase rendemen sebesar 8,26%. Hasil selengkapnya dapat dilihat pada Tabel 3.

Tabel 3. Hasil rendemen simplisia buah buncis

Berat basah (gram)	Berat kering (gram)	Rendemen (%)
5000,00	413,273	8,26

3. Hasil penetapan kadar air

Penetapan kadar air serbuk buah buncis dilakukan dengan menggunakan alat *Sterling-Bidwell*. Hasil penetapan kadar air dapat dilihat pada Tabel 4.

Tabel 4. Hasil penetapan kadar air serbuk buah buncis

Replikasi	Berat awal (gram)	Volume air (ml)	Kadar (%)
1	20,184	1,6	7,93
2	20,159	1,8	8,93
3	20,163	1,6	7,94
Rata-rata \pm SD			8,26 \pm 0,58

Kadar air serbuk buah buncis memenuhi syarat yaitu kadar air tidak melebihi 10%. Kadar air yang tinggi dapat menyebabkan perubahan kerja enzim dan perubahan kimia zat aktif sehingga menurunkan mutu serbuk dan akan mudah ditumbuhi oleh jamur (Gunawan & Mulyani 2004).

4. Hasil pembuatan ekstrak etanol buah buncis

Pembuatan ekstrak etanol buah buncis dilakukan dengan metode maserasi untuk menghindari kerusakan senyawa yang tidak tahan panas dan menggunakan pelarut etanol 96% karena polaritasnya tinggi sehingga senyawa yang terekstraksi lebih banyak. Perhitungan rendemen ekstrak dapat dilihat pada Tabel 5.

Tabel 5. Hasil rendemen ekstrak etanol buah buncis

Simplisia (gram)	Berat wadah kosong (gram)	Berat wadah + ekstrak (gram)	Berat ekstrak (gram)	Rendemen (%)
313,148	156,398	171,684	15,286	4,88

Berdasarkan data yang diperoleh maka rendemen ekstrak etanol buah buncis yang didapat sebesar 4,88% yang artinya dari 313 gram serbuk buah buncis diperoleh metabolit sekunder berupa flavonoid, alkaloid, saponin, dan steroid sebesar 15,285 gram.

5. Hasil identifikasi kandungan senyawa kimia

Identifikasi kandungan senyawa kimia serbuk dan ekstrak etanol buah buncis dilakukan dengan menggunakan uji tabung untuk membuktikan bahwa

serbuk dan ekstrak yang diperoleh mengandung adanya senyawa alkaloid, flavonoid, saponin, dan steroid. Hasil identifikasi kandungan senyawa kimia serbuk dan ekstrak etanol buah buncis dapat dilihat pada Tabel 6.

Tabel 6. Hasil identifikasi kandungan senyawa kimia serbuk dan ekstrak etanol buah buncis

Kandungan kimia	Kesimpulan	
	Serbuk	Ekstrak
Alkaloid	(+)	(+)
Flavonoid	(+)	(+)
Saponin	(+)	(+)
Steroid	(+)	(+)

Berdasarkan pada hasil identifikasi kandungan senyawa kimia dapat disimpulkan bahwa serbuk dan ekstrak etanol buah buncis terbukti positif mengandung alkaloid, flavonoid, saponin, dan steroid. Hal ini sejalan dengan penelitian sebelumnya yang dilakukan Nugrahani (2016) bahwa buah buncis mengandung alkaloid, flavonoid, saponin, dan steroid. Penelitian penapisan fitokimia ekstrak buncis yang dilakukan oleh Andayani (2003) menyatakan bahwa senyawa triterpenoid dan steroid merupakan senyawa yang dominan yang terkandung dalam ekstrak buncis. Penelitian lain yang dilakukan oleh Jannah *et al.* (2013) menyatakan ekstrak etanol buah buncis mengandung steroid berupa fitosterol yaitu stigmasterol dan γ -sitosterol. Foto hasil identifikasi dapat dilihat pada lampiran 7.

6. Hasil uji bebas alkohol ekstrak etanol buah buncis

Uji bebas alkohol ekstrak etanol buah buncis bertujuan untuk memastikan bahwa kandungan alkohol (etanol) yang terkandung di dalam ekstrak telah hilang dan tidak mempengaruhi hasil penelitian. Uji ini dilakukan dengan cara esterifikasi alkohol dengan menambahkan asam asetat dan asam sulfat pekat pada ekstrak kemudian dipanaskan. Hasil uji bebas alkohol pada penelitian ini adalah sudah tidak tercium lagi bau ester etil asetat yang merupakan hasil reaksi antara etanol dan asam asetat, sehingga ekstrak bisa digunakan untuk penelitian.

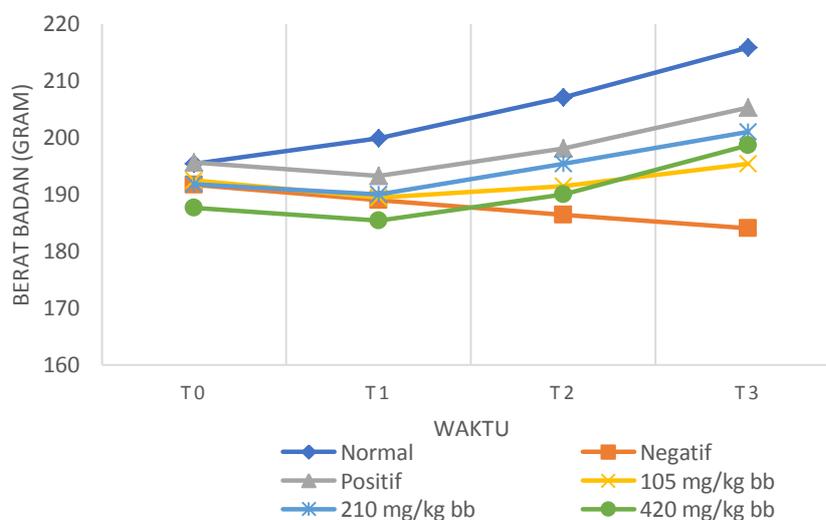
7. Persiapan hewan uji

Hewan uji yang digunakan adalah tikus putih jantan dari galur wistar (*Rattus norvegicus*) sebanyak 30 ekor yang diperoleh dari Laboratorium Gizi,

Pusat Studi Pangan dan Gizi Universitas Gadjah Mada pada bulan April 2018. Dengan berat badan 150-200 gram, usia 2-3 bulan. Hewan uji yang akan digunakan diadaptasi terlebih dahulu selama 1 minggu.

8. Hasil penimbangan berat badan hewan uji

Hewan uji yang digunakan dalam penelitian ini adalah tikus putih jantan galur Wistar yang diperoleh dari Laboratorium Gizi, Pusat Studi Pangan dan Gizi Universitas Gadjah Mada. Sebelum memulai perlakuan, tikus yang akan digunakan diadaptasi terlebih dahulu selama 7 hari, kemudian setelah diadaptasi tikus dipuasakan selama 12 jam. Tujuan tikus dipuasakan dahulu adalah untuk menghindari pengaruh makanan yang dapat mempengaruhi kadar glukosa darah tikus. Setelah dipuasakan dilakukan penimbangan berat badan dan pengambilan darah untuk mengetahui kadar gula darah awal (T0). Penimbangan berat badan dilakukan pada hari ke-0 sebelum darah hewan uji diambil, T0 berguna untuk memastikan kondisi hewan uji antara kelompok perlakuan sama. Selanjutnya pengukuran berat badan hewan uji dilakukan setiap kali pengambilan darah yaitu pada hari ke-3 setelah induksi aloksan, hari ke-7 dan hari ke-14 setelah pemberian perlakuan untuk melihat perubahan berat badan tikus yang terjadi pada masing-masing perlakuan sebelum dan sesudah diberikan perlakuan. Profil rata-rata berat badan tikus tiap kelompok dapat dilihat pada gambar 4 dan hasil rata-rata penimbangan berat badan tikus tiap kelompok dapat dilihat pada tabel 7.



Gambar 3. Grafik profil berat badan tikus

Tabel 7. Rata-rata berat badan tikus

Kelompok	T2	T3
Kontrol normal	207 ± 5,51 ^b	215,8 ± 5,84 ^{bc}
Kontrol negatif	186,4 ± 4,88 ^{ac}	184 ± 4,95 ^{ac}
Kontrol positif	198 ± 3,67 ^b	205,2 ± 3,27 ^{ab}
EBB 105 mg/kg bb	191,4 ± 5,77 ^a	195,4 ± 5,46 ^{abc}
EBB 210 mg/kg bb	195,4 ± 3,05 ^a	201 ± 3,08 ^{ab}
EBB 420 mg/kg bb	190 ± 3,39 ^a	198,6 ± 4,16 ^{ab}

Keterangan :

- a : berbeda signifikan terhadap kelompok normal
b : berbeda signifikan terhadap kelompok kontrol negatif
c : berbeda signifikan terhadap kelompok kontrol positif

Berdasarkan profil dan data berat badan hewan uji (Gambar 4 dan Tabel 7) yang digunakan sebagai indikator untuk memastikan tingkat penyerapan glukosa, menunjukkan bahwa pada kelompok normal terjadi peningkatan berat badan hewan uji. Peningkatan berat badan pada kelompok normal disebabkan oleh kondisi hewan uji yang sehat, asupan makanan tercukupi dan penyerapan glukosa serta nutrisi lainnya yang normal. Pada kelompok kontrol negatif terjadi penurunan berat badan hewan uji setelah diinduksi aloksan secara injeksi intraperitoneal. Hal ini menunjukkan bahwa induksi aloksan dengan dosis 150 mg/kg bb tikus yang dilakukan berhasil membuat hewan uji mengalami kondisi diabetes. Kondisi eksperimental diabetes akan mengakibatkan tikus normal menjadi tikus diabetes dengan ditandai salah satu ciri diagnosa klinis dengan terjadinya penurunan berat badan, poliuria (banyak kencing), polidipsi (banyak minum) dan polifagi (banyak makan/peningkatan nafsu makan) yang disebabkan oleh defisiensi hormon insulin sehingga transport glukosa ke dalam sel jaringan perifer berkurang. Hal tersebut mengakibatkan sel akan melakukan metabolisme dengan menggunakan cadangan glikogen melalui proses glikolisis, meningkatnya katabolisme protein dimana asam amino yang dihasilkan digunakan sebagai substrat untuk glukoneogenesis dalam hati (Pasaribu *et al.* 2015), sehingga pada pengukuran berat badan hari ke-7 dan hari ke-14 kelompok kontrol negatif tidak mengalami perbaikan dikarenakan hanya diberikan CMC Na. Pada kelompok kontrol positif terjadi penurunan berat badan setelah dilakukan induksi aloksan

namun terjadi peningkatan berat badan setelah diberikan perlakuan. Peningkatan berat badan pada hari ke-7 dan hari ke-14 ini dapat dikaitkan sebagai akibat dari pemberian glibenklamid yang menyebabkan jumlah insulin yang dilepaskan dari sel β pankreas meningkat. Peningkatan pelepasan insulin ini akan meningkatkan transport glukosa ke dalam sel sampai ke jaringan perifer dan mengarah pada pemanfaatan nutrisi penting lain, penyerapan asam amino dan komponen makromolekul lainnya (Kumar *et al.* 2013).

Pengukuran berat badan tikus pada kelompok perlakuan ekstrak etanol buah buncis dengan 3 variasi dosis juga menunjukkan terjadinya peningkatan berat badan setelah tikus yang mengalami diabetes diberikan perlakuan, tetapi pada hari ke-7 peningkatan berat badan hewan uji tidak signifikan sehingga tidak memberikan perbedaan bermakna dengan kontrol negatif. Pengukuran pada hari ke-14 berat badan tikus kelompok ekstrak etanol buah buncis 105 mg/kg bb mengalami peningkatan tetapi belum mampu sebanding dengan kontrol positif, sedangkan pada kelompok ekstrak etanol buah buncis dosis 210 mg/kg bb dan 420 mg/kg bb mengalami peningkatan berat badan yang sebanding dengan kontrol positif. Peningkatan berat badan ini dikaitkan dengan kandungan kimia buah buncis yang berperan sebagai antihiperqlikemik dan antioksidan alami yang berfungsi untuk melindungi sel β pankreas dari radikal bebas (Oktarlina & Rachmawani 2017), sehingga sel beta pankreas mampu mensekresi insulin yang cukup.

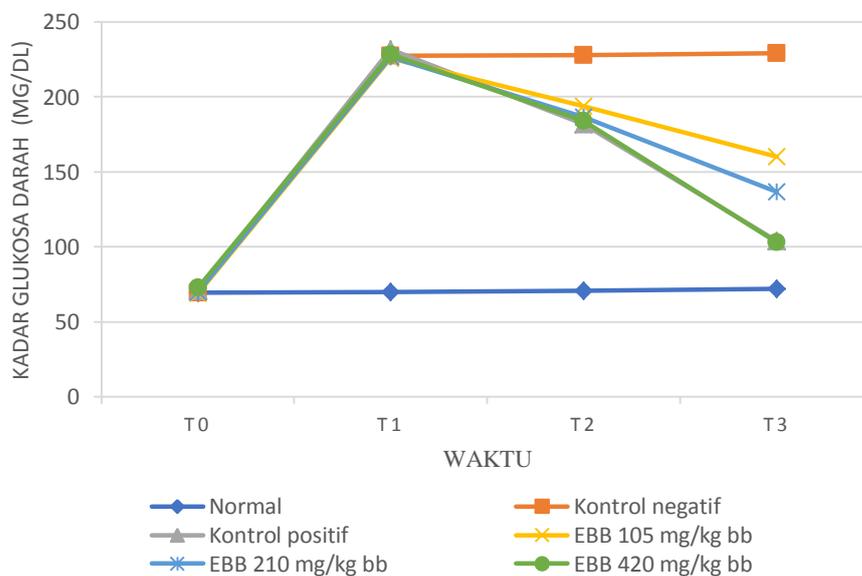
9. Hasil pengukuran kadar glukosa

Uji aktivitas antidiabetes ekstrak buah buncis dilakukan terhadap hewan uji tikus putih jantan galur wistar. Tikus diadaptasi terlebih dahulu selama 1 minggu sebelum digunakan dan setelah diadaptasi tikus dipuasakan selama 12 jam sebelum diberi perlakuan, kemudian dicek kadar glukosa darah dan berat badan tikus (T_0). Tikus kemudian dikondisikan diabetes dengan induksi zat diabetogen yaitu aloksan. Senyawa aloksan merupakan salah satu zat diabetogenik yang bersifat toksik, terutama terhadap sel beta pankreas, dan apabila diberikan kepada hewan coba seperti tikus maka dapat menyebabkan hewan coba tikus menjadi diabetes. Mekanisme toksisitas aloksan diawali dengan masuknya aloksan ke

dalam sel-sel beta pankreas. Kerusakan pada sel-sel β terjadi melalui beberapa proses secara bersamaan, yaitu melalui oksidasi gugus sulfidril dan pembentukan radikal bebas (Szkudelski 2001). Mekanisme kerja aloksan menghasilkan kerusakan pada sel-sel β pankreas terutama menyerang senyawa-senyawa seluler yang mengandung gugus sulfidril, asam-asam amino sistein dan protein yang berikatan dengan gugus SH (termasuk enzim yang mengandung gugus SH). Aloksan bereaksi dengan dua gugus SH yang berikatan pada bagian sisi dari protein atau asam amino membentuk ikatan disulfida sehingga menginaktifkan protein yang berakibat pada gangguan fungsi protein tersebut (Szkudelski 2001).

Pengukuran kadar glukosa darah tikus dilakukan dengan metode GOD-PAP menggunakan alat spektrofotometer UV-Vis. Sampel darah diambil dari semua tikus pada masing-masing kelompok, kemudian disentrifugasi untuk memperoleh serum. Serum yang diperoleh akan digunakan untuk pemeriksaan kadar glukosa darah yang dihasilkan dari nilai absorbansi standart dan absorbansi sampel serum darah yang digunakan. Kadar glukosa darah diukur sebelum diberi perlakuan (T_0), hari ke-3 setelah induksi (T_1), hari ke-7 (T_2), dan hari ke-14 (T_3) setelah diberikan sediaan uji.

Pengukuran kadar glukosa darah pada hari ke-0 (T_0) digunakan sebagai pembandingan untuk melihat berhasil atau tidaknya induksi aloksan pada kelompok tikus diabetes dan memastikan bahwa sebelum diberikan perlakuan tikus dalam keadaan sehat, tidak diabetes. Pengukuran kadar glukosa darah dilakukan 3 hari setelah induksi aloksan (T_1) untuk memastikan bahwa tikus sudah mengalami kondisi diabetes. Pengukuran kadar glukosa darah selanjutnya dilakukan pada hari ke-7 (T_2) dan hari ke-14 (T_3) setelah tikus diberikan sediaan uji. Aktivitas antidiabetes ekstrak etanol buah buncis akan dilihat dari kadar glukosa darah tikus sebelum dan sesudah pemberian sediaan uji. Profil kadar glukosa darah dan data rata-rata kadar glukosa darah tikus pada masing-masing kelompok dapat dilihat pada gambar 5.



Gambar 4. Grafik profil kadar glukosa darah

Berdasarkan profil data kadar glukosa darah (Gambar 4) menunjukkan hasil, kelompok kontrol normal memiliki kadar glukosa darah yang normal di mana tidak terjadi peningkatan kadar glukosa darah yang bermakna karena hewan uji hanya diberikan pakan dan minum tanpa induksi aloksan. Kelompok kontrol negatif memiliki kadar glukosa darah tetap tinggi yaitu lebih dari 225 mg/dl yang mengindikasikan bahwa kelompok mengalami kondisi diabetes. Hal ini menunjukkan bahwa pemberian suspensi CMC Na 0,5% tidak berpengaruh terhadap penurunan kadar glukosa darah.

Kelompok kontrol positif yang diberikan glibenklamid menunjukkan terjadinya penurunan kadar glukosa darah tikus. Glibenklamid merupakan obat antihiperqlikemi oral yang bekerja dengan merangsang pelepasan insulin dari sel β pankreas dan meningkatkan sensitivitas sel β terhadap glukosa. Reseptor sulfonilurea spesifik yang terkait erat dengan saluran ion *ATP-sensitive potassium* yang ada pada sel β . Glibenklamid menghambat saluran ion kalium, sehingga menghalangi efisiensi kalium dan menurunkan potensi membran untuk menyebabkan depolarisasi (Depkes 2005). Kelompok perlakuan yang diberikan ekstrak etanol buah buncis dengan dosis 105 mg/kg bb, 210 mg/kg bb, dan 420 mg/kg bb juga menunjukkan penurunan kadar glukosa darah pada tikus.

Penurunan kadar glukosa darah tikus pada semua kelompok perlakuan yang diberikan ekstrak etanol buah buncis pada penelitian ini menunjukkan bahwa adanya pengaruh pemberian ekstrak etanol buah buncis terhadap penurunan kadar glukosa darah tikus. Data rata-rata penurunan kadar glukosa darah tikus pada masing-masing kelompok dapat dilihat pada tabel 8.

Tabel 8. Data kuantitatif rata-rata hasil penurunan kadar glukosa darah berbagai kelompok perlakuan

Kel. Uji	Rata-rata ΔT tiap kelompok \pm SD	
	$(\Delta T_1 = T_1 - T_2)$	$(\Delta T_2 = T_1 - T_3)$
Kontrol normal	$-0,96 \pm 0,55$ ^{bc}	$-2,09 \pm 0,47$ ^{bc}
Kontrol negatif	$-0,67 \pm 0,67$ ^{ac}	$-1,64 \pm 0,95$ ^{ac}
Kontrol positif	$50,11 \pm 0,91$ ^{ab}	$127,86 \pm 4,45$ ^{ab}
EBB 105 mg/kg bb	$31,80 \pm 1,39$ ^{abc}	$65,75 \pm 2,35$ ^{abc}
EBB 210 mg/kg bb	$39,83 \pm 0,38$ ^{abc}	$89,86 \pm 2,55$ ^{abc}
EBB 420 mg/kg bb	$44,48 \pm 0,90$ ^{abc}	$125,30 \pm 0,94$ ^{ab}

Keterangan :

- a = berbeda signifikan terhadap kelompok normal
- b = berbeda signifikan terhadap kelompok diabetes
- c = berbeda signifikan terhadap kelompok kontrol positif (glibenklamid)

Hasil analisis statistik *post hoc tets* terhadap penurunan kadar glukosa darah menunjukkan terjadi perbedaan nilai signifikansi antara penurunan kadar glukosa darah hari ke-7 dengan hari ke-14, dimana hasil perlakuan pada hari ke-7 (T_2) terdapat perbedaan yang signifikan antara kelompok kontrol positif yang diberikan glibenklamid dengan kelompok perlakuan yang diberikan ekstrak etanol buah buncis dosis 105 mg/kg bb, 210 mg/kg bb, dan 420 mg/kg bb, sedangkan pada hari ke-14 tidak terdapat perbedaan yang signifikan antara kelompok kontrol positif dengan kelompok ekstrak etanol buah buncis dosis 420 mg/kg bb. Perubahan aktivitas ekstrak etanol buah buncis pada hari ke-14 dapat dikaitkan dengan prinsip efek kerja obat tradisional yaitu reaksi yang lambat tidak seperti obat kimia yang dapat langsung bereaksi. Hal itu disebabkan karena senyawa-senyawa berkhasiat yang terdapat pada obat tradisional membutuhkan waktu untuk dimetabolisme dalam tubuh. Berbeda dengan obat sintetis yang bekerja dengan cara meredakan sakit dan gejalanya, obat tradisional bekerja dengan berfokus pada sumber penyebabnya yakni dengan membangun dan memperbaiki sel-sel jaringan dan organ-organ yang rusak. Oleh karena itu maka dibutuhkan waktu yang relatif lebih lama untuk melihat hasil efek obat tradisional dibandingkan jika menggunakan obat kimia (Katno 2008).

Berdasarkan penurunan kadar glukosa darah tikus pada ΔT_1 dan ΔT_2 pada tabel 8 dapat diketahui bahwa pemberian ekstrak etanol buah buncis dengan tiga variasi dosis dan kelompok kontrol positif terbukti mampu menurunkan kadar glukosa darah tikus. Hasil statistik uji *post hoc test* ΔT_1 pada lampiran 21 menunjukkan bahwa terdapat perbedaan yang signifikan ($P < 0,05$) pada semua kelompok perlakuan, namun pada hasil statistik ΔT_2 pada lampiran 22 menunjukkan bahwa kelompok kontrol positif dengan kelompok dosis 420 mg/kg bb menunjukkan hasil ($P > 0,05$), hasil ini menunjukkan bahwa ekstrak buah buncis dosis 420 mg/kg bb mampu sebanding dengan kontrol positif karena tidak ada perbedaan bermakna.

Berdasarkan data yang diperoleh dari penelitian ini dapat diketahui bahwa semakin tinggi dosis ekstrak etanol buah buncis yang diberikan maka semakin tinggi pula penurunan kadar glukosa darah yang dihasilkan. Hal ini disebabkan karena semakin tinggi dosis yang diberikan maka semakin tinggi pula senyawa yang dapat menurunkan kadar glukosa darah terkandung didalamnya. Penelitian yang telah dilakukan oleh Andayani (2003) menunjukkan bahwa ekstrak buncis mampu menurunkan kadar glukosa darah pada tikus diabetes. Buah buncis mengandung senyawa flavonoid yang memiliki aktivitas sebagai antioksidan dan kandungan β -sitosterol dan stigmasterol yang mampu merangsang pankreas untuk menghasilkan insulin (Perdana *et al.* 2010; Achmad *et al.* 2016).

Penelitian yang dilakukan Nugrahani *et al.* (2016) skrining fitokimia dari ekstrak buah buncis memiliki kandungan poliphenol seperti saponin, fenol, alkaloid, flavonoid, dan triterpenoid. Putra (2013) dalam penelitiannya membuktikan bahwa ekstrak etanol buah buncis memiliki efek sebagai antidiabetes karena kandungan triterpenoid. Pada penelitian lain yang dilakukan Singh *et al.* (2014) menyatakan bahwa triterpenoid mampu menurunkan kadar glukosa darah dengan cara meningkatkan sekresi insulin, triterpenoid mampu merangsang sel-sel pankreas untuk mensekresi insulin. Nualkaew *et al.* (2015) dalam penelitiannya menyatakan bahwa aktivitas senyawa stigmasterol dan β -sitosterol dapat dihubungkan dengan aktivitas stimulasi insulin, pernyataan ini dibuktikan dengan kelompok perlakuan yang diberikan stigmasterol, β -sitosterol,

dan glibenklamid, terutama yang diberikan β -stigmasterol memiliki kadar serum insulin yang tertinggi pada tikus diabetes. Senyawa stigmasterol dan sitosterol pada buah buncis diduga mempunyai mekanisme yang sama dengan glibenklamid sebagai kontrol positif, yaitu dengan cara menstimulasi sekresi insulin.

Flavonoid dapat menurunkan kadar glukosa darah karena bersifat protektif terhadap kerusakan sel beta pankreas sebagai penghasil insulin serta dapat meningkatkan sensitivitas insulin. Senyawa flavonoid yang terdapat dalam kandungan buncis memiliki aktivitas sebagai antioksidan yang menekan apoptosis sel beta tanpa mengubah proliferasi dari sel beta pankreas (Oktarlina & Rachmawani 2017). Flavonoid akan menyumbangkan atom hidrogennya sehingga flavonoid akan teroksidasi dan berikatan dengan radikal bebas yang akan menyebabkan radikal bebas menjadi senyawa yang lebih stabil. Mekanisme kerja lain dari flavonoid sebagai antioksidan adalah dengan cara menghambat proses fosfodiesterase sehingga meningkatkan cAMP pada sel beta pankreas. Peningkatan cAMP pada sel beta pankreas akan menstimulasi pengeluaran protein kinase A (PKA) yang merangsang sekresi insulin semakin meningkat (Harapan 2010).

Quercetin merupakan salah satu flavonoid yang terkandung di dalam buah buncis (Wijayakusuma 2005). Aktivitas senyawa quercetin yang terkandung di dalam buah buncis diduga mampu melindungi sel beta pankreas, hal ini dibuktikan dengan penelitian yang dilakukan oleh Srinivasan *et al.* (2017) yang menyatakan bahwa senyawa quercetin mampu melindungi berat badan tikus sehingga tidak menurun dan mampu menurunkan kadar glukosa darah dengan cara melindungi sel beta pankreas.

Alkaloid merupakan senyawa yang terdapat pada buah buncis. Dalam penelitian Suryono dan Yudha (2012) menyatakan alkaloid mampu menurunkan kadar glukosa darah dengan cara menghambat absorpsi gula di usus (absorpsi gula secara perlahan). Pada penelitian lain yang dilakukan oleh Tiong *et al.* (2013) menyatakan bahwa senyawa alkaloid mampu meningkatkan ambilan glukosa pada sel β -TC6 dan C2C12. Ambilan glukosa berhubungan dengan aktivitas penghambatan PTP-1B. PTP-1B adalah pengatur negatif dari jalur pensinyalan

insulin pada manusia dan dianggap sebagai target terapi potensial yang menjanjikan untuk pengobatan diabetes tipe 2. Alkaloid juga mampu mengurangi stres oksidatif pada sel beta pankreas.

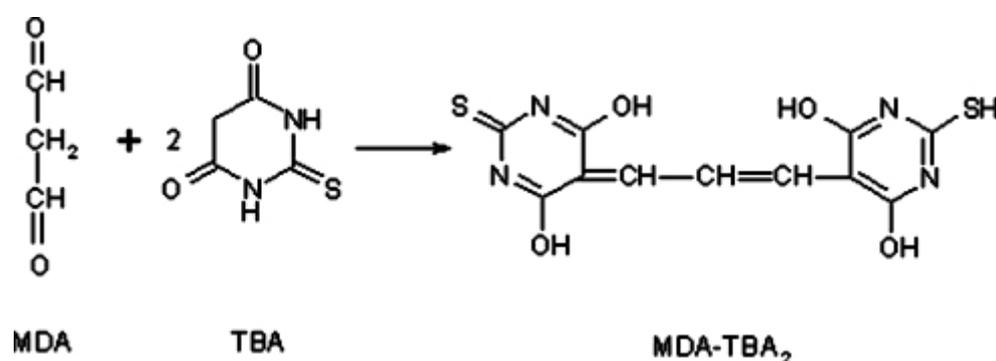
Senyawa saponin menurunkan kadar glukosa darah dengan cara menghambat aktivitas enzim alfa glukosidase, yaitu enzim dalam pencernaan yang bertanggung jawab terhadap pengubahan karbohidrat menjadi glukosa (Makalalag *et al.* 2013). Saponin meningkatkan permeabilitas usus kecil, sehingga meningkatkan serapan zat yang sesungguhnya kurang diserap dan menyebabkan hilangnya fungsi normal usus. Pengaruh saponin terhadap susunan membran sel dapat menghambat absorpsi molekul gizi yang lebih kecil yang seharusnya cepat diserap, misalnya glukosa. Struktur membrane sel yang terganggu diduga akan menyebabkan terganggunya penyerapan glukosa (Oktaria & Fiana 2016).

10. Hasil pengukuran kadar malondialdehid (MDA)

Diabetes yang tidak terkontrol akan menyebabkan peningkatan produksi radikal bebas (Chikezie *et al.* 2015). Sistem pertahanan tubuh yang lemah tidak mampu melawan radikal bebas yang terbentuk sehingga terjadi ketidakseimbangan antara antioksidan pertahanan dan produksi radikal bebas yang akan menyebabkan kerusakan oksidatif yang biasa disebut sebagai kondisi stress oksidatif (Tiwari *et al.* 2013). Radikal bebas pada DM akan menyebabkan kerusakan peroksidatif fosfolipid yang mengakibatkan akumulasi malondialdehid (MDA) (Bhutia *et al.* 2011). Malondialdehid adalah senyawa dialdehid yang merupakan produk akhir peroksidasi lemak tak jenuh dalam tubuh oleh radikal bebas. Tingginya kadar MDA dalam plasma, merupakan ukuran dimana terjadi peningkatan radikal bebas dan penurunan antioksidan dalam tubuh (Winarsi 2007).

Kemampuan ekstrak etanol buah buncis dalam meningkatkan antioksidan dalam tubuh dievaluasi dengan mengukur kadar MDA pada homogenat hati tikus yang diberi pelakuan ekstrak etanol buah buncis selama 2 minggu. Pengukuran kadar MDA menggunakan larutan standar 1,1,3,3-tetraetoksipropana TEP yang akan digunakan untuk membuat kurva baku. Persamaan regresi linear dan kurva baku dapat dilihat pada lampiran 16.

Pengukuran kadar malondialdehid dilakukan dengan metode TBARS (*thiobarbituric acid-reactive substance*). Pengukuran kadar MDA pada hati digunakan larutan TEP sebagai standar, karena MDA merupakan senyawa yang tidak stabil. TEP dihidrolisi oleh air menjadi alkohol dan MDA. Prinsip dari metode TBARS adalah malondialdehid (MDA) akan bereaksi dengan asam tiobarbiturat (TBA) akan membentuk senyawa berwarna merah muda yang menyerap cahaya pada panjang gelombang 532 nm. Semakin pekat warna yang dihasilkan maka konsentrasi MDA juga semakin tinggi (Arkhaesi 2008).



Gambar 5. Reaksi MDA dengan TBA

Berikut tabel hasil rata-rata pengukuran kadar MDA pada masing-masing kelompok.

Tabel 9. Rata-rata hasil pengukuran kadar malondialdehid (MDA) pada hati tikus

Kelompok	N	Kadar MDA (nmol/g) ± SD
Kontrol normal	5	1,95 ± 0,25 ^{bc}
Kontrol negatif	5	9,49 ± 0,45 ^{ac}
Kontrol positif	5	3,17 ± 0,29 ^{ab}
EBB 105 mg/kg bb	5	6,94 ± 0,45 ^{abc}
EBB 210 mg/kg bb	5	5,59 ± 0,45 ^{abc}
EBB 420 mg/kg bb	5	3,46 ± 0,42 ^{ab}

Keterangan :

N = Jumlah hewan uji

a = berbeda signifikan terhadap kelompok normal

b = berbeda signifikan terhadap kelompok diabetes

c = berbeda signifikan terhadap kelompok kontrol positif (glibenklamid)

Pada kelompok normal hasil rata-rata pengukuran kadar MDA menunjukkan kadar yang rendah (tabel 10). Hal ini disebabkan pada kondisi normal berbagai organ tubuh mampu bekerja dengan baik tak terkecuali jaringan pankreas yang memiliki mekanisme sistem pertahanan alamiah berupa enzim antioksidan endogen yaitu SOD, *catalase* (Cat), dan GPx yang berperan sebagai

lini pertahanan terdepan berfungsi menetralkan dan mempercepat degradasi senyawa radikal bebas untuk mencegah kerusakan komponen makromolekul sel (Valko *et al.* 2007). Pada kondisi normal terjadi keseimbangan antara radikal bebas dan antioksidan di dalam tubuh sehingga tidak terjadi peroksidasi lipid yang merupakan proses perusakan oksidasi asam lipid tidak jenuh berantai panjang (*polyunsaturated fatty acids*) pada membran sel yang menghasilkan senyawa MDA (Yustika 2013).

Hasil pengukuran rata-rata kadar MDA pada kelompok negatif menunjukkan ($p < 0,05$) terhadap kelompok normal. Kelompok kontrol negatif memiliki kadar MDA yang lebih tinggi dibanding dengan kelompok normal. Hal ini karena kondisi hiperglikemi akibat induksi aloksan. Aloksan pada penelitian ini menyebabkan kerusakan sel beta pankreas tikus yang mengakibatkan tikus menjadi hiperglikemi. Hiperglikemia memicu terjadinya pembentukan radikal bebas lebih tinggi pada DM dan dapat menimbulkan stres oksidatif yang didefinisikan sebagai suatu keadaan kadar prooksidan yang lebih tinggi dibanding kadar enzim antioksidan serta dapat memicu penuaan dini dan kematian sel (Halliwell 2006). Suarsana *et al.* (2013) menyatakan stres oksidatif pada tikus dapat menyebabkan kadar MDA pada hati meningkat. Tingginya kadar MDA pada kelompok kontrol negatif menunjukkan status enzim antioksidan dalam tubuh rendah, sehingga tidak dapat mencegah reaktivitas senyawa radikal bebas. Produk MDA tersebut dapat diukur sebagai indeks tidak langsung kerusakan oksidatif yang disebabkan oleh peroksidasi lipid (Suarsana *et al.* 2011).

Hasil pengukuran rata-rata kadar MDA kontrol positif dan kelompok perlakuan ekstrak etanol buah buncis lebih rendah dibandingkan dengan rata-rata kadar MDA kelompok negatif. Berdasarkan hasil analisis statistik kadar MDA kelompok kontrol positif dan kelompok perlakuan dosis 420 mg/kg bb menunjukkan ($p > 0,05$) jika dibandingkan dengan kelompok kontrol negatif. Hal ini disebabkan aktivitas glibenklamid yang mampu menurunkan kadar glukosa darah dan senyawa metabolit yang terkandung dalam ekstrak etanol buah buncis diduga bertindak sebagai antihiperglikemi dan antioksidan.

Glibenklamid merupakan antidiabetik golongan sulfonilurea yang bekerja dengan cara meningkatkan sekresi insulin. Glibenklamid mengikat reseptor

spesifik sulfonilurea (SUR) pada sel beta pankreas. Menutup kanal ion K^+ dependent adenosine triphosphate, yang mengakibatkan penurunan efluk kalium dan selanjutnya terjadi depolarisasi membran. Ion kalsium dependent voltage terbuka dan menyebabkan translokasi Ca^{2+} . Peningkatan Ca^{2+} di dalam intraseluler menyebabkan translokasi sekresi insulin ke permukaan sel dan eksositosis granul insulin. Peningkatan sekresi insulin ke permukaan sel dan eksositosis granul insulin. Peningkatan eksositosis granul insulin dari pankreas menyebabkan *intake* glukosa darah, sehingga kadar glukosa darah menjadi turun. Glibenklamid juga dapat menyebabkan homeostasis pada pankreas berjalan baik (Shakya *et al.* 2012).

Hasil analisa statistik kadar MDA pada lampiran 23 menunjukkan bahwa kelompok kontrol positif yang menggunakan glibenklamid dan kelompok perlakuan ekstrak etanol buah buncis dosis 420 mg/kg bb tidak terdapat perbedaan yang signifikan ($p > 0,05$). Pemberian ekstrak etanol buah buncis dengan dosis 420 mg/kg bb memiliki pengaruh yang hampir sama dengan glibenklamid sebagai kontrol positif, karena aktivitas senyawa metabolit yang terkandung dalam ekstrak etanol buah buncis diduga mampu bertindak sebagai antihiperglikemi dan antioksidan.

Hasil uji fitokimia membuktikan bahwa ekstrak buah buncis mengandung flavonoid, alkaloid, steroid dan saponin. Senyawa flavonoid yang terdapat dalam kandungan buncis memiliki aktivitas sebagai antioksidan yang menekan apoptosis sel beta tanpa mengubah proliferasi dari sel beta pankreas yaitu dengan mengikat radikal bebas sehingga dapat mengurangi resistensi insulin. Antioksidan dapat menurunkan *Reactive Oxygen Species* (ROS), pada proses pembentukan ROS oksigen akan berikatan dengan elektron bebas yang menghasilkan ROS dalam mitokondria. Aktivitas antioksidan pada senyawa flavonoid bekerja dengan menyumbangkan atom hidrogennya, senyawa flavonoid akan teroksidasi dan berikatan dengan radikal bebas sehingga radikal bebas menjadi senyawa yang lebih stabil sehingga mencegah kerusakan pada sel beta pankreas (Oktarlina &

Rachmawani 2017). Quercetin merupakan salah satu flavonoid yang terkandung di dalam buah buncis (Wijayakusuma 2005). Aktivitas senyawa quercetin yang terkandung di dalam buah buncis diduga mampu melindungi sel beta pankreas, hal ini dibuktikan dengan penelitian yang dilakukan oleh Srinivasan *et al.* (2017) yang menyatakan bahwa senyawa quercetin mampu melindungi sel beta pankreas.

11. Hubungan antara kadar glukosa darah dan kadar malondialdehid (MDA)

Hasil uji korelasi antara kadar glukosa darah dan kadar MDA dengan signifikan ($p < 0,05$) yang menunjukkan adanya korelasi yang kuat. Jika kadar glukosa darah menurun maka kadar MDA di dalam tubuh juga akan menurun. Hal ini membuktikan bahwa penurunan kadar glukosa darah sangat mempengaruhi antioksidan endogen yang ada di dalam tubuh. Flavonoid yang berperan membersihkan radikal bebas yang berlebihan, memutuskan rantai reaksi radikal bebas, mengikat ion logam (*chelating*), dan memblokir jalur poliol dengan menghambat enzim aldose reduktase (Patel 2012). Flavonoid juga dapat berperan melindungi terhadap kerusakan jaringan pankreas yang diakibatkan oleh alkilasi DNA sehingga dapat memperbaiki morfologi pankreas tikus dan meningkatkan sensitivitas reseptor insulin pada tikus yang resistensi insulin, sehingga dapat menurunkan kadar glukosa dan kadar MDA (Mohan & Nandhakumar 2014).

Berdasarkan nilai statistik diketahui bahwa besarnya korelasi (*Pearson correlation*) adalah 0,981 dan nilai sig. (2-tailed) adalah 0,000 maka, dapat disimpulkan bahwa terdapat korelasi yang kuat antara kadar glukosa darah dan kadar MDA. Antioksidan endogen di dalam tubuh berfungsi untuk menangkal radikal dan stress oksidatif. Penurunan stress oksidatif dalam sel berarti akan menurunkan proses kerusakan maupun meningkatkan degenerasi sel β pankreas dan menurunkan kadar MDA yang merupakan hasil dari peroksidasi lipid yang diakibatkan oleh stress oksidatif.

BAB V

KESIMPULAN DAN SARAN

A. Kesimpulan

Berdasarkan hasil penelitian yang telah dilakukan dapat ditarik kesimpulan bahwa :

Pertama, ekstrak etanol buah buncis dapat menurunkan kadar glukosa darah pada tikus diabetes yang diinduksi aloksan.

Kedua, ekstrak etanol buah buncis dapat menurunkan kadar malondialdehid (MDA) pada tikus diabetes yang diinduksi aloksan.

Ketiga, dosis efektif ekstrak etanol buah buncis yang mampu sebanding dengan glibenklamid dalam menurunkan kadar glukosa dan kadar malondialdehid (MDA) adalah dosis 420 mg/kg bb.

B. Saran

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

Pertama, penelitian lebih lanjut dengan menggunakan fraksi-fraksi dari ekstrak etanol buah buncis.

Kedua, penelitian lebih lanjut tentang toksisitas akut dan kronik ekstrak etanol buah buncis.

DAFTAR PUSTAKA

- [BPOM RI] Badan Pengawas Obat dan Makanan Republik Indonesia. 2010, *Acuan Sediaan Herbal*. Vol. 5 Ed I. Jakarta: Badan Pengawas Obat dan Makanan Republik Indonesia.
- [BPOM RI] Badan Pengawas Obat dan Makanan Republik Indonesia. 2014. *Peraturan Nomor 7 Tentang Pedoman Uji Toksisitas Nonklinik Secara in vivo*. Badan Pengawas Obat dan Makanan. Hlm 28-37.
- [DEPKES RI] Departemen Kesehatan Republik Indonesia. 1985. *Sediaan Galenik. Edisi I*. Jakarta: Departemen Kesehatan Republik Indonesia.
- [DEPKES RI] Departemen Kesehatan Republik Indonesia. 1986. *Sediaan Galenik*. Edisi III. Jakarta: Departemen Kesehatan Republik Indonesia.
- [DEPKES RI] Departemen Kesehatan Republik Indonesia. 1993. *Pedoman Pengujian dan Pengembangan Fitokimia: Penapisan Farmakologi, Pengujian Fitokimia, dan Pengujian Klinik*. Jakarta: Yayasan Perkembangan Obat Bahan Alam.
- [DEPKES RI] Departemen Kesehatan Republik Indonesia. 1995. *Materia Medika Indonesia*. Jilid VI. Jakarta: Departemen Kesehatan Republik Indonesia.
- [DEPKES RI] Departemen Kesehatan Republik Indonesia. 2005. *Pharmaceutical care untuk penyakit diabetes melitus*. Jakarta: Direktorat Bina Farmasi Komunitas dan Klinik. Direktorat Jendral Nina Kefarmasian dan Alat Kesehatan. Departemen Kesehatan Republik Indonesia.
- [Kemenkes RI] Kementerian Kesehatan Republik Indonesia. 2013. *Suplemen III Farmakope Herbal Indonesia Edisi I*. Jakarta: Kementerian Kesehatan Republik Indonesia.
- Achmad A, Regar DN, Harwoko. 2016. Efektifitas ekstrak buah pare (*Momordica charantia*) dan buncis (*Phaseolus vulgaris*) untuk penurunan kadar glukosa darah dan AUC (*Area Under Curve*) tikus. *Pharmaceutical Journal of Indonesia* 2:25-29.
- Adji D. 2008. Hubungan konsentrasi malondialdehida, glukosa dan total kolesterol pada tikus putih yang diinjeksi dengan streptozotocin. *J. Sain Vet.* 26:73-77.
- Allredge BK *et al.* 2013. *Koda-Kimble & Young's Applied Therapeutics The Clinical Use of Drug*. 10th Ed. Lippincott Williams & Wilkins.

- Andayani Y. 2003. Mekanisme Aktivitas Antihiperqlikemik Ekstrak Buncis (*Phaseolus vulgaris* Linn) pada Tikus Diabetes dan Identifikasi Komponen Aktif. Disertasi. Bogor: Institut Pertanian Bogor.
- Ansel HC. 1989. *Penghantar Bentuk Sediaan Farmasi*. Ed ke-4. Jakarta: Indonesia University Press hlm 605-606.
- Arkhaesi N. 2008. Kadar Malondialdehyde (MDA) Serum Sebagai Indikator Prognosis Keluaran pada Sepsis Neonatorum [Tesis]. Semarang: Universitas Diponegoro.
- Atchibri ALO, Brou KD, Kouakou TH, Kouadio YJ, Gnakri D. 2010, Screening for antidiabetic activity and phytochemical constituents of common bean (*Phaseolus vulgaris* L.) seeds. *J. Med. Plant. Res* 4(17):1757-1761
- Ayala JE *et al.* 2010, Standard operating procedures for describing and performing metabolic tests of glucose homeostasis in mice. *Disease Models & Mechanisms* 3, 525-534.
- Beckman JA, Goldfine AB, Gordon MB, Creager MA. 2001. Ascorbate restores endothelium-dependent vasodilation impaired by acute hyperglycemia in humans. *Circulation* 103:1618-1623.
- Benhar M, Engelberg D, Levitski A. *Reactive oxygen species (ros), stress-activated kinases and stress signalling in cancer*. EMBO reports. 2002; 3(5):420-5.
- Bhutia Y, Ghosh A, Sherpa ML, Pal R, Mohanta PK. 2011. Serum malondialdehyde level: surrogate stress marker in the Sikkimese diabetics. *Journal of Natural Science, Biology and Medicine* 4(1).
- Chikezie PC, Ojiako OA, Ogbuji AC. 2015. Oxidative Stress in Diabetes Mellitus. *Int. J. Biol. Chem.* 9 (3): 92-109
- Dalimartha S. 2005. *Ramuan Tradisional untuk Pengobatan Diabetes Mellitus*. Cetakan ke-10. Jakarta: Penebar Swadaya. Hlm 3-15
- Dalimartha S. 2008. *Atlas Tumbuhan Obat Indonesia*. Jilid 5. Jakarta: Pustaka Bunda.
- Dalle-Donne I, Rossi R, Colombo R, Giustarini D, Milzani A. 2006. Biomarkers of Oxidative Damage in Human Disease. *Clinical Chemistry* 52 (4)
- Dipiro JT, Wells BG, Schwinghammer TL, Dipiro CV. 2009. *Pharmacotherapy Handbook*. 7th Ed. McGraw-Hill Companies
- Etuk EU. 2010. Animals models for studying diabetes mellitus. *Agriculture and Biology Journal of North America* 1(2): 130-134.

- Giriwijoyo S. 2004. *Ilmu Faal Olahraga Fungsi Tubuh Manusia pada Olahraga*. Fakultas Pendidikan Olahraga Kesehatan. Universitas Pendidikan Indonesia.
- Halliwell B, Gutteridge JMC. 1999. *Free radical in biology and medicine*. 3rd ed. New York: Oxford University Press.p.639-45.
- Harapan JKF, Hayati Z, Muhammad I. 2010. Peran puasa dalam remodelling sel enteroendokrin untuk mencegah diabetes mellitus tipe 2. *JIMKI* 1(1): 36-40.
- Harborne JB. 1987. *Metode Fitokimia: Penuntun Cara Modern Menganalisis Tumbuhan*. Terbitan k-2. Kosasih Padmawatinata dan Iwang Soediro, Penerjemah. Bandung: ITB.
- Harmita S, Radji M. 2005. *Buku Ajar Analisis Hayati*. Edisi 2. Jakarta: Departemen Farmasi FMIPA UI.
- Jannah H, Sudarma IM, Andayani Y. 2013. Analisis senyawa fitosterol dalam ekstrak buah buncis (*Phaseolus vulgaris* L.). *Chem. Prog.* 6:70-75
- Katno. 2008. *Pengelolaan Pasca Panen Tanaman Obat*. Jakarta: Departemen Kesehatan RI.
- Katzung BG. 2002. *Farmakologi Dasar dan Klinik*. Bagian Farmakologi Fakultas Kedokteran Universitas Airlangga, penerjemah; Jakarta: Salemba Medika.
- Ketaren S. 1986. *Pengantar Teknologi Minyak dan Lemak Pangan*. UI Press. Jakarta.
- Kristanti AN, Aminah NS, Tanjung M, Kurniadi B. 2008. *Buku Ajar Fitokimia*. Surabaya: Airlangga University Press. Hal. 23, 47.
- Kowluru RA, Tang J, Kern TS. 2001. Abnormalities of retinal metabolism in diabetes and experiment galactosemia. *Diabetes* 50:1938-42.
- Kumar V, Ahmed D, Anwar F, Ali M, Mujeeb M. 2013. Enhanced glycemic control, pancreas protective, antioxidant and hepatoprotective effects by umbelliferon α -D-glucopyranosyl-(2) glucopyranoside in streptozotocin induced diabetic rats. *Springer Plus* 2:639.
- Kurniawati D, Sutrisna EM, Wahyuni AS. 2012. Uji penurunan kadar glukosa darah oleh ekstrak etanol 70% daun buncis (*Phaseolus vulgaris* L.) pada kelinci jantan yang dibebani glukosa. *Biomedika* 4(1).
- Lian JH, Xiang YQ, Guo L, Wei RH, Gong BQ. 2007. The use of High-Fat/Carbohydrate Diet-Fed and Streptozotocin-Treated Mice as a Suitable Animal Model of Type 2 Diabetes Mellitus. *Scand. J. Lab. Anim. Sci* 34.

- Linghuat LR. 2008. Uji Efek Ekstrak Etanol Biji Mahoni (*Swietenia mahagoni,jagz*) terhadap Penurunan Kadar Glukosa Darah Tikus Putih [skripsi]. Medan: Fakultas Farmasi, Universitas Sumatera Utara.
- Lu FC. 1995. *Toksikologi Dasar: Asas, organ sasaran, dan penilaian resiko*. Edisi Kedua. Nugroho E, penerjemah; Jakarta: Penerbit Universitas Indonesia. 86-89. Terjemahan dari: *Basis Toxicology Fundamentals, Target, Organs, and Risk Assesment*.
- Luka CD, Olatunde A, Tijjani H, Olisa-Enewe IA. 2013. Effect of aqueous extract of *Phaseolus vulgaris* L. (red kidney beans) on alloxan-induced diabetic wistar rats. *IJSIT* 2:292-301.
- Makalalag *et al.* 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 – UNSRAT* 2(1)
- Martindale. 1989. *The Extra Pharmacopoeia* 29th Ed. Pharmaceutical Press
- Merck. 1987. *Buku Pedoman Kerja Kimia Klinik*. Jakarta: Merck. Hlm 62-78
- Mohan S, Nandhakumar L. 2014. Role of various flavonoids: Hypotheses on novel approach to treat diabetes. *Journal of Medical Hypotheses and Ideas*. 8;1-6.
- Mukhriani. 2014. Ekstraksi, pemisahan senyawa, dan identifikasi senyawa aktif. *Jurnal Kesehatan* 7:361-363.
- Nualkaew S, Padee P, Talubmook C. 2015. Hypoglycemic activity in diabetic rats of stigmasterol and sitosterol-3-O- β -D-glucopyranoside isolated from *Pseuderanthemum palatiferum* (Nees) Radlk. leaf extract. *Journal of Medicinal Plants Research* 9(20):630-635
- Nugrahani R, Andayani Y, Hakim A. 2016. Skrining fitokimia dari ekstrak buah buncis (*Phaseolus vulgaris* L.) dalam sediaan serbuk. *Jurnal Penelitian Pendidikan IPA* 2:36-41.
- Nugroho AE. 2006. Review hewan percobaan diabetes mellitus : patologi dan mekanisme aksi diabetogenik, animal models of diabetes mellitus: pathology and mechanism of some diabetogenics. *Biodiversitas* 7:378-382.
- Nuttal SL, Dunne F, Kendal MJ, Martin U. 1999. Age-independent oxidative stress in elderly patients with non-insulin dependent diabetes mellitus. *Q J Med* 92:33-8.

- Oktaria D, Fiana N. 2016. Pengaruh kandungan saponin dalam daging buah mahkota dewa (*Phaleria macrocarpa*) terhadap penurunan kadar glukosa darah. *Majority* 5:128-132
- Oktarlina RZ, Rachmawani NR. 2016. Khasiat pemberian buncis (*Phaseolus vulgaris* L.) sebagai terapi alternatif diabetes melitus tipe 2. *Majority* 6:71-76.
- Pasaribu R, Hutahaean S, Ilyas S. 2015. Uji antihiperqlikemia ekstrak etanol daun kembang bulan (*Tithonia diversifolia*) pada mencit (*Mus musculus*) yang diinduksi diabetes dengan aloksan. *Jurnal Biosains* 1:2
- Patel DK, Prasad SK, Sairam K, Hermalatha S. 2012. Aldose reductase inhibitory principles from the whole plant of *Hybanthus enneaspermus* (Linn) F. Muell. *Asian Pasific Journal of Tropical Biomedicine*. S165-S169.
- Perdana YAW, Sampurna, Chodidjah. 2010. Uji efektivitas air rebusan buncis (*Phaseolus vulgaris* Linn) dan bekatul terhadap kadar glukosa. *Sains Medika* 2:32-35.
- Permatasari N. 2012. *Instruksi Kerja Pengambilan Darah, Perlakuan, dan Injeksi pada Hewan Coba*. Malang: Universitas Brawijaya.
- Putra AP. 2013. Pengaruh Pemberian Ekstrak Etanol Buncis (*Phaseolus vulgaris* L.) Terhadap Penurunan Kadar Glukosa Darah Mencit yang Diinduksi Aloksan [Skripsi]. Jember: Fakultas Kedokteran Universitas Jember.
- Rahbani-Nobar ME, Rahimi-Pour A, Rahbani-Nobar M, Adi-Beig F, Mirhashemi SM. 1999. Total antioxidant capacity, superoxide dismutase and glutathione peroxidase in diabetic patients. *Medical Journal of Islamic Academy of Sciences*. 12:109-14.
- Rice-Evans CA, Miller NJ, Bolwell PG, Bramley PM, Pridham JB. 1995. The relative antioxidant activities of plant-derived polyphenolic flavonoids. *Free Radical Res*. 22: 375-383.
- Saleem ZM, Ahmed S, Hasan MM. 2016. *Phaseolus vulgaris* Linn.: botany, medicinal uses, phytochemistry and pharmacology. *World Journal of Pharmaceutical Research*. 5:1612.
- Sarker SD, Latif Z, Gray AI. 2006. *Natural Product Isolation*. Ed ke-2. Jakarta: Humana Press. Hlm 30-32, 340-342.
- Sayuti K, Yenrina R. 2015. *Antioksidan Alami dan Sintetik*. Padang: Andalas University Press
- Shakya G, Goud C, Pajaniradje S, Rajagopalan R. 2012. Protective Role of Wheatgrass on Oxidative stress In Streptozotocin Induce Type 2 Diabetic

Rats. *International Journal of Pharmacy and Pharmaceutical Sciences*. ISSN- 0975-1491. 4(3):84-95.

- Singab ANB, Jari S, Kalevi P. 2005. Hypolipidemic and antioxidant effectcc of *Morus alba* L. (Egyptian mulberry) root bark fractions supplementation in cholesterol-fed rats [skripsi]. Cairo: Faculty of Pharmacy, AL-Azhar University.
- Singh S *et al.* 2014. Antidiabetic potential of triterpenoid saponin isolated from *Primula denticulate*. *Pharm Biol* 52(6): 750–755
- Srinivasan P, Vijayakumar S, Khotandaraman S, Palani M. 2017. Anti-diabetic activity of quercetin extracted *Phyllanthus emblica* L. fruit: in silico and in vivi approaches. *Journal Pharmaceutical analysis* 8:109-118
- Suarsana IN, Utama IH, Agung IG, Suartini A. 2011. Pengaruh hiperglikemia dan vitamin E pada kadar malondialdehid dan enzim antioksidan. *MKB*. 43: 102-113.
- Sugyianto. 1995. *Penuntun Praktikum Farmakologi*. Edisi IV. Yogyakarta: Universitas Gajah Mada.
- Sukandar EY *et al.* 2008. *ISO Farmakoterapi*. Jakarta: PT. ISFI Penerbitan. Hlm 26-36.
- Suryono, Yudha CS. 2012. Efektifitas daun sirih merah untuk menurunkan kadar gula darah pada penderita diabetes mellitus. *Jurnal AKP* 6:20-27
- Syamsuni HA. 2006. *Ilmu Resep*. Jakarta. EGC.
- Szkudelski T. 2001. The mechanism of alloxan and streptozotocin action in β cells of the rats pancreas. *Physiology Research*. 50: 536-54.
- Tjay HT, Rahardja K. 2007. *Obat-obat Penting: Khasiat Penggunaan dan Efek-efek Sampingnya*. Edisi VI. Jakarta: PT Alex Media Komputindo. Hlm 690-755.
- Taufiqurrohman. 2015. Indonesia bay leaves as antidiabetic for type 2 diabetes mellitus. *Journal Majority* 4 (3) : 101-108.
- Tiong *et al.* 2013. Antidiabetic and Antioxidant Properties of Alkaloids from *Catharanthus roseus* (L.) G. Don. *Molecules* 18:9770-9784
- Tiwari BK, Pandey KB, Abidi AB, Rizvi SI. 2013.
- Tiwari P, Kumar B, Kaur, M Kaur H. 2011. Phytochemical screening and extraction: A Review. *International Pharmaceutica Scientia* 1(1).

- Ueno Y, Kizaki M, Nakagiri R, Kamiya T, Sumi H, Osawa T. 2002. Dietary glutathione protects rats from diabetic nephropathy and neuropathy. *J Nutr* 132:897-900.
- Valko M, Leibfritz D, Moncol J, Cronin MTD, Mazur M, Telser J. 2007. Review: free radicals and antioxidant in normal physiological functions and human disease. *Inter J Biochem Cell Biol.* 39;44-84.
- Voigt R. 1994. *Buku Pelajaran Teknologi Farmasi*. Edisi ke 5. Noerono S, penerjemah; Yogyakarta: Gadjah Mada University Press.
- Waluyo N, Djuariah D. 2013. Varietas-varietas buncis (*Phaseolus vulgaris* L.) yang telah dilepas oleh balai penelitian tanaman sayuran. *IPTEK Tanaman Sayuran*.
- WHO. 1999. Department of Noncommunicable Disease Surveillance Geneva. *Definition, Diagnosis and Classification of Diabetes Mellitus and its Complications*. Report of a WHO Consultation Part 1: Diagnosis and Classification of Diabetes Mellitus.
- Wijayakusuma MH. 2005. *Atasi Kanker dengan Tanaman Obat*. Jakarta: Puspa Swara
- Wildman REC. 2001. *Handbook of Nutraceuticals and Functional Food*. CRCpress. Boca Raton
- Winarsi H. 2007. *Antioksidan Alami dan Radikal Bebas*. Penerbit Kanisius. Yogyakarta
- Winarti S. 2010. *Makanan Fungsional*. Yogyakarta
- Yuriska A. 2009. Efek aloksan terhadap kadar glukosa darah tikus wistar [karya tulis ilmiah]. Semarang: Fakultas Kedokteran, Universitas Diponegoro
- Yustika AR, Aulanni'am, Prasetyawan S. 2013. Kadar malondialdehid (MDA) dan gambaran histologi pada ginjal tikus putih (*Rattus norvegicus*) pasca induksi *Cylosporine-A*. *Kimia Student journal* 1(2)
- Zulkarnain. 2013. Perubahan kadar glukosa darah puasa pada tikus *Sprague Dawley* yang diinduksi streptozotocin dosis rendah. *Jurnal Kedokteran Syiah Kuala* 13:71-76.

L

A

M

P

I

R

A

N

Lampiran 1. Surat keterangan determinasi tumbuhan

	KEMENTERIAN RISET, TEKNOLOGI DAN PENDIDIKAN TINGGI UNIVERSITAS SEBELAS MARET FAKULTAS MATEMATIKA DAN ILMU PENGETAHUAN ALAM LAB. PROGRAM STUDI BIOLOGI Jl. Ir. Sutami 36A Ketingan Surakarta 57126 Telp. (0271) 663375 Fax (0271) 663375 http://www.biology.mipa.uns.ac.id, E-mail biologi @ mipa.uns.ac.id
	<hr/> Nomor : 72/UN27.9.6.4/Lab/2018 Hal : Hasil Determinasi Tumbuhan Lampiran : -
Nama Pemesan : Normalisa NIM : 20144065A Alamat : Program Studi S1 Farmasi Fakultas Farmasi Universitas Setia Budi Surakarta	
HASIL DETERMINASI TUMBUHAN	
Nama Sampel : <i>Phaseolus vulgaris</i> L. Familia : Fabaceae	
Hasil Determinasi menurut C.A. Backer & R.C. Bakhuizen van den Brink, Jr. (1963) : 1b-2b-3b-4b-12b-13b-14b-17b-18b-19b-20b-21b-22b-23b-24b-25b-26b-27a-28b-29b-30a _____ 108. Papilionaceae/Fabaceae 1c-13b-23a-24b-25b-26b-27b-28c-29b-32b-39a-40b-50b-51b-75a-76a _____ 79. Phaseolus 1a-2a-3b-4a-5a _____ <i>Phaseolus vulgaris</i> L.	
Deskripsi Tumbuhan : Habitus : perdu membelit, semusim, panjang 0.3-3 m. Akar : tunggang, bercabang, putih kotor atau putih kekuningan hingga coklat kekuningan. Batang : bentuk bulat, sedikit berkayu, permukaan berbulu. Daun : majemuk menyirip; bentuk anak daun bulat telur hingga bulat telur melebar, panjang 5-13 cm, lebar 3.5-9.5 cm, ujung anak daun runcing hingga meruncing, tepi anak daun rata, pangkal anak daun membulat lebar, kedua permukaan anak daun berbulu, pertulangan anak daun menyirip; daun penumpu (stipula) bentuk lanset, panjang 4 mm, tetap melekat lama pada pangkal ibu tangkai daun (<i>persistent</i>). Bunga : majemuk tipe tandan, seringkali terdiri dari 1-2 bunga yang berpasangan, terletak di ketiak daun (aksiler); panjang ibu tangkai bunga 6 cm tetapi seringkali lebih pendek; anak daun pelindung bunga (brakteola) berbentuk bulat telur, terletak di bawah pangkal kelopak bunga, panjang 3-9 mm, <i>persistent</i> ; kelopak bunga berbentuk piala, bertaju 5, panjang daun kelopak bunga 3-9 mm, taju daun kelopak paling atas seringkali lebih pendek, berwarna hijau; daun mahkota bunga berwarna putih dan kemudian berubah menjadi kuning, bagian bendera (<i>vexillum</i>) pada pangkalnya mempunyai 2 telinga, diameter 9-14 mm, bagian lunas (<i>carina</i>) memutar pada bagian ujungnya, panjang 1 cm, sayap (<i>alae</i>) berbentuk bulat telur terbalik, berkuku panjang, panjang 5-7 mm; benang sari berlepasan, sebagian lagi bersatu; tangkai putik dekat kepala putik berjanggut, bakal buah (<i>ovarium</i>) berbulu. Buah : buah polong, berbentuk garis memanjang, panjang 10-15 cm, lebar 1-1.5 cm, membengkok lemah pada bagian ujung, pipih, permukaan gundul. Biji : 4-10 tiap buah, bentuk ginjal, panjang 0.9-2 cm, lebar 0.3-1.2 cm, warna merah.	
Surakarta, 26 Maret 2018	
Kepala Lab. Program Studi Biologi  Dr. Tetri Widiyahi, M.Si. NIP. 19711224 200003 2 001	Penanggungjawab Determinasi Tumbuhan  Suratman, S.Si., M.Si. NIP. 19800705 200212 1 002
Mengetahui Kepala Program Studi Biologi FMIPA UNS  Dr. Ratna Setyaningsih, M.Si. NIP. 19660714 199903 2 001	

Lampiran 2. Surat *ethical clearance*

3/7/2018

Form A2



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



School of Medicine Sebelas Maret University
Fakultas Kedokteran Universitas sebelas Maret

ETHICAL CLEARANCE
KELAIKAN ETIK

Nomor : 290 / III / HREC / 2018

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

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

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

PENGARUH EKSTRAK ETANOL BUAH BUNCIS (*Phaseolus vulgaris* L.) TERHADAP KADAR GLUKOSA DARAH DAN KADAR MALONDIALDEHID PADA TIKUS DIABETES YANG DIINDUKSI ALOKSAN

Principal investigator
 Peneliti Utama : Normalisa
 : 20144065A

Location of research
 Lokasi Tempat Penelitian : Universitas Gajah Mada

Is ethically approved
 Dinyatakan layak etik

Issued on : 07 Mar 2018

Chairman
 Ketua

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

Lampiran 3. Buncis segar, buncis kering, serbuk buncis, dan ekstrak buncis



Buah buncis segar



Buncis kering



Serbuk buncis



Ekstrak buah buncis

Lampiran 4. Perhitungan rendemen berat kering terhadap berat basah buah buncis

Berat basah (g)	Berat kering (g)	Rendemen (%)
5000,00	413,273	8,26

Perhitungan % rendemen buncis kering terhadap buncis basah

Rumus:

$$\begin{aligned}\% \text{ Rendemen} &= \frac{\text{berat buncis kering}}{\text{berat buncis basah}} \times 100\% \\ &= \frac{413 \text{ gram}}{5000 \text{ gram}} \times 100\%\end{aligned}$$

$$\% \text{ Rendemen} = 8,26 \%$$

Lampiran 5. Perhitungan penetapan kadar air serbuk buah buncis

Replikasi	Berat awal (gram)	Volume air (ml)	Kadar (%)
1	20,184	1,6	7,93
2	20,159	1,8	8,93
3	20,163	1,6	7,94
Rata-rata ± SD			8,26 ± 0,58

Replikasi 1.

$$\begin{aligned}
 \% \text{ Kadar} &= \frac{\text{Volume air}}{\text{Berat awal}} \times 100\% \\
 &= \frac{1,6 \text{ ml}}{20,184 \text{ gr}} \times 100\% \\
 &= 7,93 \%
 \end{aligned}$$

Replikasi 2

$$\begin{aligned}
 \% \text{ Kadar} &= \frac{\text{Volume air}}{\text{Berat awal}} \times 100\% \\
 &= \frac{1,8 \text{ ml}}{20,159 \text{ gr}} \times 100\% \\
 &= 8,93 \%
 \end{aligned}$$

Replikasi 3

$$\begin{aligned}
 \% \text{ Kadar} &= \frac{\text{Volume air}}{\text{Berat awal}} \times 100\% \\
 &= \frac{1,6 \text{ ml}}{20,163 \text{ gr}} \times 100\% \\
 &= 7,94 \%
 \end{aligned}$$

$$\begin{aligned}
 \text{Rata-rata kadar air serbuk buah buncis} &= \frac{7,93 \% + 8,93 \% + 7,94 \%}{3} \\
 &= 8,26 \%
 \end{aligned}$$

Lampiran 6. Perhitungan rendemen ekstrak

Simplisia (gram)	Berat wadah kosong (gram)	Berat wadah + ekstrak (gram)	Berat ekstrak (gram)	Rendemen (%)
313,148	156,398	171,684	15,286	4,88

Perhitungan berat ekstrak

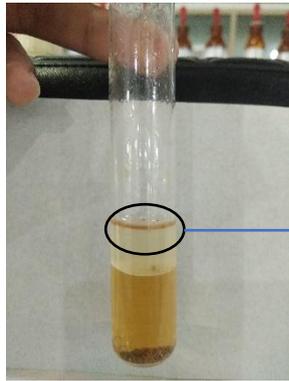
$$\begin{array}{rcl}
 \text{Berat wadah + ekstrak} & = & 171,684 \text{ gr} \\
 \text{Berat wadah kosong} & = & 156,398 \text{ gr} \\
 \hline
 \text{Berat ekstrak} & = & 15,286 \text{ gr}
 \end{array}$$

Perhitungan % rendemen ekstrak

$$\begin{aligned}
 \% \text{ Rendemen} &= \frac{\text{berat ekstrak}}{\text{berat serbuk}} \times 100\% \\
 &= \frac{15,286 \text{ gram}}{313,148 \text{ gram}} \times 100\% \\
 &= 4,88 \%
 \end{aligned}$$

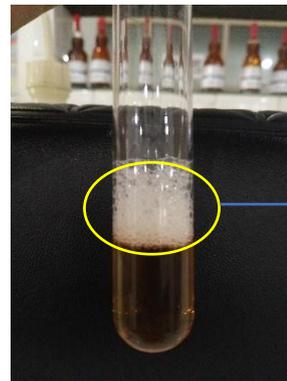
Lampiran 7. Hasil identifikasi kandungan senyawa kimia serbuk dan ekstrak buah buncis

Serbuk



Flavonoid

+



Saponin

+



Steroid



Alkaloid

Ekstrak



Flavonoid



Saponin



Steroid



Alkaloid

Lampiran 8. Perhitungan penyesuaian dosis

- 1. Konversi dosis mencit ke dosis tikus.** Dosis yang digunakan dalam penelitian ini berdasarkan penelitian sebelumnya yang dilakukan pada mencit sehingga perlu dikonversi dosis mencit ke dosis tikus.

Dosis mencit 300 mg/kg bb

- Dosis mencit (20 g)

$$\frac{20 \text{ g}}{1000 \text{ g}} \times 300 \text{ mg} = 6 \text{ mg}$$

- Konversi dosis mencit (20 g) ke dosis tikus (200 g)

Dosis mencit (20 g) x faktor konversi

$$6 \text{ mg} \times 7 = 42 \text{ mg}/200 \text{ g bb tikus atau } 210 \text{ mg/kg bb}$$

- 2. Induksi aloksan.** Induksi aloksan diberikan dengan dosis 150 mg/kg bb.

- Larutan stok aloksan 1 %

$$\frac{1 \text{ gram}}{100 \text{ ml}} = \frac{1000 \text{ mg}}{100 \text{ ml}} = 10 \text{ mg/ml}$$

- Dosis aloksan untuk tikus (200 g)

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

$$= 30 \text{ mg}$$

- Volume pemberian

$$= \frac{30 \text{ mg}}{10 \text{ mg/ml}} = 3 \text{ ml}$$

- 3. Kontrol negatif.** Pembuatan suspensi CMC Na 0,5% adalah dengan 1000 mg Na CMC ditambahkan aqua destilata sampai volume 100 ml. Volume yang diberikan adalah 2 ml karena syarat volume maksimum larutan sediaan uji yang diberikan pada hewan uji tikus (200 g) secara per oral (p.o.) adalah 5,0 ml.

- Larutan stock CMC Na 0,5%

$$\frac{0,5 \text{ gram}}{100 \text{ ml}} = \frac{500 \text{ mg}}{100 \text{ ml}} = 5 \text{ mg/ml}$$

- Volume pemberian untuk tikus yang beratnya 200 gram dengan larutan CMC Na 0,5 % adalah 2 mL. Menimbang CMC Na 500 mg dilarutkan dengan aquadest sampai larut kemudian dicukupkan volume sampai 100 ml.

4. Kontrol positif. Glibenklamid yang digunakan dalam penelitian ini adalah tablet glibenklamid generik. Konversi dosis manusia (70 Kg) ke dosis untuk hewan uji tikus dikali 0,018.

- Dosis glibenklamid untuk tikus (200 g)
 $= 5 \text{ mg} \times 0,018$
 $= 0,09 \text{ mg} / 200 \text{ g bb tikus}$
- Dosis tablet glibenklamid untuk tikus (200 g)
 $= \frac{0,09 \text{ mg}}{5 \text{ mg}} \times 200 \text{ mg}$
 $= 3,6 \text{ mg}$

Berat tablet 200 mg (mengandung 5 mg glibenklamid)

- Perhitungan tablet yang digunakan

$$\frac{4,5 \text{ mg}}{5 \text{ mg}} \times 200 \text{ mg} = 180 \text{ mg}$$

- Suspensi glibenklamid 180 mg/100 ml
 $= \frac{180 \text{ mg}}{100 \text{ ml}} = 1,8 \text{ mg/ml}$

- Volume pemberian (tikus 200 g)
 $= \frac{3,6 \text{ mg}}{1,8 \text{ mg/ml}} = 2 \text{ ml}$

5. Sediaan uji. Sediaan uji menggunakan ekstrak buah buncis dengan dosis 105 mg/kg bb, 210 mg/kg bb, dan 420 mg/kg bb.

1) Dosis ekstrak buah buncis 105 mg/kg bb tikus

- Larutan stok 1,05 %
 $\frac{1,05 \text{ gram}}{100 \text{ ml}} = \frac{1050 \text{ mg}}{100 \text{ ml}} = 10,5 \text{ mg/ml}$

- Dosis tikus (200 g)
 $\frac{200 \text{ gram}}{1000 \text{ gram}} \times 105 \text{ mg} = 21 \text{ mg}$

- Volume pemberian :
 $\frac{21 \text{ mg}}{10,5 \text{ mg/ml}} = 2 \text{ ml}$

- Dosis tikus ke manusia : Dosis tikus x faktor konversi tikus ke manusia
 - = 21 mg x 56
 - = 1,176 mg / 70 kgbb manusia
 - = 1,18 g/ 70 kgbb manusia

- 2) Dosis ekstrak buah buncis 210 mg/kg bb tikus
 - Larutan stok 2,1 %
 - $\frac{2,1 \text{ gram}}{100 \text{ ml}} = \frac{2100 \text{ mg}}{100 \text{ ml}} = 21 \text{ mg/ml}$
 - Dosis tikus (200 g)
 - $\frac{200 \text{ gram}}{1000 \text{ gram}} \times 210 \text{ mg} = 42 \text{ mg}$
 - Volume pemberian
 - $\frac{42 \text{ mg}}{21 \text{ mg/ml}} = 2 \text{ ml}$
 - Dosis tikus ke manusia: Dosis tikus x faktor konversi tikus ke manusia
 - = 42 mg x 56
 - = 2.352 mg/ 70 kgbb manusia
 - = 2.35 g/70 kgbb manusia

- 3) Dosis ekstrak buah buncis 420 mg/kg bb tikus
 - Larutan stok 4,2 %
 - $\frac{4,2 \text{ gram}}{100 \text{ ml}} = \frac{4200 \text{ mg}}{100 \text{ ml}} = 42 \text{ mg/ml}$
 - Dosis tikus (200 g)
 - $\frac{200 \text{ gram}}{1000 \text{ gram}} \times 420 \text{ mg} = 84 \text{ mg}$
 - Volume pemberian : $\frac{84 \text{ mg}}{42 \text{ mg/ml}} = 2 \text{ ml}$
 - Dosis tikus ke manusia: Dosis tikus x faktor konversi tikus ke manusia
 - = 84 mg x 56
 - = 4.704 mg/ 70 kgbb manusia
 - = 4.7 g/70 kgbb manusia

Lampiran 9. Hewan uji yang digunakan dan perlakuan



Kandang hewan uji



Hewan uji



Penimbangan hewan uji



Pemberian sediaan uji



Induksi aloksan



Pengambilan darah

Lampiran 10. Alat dan bahan yang digunakan



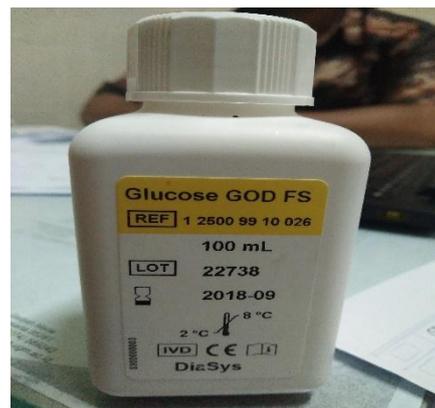
Aloksan



CMC Na



Standar glukosa



Reagen glukosa



Spektrofotometer uv-vis



Sentrifugasi

Lampiran 11. Hasil penimbangan berat badan dan rata-rata berat badan hewan uji

Kelompok	9-04-18	12-04-18	19-04-18	27-04-18
Normal	197	201	208	216
	199	204	212	221
	201	206	213	223
	187	190	198	207
	193	198	204	212
DM (kontrol negatif)	193	188	185	181
	187	184	180	178
	197	195	193	190
	190	188	185	183
	191	190	189	188
Gliben (kontrol positif)	193	190	194	202
	195	193	198	204
	199	197	203	210
	197	196	200	207
	194	190	195	203
Buncis 105 mg/kgbb	192	188	190	194
	190	185	187	190
	188	186	187	192
	193	190	192	197
	199	198	201	204
Buncis 210 mg/kgbb	196	194	199	205
	191	189	195	201
	189	187	192	198
	195	193	198	203
	188	187	193	198
Buncis 420 mg/kgbb	187	185	190	199
	184	180	185	192
	191	190	194	203
	186	184	189	198
	190	188	192	201

Kelompok	9 April	12 April	19 April	27 April
Kontrol normal	195,4 ± 4,96	199,8 ± 5,60	207 ± 5,51	215,8 ± 5,84
Kontrol negatif	191,6 ± 3,71	189 ± 4	186,4 ± 4,88	184 ± 4,95
Kontrol positif	195,6 ± 2,41	193,2 ± 3,27	198 ± 3,67	205,2 ± 3,27
Do 105 mg/kgbb	192,4 ± 4,16	189,4 ± 5,18	191,4 ± 5,77	195,4 ± 5,46
Do 210 mg/kgbb	191,8 ± 3,56	190 ± 3,32	195,4 ± 3,05	201 ± 3,08
Do 420 mg/kgbb	187,6 ± 2,88	185,4 ± 3,85	190 ± 3,39	198,6 ± 4,16

Lampiran 12. Kadar glukosa darah hewan uji T0

Kelompok	Kode hewan	Absorbansi	Kadar	Kadar rata-rata (mg/dL)	SD
Normal	I.1	0,164	67,49	69,30	1,11
	I.2	0,170	69,96		
	I.3	0,168	69,14		
	I.4	0,171	70,37		
	I.5	0,169	69,55		
K (-) CMC Na 0,5 %	II.1	0,165	67,90	69,47	1,52
	II.2	0,166	68,31		
	II.3	0,168	69,14		
	II.4	0,174	71,60		
	II.5	0,171	70,37		
K (+) Gliben 0,009 mg/200 g bb	III.1	0,173	71,19	70,70	0,98
	III.2	0,169	69,55		
	III.3	0,175	72,02		
	III.4	0,170	69,96		
	III.5	0,172	70,78		
Ekstrak buah buncis 105 mg/kg bb	IV.1	0,168	69,14	69,14	1,72
	IV.2	0,164	67,49		
	IV.3	0,166	68,31		
	IV.4	0,175	72,02		
	IV.5	0,167	68,72		
Ekstrak buah buncis 210 mg/kg bb	V.1	0,161	66,26	70,04	3,31
	V.2	0,170	69,96		
	V.3	0,165	67,90		
	V.4	0,173	71,19		
	V.5	0,182	74,90		
Ekstrak buah buncis 420 mg/kg bb	VI.1	0,177	72,84	73,09	1,19
	VI.2	0,180	74,07		
	VI.3	0,174	71,60		
	VI.4	0,181	74,49		
	VI.5	0,176	72,43		

Lampiran 13. Kadar glukosa darah hewan uji T1

Kelompok	Kode hewan	Absorbansi	Kadar	Kadar rata-rata (mg/dL)	SD
Normal	I.1	0,178	68,20	69,96	1,14
	I.2	0,184	70,50		
	I.3	0,182	69,73		
	I.4	0,186	71,26		
	I.5	0,183	70,11		
K (-) CMC Na 0,5 %	II.1	0,590	226,05	22,35	2,76
	II.2	0,584	223,75		
	II.3	0,602	230,65		
	II.4	0,592	226,82		
	II.5	0,599	229,50		
K (+) Gliben 0,009 mg/200 g bb	III.1	0,607	232,57	231,80	3,80
	III.2	0,597	228,74		
	III.3	0,594	227,59		
	III.4	0,608	232,95		
	III.5	0,619	237,16		
Ekstrak buah buncis 105 mg/kg bb	IV.1	0,596	228,35	225,75	3,91
	IV.2	0,582	222,99		
	IV.3	0,594	227,59		
	IV.4	0,599	229,50		
	IV.5	0,575	220,31		
Ekstrak buah buncis 210 mg/kg bb	V.1	0,589	225,67	226,59	2,51
	V.2	0,583	223,37		
	V.3	0,593	227,20		
	V.4	0,591	226,44		
	V.5	0,601	230,27		
Ekstrak buah buncis 420 mg/kg bb	VI.1	0,595	227,97	228,43	2,28
	VI.2	0,605	231,80		
	VI.3	0,592	226,82		
	VI.4	0,599	229,50		
	VI.5	0,590	226,05		

Lampiran 14. Kadar glukosa darah hewan uji T2

Kelompok	Kode hewan	Absorbansi	Kadar	Kadar rata-rata (mg/dL)	SD
Normal	I.1	0,195	68,66	70,92	1,63
	I.2	0,204	71,83		
	I.3	0,199	70,07		
	I.4	0,207	72,89		
	I.5	0,202	71,13		
K (-) CMC Na 0,5 %	II.1	0,647	227,82	228,03	2,76
	II.2	0,636	223,94		
	II.3	0,657	231,34		
	II.4	0,646	227,46		
	II.5	0,652	229,58		
K (+) Gliben 0,009 mg/200 g bb	III.1	0,520	183,10	181,69	3,14
	III.2	0,510	179,58		
	III.3	0,505	177,82		
	III.4	0,517	182,04		
	III.5	0,528	185,92		
Ekstrak buah buncis 105 mg/kg bb	IV.1	0,558	196,48	193,94	3,06
	IV.2	0,545	191,90		
	IV.3	0,550	193,66		
	IV.4	0,561	197,54		
	IV.5	0,540	190,14		
Ekstrak buah buncis 210 mg/kg bb	V.1	0,529	186,27	186,76	2,55
	V.2	0,520	183,10		
	V.3	0,533	187,68		
	V.4	0,530	186,62		
	V.5	0,540	190,14		
Ekstrak buah buncis 420 mg/kg bb	VI.1	0,521	183,45	183,94	1,42
	VI.2	0,528	185,92		
	VI.3	0,520	183,10		
	VI.4	0,525	184,86		
	VI.5	0,518	182,39		

Lampiran 15. Kadar glukosa darah hewan uji T3

Kelompok	Kode hewan	Absorbansi	Kadar	Kadar rata-rata (mg/dL)	SD
Normal	I.1	0,188	69,89	72,05	1,45
	I.2	0,195	72,49		
	I.3	0,192	71,38		
	I.4	0,198	73,61		
	I.5	0,196	72,86		
K (-) CMC Na 0,5 %	II.1	0,617	229,37	228,99	2,67
	II.2	0,605	224,91		
	II.3	0,624	231,97		
	II.4	0,614	228,25		
	II.5	0,620	230,48		
K (+) Gliben 0,009 mg/200 g bb	III.1	0,286	106,32	103,94	1,68
	III.2	0,280	104,09		
	III.3	0,277	102,97		
	III.4	0,281	104,46		
	III.5	0,274	101,86		
Ekstrak buah buncis 105 mg/kg bb	IV.1	0,434	161,34	160	2,26
	IV.2	0,430	159,85		
	IV.3	0,428	159,11		
	IV.4	0,438	162,83		
	IV.5	0,422	156,88		
Ekstrak buah buncis 210 mg/kg bb	V.1	0,375	139,41	136,73	2,19
	V.2	0,359	133,46		
	V.3	0,366	136,06		
	V.4	0,370	137,55		
	V.5	0,369	137,17		
Ekstrak buah buncis 420 mg/kg bb	VI.1	0,294	104,09	103,12	2,21
	VI.2	0,289	107,43		
	VI.3	0,302	103,35		
	VI.4	0,296	106,32		
	VI.5	0,298	102,23		

Lampiran 16. Persamaan regresi linear kurva baku TEP

Konsentrasi (nmol/ml)	Absorbansi
0	0,028
0,375	0,048
0,75	0,083
1,5	0,169
3	0,264

$$a = 0,0265$$

$$b = 0,0817$$

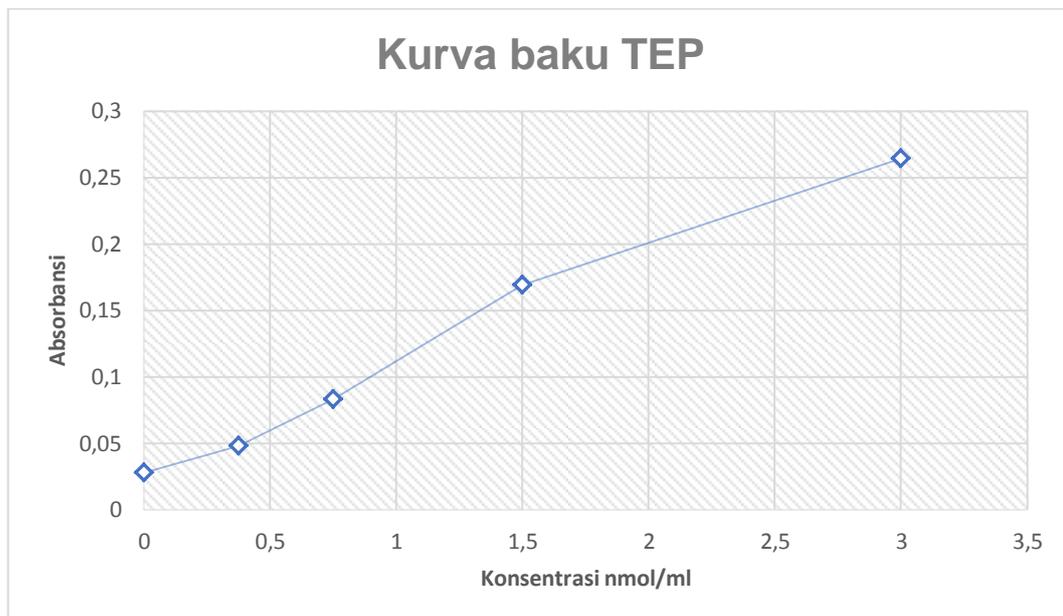
$$r = 0,9926$$

$$\text{persamaan} = y = a + bx$$

$$= y = 0,0265 + 0,0817x$$

x = kadar MDA

y = absorbansi



Lampiran 17. Kadar MDA hewan uji

Kelompok	Kode hewan	Absorbansi	Kadar
Normal	I.1	0,040	1,65
	I.2	0,045	2,26
	I.3	0,041	1,77
	I.4	0,042	1,90
	I.5	0,044	2,14
K (-) CMC Na 0,5 %	II.1	0,108	9,98
	II.2	0,099	8,87
	II.3	0,102	9,24
	II.4	0,107	9,85
	II.5	0,104	9,49
K (+) Gliben 0,009 mg/200 g bb	III.1	0,053	3,24
	III.2	0,055	3,49
	III.3	0,049	2,75
	III.4	0,051	3,00
	III.5	0,054	3,37
Ekstrak buah buncis 105 mg/kg bb	IV.1	0,085	7,16
	IV.2	0,080	6,55
	IV.3	0,084	7,04
	IV.4	0,088	7,53
	IV.5	0,079	6,43
Ekstrak buah buncis 210 mg/kg bb	V.1	0,068	5,08
	V.2	0,074	5,81
	V.3	0,073	5,69
	V.4	0,077	6,18
	V.5	0,069	5,20
Ekstrak buah buncis 420 mg/kg bb	VI.1	0,056	3,61
	VI.2	0,054	3,37
	VI.3	0,060	4,10
	VI.4	0,053	3,24
	VI.5	0,051	3,00

Lampiran 18. Hasil statistik berat badan tikus T₂

Berat Badan T ₂		Tests of Normality					
		Kolmogorov-Smirnov ^a			Shapiro-Wilk		
		Statistic	df	Sig.	Statistic	df	Sig.
Kelompok	Normal	.191	5	.200*	.932	5	.608
	K (-)	.213	5	.200*	.969	5	.870
	K (+)	.193	5	.200*	.957	5	.787
	EBB 105 mg/kg bb	.259	5	.200*	.830	5	.138
	EBB 210 mg/kg bb	.203	5	.200*	.923	5	.549
	EBB 420 mg/kg bb	.184	5	.200*	.978	5	.921

a. Lilliefors Significance Correction

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

Dari data output diatas maka dapat diketahui bahwa nilai sig. dari masing-masing kelompok $> 0,05$ (H_0 diterima) maka dapat disimpulkan bahwa data tersebut terdistribusi normal sehingga dapat dilanjutkan dengan pengujian *Anova*.

Test of Homogeneity of Variances

Berat Badan T₂

Levene Statistic	df1	df2	Sig.
.739	5	24	.602

ANOVA

Berat Badan T₂

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	1322.700	5	264.540	12.266	.000
Within Groups	517.600	24	21,567		
Total	1840,300	29			

Dari ouput ANOVA diatas diketahui bahwa nilai sig. = 0,000 $< 0,05$ (H_0 ditolak) maka dapat disimpulkan bahwa terdapat perbedaan kadar gula darah tikus yang signifikan pada setiap kelompok.

Multiple Comparisons
Berat Badan
Tukey HSD

(I) kelompok	(J) kelompok	Mean Difference (I-J)	Std. Error	Sig.	95% Confidence Interval	
					Lower Bound	Upper Bound
Normal	K (-)	20,600*	2.937	.000	11,52	29,68
	K (+)	9,000	2.937	.053	-.08	18,08
	105 mg/kg bb	15,600*	2.937	.000	6,52	24,68
	210 mg/kg bb	11,600*	2.937	.007	2,52	20,68
	420 mg/kg bb	17,000*	2.937	.000	7,92	26,08
K (-)	Normal	-20,600*	2.937	.000	-29,68	-11,52
	K (+)	-11,600*	2.937	.007	-20,68	-2,52
	105 mg/kg bb	-5,000	2.937	.543	-14,08	4,08
	210 mg/kg bb	-9,000	2.937	.053	-18,08	.08
	420 mg/kg bb	-3,600	2.937	.820	-12,68	5,48
K (+)	Normal	-9,000	2.937	.053	-18,08	.08
	K (-)	11,600*	2.937	.007	2,52	20,68
	105 mg/kg bb	6,600	2.937	.254	-2,48	15,68
	210 mg/kg bb	2,600	2.937	.946	-6,48	11,68
	420 mg/kg bb	8,000	2.937	.107	-1,08	17,08
105 mg/kg bb	Normal	-15,600*	2.937	.000	-24,68	-6,52
	K (-)	5,000	2.937	.543	-4,08	14,08
	K (+)	-6,600	2.937	.254	-15,68	2,48
	210 mg/kg bb	-4,000	2.937	.748	-13,08	5,08
	420 mg/kg bb	1,400	2.937	.997	-7,68	10,48
210 mg/kg bb	Normal	-11,600*	2.937	.007	-20,68	-2,52
	K (-)	9,000	2.937	.053	-.08	18,08
	K (+)	-2,600	2.937	.946	-11,68	6,48
	105 mg/kg bb	4,000	2.937	.748	-5,08	13,08
	420 mg/kg bb	5,400	2.937	.462	-3,68	14,48
420 mg/kg bb	Normal	-17,000*	2.937	.000	-26,08	-7,92
	K (-)	3,600	2.937	.820	-5,48	12,68
	K (+)	-8,000	2.937	.107	-17,08	1,08
	105 mg/kg bb	-1,400	2.937	.997	-10,48	7,68
	210 mg/kg bb	-5,400	2.937	.462	-14,48	3,68

*. The mean difference is significant at the 0,05 level.

Berat Badan T₂

Tukey HSD^a

kelompok	N	Subset for alpha = 0,05		
		1	2	3
K (-)	5	186.40		
420 mg/kg bb	5	190,00	190,00	
105 mg/kg bb	5	191,40	191,40	
210 mg/kg bb	5	195.40	195.40	
K (+)	5		198.00	198.00
Normal	5			207.00
Sig.		.053	.107	.053

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 5.000,

Lampiran 19. Hasil statistik berat badan tikus T₃

Berat Badan T ₃		Tests of Normality					
		Kolmogorov-Smirnov ^a			Shapiro-Wilk		
		Statistic	df	Sig.	Statistic	df	Sig.
Kelompok	Normal	.187	5	.200*	.960	5	.810
	K (-)	.190	5	.200*	.953	5	.760
	K (+)	.243	5	.200*	.922	5	.544
	105 mg/kg bb	.201	5	.200*	.927	5	.576
	210 mg/kg bb	.235	5	.200*	.903	5	.429
	420 mg/kg bb	.243	5	.200*	.933	5	.617

a. Lilliefors Significance Correction

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

Dari data output diatas maka dapat diketahui bahwa nilai sig. dari masing-masing kelompok $> 0,05$ (H_0 diterima) maka dapat disimpulkan bahwa data tersebut terdistribusi normal sehingga dapat dilanjutkan dengan pengujian *Anova*.

Test of Homogeneity of Variances

Berat Badan T₃

Levene Statistic	df1	df2	Sig.
.890	5	24	.503

ANOVA

Berat Badan T₃

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	2784.000	5	556.800	24.839	.000
Within Groups	538.000	24	22.417		
Total	3322.000	29			

Multiple Comparisons

Berat Badan T₃

Tukey HSD

(I) kelompok	(J) kelompok	Mean Difference (I-J)	Std. Error	Sig.	95% Confidence Interval	
					Lower Bound	Upper Bound
Normal	K (-)	31,800*	2.994	.000	22.54	41,06
	K (+)	10,600*	2.994	.018	1,34	19.86
	105 mg/kg bb	20,400*	2.994	.000	11,14	29.66
	210 mg/kg bb	14,800*	2.994	.001	5.54	24.06
	420 mg/kg bb	17,200*	2.994	.000	7.94	26.46
K (-)	Normal	-31,800*	2.994	.000	-41,06	-22.54
	K (+)	-21,200*	2.994	.000	-30,46	-11,94
	105 mg/kg bb	-11,400*	2.994	.010	-20,66	-2.14
	210 mg/kg bb	-17,000*	2.994	.000	-26,26	-7.74
	420 mg/kg bb	-14,600*	2.994	.001	-23,86	-5.34
K (+)	Normal	-10,600*	2.994	.018	-19,86	-1,34
	K (-)	21,200*	2.994	.000	11,94	30,46
	105 mg/kg bb	9,800*	2.994	.034	.54	19,06
	210 mg/kg bb	4,200	2.994	.725	-5,06	13,46
	420 mg/kg bb	6,600	2.994	.272	-2,66	15,86
105 mg/kg bb	Normal	-20,400*	2.994	.000	-29,66	-11,14
	K (-)	11,400*	2.994	.010	2,14	20,66
	K (+)	-9,800*	2.994	.034	-19,06	-,54
	210 mg/kg bb	-5,600	2.994	.443	-14,86	3,66
	420 mg/kg bb	-3,200	2.994	.889	-12,46	6,06
210 mg/kg bb	Normal	-14,800*	2.994	.001	-24,06	-5,54
	K (-)	17,000*	2.994	.000	7,74	26,26
	K (+)	-4,200	2.994	.725	-13,46	5,06
	105 mg/kg bb	5,600	2.994	.443	-3,66	14,86
	420 mg/kg bb	2,400	2.994	.964	-6,86	11,66
420 mg/kg bb	Normal	-17,200*	2.994	.000	-26,46	-7,94
	K (-)	14,600*	2.994	.001	5,34	23,86
	K (+)	-6,600	2.994	.272	-15,86	2,66
	105 mg/kg bb	3,200	2.994	.889	-6,06	12,46
	210 mg/kg bb	-2,400	2.994	.964	-11,66	6,86

*. The mean difference is significant at the 0,05 level.

Berat Badan T₃Tukey HSD^a

kelompok	N	Subset for alpha = 0,05			
		1	2	3	4
K (-)	5	184.00			
EBB 105 mg/kg bb	5		195.40		
EBB 420 mg/kg bb	5		198.60	198.60	
EBB 210 mg/kg bb	5		201,00	201,00	
K (+)	5			205.20	
Normal	5				215.80
Sig.		1,000	.443	.272	1,000

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 5.000,

Lampiran 20. Hasil statistik kadar glukosa darah T1

Kadar Glukosa		Tests of Normality					
		Kolmogorov-Smirnov ^a			Shapiro-Wilk		
Kelompok		Statistic	Df	Sig.	Statistic	df	Sig.
	Normal	.220	5	.200*	.956	5	.779
	K (-)	.182	5	.200*	.964	5	.839
	K (+)	.190	5	.200*	.943	5	.684
	150 mg/kg bb	.281	5	.200*	.892	5	.367
	210 mg/kg bb	.204	5	.200*	.976	5	.914
	420 mg/kg bb	.179	5	.200*	.952	5	.753

a. Lilliefors Significance Correction

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

Dari data output diatas maka dapat diketahui bahwa nilai sig. dari masing-masing kelompok $> 0,05$ (H_0 diterima) maka dapat disimpulkan bahwa data tersebut terdistribusi normal sehingga dapat dilanjutkan dengan pengujian *Anova*.

Test of Homogeneity of Variances

Kadar glukosa

Levene Statistic	df1	df2	Sig.
2.025	5	24	.111

ANOVA

Kadar glukosa

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	104159.366	5	20831,873	2488.978	.000
Within Groups	200,872	24	8.370		
Total	104360,238	29			

Dari ouput ANOVA diatas diketahui bahwa nilai sig. = $0,000 < 0,05$ (H_0 ditolak) maka dapat disimpulkan bahwa terdapat perbedaan kadar gula darah tikus yang signifikan pada setiap kelompok.

Multiple Comparisons

Kadar Glukosa

Tukey HSD

(I) kelompok	(J) kelompok	Mean Difference (I-J)	Std. Error	Sig.	95% Confidence Interval	
					Lower Bound	Upper Bound
Normal	K (-)	-157.394*	1,830	.000	-163.05	-151,74
	K (+)	-161,842*	1,830	.000	-167.50	-156.18
	105 mg/kg bb	-155.788*	1,830	.000	-161,45	-150,13
	210 mg/kg bb	-156.630*	1,830	.000	-162.29	-150,97
	420 mg/kg bb	-158.468*	1,830	.000	-164.13	-152.81
K (-)	Normal	157.394*	1,830	.000	151,74	163.05
	K (+)	-4.448	1,830	.185	-10,11	1,21
	105 mg/kg bb	1,606	1,830	.948	-4.05	7.26
	210 mg/kg bb	.764	1,830	.998	-4.89	6.42
	420 mg/kg bb	-1,074	1,830	.991	-6.73	4.58
K (+)	Normal	161,842*	1,830	.000	156.18	167.50
	K (-)	4.448	1,830	.185	-1,21	10,11
	105 mg/kg bb	6.054*	1,830	.031	.40	11,71
	210 mg/kg bb	5.212	1,830	.083	-.45	10,87
	420 mg/kg bb	3.374	1,830	.458	-2.28	9.03
105 mg/kg bb	Normal	155.788*	1,830	.000	150,13	161,45
	K (-)	-1,606	1,830	.948	-7.26	4.05
	K (+)	-6.054*	1,830	.031	-11,71	-4.0
	210 mg/kg bb	-.842	1,830	.997	-6.50	4.82
	420 mg/kg bb	-2.680	1,830	.689	-8.34	2.98
210 mg/kg bb	Normal	156.630*	1,830	.000	150,97	162.29
	K (-)	-.764	1,830	.998	-6.42	4.89
	K (+)	-5.212	1,830	.083	-10,87	.45
	105 mg/kg bb	.842	1,830	.997	-4.82	6.50
	420 mg/kg bb	-1,838	1,830	.912	-7.50	3.82
420 mg/kg bb	Normal	158.468*	1,830	.000	152.81	164.13
	K (-)	1,074	1,830	.991	-4.58	6.73
	K (+)	-3.374	1,830	.458	-9.03	2.28
	105 mg/kg bb	2.680	1,830	.689	-2.98	8.34
	210 mg/kg bb	1,838	1,830	.912	-3.82	7.50

*. The mean difference is significant at the 0,05 level.

Kadar Glukosa

Tukey HSD^a

kelompok	N	Subset for alpha = 0,05		
		1	2	3
Normal	5	69.96		
105 mg/kg bb	5		225.75	
210 mg/kg bb	5		226.59	226.59
K (-)	5		227.35	227.35
420 mg/kg bb	5		228.43	228.43
K (+)	5			231,80
Sig.		1,000	.689	.083

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 5.000,

Lampiran 21. Hasil statistik kadar glukosa ΔT_1 (penurunan kadar glukosa darah dari T_1 ke T_2)

kelompok		Tests of Normality					
		Kolmogorov-Smirnov ^a			Shapiro-Wilk		
		Statistic	df	Sig.	Statistic	df	Sig.
kadarglukosa	Normal	.215	5	.200*	.931	5	.603
	K (-)	.290	5	.195	.865	5	.245
	K (+)	.245	5	.200*	.895	5	.382
	105 mg/kg bb	.255	5	.200*	.950	5	.734
	210 mg/kg bb	.194	5	.200*	.932	5	.610
	420 mg/kg bb	.231	5	.200*	.890	5	.358

a. Lilliefors Significance Correction

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

Dari data output diatas maka dapat diketahui bahwa nilai sig. dari masing-masing kelompok $> 0,05$ (H_0 diterima) maka dapat disimpulkan bahwa data tersebut terdistribusi normal sehingga dapat dilanjutkan dengan pengujian *Anova*.

Test of Homogeneity of Variances

kadarglukosa

Levene Statistic	df1	df2	Sig.
1,128	5	24	.372

ANOVA

Kadarglukosa

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	12868.317	5	2573.663	3453.006	.000
Within Groups	17.888	24	.745		
Total	12886.205	29			

Dari ouput ANOVA diatas diketahui bahwa nilai sig. = $0,000 < 0,05$ (H_0 ditolak) maka dapat disimpulkan bahwa terdapat perbedaan penurunan kadar glukosa darah yang signifikan pada setiap kelompok

Multiple Comparisons
Kadar Glukosa
Tukey HSD

(I) kelompok	(J) kelompok	Mean Difference (I-J)	Std. Error	Sig.	95% Confidence Interval	
					Lower Bound	Upper Bound
Normal	K (-)	-.282	.546	.995	-1,97	1,41
	K (+)	-51,066*	.546	.000	-52,75	-49,38
	105 mg/kg bb	-32,760*	.546	.000	-34,45	-31,07
	210 mg/kg bb	-40,784*	.546	.000	-42,47	-39,10
	420 mg/kg bb	-45,440*	.546	.000	-47,13	-43,75
K (-)	Normal	.282	.546	.995	-1,41	1,97
	K (+)	-50,784*	.546	.000	-52,47	-49,10
	105 mg/kg bb	-32,478*	.546	.000	-34,17	-30,79
	210 mg/kg bb	-40,502*	.546	.000	-42,19	-38,81
	420 mg/kg bb	-45,158*	.546	.000	-46,85	-43,47
K (+)	Normal	51,066*	.546	.000	49,38	52,75
	K (-)	50,784*	.546	.000	49,10	52,47
	105 mg/kg bb	18,306*	.546	.000	16,62	19,99
	210 mg/kg bb	10,282*	.546	.000	8,59	11,97
	420 mg/kg bb	5,626*	.546	.000	3,94	7,31
105 mg/kg bb	Normal	32,760*	.546	.000	31,07	34,45
	K (-)	32,478*	.546	.000	30,79	34,17
	K (+)	-18,306*	.546	.000	-19,99	-16,62
	210 mg/kg bb	-8,024*	.546	.000	-9,71	-6,34
	420 mg/kg bb	-12,680*	.546	.000	-14,37	-10,99
210 mg/kg bb	Normal	40,784*	.546	.000	39,10	42,47
	K (-)	40,502*	.546	.000	38,81	42,19
	K (+)	-10,282*	.546	.000	-11,97	-8,59
	105 mg/kg bb	8,024*	.546	.000	6,34	9,71
	420 mg/kg bb	-4,656*	.546	.000	-6,34	-2,97
420 mg/kg bb	Normal	45,440*	.546	.000	43,75	47,13
	K (-)	45,158*	.546	.000	43,47	46,85
	K (+)	-5,626*	.546	.000	-7,31	-3,94
	105 mg/kg bb	12,680*	.546	.000	10,99	14,37
	210 mg/kg bb	4,656*	.546	.000	2,97	6,34

*. The mean difference is significant at the 0,05 level.

KadarGlukosa

Tukey HSD^a

kelompok	N	Subset for alpha = 0,05				
		1	2	3	4	5
Normal	5	-.96				
K (-)	5	-.67				
105 mg/kg bb	5		31,80			
210 mg/kg bb	5			39,83		
420 mg/kg bb	5				44,48	
K (+)	5					50,11
Sig.		.995	1,000	1,000	1,000	1,000

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 5.000,

Lampiran 22. Hasil statistik kadar glukosa ΔT_2 (penurunan kadar glukosa darah dari T_1 ke T_3)

kelompok		Tests of Normality					
		Kolmogorov-Smirnov ^a			Shapiro-Wilk		
		Statistic	df	Sig.	Statistic	df	Sig.
kadarglukosa	Normal	.203	5	.200*	.915	5	.497
	K (-)	.388	5	.013	.722	5	.016
	K (+)	.244	5	.200*	.814	5	.104
	105 mg/kg bb	.253	5	.200*	.882	5	.319
	210 mg/kg bb	.152	5	.200*	.995	5	.993
	420 mg/kg bb	.226	5	.200*	.849	5	.191

a. Lilliefors Significance Correction

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

Dari data output diatas maka dapat diketahui bahwa ada nilai sig. dari salah satu kelompok $< 0,05$ maka dapat disimpulkan bahwa data tersebut tidak terdistribusi normal sehingga dilanjutkan dengan pengujian non parametrik.

NPar Tests

Descriptive Statistics					
	N	Mean	Std. Deviation	Minimum	Maximum
kadar	30	67.5073	54.35803	-3.32	135.30
kelompok	30	3.50	1.737	1	6

Kruskal-Wallis Test

Ranks			
kelompok		N	Mean Rank
kadar	Normal	5	4.00
	K (-)	5	7.00
	K (+)	5	23.00
	dosis 105 mg/kg bb	5	13.00
	dosis 210 mg/kg bb	5	18.00
	Total	25	

Test Statistics ^{a,b}	
	kadar
Chi-square	22.338
df	4
Asymp. Sig.	.000

a. Kruskal Wallis Test

b. Grouping Variable:

kelompok

Mann-Whitney Test

Ranks

Kelompok		N	Mean Rank	Sum of Ranks
kadar	K (+)	5	8.00	40.00
	dosis 105 mg/kg bb	5	3.00	15.00
Total		10		

Test Statistics^b

	kadar
Mann-Whitney U	.000
Wilcoxon W	15.000
Z	-2.611
Asymp. Sig. (2-tailed)	.009
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	.008 ^a

a. Not corrected for ties.

b. Grouping Variable: kelompok

Ranks

Kelompok		N	Mean Rank	Sum of Ranks
kadar	K (+)	5	8.00	40.00
	dosis 210 mg/kg bb	5	3.00	15.00
Total		10		

Test Statistics^b

	kadar
Mann-Whitney U	.000
Wilcoxon W	15.000
Z	-2.611
Asymp. Sig. (2-tailed)	.009
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	.008 ^a

a. Not corrected for ties.

b. Grouping Variable: kelompok

Ranks

Kelompok	N	Mean Rank	Sum of Ranks
kadar K (+)	5	6.60	33.00
dosis 420 mg/kg bb	5	4.40	22.00
Total	10		

Test Statistics^b

	kadar
Mann-Whitney U	7.000
Wilcoxon W	22.000
Z	-1.149
Asymp. Sig. (2-tailed)	.251
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	.310 ^a

a. Not corrected for ties.

b. Grouping Variable: kelompok

Lampiran 23. Hasil statistik kadar MDA

Kelompok		Tests of Normality					
		Kolmogorov-Smirnov ^a			Shapiro-Wilk		
		Statistic	df	Sig.	Statistic	df	Sig.
kadar MDA	kontrol normal	.180	5	.200 [*]	.953	5	.756
	kontrol negatif	.190	5	.200 [*]	.959	5	.802
	kontrol positif	.193	5	.200 [*]	.958	5	.793
	105 mg/kgbb	.207	5	.200 [*]	.942	5	.682
	210 mg/kgbb	.207	5	.200 [*]	.942	5	.682
	420 mg/kgbb	.189	5	.200 [*]	.961	5	.817

a. Lilliefors Significance Correction

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

Dari data output diatas maka dapat diketahui bahwa nilai sig. dari masing-masing kelompok $> 0,05$ (H_0 diterima) maka dapat disimpulkan bahwa data tersebut terdistribusi normal sehingga dapat dilanjutkan dengan pengujian *Anova*.

Test of Homogeneity of Variances

kadar MDA

Levene Statistic	df1	df2	Sig.
.620	5	24	.686

ANOVA

kadar MDA

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	196.169	5	39.234	250,194	.000
Within Groups	3.764	24	.157		
Total	199.932	29			

Dari ouput ANOVA diatas diketahui bahwa nilai sig. = $0,000 < 0,05$ (H_0 ditolak) maka dapat disimpulkan bahwa terdapat perbedaan penurunan kadar MDA yang signifikan pada setiap kelompok

Multiple Comparisons
KadarMDA
Tukey HSD

(I) kelompok	(J) kelompok	Mean Difference (I-J)	Std. Error	Sig.	95% Confidence Interval	
					Lower Bound	Upper Bound
Normal	K (-)	-7.54200*	.25045	.000	-8.3164	-6.7676
	K (+)	-1,22600*	.25045	.001	-2.0004	-.4516
	105 mg/kg bb	-4.99800*	.25045	.000	-5.7724	-4.2236
	210 mg/kg bb	-3.64800*	.25045	.000	-4.4224	-2.8736
	420 mg/kg bb	-1,52000*	.25045	.000	-2.2944	-.7456
K (-)	Normal	7.54200*	.25045	.000	6.7676	8.3164
	K (+)	6.31600*	.25045	.000	5.5416	7.0904
	105 mg/kg bb	2.54400*	.25045	.000	1,7696	3.3184
	210 mg/kg bb	3.89400*	.25045	.000	3.1196	4.6684
	420 mg/kg bb	6.02200*	.25045	.000	5.2476	6.7964
K (+)	Normal	1,22600*	.25045	.001	.4516	2.0004
	K (-)	-6.31600*	.25045	.000	-7.0904	-5.5416
	105 mg/kg bb	-3.77200*	.25045	.000	-4.5464	-2.9976
	210 mg/kg bb	-2.42200*	.25045	.000	-3.1964	-1,6476
	420 mg/kg bb	-.29400	.25045	.845	-1,0684	.4804
105 mg/kg bb	Normal	4.99800*	.25045	.000	4.2236	5.7724
	K (-)	-2.54400*	.25045	.000	-3.3184	-1,7696
	K (+)	3.77200*	.25045	.000	2.9976	4.5464
	210 mg/kg bb	1,35000*	.25045	.000	.5756	2.1244
	420 mg/kg bb	3.47800*	.25045	.000	2.7036	4.2524
210 mg/kg bb	Normal	3.64800*	.25045	.000	2.8736	4.4224
	K (-)	-3.89400*	.25045	.000	-4.6684	-3.1196
	K (+)	2.42200*	.25045	.000	1,6476	3.1964
	105 mg/kg bb	-1,35000*	.25045	.000	-2.1244	-.5756
	420 mg/kg bb	2.12800*	.25045	.000	1,3536	2.9024
420 mg/kg bb	Normal	1,52000*	.25045	.000	.7456	2.2944
	K (-)	-6.02200*	.25045	.000	-6.7964	-5.2476
	K (+)	.29400	.25045	.845	-.4804	1,0684
	105 mg/kg bb	-3.47800*	.25045	.000	-4.2524	-2.7036
	210 mg/kg bb	-2.12800*	.25045	.000	-2.9024	-1,3536

*. The mean difference is significant at the 0,05 level.

KadarMDA

Tukey HSD^a

kelompok	N	Subset for alpha = 0,05				
		1	2	3	4	5
Normal	5	1,9440				
K (+)	5		3.1700			
420 mg/kg bb	5		3.4640			
210 mg/kg bb	5			5.5920		
105 mg/kg bb	5				6.9420	
K (-)	5					9.4860
Sig.		1,000	.845	1,000	1,000	1,000

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 5.000,

Lampiran 24. Hasil statistik korelasi antara kadar glukosa dengan kadar MDA

		Correlations	
		Kadar Glukosa	Kadar MDA
Kadar glukosa	Pearson Correlation	1	.981**
	Sig. (2-tailed)		.000
	N	30	30
Kadar MDA	Pearson Correlation	.981**	1
	Sig. (2-tailed)	.000	
	N	30	30

** . Correlation is significant at the 0,01 level (2-tailed).