

**PENGARUH EKSTRAK ETANOL DAUN RAMBUSA (*Passiflora foetida*
L.) TERHADAP KADAR GLUKOSA DARAH DAN KADAR
MALONDIALDEHID PADA TIKUS DIABETES**



Oleh:

**Marwin
19133939A**

**FAKULTAS FARMASI
UNIVERSITAS SETIA BUDI
SURAKARTA
2017**

**PENGARUH EKSTRAK ETANOL DAUN RAMBUSA (*Passiflora foetida*
L.) TERHADAP KADAR GLUKOSA DARAH DAN KADAR
MALONDIALDEHID PADA TIKUS DIABETES**



Oleh:

**Marwin
19133939A**

**FAKULTAS FARMASI
UNIVERSITAS SETIA BUDI
SURAKARTA
2017**

PENGESAHAN SKRIPSI

Berjudul

**PENGARUH EKSTRAK ETANOL DAUN RAMBUSA (*Passiflora foetida*
L.) TERHADAP KADAR GLUKOSA DARAH DAN KADAR
MALONDIALDEID PADA TIKUS DIABETES**

Oleh:
Marwin
19133939A

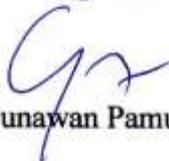
Dipertahankan di hadapan Panitia Penguji Skripsi
Fakultas Farmasi Universitas Setia Budi
Pada tanggal : 4 April 2017

Mengetahui,
Fakultas Farmasi
Universitas Setia Budi



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

Pembimbing Utama



Dr. Gunawan Pamudji W, M.Si., Apt.

Pembimbing Pendamping



Ghani Nurhiana Fadma Sari, M.Farm., Apt.

Penguji:

1. Tri Wijayanti, MPH., Apt
2. Reslely Harjanti, M.Sc., Apt
3. Destik Wulandari, S.Pd., M.Si
4. Dr. Gunawan Pamudji W., 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-kakakku 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

Dengan ini 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, 4 April 2017



Marwin

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 DAUN RAMBUSA (*Passiflora foetida* L.) TERHADAP KADAR GLUKOSA DARAH DAN KADAR MALONDIALDEHID PADA TIKUS DIABETES”**. 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 Gunawan Pamudji W.,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 koreksi pada penulis.
5. Tim penguji yang telah meluangkan waktu serta memberikan kritik dan saran sehingga skripsi ini menjadi lebih baik.
6. Bapak, ibu, kakak dan semua keluarga terima kasih untuk do'a, dukungan dan semangat yang diberikan
7. Sedulur (Rika, Zahrina,Yeni, Faiz, Yanda, Ari, Alfin) terima kasih untuk semangat dan bantuannya kalian terbaik.
8. Keluarga besar Himpunan Mahasiswa Jurusan S1 Farmasi terima kasih atas kesempatan yang telah diberikan untuk belajar dan memahami organisasi serta rasa kekeluargaan dan persaudaraannya.
9. Para musafir terimyang telah mendukung dan memberikan bantuan selama penelitian hingga skripsi ini selesai.

10. Teman-teman angkatan 2013, teman-teman teori 4, Teman-teman FKK 4 dan seluruh teman yang tak bisa disebutkan satu per satu yang selalu mendukung saya dan sersedia saya reportkan hingga skripsi ini selesai.
11. Segenap dosen, staff, laboran, dan asisten laboratorium, perpustakaan Fakultas Farmasi Universitas Setia Budi yang telah memberikan bantuan selama penelitian.
12. 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, 4 April 2017

Penulis

DAFTAR ISI

	Halaman
HALAMAN JUDUL.....	i
PENGESAHAN SKRIPSI.....	ii
PERSEMBAHAN.....	iii
PERNYATAAN.....	iv
KATA PENGANTAR	v
DAFTAR ISI.....	vii
DAFTAR GAMBAR	xii
DAFTAR TABEL.....	xiii
DAFTAR LAMPIRAN.....	xiv
INTISARI.....	xv
ABSTRACT.....	xvi
BAB I PENDAHULUAN	1
A. Latar Belakang.....	1
B. Perumusan Masalah.....	3
C. Tujuan Penelitian.....	4
D. Manfaat Penelitian.....	4
BAB II TINJAUAN PUSTAKA	5
A. Tanaman Rambusa	5
1. Sistematika tanaman rambusa	5
2. Nama lain	5
3. Deskripsi tanaman	5
4. Khasiat tanaman rambusa.....	6
5. Kandungan Kimia.....	6
5.1 Flavonoid	6
5.2. Steroid	6
5.3. Tanin	6
5.4. Saponin	7
5.5. Alkaloid.....	7
B. Simplisia	7
1. Definisi Simplisia	7
2. Pengumpulan Simplisia.....	8

3.	Pengeringan	9
C.	Penyarian	9
1.	Definisi penyarian	9
2.	Pelarut.....	9
3.	Ekstrak.....	10
3.1	Metode Maserasi	10
3.2	Metode perkolasi.....	10
3.3	Metode infundasi	11
3.4	Metode soxhletasi	11
D.	Diabetes Melitus	12
1.	Klasifikasi diabetes mellitus.....	12
1.1	Diabetes mellitus tipe 1.....	12
1.2	Diabetes mellitus tipe 2.....	12
1.3	Diabetes mellitus gestasional	13
1.4	Diabetes mellitus lain.....	13
2.	Diagnosis diabetes melitus	13
3.	Manifestasi klinik diabetes mellitus	13
4.	Komplikasi diabetes melitus	14
5.	Terapi farmakologi diabetes mellitus	14
5.1.	Golongan biguanida	14
5.2.	Golongan sulfonilurea.....	14
5.3.	Golongan meglitignid	15
5.4.	Golongan thiazolidin.....	15
5.5.	Golongan inhibitor glikosidase	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	16
7.1.	Autooksidasi glukosa	16
7.2.	Glikasi protein nonenzimatik.....	17
7.3.	Jalur poliol-sorbitol (aldose reduktase).....	18
E.	Antioksidan.....	19
1.	Penggolongan antioksidan.....	20
1.1.	Antioksidan primer	20
1.2.	Antioksidan sekunder.....	20
1.3.	Antioksidan tersier	20
2.	Jenis-jenis antioksidan.....	20
2.1.	Antioksidan endogen	20
2.2.	Antioksidan eksogen.....	21
3.	Radikal bebas	21
4.	Mekanisme kerja antioksidan	22
F.	Malondialdehid (MDA).....	23
1.	Produksi dan metabolisme MDA	23
2.	Pengukuran kadar MDA.....	24
2.1.	<i>Tes thiobarbituric acid-reactive substance</i>	24

2.2.	Pengukuran MDA-TBA dengan HPLC (<i>High Performance Liquid Chromatography</i>)	25
2.3.	Pengukuran kadar MDA serum bebas dengan metode HPLC (<i>High Performance Liquid Chromatography</i>)...	25
2.4	Analisis MDA metode Kolorimetri	25
G.	Insulin	26
H.	Uji Antidiabetes.....	26
1.	Metode uji antidiabetes	26
1.1.	Metode uji toleransi glukosa.....	26
1.2.	Metode uji antidiabetes dengan zat penginduksi	26
2.	Streptozotosin dan Nikotinamid.....	27
I.	Aloksan.....	28
J.	Glibenklamid	29
1.	Indikasi dan kontraindikasi	29
2.	Dosis dan aturan pakai	29
3.	Farmakokinetika	29
4.	Mekanisme kerja	30
5.	Efek samping.....	30
K.	Metode Analisa Kadar Glukosa Darah.....	30
1.	Metode analisa kadar glukosa darah dengan glukometer.....	30
1.1	Prosedur penggunaan glukometer.....	30
1.2.	Prinsip glukometer	31
2.	Metode GLUC-DH (<i>Glucose Dehydrogenase</i>).....	31
3.	Metode GOD-PAP	31
4.	Metode o-toluidine.	32
L.	Hewan Uji.....	32
1.	Sistematika hewan uji.....	32
2.	Karakteristik utama tikus putih	32
M.	Landasan Teori	33
N.	Hipotesis	34
BAB III	METODE PENELITIAN	36
A.	Populasi dan sampel	36
1.	Populasi	36
2.	Sampel	36
B.	Variabel Penelitian	36
1.	Identifikasi variabel utama	36
2.	Klasifikasi variabel utama	36
3.	Definisi operasional variabel utama	37
C.	Bahan, Alat dan Hewan Uji.....	38
1.	Bahan.....	38
1.1.	Bahan Sampel	38
1.2.	Bahan Kimia	38
2.	Alat	38
3.	Hewan Uji.....	38
D.	Jalannya Penelitian	39

1.	Determinasi daun rambusa	39
2.	Pengambilan sampel.....	39
3.	Pembuatan serbuk daun rambusa	39
4.	Penetapan kadar air	39
5.	Pembuatan ekstrak etanolik daun rambusa	40
6.	Identifikasi senyawa kimia berdasarkan reaksi warna.	40
6.1.	Identifikasi Flavonoid.	40
6.2.	Identifikasi tanin.	40
6.3.	Identifikasi saponin.	41
6.4.	Identifikasi Steroid.	41
6.5.	Identifikasi alkaloid.	41
7.	Identifikasi kromatografi lapis tipis (KLT).	41
7.1.	Identifikasi Flavonoid.	41
7.2.	Identifikasi tanin.	41
7.3.	Identifikasi saponin.	41
7.4.	Identifikasi steroid.	42
7.5.	Identifikasi alkaloid.	42
8.	Pembuatan Larutan Uji.....	42
8.1.	Larutan suspensi CMC Na 0,5%	42
8.2.	Larutan Glibenklamid	42
8.3.	Larutan garam fisiologis	42
8.4.	Larutan aloksan monohidrat	42
9.	Penentuan Dosis	43
9.1.	Dosis glibenklamid	43
9.2.	Dosis sediaan uji	43
9.3.	Dosis aloksan monohidrat.....	43
10.	Perlakuan hewan uji	43
11.	Penetapan kadar glukosa darah	44
12.	Pengukuran kadar malondialdehid (MDA)	44
E.	Analisis Statistik.....	44
F.	Skema Penelitian	46
G.	Pengukuran Kadar malondialdehid	47

BAB IV HASIL PENELITIAN DAN PEMBAHASAN..... 48

1.	Hasil Determinasi Tanaman	48
2.	Deskripsi Tanaman.....	48
3.	Pembuatan Simplisia dan Serbuk	49
4.	Hasil Penetapan Kadar Air Serbuk Daun Rambusa	49
5.	Hasil Pembuatan Ekstrak Etanol Daun Rambusa.....	50
6.	Identifikasi senyawa daun rambusa dengan metode reaksi kimia.....	51
7.	Identifikasi senyawa daun rambusa dengan metode KLT.....	51
8.	Hasil Uji Aktivitas Antidiabetes.....	52
9.	Hasil Pengukuran Kadar Malondialdehid (MDA)	57
10.	Hubungan antara Kadar Glukosa Darah dan Kadar MDA.....	61

BAB V	KESIMPULAN DAN SARAN	63
	A. Kesimpulan.....	63
	B. Saran.....	63
	DAFTAR PUSTAKA	64
	LAMPIRAN.....	72

DAFTAR GAMBAR

	Halaman
Gambar 1. Tanaman Rambusa (<i>Passiflora foetida</i> L.) (koleski pribadi).....	5
Gambar 2. Struktur aloksan.....	28
Gambar 3. Struktur glibenklamid.....	29
Gambar 4. Skema pembuatan ekstrak etanol 96% serbuk daun rambusa.....	40
Gambar 5. Skema prosedur pengujian	46
Gambar 6. Skema pengukuran kadar malondialdehid	47
Gambar 7. Grafik hubungan rata-rata kadar glukosa darah (mg/dl) dengan waktu	54
Gambar 8. Reaksi malondialdehid dengan asam tiobarbiturat.....	58

DAFTAR TABEL

	Halaman
Tabel 1. Pengukuran kadar MDA	44
Tabel 2. Hasil persentase bobot kering terhadap bobot basah daun rambusa.....	49
Tabel 3. Hasil penetapan kadar air serbuk daun rambusa.....	49
Tabel 4. Rendemen ekstrak etanol daun rambusa.....	50
Tabel 5. Hasil identifikasi kandungan kimia serbuk dan ekstrak daun rambusa ..	51
Tabel 6. Hasil identifikasi kandungan kimia ekstrak daun rambusa secara KLT.....	52
Tabel 7. Data kuantitatif rata-rata hasil pengukuran penurunan kadar glukosa darah berbagai kelompok perlakuan	53
Tabel 8. Persentase penurunan kadar glukosa darah T1 ke T2.....	55
Tabel 9. Rata-rata hasil pengukuran kadar malondialdehd (MDA) pada hati tikus.....	59

DAFTAR LAMPIRAN

	Halaman
Lampiran 1. Tanaman rambusa	72
Lampiran 2. Identifikasi tanaman rambusa	73
Lampiran 3. Etical Clearnce	74
Lampiran 4. Hasil perhitungan rendemen serbuk daun rambusa	75
Lampiran 5. Hasil perhitungan kadar air serbuk rambusa	76
Lampiran 6. Rendemen ekstrak daun rambusa.....	77
Lampiran 7. Hasil identifikasi kimia serbuk dan ekstrak daun rambusa.....	78
Lampiran 8. Hasil identifikasi KLT ekstrak daun rambusa.....	80
Lampiran 9. Foto Serbuk dan Ekstrak daun rambusa.....	81
Lampiran 10. Perhitungan dosis	82
Lampiran 11. Berat badan hewan uji.....	84
Lampiran 12. Kadar glukosa darah hewan uji T0, T1 dan T2.....	85
Lampiran 13. Perasmaan regresi linier dan kurva baku tetraetoksiopropana (TEP).....	86
Lampiran 14. Kadar MDA hewan uji	87
Lampiran 15. Hasil uji statistik one way anova kadar glukosa darah	88
Lampiran 16. Hasil uji statistik one way anova persen penurunan glukosa darah.....	91
Lampiran 17. Hasil uji statistik one way anova kadar malondialdehid (MDA) 94	
Lampiran 18. Hasil uji stastistik correlation antara kadar glukosa darah dan kadar malondialdehid (MDA).....	97
Lampiran 19. Alat dan Bahan.....	98

INTISARI

MARWIN., 2017, PENGARUH EKSTRAK ETANOL DAUN RAMBUSA (*Passiflora foetida* L.) TERHADAP KADAR GLUKOSA DARAH DAN KADAR MALONDIALDEHID PADA TIKUS DIABETES, SKRIPSI, FAKULTAS FARMASI, UNIVERSITAS SETIA BUDI, SURAKARTA.

Pada keadaan patologik seperti diabetes, peningkatan stress oksidatif dalam tubuh akan menyebabkan penurunan aktivitas endogen dalam tubuh sehingga tubuh tidak mampu menangkap radikal bebas dan mencegah kerusakan sel. Salah satu sumber antioksidan alami sebagai antidiabetes adalah daun rambusa (*Passiflora foetida* L.). Tujuan penelitian ini adalah mengetahui aktivitas antihiperlikemi ekstrak etanol daun rambusa dan aktivitas dalam menurunkan kadar malondialdehid (MDA).

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, IV dan V adalah kelompok perlakuan dengan ekstrak etanol daun rambusa dosis 100 mg/kg bb, 200 mg/kg bb dan 400 mg/kg bb dan kelompok VI: kontrol positif menggunakan glibenklamid. 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 menunjukkan bahwa ekstrak etanol daun rambusa dosis 100mg/kg bb, 200 mg/kg bb dan 400 mg/kg bb dapat menurunkan kadar glukosa darah tikus dan kadar MDA. Dosis yang paling efektif dalam menurunkan kadar glukosa darah tikus dan kadar MDA adalah dosis 400 mg/kg bb.

Kata kunci : Daun rambusa, antihiperlikemia, malondialdehid, antioksidan

ABSTRACT

MARWIN., 2017 EFFECT OF ETHANOLIC EXTRACT RAMBUSA LEAF (*Passiflora foetida* L.) ON BLOOD GLUCOSE LEVELS AND MALONDIALDEHYDE LEVELS IN DIABETIC RATS, THESIS, FACULTY OF PHARMACY, SETIA BUDI UNIVERSITY, SURAKARTA,

In the pathological state such as diabetes, increased oxidative stress in the body will cause a decrease in endogenous activity in the body so that the body is unable scavenging free radicals and prevent cell damage. *Passiflora foetida* leaves one source of natural antioxidants as antidiabetic. The purpose of this study was to determine the activity of the ethanol extract of *Passiflora foetida* leaves as antihyperglycemic and activity in lowering levels of malondialdehyde (MDA).

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), group III, IV and V were treated with ethanol extract of *Passiflora foetida* leaves dose of 100 mg / kg bw, 200 mg / kg bw and 400 mg / kg bw respectively and Group VI: positive control using glibenclamide dose of 0,45 mg/kg bw. 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 *Passiflora foetida* leaves dose of 100 mg / kg bw, 200 mg / kg bw and 400 mg / kg bw can lower blood glucose levels of mice and MDA level. The dose most effective in lowering blood glucose and levels of MDA were dose of 400 mg / kg bw.

Keywords : *Passiflora foetida* leaves, antihyperglycemic, malondiadehyde, antioxidant

BAB I

PENDAHULUAN

A. Latar Belakang

Radikal bebas adalah suatu atom atau molekul yang sangat reaktif dengan elektron yang tidak memiliki pasangan (Widodo 2013). Radikal bebas ini berbahaya karena sangat reaktif mencari pasangan elektronnya. Jika radikal bebas sudah terbentuk dalam tubuh akan terjadi reaksi berantai dan menghasilkan radikal bebas baru yang akhirnya bertambah banyak. Radikal bebas akan menyerang sel-sel tubuh kita sehingga terjadilah berbagai penyakit (Khomsan 2009). Senyawa antioksidan merupakan suatu inhibitor yang digunakan untuk menghambat reaksi autooksidasi radikal bebas. Efek antioksidan senyawa fenolik dikarenakan sifat oksidasi yang berperan dalam menetralisasi radikal bebas (Panovska *et al.* 2005).

Secara umum, antioksidan dikelompokkan menjadi dua macam, yaitu antioksidan enzimatis dan non enzimatis. Antioksidan enzimatis misalnya enzim superoksida dismutase (SOD), katalase (CAT), dan glutathion peroksidase (GPx). Antioksidan enzimatis dibentuk oleh tubuh sebagai pertahanan terhadap radikal bebas. Antioksidan non enzimatis masih dibagi ke dalam dua kelompok lagi, yaitu antioksidan larut dalam lemak seperti vitamin E, karotenoid, flavonoid dan antioksidan yang larut dalam air seperti asam askorbat. Antioksidan enzimatis dan non enzimatis tersebut bekerja sama memerangi aktivitas radikal bebas (Winarsi 2007), sehingga dapat menyelamatkan sel-sel tubuh dari kerusakan akibat radikal bebas (Hernani & Rahardjo 2005).

Salah satu penyakit yang berhubungan dengan radikal bebas adalah diabetes melitus, penyakit diabetes melitus dikategorikan sebagai gangguan sistem endokrin dengan prevalansi paling tinggi, dikarakteristikkan dengan kegagalan atau penurunan kemampuan proses sekresi insulin dan peningkatan kadar gula darah (hiperglikemia). Hiperglikemia menyebabkan autooksidasi

glukosa, glikasi protein, dan aktivasi jalur metabolisme poliol yang selanjutnya mempercepat pembentukan senyawa oksigen reaktif (Ueno *et al.* 2002).

Senyawa oksigen reaktif akan bereaksi dengan berbagai molekul seperti karbohidrat, lipid, protein, asam nukleat dan makromolekul jaringan ikat, sehingga mempengaruhi fungsi sel. Kondisi normal sistem antioksidan akan bekerja untuk menetralkan eksogen radikal tersebut. Pada kondisi ketidaknormalan sistem antioksidan atau kekurangan antioksidan yang ada maka terjadi hiperproduksi senyawa oksigen reaktif, hal ini menimbulkan stres oksidatif (Calabrese 2007).

Stres oksidatif merupakan salah satu komponen pada mekanisme kerusakan jaringan pada manusia. Stres oksidatif dapat ditunjukkan dengan meningkatnya kadar malondialdehid (MDA). Peningkatan MDA ini menandakan adanya proses peroksidasi lemak. Peroksidasi lemak merupakan stress oksidatif pada biomolekul lipid akibat reaktivitas senyawa oksigen reaktif. Peroksidasi lemak menyebabkan pembentukan radikal bebas pada ikatan tak jenuh akibat pemisahan hidrogen dari asam lemak tak jenuh, yang menurunkan nilai energi lemak. Reaksi dipercepat dengan kehadiran mineral-mineral jarang yang terdapat dalam oksigen dan paling banyak terjadi pada asam lemak tidak jenuh rantai panjang karena asam lemak tersebut memiliki ikatan rangkap yang akan bereaksi dengan hidrogen reaktif. Peroksidasi lemak merupakan proses yang bersifat kompleks akibat reaksi asam lemak tak jenuh ganda penyusun fosfolipid membran sel dengan senyawa oksigen reaktif (SOR), membentuk hidroperoksida (Robles 2001). Adanya peningkatan kadar glukosa darah berefek pada peningkatan kadar malondialdehid (Dhirgo 2008). Kalaivanam dkk pada penelitiannya menyatakan bahwa kadar malondialdehid (MDA) penderita diabetes melitus lebih tinggi dibanding kelompok kontrol dan berhubungan dengan komplikasi kronik diabetes melitus.

Senyawa antioksidan sintetik maupun alami (dari berbagai tanaman) mampu mengontrol kadar glukosa darah dan mencegah komplikasi diabetes. Hal ini dilihat dari adanya aktivitas antioksidan dan hipoglikemik dari senyawa aktif golongan polifenol pada tanaman (Widiowati 2008). Polifenol mempunyai

kemampuan untuk menghambat reaksi oksidasi dan menangkap radikal bebas. Polifenol juga mempunyai aktivitas sebagai antioksidan dan antiradikal (Burda dan Oleszek, 2001).

Berdasarkan penelitian senyawa-senyawa yang mempunyai potensi sebagai antioksidan umumnya merupakan senyawa flavonoid, fenol dan alkaloid. Senyawa flavonoid dan polifenol bersifat antioksidan, antidiabetes, antikanker, antiseptik dan antiinflamasi (Atta *et al.* 2001).

Salah satu tanaman yang memiliki potensi sebagai antioksidan alami untuk pengobatan penyakit degeneratif (Diabetes Mellitus) adalah daun rambusa. Penelitian pada genus lain ekstrak metanol *Passiflora ligularis* dapat menghambat DPPH dengan IC50 sebesar 2,22 ppm. Ekstrak air daun rambusa dilaporkan dapat menurunkan kadar glukosa darah pada tikus diabetes (Siriwadhene 2014). Daun rambusa diketahui memiliki kandungan alkaloid, tanin, steroid, saponin dan flavonoid (Asir *et al* 2014). Pelarut yang digunakan dalam penelitian ini adalah etanol 96%. Etanol 96% merupakan pelarut yang digunakan untuk ekstraksi pendahuluan (Harborne 2006). Etanol 96% dapat menarik kandungan zat aktif secara optimal, sedangkan pengotornya hanya berada dalam skala kecil (Voigt 1995).

Berdasarkan latar belakang di atas penulis tertarik untuk mengetahui pengaruh ekstrak etanol daun rambusa dalam menurunkan kadar malondialdehid (MDA) dan kadar glukosa darah pada tikus diabetes yang diinduksi aloksan.

B. Perumusan Masalah

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

Pertama, apakah ekstrak etanol daun rambusa dapat menurunkan kadar glukosa dara pada tikus diabetes ?

Kedua, apakah ekstrak etanol daun rambusa dapat menurunkan kadar malondialdehid pada tikus diabetes ?

Ketiga, berapakah dosis efektif ekstrak etanol daun rambusa dalam menurunkan kadar glukosa darah dan kadar malondialdehid pada tikus diabetes ?

C. Tujuan Penelitian

Tujuan penelitian ini adalah :

Pertama, mengetahui aktivitas ekstrak etanol daun rambusa dalam menurunkan glukosa darah pada tikus diabetes.

Kedua, mengetahui aktivitas ekstrak etanol daun rambusa dalam menurunkan kadar malondialdehid pada tikus diabetes.

Ketiga, mengetahui dosis efektif ekstrak etanol daun rambusa dalam menurunkan kadar glukosa darah dan kadar malondialdehid pada tikus diabetes.

D. Manfaat Penelitian

Bagi ilmu pengetahuan, memberi tambahan ilmu pengetahuan di bidang farmasi serta dapat berperan dalam pencegahan dan pengobatan diabetes.

Bagi masyarakat, dapat berkontribusi kepada masyarakat dalam usaha pengembangan obat tradisional.

BAB II

TINJAUAN PUSTAKA

A. Tanaman Rambusa

1. Sistematika tanaman rambusa

Kedudukan tanaman rambusa (*Passiflora foetida* L.) dalam sistematika tumbuhan adalah sebagai berikut (Steenis 1992) :

Kerajaan	: Plantae
Divisi	: Magnoliophyta
Kelas	: Magnoliopsida
Ordo	: Malpighiales
Famili	: Passifloraceae
Genus	: Passiflora
Jenis	: <i>Passiflora foetida</i>



Gambar 1. Tanaman Rambusa (*Passiflora foetida* L.) (koleski pribadi).

2. Nama lain

Nama lain dari daun rambusa diantaranya kemot (Kalimantan), ceplukan blungsum (Jawa), stingking passion flower (Inggris), timun dendang (melayu).

3. Deskripsi tanaman

Rambusa merupakan salah satu tanaman yang tumbuh liar, buah tanaman ini mempunyai ukuran kecil yang khas dengan warna kuning terang jika matang dan dibungkus oleh selaput seperti bulu atau jaring-jaring. Tanaman ini mudah dijumpai pada daerah perdesaan karena pada umumnya rambusa tumbuh liar di

hutan, perkarangan rumah dan perkarangan yang berumput. Daun tunggal, bertangkai 1–3 cm, berambut panjang. Helaian daun bundar telur, berbagi tiga, bertepi rata atau bergigi tidak dalam, dengan ujung-ujung meruncing, pangkal daun bentuk jantung.

4. Khasiat tanaman rambusa

Banyak khasiat pada tanaman ini salah satunya adalah pada bagian daun dapat berfungsi sebagai antioksidan, menurut penelitian ekstrak etanol daun rambusa dapat mengurangi pembentukan radikal bebas dan mampu melindungi dari *reactiv oxygen species* (ROS) yang dihasilkan pada penyakit diabetes (Asir *et al* 2014).

5. Kandungan Kimia

Hasil identifikasi senyawa fitokimia dari tanaman daun rambusa menunjukkan bahwa daun rambusa banyak mengandung zat aktif antara lain flavonoid, steroid, tanin, saponin dan alkaloid (Asir *et al.* 2014).

5.1 Flavonoid. Flavonoid adalah suatu senyawa fenol yang terbesar yang ditemukan di alam. Flavonoid di alam juga sering dijumpai dalam bentuk glikosidanya. Senyawa-senyawa ini merupakan zat warna merah, ungu, biru dan sebagian zat warna kuning pada tanaman (Kristanti *et al* 2008). Flavonoid tersebut dapat bersifat sebagai antidiabetes karena flavonoid mampu berperan sebagai senyawa yang menekan kadar glukosa dan meningkatkan aktivitas glukokinase hepatic dengan meningkatkan pelepasan insulin dari pulau Langerhans pankreas (Bhusnan *et al.* 2010).

5.2. Steroid. Steroid adalah suatu golongan senyawa triterpenoid yang mengandung inti siklopentana perhidrofenantren yaitu dari tiga cincin sikloheksana dan sebuah cincin siklopentana. Dahulu sering digunakan sebagai hormon kelamin, asam empedu dan lain-lain. Tetapi pada tahun-tahun terakhir ini makin banyak senyawa steroid yang ditemukan dalam jaringan tumbuhan. Tiga senyawa yang biasa disebut fitosterol terdapat pada hampir setiap tumbuhan tinggi yaitu : sitosterol, stigmasterol, dan kampesterol (Harborne 1987; Robinson 1995).

5.3. Tanin. Tanin diketahui dapat memicu metabolisme glukosa dan lemak, sehingga timbunan kedua sumber kalori ini dalam darah dapat dihindari.

Tanin juga mempunyai aktivitas hipoglikemik yaitu dengan meningkatkan glikogenesis, selain itu tanin juga berfungsi sebagai *astringent* atau pengkhelat yang dapat mengerutkan membran epitel usus halus sehingga mengurangi penyerapan sari makanan yang menghambat asupan gula dan laju peningkatan gula darah tidak terlalu tinggi (Dalimartha 2005).

5.4. Saponin. Saponin merupakan senyawa kimia yang banyak terdapat pada tanaman. Strukturnya terdiri dari *aglycone* (triterpene atau steroid) dan gugus glukosa. Saponin memiliki banyak fungsi biologi dan farmakologi diantaranya sebagai hemolisa, kardiotonik, hipoglikemik, hipokolesterolemik, modulator imun, hepatoproteksi, antioksidan, dan antikardiogenik (Yoshikawa *et al.* 2006). Saponin dapat dideteksi dengan pembentukan larutan koloidal dengan air yang apabila digojog menimbulkan buih yang stabil. Saponin (triterpenoid, steroidal glikosidase) memiliki aktivitas menstimulasi pelepasan insulin dan memblokir pembentukan glukosa dalam aliran darah (Bhusnan *et al.* 2010).

5.5. Alkaloid. Alkaloid adalah senyawa basa nitrogen organik yang terdapat pada tumbuhan. adanya pasangan elektron bebas pada atom nitrogen, menyebabkan alkaloid bersifat basa. Alkaloid bereaksi dengan asam membentuk garam yang tidak larut dalam air. Alkaloid sukar larut dalam air, tetapi mudah larut dalam CHCl_3 , eter, dan pelarut organik lainnya. Kebanyakan alkaloid mempunyai aktivitas fisiologi tertentu, sehingga bisa sering digunakan sebagai obat. Peran alkaloid dalam tumbuhan antara lain sebagai zat racun yang melindungi tumbuhan dari gangguan serangga dan hewan (Harborne 1987).

B. Simplisia

1. Definisi Simplisia

Simplisia adalah bahan alamiah yang dipergunakan sebagai obat yang belum mengalami pengolahan apapun juga dan kecuali dinyatakan lain simplisia merupakan bahan yang dikeringkan. Simplisia dapat berupa simplisia nabati, simplisia hewani dan simplisia pelikan atau mineral. Simplisia nabati adalah simplisia yang berupa tanaman utuh, bagian tanaman atau eksudat tanaman.

Simplisia hewani adalah simplisia yang berupa hewan utuh, bagian hewan atau zat-zat berguna yang dihasilkan oleh hewan dan berupa zat kimia murni. Simplisia pelikan atau mineral ialah simplisia yang berupa bahan pelika atau mineral yang belum diolah dengan cara sederhana dan belum berupa zat kimia murni (Depkes 1985)

2. Pengumpulan Simplisia

Simplisia berdasarkan bahan bakunya bisa diperoleh dari tanaman liar atau dari tanaman yang dibudidayakan. Jika simplisia yang diambil adalah dari tanaman budidaya maka keseragaman umur, masa panen dan galur (asal-usul, garis keturunan) tanaman dapat dipantau. Tetapi jika pengambilan simplisia dari tanaman liar dan banyak kendala dan variabilitas yang tidak bisa dikendalikan seperti asal tanaman, umur, dan tempat tumbuh (Depkes 1985).

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

Pencucian dilakukan untuk memisahkan kotoran dari simplisia yang akan digunakan seperti tanah yang tertinggal pada simplisia. Cara pencucian juga sangat mempengaruhi jenis dan jumlah mikroba pada simplisia. Jika air yang digunakan pada simplisia itu kotor maka jumlah mikroba pada permukaan bahan simplisia bertambah dan air pada simplisia tersebut akan mudah mempercepat pertumbuhan mikroba (Depkes 1985).

Beberapa simplisia perlu mengalami proses perajangan, untuk mempermudah proses pengeringan dari bahan simplisia, pengepakan serta penggilingan. Apabila semakin tipis bahan simplisia yang dirajang dan dikeringkan semakin baik karena semakin cepat penguapan airnya. Irisan yang terlalu tipis juga menyebabkan berkurangnya atau hilangnya zat berkhasiat yang mudah menguap, sehingga mempengaruhi komposisi, bau, dan rasa yang diinginkan (Depkes 1985).

3. Pengeringan

Pengeringan simplisia bertujuan mengurangi kadar air simplisia, sehingga simplisia tidak mudah rusak, berjamur, atau kandungan bahan aktif berubah jika disimpan dalam waktu cukup lama. Sebelum proses pengeringan, simplisia seperti rimpang, batang atau kulit kayu dipotong kecil-kecil untuk mempercepat proses pengeringan. Pengeringan dilakukan secara alami, dilakukan dengan menjemur di bawah sinar matahari langsung. Simplisia ini dihamparkan merata setipis mungkin dengan alas tikar atau plastik dengan sambil sering dibalik agar keringnya merata (Dalimartha 2008).

C. Penyarian

1. Definisi 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 larut seperti serat, karbohidrat, protein, dan lain-lain (Depkes 1985).

Pemilihan penyari harus mempertimbangkan banyak faktor. Cairan penyari yang baik harus memenuhi kriteria-kriteria: murah, stabil secara fisika dan kimia, netral dan tidak mudah terbakar, selektif, tidak mempengaruhi zat berkhasiat. (Anonim 1993).

2. Pelarut

Sistem pelarut yang digunakan dalam ekstraksi dipilih berdasarkan kemampuannya dalam melarutkan jumlah yang maksimum dari zat aktif dan seminimum mungkin bagi unsur yang tidak diinginkan. Pelarut yang biasa digunakan dalam penelitian adalah air, etanol, atau campuran etanol dengan air (Ansel 1989).

Pelarut yang digunakan dalam penelitian ini adalah etanol. Etanol merupakan pelarut serba guna yang baik digunakan pada ekstraksi pendahuluan, selain etanol dapat juga digunakan metanol, butanol, air dan lain-lain. Cairan pengestraksi yang biasa digunakan adalah campuran etanol dan air, dimana etanol sangat efektif dalam menghasilkan jumlah bahan aktif optimal. Keuntungan etanol adalah 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).

3. Ekstrak

Ekstrak merupakan sediaan sari pekat tumbuhan atau hewan yang diperoleh dengan cara melepaskan zat aktif dari masing-masing bahan obat, menggunakan pelarut yang cocok dengan menguapkan semua atau hampir semua pelarutnya dan sisa endapan atau serbuk diatur untuk ditetapkan standarnya. Sediaan ekstrak dibuat agar zat berkhasiat dari simplisia mempunyai kadar yang tinggi, sehingga memudahkan dalam pengaturan dosis (Ansel 1989).

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

Adapun beberapa metode penyarian antara lain :

3.1 Metode Maserasi. Maserasi digunakan untuk penyarian simplisia yang mudah larut dalam cairan penyari, sehingga zat-zat yang mudah larut akan melarut (Ansel 1989). Maserasi merupakan cara penyarian yang sederhana, dimana dilakukan dengan cara merendam serbuk simplisia dalam cairan penyari. Cairan penyari akan menembus dinding sel dan masuk ke rongga sel yang mengandung zat aktif. Zat aktif akan terlarut karena adanya perbedaan konsentrasi antara larutan zat aktif di dalam sel dengan yang di luar sel. Kekurangan metode maserasi adalah lama dan penyariannya kurang sempurna. Keuntungan cara penyarian dengan maserasi adalah pekerjaan dan peralatan yang digunakan sederhana dan mudah diusahakan (Depkes 1986).

3.2 Metode perkolasi. Perkolasi adalah cara penyarian yang dilakukan dengan mengalirkan cairan penyari melalui serbuk simplisia yang telah dibasahi. Kekuatan yang berperan pada perkolasi antara lain : gaya berat, kekentalan, daya larut, tegangan permukaan, difusi, osmosa, adhesi, daya kapiler, dan gaya gesekan (friksi). Alat yang digunakan dalam perkolasi disebut perkolator, cairan digunakan untuk menyari disebut cairan penyari atau menstrum. Larutan zat aktif

yang keluar dari perkolator disebut sari atau perkolat, sedangkan sisa setelah dilakukan penyarian disebut ampas atau sisa perkolasi (Depkes 1986).

3.3 Metode infundasi. Metode infundasi adalah proses yang umumnya untuk menyari kandungan zat ktif yang larut dalam air dari bahan-bahan nabati. Caraini sangat sederhana dan sering dipergunakan oleh perusahaan obat tradisional. Infusa adalah sediaan cair yang dibuat dengan menyari simplisia dengan air pada suhu 90° selama 15 menit. Pembuatan infus dilakukan dengan mencampur simplisia dengan derajat halus yang cocok dalam panic dengan air secukupnya, dipanaskan di atas penangas air selama 15 menit terhitung mula suhu 90° sambil diaduk, kemudian diserikai selagi panas melalui kain flannel, ditambahkan air secukupnya melalui ampas sehingga diperoleh volume (Depkes 1986).

3.4 Metode soxhletasi. Metode soxhletasi merupakan penyarian dimana bahan yang akan diekstraksi berada dalam sebuah kantong ekstraksi (kertas, karton dan sebagainya) di dalam sebuah alat ekstraksi dari gelas yang bekerja kontinyu (perkolator). Wadah gelas yang mengandung kantong diletakkan diantara labu suling dan suatu pendingin aliran balik dan dihubungkan dengan melalui pipet. Labu suling tersebut berisis bahan pelarut, yang menguap dan mencapai ke dalam pendingin aliran balik melalui pipa pipet, lalu berkondensasi di dalamnya menetas ke atas bahan yang akan diekstraksi dan membawa keluar bahan yang diekstraksi. Larutan berkumpul di dalam wadah gelas dan setelah mencapai tinggi maksimal secara otomatis ditarik ke dalam labu, dengan demikian zat yang akan terekstraksi tertimbun melalui pipa kontinyu dari bahan pelarut murni (Voight 1994).

Keuntungan dari metode ini adalah proses ekstraksi berkesinambungan sehingga sampel terekstraksi dengan sempurna, proses ekstraksi lebih cepat dibanding maserasi dan pelarut yang digunakan harus stabil. Sedangkan kelemahannya adalah sampel yang digunakan harus sampel yang tahan panas atau tidak dapat digunakan pada sample yang tidak tahan panas, karena sampel yang tidak tahan panas akan teroksidasi atau tereduksi ktika proses soxhletasi berlangsung (Sarke *et al* 2006).

D. Diabetes Melitus

Diabetes melitus adalah sekelompok gangguan metabolisme dari lemak, karbohidrat, dan protein yang menghasilkan gangguan dalam sekresi insulin, kerja insulin (sensitivitas), atau keduanya (Dipiro *et al.* 2008). Peningkatan kadar glukosa darah yang berkaitan dengan DM terjadi akibat sekresi insulin yang tidak adekuat atau tidak ada, dengan atau tanpa gangguan kerja insulin (Katzung 2010).

1. Klasifikasi diabetes mellitus

Jenis diabetes mellitus menurut organisasi kesehatan dunia (WHO) yaitu :

1.1 Diabetes mellitus tipe 1. Diabetes mellitus tipe 1 (Diabetes Mellitus yang tergantung insulin [*Insulin Dependent Diabetes Mellitus/ IDDM*]) merupakan 5-10 persen dari semua kasus diabetes mellitus, biasanya ditemukan pada anak atau orang dewasa dan tidak ada pembentukan insulin sehingga penderita memerlukan suntikan insulin setiap hari. Pada diabetes mellitus tipe 1 terjadi pada sel β Langerhans sehingga mengakibatkan produksi insulin berhenti atau sedikit sekali (Nugroho 2012).

1.2. Diabetes mellitus tipe 2. Diabetes mellitus tipe 2 yaitu adanya resistensi insulin atau gangguan sekresi insulin. Pada tipe 2 ini tidak selalu dibutuhkan insulin, kadang-kadang cukup dengan diet dan antidiabetik oral. Karenanya tipe ini sering disebut dengan *noninsulin dependent diabetes mellitus* atau NIDDM (Robbins *et al* 2007). Disebabkan oleh dua hal yaitu respon jaringan terhadap insulin atau sering disebut dengan resistensi insulin dan penurunan produksi insulin akibat regulasi sekresinya terganggu atau terjadi kerusakan fungsional pada sel β Langerhans. Sebagian besar penderita diabetes mellitus tipe 2 disebabkan karena kegemukan karena kelebihan makanan (Nugroho 2012).

Patogenesis diabetes mellitus tipe II lebih dikit diketahui, meskipun tipe ini sering ditemukan. Pada diabetes tipe ini dapat terjadi akibat efek genetik dan juga dipengaruhi oleh lingkungan. Dua efek metabolisme yang menandai diabetes mellitus tipe II adalah gangguan sekresi insulin pada sel β dan ketidakmampuan jaringan perifer merespon insulin (Robbins *et al* 2007).

1.3. Diabetes mellitus gestasional. Diabetes mellitus yang terjadi pada kehamilan toleransi terhadap glukosa secara normal berfluktuasi selama kehamilan. Sebagian besar perempuan dengan diabetes mellitus gestasional memperlihatkan pemulihan kadar glukosa normal setelah persalinan (Sacher & Mc Pherson 2004).

1.4. Diabetes mellitus lain. Diabetes mellitus tipe lain merupakan diabetes mellitus yang timbul akibat penyakit lain yang mengakibatkan gula darah meningkat misalnya infeksi berat, pemakaian obat kortikosteroid dan lain-lain. Dalam klasifikasi diabetes mellitus ini individu mengalami hiperglikemia akibat kelainan spesifik seperti kelainan genetik fungsi sel β dan endokrinopati (Naby 2012).

2. Diagnosis diabetes melitus

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

3. Manifestasi klinik diabetes mellitus

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

Pasien dengan diabetes mellitus tipe 2 sering asimtomatik. Munculnya komplikasi dapat mengindikasikan bahwa pasien telah menderita diabetes mellitus selama bertahun-tahun, umumnya muncul neuropati dan terdeteksi letargi,

polyuria, nokturia dan polydipsia sedangkan penurunan bobot badan secara signifikan jarang terjadi (Sukandar *et al* 2008).

4. Komplikasi diabetes melitus

Komplikasi yang sering terjadi pada penyakit diabetes melitus diakibatkan karena kelainan pembuluh darah seperti makro dan mikroangiopati. Mikroangiopati diabetika misalnya akan menimbulkan berbagai perubahan pada pembuluh-pembuluh darah halus (*kapiler*) yang ada di ginjal, mata, dan juga pada saraf. Akibatnya timbul berbagai komplikasi seperti pada kapiler glomerulus ginjal yang akan menyebabkan *neuropati diabetik* dan pada retina mata yang akan menyebabkan *retinopati diabetik* dan berakhir dengan kebutaan, sedangkan komplikasi pada saraf akan menimbulkan *neuropati diabetik*. Akibat *makroangiopati* yang melibatkan pembuluh darah lebih besar dapat terjadi penyumbatan pada pembuluh darah jantung yang menyebabkan penyakit jantung koroner. Penyempitan pada pembuluh darah tungkai bawah dapat menyebabkan gangrene pada kaki, sedangkan kelainan pada pembuluh darah otak menyebabkan *pati cerebrovascular* yang mengakibatkan stroke. Timbulnya komplikasi kronis ini memang bukan disebabkan oleh beratnya penyakit diabetes melitus, tetapi lebih disebabkan oleh lamanya menderita penyakit tersebut (Dalimartha 2005).

5. Terapi farmakologi diabetes mellitus

5.1. Golongan biguanida. Mekanisme obat golongan ini adalah menghambat glukoneogenesis dan meningkatkan penggunaan glukosa di jaringan. Contoh obat golongan biguanida adalah metformin hidroklorida, fenformin dan buformin. Pemberian biguanida pada orang nondiabetik tidak menurunkan kadar gula darah, tetapi sediaan biguanida ternyata menunjukkan efek potensiasi dengan insulin (Sukandar *et al* 2008).

5.2. Golongan sulfonilurea. Dikenal 2 generasi sulfonilurea, generasi I terdiri dari tolbutamid, tolazamid, dan klorpropamid. Generasi II yang potensi hipoglikemik lebih besar yaitu glibenklamid, glikazid dan glimepirid (Mansjoer *et al* 2001).

Mekanisme kerja golongan obat ini sering disebut sebagai insulin sekretagogueus, kerjanya merangsang sekresi insulin dari granula sel β Langerhans.

Contoh obat golongan ini adalah klorpropamid, glibenklamid, glipisid, gliklasid, glikuidon, glimepirid (Mansjoer *et al* 2001).

5.3. Golongan meglitinid. Mekanisme kerja meglitinid adalah hampir sama dengan sulfonilurea yaitu dengan memblok ATP-sensitif K⁺ Channels pada sel β pankreas untuk merangsang sekresi insulin. Obat ini kurang poten dibanding sulfonilurea, namun aksinya lebih cepat. Contoh obatnya adalah repaglinid dan netelignid (Nugroho 2012).

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

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

6. Terapi non farmakologi

Terapi non farmakologi pada diabetes mellitus ada berbagai cara yaitu :

6.1. Terapi gizi medis (diet). Perencanaan makan sebaiknya dengan kandungan zat gizi yang cukup disertai pengurangan total lemak terutama lemak jenuh. Dianjurkan pembatasan kalori sedang yaitu 250-500 kkal lebih mudah dari asupan rata-rata sehari (Soegondo 2013).

6.2. Olahraga. Sudah lama diketahui bahwa olahraga menimbulkan penurunan kadar gula darah yang disebabkan oleh karena peninggian penggunaan glukosa di daerah perifer. Ini berlaku baik pada orang normal maupun pada penderita diabetes mellitus yang ringan. Tetapi bila kadar gula darah tinggi (lebih dari 18 mmol/L=320 mg%) dan bila ada ketosis, olahraga sebaliknya akan menyebabkan keadaan diabetes lebih parah, gula dan ketonemia akan meninggi karena bertambahnya glukoneogenesis dan ketogenesis dalam hepar (Tan & Rahardja 2002).

6.3. Berhenti merokok. Nikotin dapat mempengaruhi secara buruk penyerapan glukosa oleh sel, akibatnya kadar glukosa menjadi naik (Tan & Rahardja 2002).

7. Stress oksidatif pada diabetes

Pada DM pertahanan antioksidan dan sistem perbaikan seluler akan terangsang sebagai respon tantangan oksidatif (Nuttal *et al.* 1999). Sumber stress oksidatif yang terjadi berasal dari peningkatan produksi radikal bebas akibat autooksidasi glukosa, penurunan konsentrasi antioksidan berat molekul rendah di jaringan, dan gangguan aktivitas pertahanan antioksidan enzimatik (Kowluru 2001). Kemaknaan stress oksidatif pada patologi penyakit sering tidak tentu (Halliwell dan Gutteridge 1999). Dengan demikian stress oksidatif dan gangguan pertahanan antioksidan merupakan keistimewaan DM yang terjadi sejak awal penyakit. Di samping itu, stress 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).

Diabetes pada anak ditemukan penurunan glutathion eritrosit, glutathion total, α -tokoferol plasma, dan β -karoten plasma secara bermakna. Penurunan berbagai antioksidan tersebut terkait dengan pembentukan senyawa penanda adanya stress oksidatif, misalnya peningkatan lipid hidroperoksida, diena terkonjugasi, dan protein karbonil secara bermakna (Haffner 1999). Pada diabetes usia 50-60 tahun ditemukan peningkatan peroksidasi lipid sejak onset diabetes.

Diabetes melitus merupakan salah satu kelainan metabolik yang dapat menimbulkan komplikasi vascular dan nonvascular. Salah satu hipotesis penyebab munculnya berbagai komplikasi tersebut adalah stress oksidatif. Pada diabetes terdapat tiga jalur munculnya stress oksidatif, yaitu autooksidasi glukosa, glikasi protein nonenzimatik, dan jalur poliol sorbitol (aldose reduktase).

7.1. Autooksidasi glukosa. Proses autooksidasi glukosa dikatalisis oleh senyawa logam dalam jumlah kecil seperti besi dan seng. Hasil katalisis tersebut

adalah senyawa oksigen relatif. Autooksidasi glukosa terjadi pada fase I proses glikasi nonenzimatik pada protein yang secara alamiah masih bersifat reversibel. Fase ini merupakan sumber hidrogen peroksida yang mampu menghambat CuZn SOD. Selain hidrogen peroksida, radikal superoksida juga dihasilkan oleh proses autooksidasi glukosa tersebut serta terkait dengan pembentukan protein glikasi dalam plasma penderita diabetes. Akibat yang ditimbulkan berupa peningkatan aktivitas radikal superoksida serta kerusakan enzim superoksida dismutase (Soesilowati 2003; Droge 2002).

7.2. Glikasi protein nonenzimatik. Pada keadaan hiperglikemia, produksi berbagai pereduksi antara lain glukosa, glukosa-6-fosfat, dan fruktosa akan meningkat melalui proses glikolisis dan jalur poliol. Glukosa sebagai gula pereduksi dapat menjadi agen yang bersifat toksik. Sifat toksik tersebut disebabkan oleh kemampuan kimiawi gugus karbonil aldehid yang dimilikinya. Meskipun sebagian besar keberadaan gula pereduksi dalam larutan sebagai struktur cincin nonaldehid, glukosa dalam bentuk rantai lurus merupakan aldehid (Rahbani-Nobar *et al.* 1999). Aldehid merupakan senyawa yang mampu berikatan secara kovalen sehingga terjadi modifikasi protein. Modifikasi protein dapat dibangkitkan dalam tubuh melalui berbagai mekanisme enzimatik dan nonenzimatik (Anderson *et al.* 1999).

Selain glukosa, semua jenis gula pereduksi juga mampu menyelenggarakan reaksi glikasi pada bermacam protein. Selain protein, target kerusakan lain adalah lipid-amino seperti *fosfatidiletanolamin*, dan DNA (Rahbani-Nobar *et al.* 1999). Reaksi pengikatan aldehid pada protein dikenal sebagai reaksi glikasi. Hewan dengan diabetes, proses glikasi dapat teramati secara luas pada berbagai organ dan jaringan termasuk ginjal, hati, otak, paru dan saraf (Oldfield *et al.* 2001). Secara keseluruhan, perubahan kimia ini dikenal sebagai reaksi Maillard (Beckman *et al.* 2001).

Reaksi Maillard dapat terjadi pada kondisi penuaan fisiologis *in vivo* sebaik kondisi *in vitro* serta meningkat pada keadaan hiperglikemia (Oldfield *et al.* 2001; Ueno *et al.* 2002). Selain itu reaksi Maillard juga berkaitan dengan komplikasi kronik DM. Reaksi ini secara umum terdiri atas 4 tahap, meliputi

kondensasi nonenzimatik gula pereduksi, aldehid atau ketosa dengan gugus amino bebas dari protein atau asam nukleat membentuk glikosilamin. Reaksi ini dikenal sebagai fase satu serta secara alamiah bersifat reversibel dan terjadi dalam beberapa jam (kurang dari 24 jam). Selanjutnya pada fase kedua akan terjadi penataan ulang glikosilamin menjadi produk Amadori. Reaksi ini terjadi akibat kadar glukosa yang masih tinggi dalam waktu lebih dari 24 jam. Produk Amadori tersebut bersifat toksik bagi jaringan namun masih reversible. Kadar produk Amadori pada sejumlah protein meningkat sebanding dengan derajat hiperglikemia pada DM. Kemudian pada fase ketiga, penataan ulang dan dehidrasi berganda produk Amadori menjadi amino atau senyawa karbonil reaktivitas tinggi seperti *3-deoxyglucosane*. Fase terakhir reaksi antara senyawa karbonil dengan gugus amino lain dilanjutkan proses penataan ulang membentuk beragam *advance glycosylation end products* (AGE-product/AGEs) sebagai petunjuk *cross linking* dan *browning* pada protein (Niwa *et al.* 1997; Simanjuntak dan Sudaryanti 1998; Carr dan Frei 1999; Soesilowati 2003).

AGEs merupakan salah satu produk penanda modifikasi protein sebagai akibat reaksi gula pereduksi terhadap asam amino. Akumulasi AGEs di berbagai jaringan merupakan sumber utama radikal bebas yang mampu berperan dalam peningkatan stress oksidatif, serta terkait dengan patogenesis komplikasi diabetes mirip pada penuaan yang normatif. Pada diabetes, akumulasi AGEs secara umum mempercepat terjadinya aterosklerosis, nefropati, neuropati, retinopati, serta katarak. Pengikatan AGEs terhadap reseptor makrofag spesifik (RAGE) mengakibatkan sintesis sitokin dan faktor pertumbuhan serta peningkatan stress oksidatif (Shoda *et al.* 1997; Carr dan Frei 1999; Droge 2002; Ueno *et al.* 2002; Beckett dan Kalsi 2003).

7.3. Jalur poliol-sorbitol (aldose reduktase). Pada normoglikemia, sebagian besar glukosa seluler mengalami fosforilasi menjadi glukosa-6-fosfat oleh enzim heksokinase. Bagian kecil dari glukosa yang tidak mengalami fosforilasi memasuki jalur poliol, yakni jalur alternatif metabolisme glukosa (Ueno *et al.* 2002). Melalui jalur ini, glukosa dalam sel dapat diubah menjadi sorbitol dengan bantuan enzim aldose reduktase (AR) (Nishimura 1998). Enzim

aldose reduktase dapat ditemukan pada sejumlah jaringan mamalia termasuk lensa dan retina. Enzim tersebut mengkonversi glukosa menjadi polialkohol sorbitol dan retina. Enzim tersebut mengkonversi glukosa menjadi polialkohol sorbitol melalui reduksi gugus aldehid glukosa (Rahbani-Nobar *et al.* 1999).

Dalam keadaan normal, konsentrasi sorbitol di dalam sel rendah. Akan tetapi, apabila terjadi keadaan hiperglikemia konsentrasi sorbitol meningkat. Sorbitol dengan bantuan enzim sorbitol dehidrogenase (SDH), akan diubah menjadi fruktosa. Degradasi sorbitol ini berjalan lambat sehingga sorbitol menumpuk dalam sel, sehingga dapat menyebabkan peningkatan tekanan osmotik dan selanjutnya dapat merusak sel (Nishimura 1998).

Masuknya substrat (substrat flux) melalui jalur poliol, selain dapat meningkatkan kadar sorbitol dan fruktosa intraseluler, juga menurunkan rasio NADPH terhadap NADP⁺. Selain itu, rasio NADH terhadap NAD⁺ sitosolik juga menurun. Berkurangnya NADPH di dalam sel akibat meningkatnya AR dapat menghambat aktivitas enzim lain yang membutuhkan NADPH.

E. Antioksidan

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

Tubuh manusia menghasilkan senyawa antioksidan, tetapi tidak cukup kuat untuk berkompetensi dengan radikal bebas yang dihasilkan setiap harinya oleh tubuh sendiri. Kekurangan antioksidan dalam tubuh membutuhkan asupan dari luar. Sebenarnya, antioksidan juga berkompetensi sesamanya sehingga membutuhkan campuran yang cukup tepat (Hernani dan Rahardjo 2005).

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

1. Penggolongan antioksidan

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

Antioksidan primer seperti enzim GPx (Glutation peroksidase) yang berfungsi sebagai pelindung hancurnya sel-sel dalam tubuh dan mencegah peradangan karena radikal bebas. Enzim GPx ada di dalam tubuh kita dimana kerjanya membutuhkan bantuan gizi atau mineral lainnya seperti mangan, seng dan tembaga.

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

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

2. Jenis-jenis antioksidan

2.1. Antioksidan endogen. Antioksidan endogen yaitu sejumlah komponen protein dan enzim yang disintesis dalam tubuh yang berperan dalam menangkal oksidasi oleh radikal bebas yang terdiri dari katalase, superoksida dismutase, serta protein yang berikatan dengan logam seperti transferin dan seruloplasmin. Antioksidan endogen dibagi menjadi 2 kelompok antioksidan enzimatis dan antioksidan nonenzimatis. Antioksidan enzimatis seperti enzim superoksida dismutase (SOD), katalase dan glutathion peroksidase (GPx). Sedangkan antioksidan nonenzimatis dibagi menjadi 2 kelompok lagi yaitu antioksidan larut lemak seperti tokoferol, karotenoid, flavonoid, quinon, bilirubin dan antioksidan larut air seperti asam askorbat, asam urat, protein pengikat logam, dan protein pengikat heme.

2.2. Antioksidan eksogen. Antioksidan eksogen bersumber dari makanan terdiri atas tokoferol (vitamin E), asam askorbat (vitamin C), karotenoid dan flavonoid. Antioksidan jenis eksogen ini dapat dimodifikasi dengan makanan dan suplemen (Winarsi 2007).

3. Radikal bebas

Menurut Widodo (2013), radikal bebas adalah suatu atom atau molekul yang sangat reaktif dengan elektron yang tidak memiliki pasangan. Karena secara kimia molekulnya tidak berpasangan, maka radikal bebas cenderung untuk bereaksi dengan molekul sel tubuh. Beberapa komponen tubuh yang rentan terhadap serangan radikal bebas antara lain DNA, membran sel, protein dan lipid. Radikal bebas dapat didefinisikan sebagai molekul atau senyawa yang keadaannya bebas dan mempunyai satu atau lebih elektron bebas yang tidak berpasangan. Elektron dari radikal bebas yang tidak berpasangan ini sangatlah mudah menarik elektron dari molekul lainnya sehingga radikal bebas tersebut menjadi lebih reaktif (Hernani dan Rahardjo 2005).

Radikal bebas mencari reaksi-reaksi agar dapat memperoleh kembali elektron pasangannya. Serangkaian reaksi dapat terjadi yang menghasilkan serangkaian radikal bebas, setelah itu radikal bebas dapat mengalami tabrakan kaya energi dengan molekul lain yang merusak ikatan di dalam molekul. Pada akhirnya, radikal bebas dapat merusak membran sel, retikulum endoplasma atau DNA, kesalahan DNA akibat radikal bebas diduga berkontribusi terhadap perkembangan beberapa jenis kanker. Diduga pula bahwa sel endotel yang melapisi pembuluh darah dapat rusak akibat radikal bebas yang dihasilkan selama metabolisme normal lipid yang mengakibatkan aterosklerosis (Widodo 2013).

Tubuh terus menerus membentuk radikal oksigen. Radikal bebas juga terbentuk akibat pengaruh respon luar tubuh seperti polusi udara, sinar ultra violet, dan asap rokok (Khlifi *et al.* 2005). Radikal bebas sebenarnya penting bagi kesehatan dalam memerangi peradangan, membunuh bakteri, dan mengembalikan tonus otot polos pembuluh darah dan organ-organ dalam tubuh kita. Radikal bebas yang dihasilkan melebihi batas proteksi antioksidan seluler, maka akan

menyerang sel itu sendiri. Struktur sel yang berubah turut merubah fungsinya, yang akan mengarah pada proses timbulnya penyakit (Sauriasari 2006).

4. Mekanisme kerja antioksidan

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

Antioksidan dapat dikelompokkan menjadi tiga kelompok berdasarkan mekanisme reaksinya, yaitu antioksidan primer, sekunder dan tersier. Antioksidan primer disebut juga antioksidan endogenous atau enzimatis. Suatu senyawa dikatakan sebagai antioksidan primer apabila dapat memberikan atom hidrogen secara cepat kepada radikal, kemudian radikal antioksidan yang terbentuk segera menjadi senyawa yang lebih stabil. Enzim tersebut menghambat pembentukan radikal bebas dengan cara memutus reaksi berantai (polimerisasi), kemudian mengubahnya menjadi produk yang lebih stabil. Antioksidan sekunder disebut juga sebagai antioksidan eksogeneus atau nonenzimatis. Antioksidan kelompok ini juga disebut sistem pertahanan preventif, yaitu terbentuknya senyawa oksigen reaktif dihambat dengan cara pengkelatan metal atau dirusak pembentukannya dengan cara memotong reaksi berantai dari radikal bebas atau dengan cara menangkapnya. Kelompok antioksidan tersier meliputi sistem *DNA-repair* dan metionin sulfoksida reduktase. Enzim-enzim ini berfungsi dalam perbaikan biomolekuler yang rusak akibat reaktivitas radikal bebas. Kerusakan DNA yang tereduksi senyawa radikal bebas dicirikan oleh rusaknya struktur pada gugus non-basa maupun basa (Winarsi 2007).

Radikal bebas dapat berkurang dan diubah menjadi air dengan kerjasama tiga enzim antioksidan utama/antioksidan endogen yaitu SOD, CAT dan GPx. SOD mengkatalis O_2 ke H_2O_2 (langkah pertama), selanjutnya catalase dan glutathion peroksidase mengubah H_2O_2 menjadi H_2O oleh dua jalur

yang berbeda. Jika tidak dicegah maka radikal hidroksil dari hidroperoksida akan mengakibatkan kerusakan oksidatif sel seperti kerusakan DNA, karboksilasi dari protein dan lipid peroksidasi, termasuk lipid di membran mitokondria. Sehingga jalur kerusakan oksidatif ini akan berakhir kepada kematian selular (Moron & Cortazan 2012).

F. *Malondialdehid* (MDA)

Malondialdehid adalah senyawa *dialdehida* yang merupakan produk akhir peroksidasi lemak tak jenuh dalam tubuh oleh radikal bebas. 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 (Winarsih 2011).

1. Produksi dan metabolisme MDA

Produksi dan metabolisme MDA dapat dijelaskan sebagai berikut, radikal bebas oksigen ($O_2\bullet$) diproduksi melalui proses enzimatik dan non enzimatik. Sel-sel tubuh yang dapat membentuk radikal bebas oksigen dan H_2O_2 adalah sel polimorfonuklir, monosit dan makrofag. Radikal bebas yang terbentuk akan bereaksi dengan SOD dan ion Cu_2^+ menjadi H_2O_2 . H_2O_2 ini banyak diproduksi di mitokondria dan mikrosom. H_2O_2 ini dapat menembus membran sel sedangkan superoksida anion ($O_2\bullet$) tidak. Hidrogen peroksida ini merupakan oksidan yang kuat oleh karena dapat bereaksi dengan berbagai senyawa (Papalia 2005).

Sebagai sistem pertahanan tubuh, H_2O_2 oleh katalase dapat diubah menjadi H_2O dan $O_2\bullet$. Selain itu H_2O_2 oleh enzim glutathion peroksidase diubah pula menjadi H_2O . Pada stress oksidatif, radikal bebas oksigen dan H_2O_2 yang terbentuk akan berlebihan, sehingga sistem proteksi tubuh seperti enzim katalase dan glutathion peroksidase tidak dapat lagi menetralkan semua radikal bebas oksigen yang terbentuk. Selanjutnya jika H_2O_2 bereaksi dengan dengan Fe^{+2} dan Cu^{+2} maka terbentuklah radikal bebas hidroksil melalui reaksi Fenton dan Haber-Weiss. Radikal hidroksil adalah spesies yang sangat reaktif. Membran sel terdiri dari banyak komponen penting yaitu fosfolipid, glikolipid, (keduanya

mengandung asam lemak tak jenuh) dan kolesterol. Asam lemak tak jenuh ini sangat peka terhadap radikal hidroksil (Papalia 2005)

Kemampuan radikal hidroksil ini akan membentuk reaksi rantai dengan satu atom hidrogen dari membran sel dan terbentuk peroksida lipid. Kelanjutan dari reaksi ini adalah terputusnya rantai asam lemak menjadi senyawa aldehid yang memiliki daya perusak yang tinggi terhadap sel-sel tubuh antara lain malondialdehid, 4 hidroksinenal, etana dan pentana. Demikian pula dengan DNA dan protein juga mengalami kerusakan yang seringkali cukup hebat (Papalia 2005).

2. 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 :

2.1. 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 :

2.1.1. 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 *et al* 2006).

2.1.2. Pengukuran reaksi TBA dengan metode fluorosens. Metode ini memiliki keunggulan dibanding metode kolorimetri oleh karena tidak terganggu oleh beberapa substansi produk reaksi TBA yang larut air. Pemeriksaan dilakukan dengan metode spektrofotometri.

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

2.3. Pengukuran kadar MDA serum bebas dengan metode HPLC (*High Performance Liquid Chromatography*). Merupakan 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.

2.4 Analisis MDA metode Kolorimetri. Analisis MDA merupakan analisis radikal bebas secara tidak langsung dan mudah dalam menentukan jumlah radikal bebas yang terbentuk. Analisis radikal bebas secara langsung sangat sulit dilakukan karena senyawa radikal sangat tidak stabil dan bersifat elektrofil serta reaksinya pun berlangsung sangat cepat. Pengukuran MDA dapat dilakukan dengan pereaksi *thiobarbituric acid* (TBA) dengan mekanisme reaksi penambahan nukleofilik membentuk senyawa MDA-TBA. Senyawa ini berwarna merah jambu yang dapat diukur intensitasnya dengan menggunakan spektrofotometer. Metode ini merupakan metode yang paling banyak digunakan untuk mengukur keberadaan radikal bebas dan peroksidasi lipid, mempunyai kepekaan yang cukup tinggi, mudah diaplikasikan untuk berbagai sampel pada berbagai tahap oksidasi lipid (Arkhaesi 2008).

G. Insulin

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 secara kimiawi terdiri dari dua rantai peptida (A dan P) dengan masing-masing 21 dan 30 asam amino, yang saling dihubungkan oleh dua jembatan disulfida. Berat molekulnya 5700. Pada tahun 1974, sintesis totalnya ditemukan, tetapi meliputi sekitar 200 reaksi kimiawi dan sangat mahal (Tan & Rahardja 2002).

Insulin dapat meningkatkan simpanan lemak maupun glukosa (sumber energi) dalam sel sasaran khusus, serta mempengaruhi pertumbuhan sel dan fungsi medan metabolisme berbagai jaringan. Klasifikasi akhir diabetes mellitus mengidentifikasi terdapatnya suatu kelompok pasien yang hampir tidak mempunyai sekresi insulin dan kelangsungan hidupnya tergantung pemberian insulin eksogen (diabetes tipe 1). Sebagian besar penderita diabetes tipe 2 tidak memerlukan insulin eksogen untuk kelangsungan hidupnya, tetapi banyak memerlukan suplemen eksogen dari sekresi endogen untuk mencapai kesehatan yang optimum (Katzung 2002).

H. Uji Antidiabetes

1. Metode uji antidiabetes

1.1. Metode uji toleransi glukosa. Pengujian dilakukan dengan memberikan bahan glukosa untuk melihat pengaruh terhadap toleransi glukosa. Prinsip metode ini adalah hewan uji dipuaskan selama 16-20 jam tetapi tetap diberi minum, kemudian diambil cuplikan darah vena lalu diberikan sediaan obat yang diuji diberikan larutan glukosa secara oral. Pengambilan cuplikan darah vena diulangi setelah perlakuan pada waktu-waktu tertentu (Etuk 2010).

1.2. Metode uji antidiabetes dengan zat penginduksi. Keadaan diabetes dapat diinduksi pada hewan percobaan dengan cara pankreatomi dan secara kimia.

Zat-zat kimia sebagai oksidator (diabetogen) dapat digunakan zat-zat kimia seperti aloksan, streptozotocin, EDTA dan sebagainya; pada umumnya diberikan secara parenteral. Zat-zat tersebut di atas mampu menginduksi secara permanen dimana terjadi hiperglikemia. Diabetogen yang lain digunakan adalah aloksan, karena obat ini cepat menimbulkan hiperglikemia yang permanen dalam waktu 2 atau 3 hari (Anonim 1993).

Prinsip dari metode ini yaitu pemberian aloksan secara parenteral. Hewan uji yang berbeda dengan kondisi yang berbeda akan menghasilkan dosis yang berbeda. Aloksan diberikan dalam larutan konsentrasi 5 % b/v dan injeksikan secara intravena melalui vena telinga kelinci atau secara intraperitoneal untuk tikus dan mencit (Etuk 2010).

2. Streptozotocin dan Nikotinamid

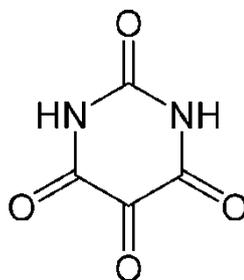
Diabetogenik contohnya streptozotocin (STZ) merupakan antibiotik antineoplastik berasal dari *Streptomyces achromogenes* atau sintesis yang dapat berefek pada metabolisme glukosa (Martindale 1989). STZ digunakan untuk menginduksi DM tipe 1 atau DM tipe 2 pada hewan uji (Szkudelski 2001). Pada tikus dan anjing, STZ dosis 50 mg/kg secara IV dapat menginduksi DM sedangkan dosis 40mg/kg berulang secara IP dapat menginduksi DM tipe 1 (Martindale 1989).

STZ merupakan analog nitrosourea dimana bagian N-methyl N nitrosourea (MNU) terkait dengan carbon hexose. Aksi toksik STZ bersifat alkilasi DNA. Nitrosourea biasanya lipofil dan serapan jaringan melewati membran plasma berlangsung cepat. STZ selektif terakumulasi dalam sel β pankreas melalui glukosa transporter GLUT2 afinitas rendah dalam membran plasma (Lenzen 2008; Elsner M *et al* 2000; Schnedl 1994).

STZ menyebabkan toksisitas sel β pankreas karena memiliki GLUT2 lebih banyak dan merupakan sumber radikal bebas (Bedoya *et al* 1996). STZ menghambat siklus kreb, menurunkan produksi ATP mitokondria, selanjutnya menghambat sekresi insulin yang diinduksi glukosa (Lenzen 2007; Szkudelski 2001).

NA atau vitamin B3 adalah vitamin yang larut dalam air, sebagai penghambat enzim poly ADP-ribose polymeras (PARP). NA merupakan prekursor biokimia dari *nikotinamid adenine dinukleotida* (NAD). NA berperan untuk perbaikan status pada energi pada jaringan iskemik, sebagai antioksidan, perbaikan metabolisme dan penghambat apoptosis. Hal ini membuatnya memiliki potensi untuk teraori IDDM. NA tidak memiliki efek samping dan bermanfaat untuk menunda awal mula IDDM. Terapi pre diabetes dengan NA memperbaiki metabolisme DM. NA melindungi sel β dari paparan sitotoksik STZ, melindungi dari radikal bebas, stress oksidatif, memperbaiki syaraf dan mengurangi volume infark pada iskemik secara *in vivo*. Mekanisme pasti aksi NA dalam DM masih dalam penelitian (Alensi FQ 2009). NA dan thymidine menghambat poly ADP ribose sintetase. Hal ini menyebabkan penurunan radikal hidroksi yang bereaksi dengan DNA. NA menunjukkan perannya sebagai radikal hidroksi *scavenger* (Ledoux 1988).

I. Aloksan

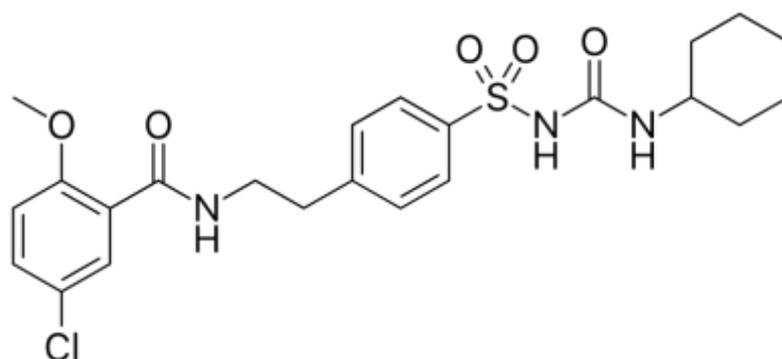


Gambar 2. Struktur aloksan

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

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

J. Glibenklamid



Gambar 3. Struktur glibenklamid

1. Indikasi dan kontraindikasi

Glibenklamid diindikasikan pada pengobatan diabetes melitus tipe 2 onset maturitas stabil dan tidak terkomplikasi ringan atau tidak parah, yang tidak dapat diobati hanya dengan diet saja. Glibenklamid mengkontraindikasikan pada wanita hamil dan menyusui, porfiria, dan ketoasidosis. Tidak boleh diberikan sebagai obat tunggal pada penderita yang kebutuhan insulinnya tidak stabil, dan diabetes melitus berat (Depkes 2005).

2. Dosis dan aturan pakai

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

3. Farmakokinetika

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

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

4. Mekanisme kerja

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

5. Efek samping

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

K. Metode Analisa Kadar Glukosa Darah

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

1. Metode analisa kadar glukosa darah dengan glukometer

Kadar glukosa darah ditetapkan dengan menggunakan alat Glucometer (Glucodr Biosensor AGM-2100). Cuplikan darah yang diambil dari vena lateralis ekor tikus dalam jumlah sangat sedikit yang berkisar hanya 1 μ l disentuhkan dalam *test strip*, kemudian alat tersebut akan segera mengukur kadar glukosa darah setelah strip terisi oleh darah.

1.1 Prosedur penggunaan glukometer. Prosedur penggunaan glukometer adalah masukkan *check strip* untuk validasi alat dan mengetahui kondisi alat glukometer, dimana alat dinyatakan valid jika pada layar muncul tulisan "OK", kemudian set kode alat dengan cara mencocokkan kode nomor yang muncul pada layar *Glucodr test meter* dengan yang tertera pada tabung wadah *Glucodr strip*. *Test strip* dimasukkan ke lubang alat *Glucodr test meter*, ambil sampel darah

dengan *GlucoDr lancing device*, tempelkan darah pada *test strip*, maka darah akan otomatis terserap ke dalam strip, pastikan test strip terisi penuh. Layar akan memunculkan angka 11, kemudian alat akan segera mengukur dengan menghitung mundur dari angka 11 sampai 1 dan akan keluar hasil pengukuran kadar glukosa darah. Pengukuran selanjutnya digunakan *test strip* yang baru.

1.2. Prinsip glukometer. 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 :

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

$\text{Glukosa} + \text{O}_2 + \text{H}_2\text{O} \xrightarrow{\text{GOD}} \text{asam glukonat} + \text{H}_2\text{O}_2$ (2) Hidrogen peroksida yang terbentuk bereaksi dengan 4-aminoantipyrin dan 2,4-dichlorohenol dengan adanya peroxidase (POD) dan menghasilkan antipirylquinonimine, yaitu suatu zat warna

merah. Jumlah zat warna yang terbentuk ini sebanding dengan konsentrasi glukosa (Merck 1987).

4. Metode o-toluidine.

Prinsip metode ini adalah glucose bereaksi dengan o-toluidine dalam asam asetat panas dan menghasilkan senyawa berwarna hijau yang ditemukan secara fotometris. Metode o-toluidine dapat digunakan untuk sampel yang dideproteinisasi maupun yang tidak dideproteinisasi (Merck 1987).

L. Hewan Uji

Hewan uji adalah setiap hewan yang dipergunakan pada sebuah penelitian biologis dan biomedis yang dipilih berdasarkan syarat atau standar dasar yang diperlukan dalam penelitian tersebut. Dalam memperlakukan hewan uji untuk penelitian diperlukan pengetahuan yang cukup mengenai berbagai aspek tentang sarana biologis, dalam hal penggunaan hewan percobaan laboratorium.

1. Sistematika hewan uji

Sistematika tikus menurut DepKes (2009), sebagai berikut :

Dunia	: Animalia
Filum	: Chordata
Sub Filum	: Vertebrata
Classis	: Mamalia
Sub classis	: Plasentalia
Orde	: Rodentia
Familia	: Muridae
Genus	: Rattus
Species	: <i>Rattus norvegicus</i> .

2. Karakteristik utama tikus putih

Tikus putih suhu tubuh normal $37,5^{\circ}\text{C}$ dan aktivitasnya nokturnal (pada malam hari). Jika dipegang dengan cara yang benar tikus tenang dan mudah ditangani. Tikus yang dibiakkan di laboratorium lebih cepat dewasa dan lebih mudah berkembang biak, berat badan mempengaruhi antara tikus biakkan dan tikus liar (Smith dan Mangoenwidjojo 1988).

M. Landasan Teori

Senyawa antioksidan merupakan suatu inhibitor yang digunakan untuk menghambat reaksi autooksidasi radikal bebas. Efek antioksidan senyawa fenolik dikarenakan sifat oksidasi yang berperan dalam menetralisasi radikal bebas (Panovska *et al.* 2005). Radikal bebas adalah suatu atom atau molekul yang sangat reaktif dengan elektron yang tidak memiliki pasangan (Widodo 2013). Salah satu penyakit yang berhubungan dengan radikal bebas adalah diabetes melitus, dikarakteristikan dengan kegagalan atau penurunan kemampuan proses sekresi insulin dan peningkatan kadar gula darah (hiperglikemia). Hiperglikemia menyebabkan autooksidasi glukosa, glikasi protein, dan aktivasi jalur metabolisme poliol yang selanjutnya mempercepat pembentukan senyawa oksigen reaktif (Ueno *et al.* 2002).

Pada kondisi ketidak normalan sistem antioksidan atau kekurangan antioksidan yang ada maka terjadi hiperproduksi senyawa oksigen reaktif, hal ini menimbulkan stres oksidatif (Calabrese 2007). Stres oksidatif merupakan salah satu komponen pada mekanisme kerusakan jaringan pada manusia. Stres oksidatif dapat ditunjukkan dengan meningkatnya kadar malondialdehid (MDA). Peningkatan MDA ini menandakan adanya proses peroksidasi lemak. Peroksidasi lemak merupakan stress oksidatif pada biomolekul lipid akibat reaktivitas senyawa oksigen reaktif (Robles 2001).

Salah satu tanaman obat yang dapat dijadikan sebagai obat tradisional untuk penyakit diabetes melitus adalah daun rambusa. Ekstrak air daun rambusa dilaporkan dapat menurunkan kadar glukosa darah pada tikus diabetes (Siriwadhene 2014). Daun rambusa diketahui memiliki kandungan alkaloid, tanin, steroid, saponin dan flavonoid (Asir *et al.* 2014). Flavonoid sebagai salah satu kelompok senyawa fenolik yang banyak terdapat pada jaringan tanaman yang dapat berperan sebagai antioksidan (Redha 2010). Penelitian pada genus lain ekstrak metanol *Passiflora ligularis* dapat menghambat DPPH dengan IC50 sebesar 2,22 ppm.

Senyawa tersebut disari dengan pelarut etanol 96%, etanol 96% sangat efektif dalam menghasilkan jumlah bahan aktif yang optimal. Karena etanol 96% dapat menarik kandungan zat aktif secara optimal.

Metode yang digunakan dalam penelitian ini adalah metode maserasi dengan cara merendam serbuk dalam pelarut yang sesuai. Penyarian dengan menggunakan metode ini dapat menarik zat aktif dari tanaman tersebut yang diduga dapat meningkatkan efek dalam menurunkan kadar glukosa darah dan kadar malondialdehid. Cairan penyari yang akan menarik zat-zat yang dibutuhkan. Keuntungan dari maserasi adalah dapat digunakan untuk menyari zat-zat yang tidak tahan panas pada pemanasan dan dengan alat yang sederhana. Kelemahannya adalah dalam penyariannya membutuhkan waktu yang lama serta penggojokkan yang selalu teratur.

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

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.

N. Hipotesis

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

Pertama, ekstrak etanol daun rambusa (*Passiflora foetida* L.) dapat menurunkan kadar glukosa darah pada tikus diabetes.

Kedua, ekstrak etanol daun rambusa (*Passiflora foetida* L.) dapat menurunkan kadar malondialdehid pada tikus diabetes.

Ketiga, ekstrak etanol daun rambusa (*Passiflora foetida* L.) memiliki dosis yang efektif dalam menurunkan kadar glukosa darah dan kadar malondialdehid pada tikus diabetes.

BAB III

METODE PENELITIAN

A. Populasi dan sampel

1. Populasi

Populasi pada penelitian ini adalah daun rambusa (*Passiflora foetida* L.) yang diambil dari daerah Harjosari Kabupaten Karanganyar Jawa Tengah.

2. Sampel

Sampel yang digunakan pada penelitian ini adalah daun rambusa (*Passiflora foetida*) secara acak berwarna hijau, tidak terlalu tua dan tidak terlalu muda dan tidak rusak.

B. Variabel Penelitian

1. Identifikasi variabel utama

Variabel utama pada penelitian ini adalah aktivitas ekstrak etanol daun rambusa hasil maserasi dengan pelarut etanol 96% terhadap kadar glukosa dan kadar MDA pada tikus yang diinduksi aloksan monohidrat.

2. Klasifikasi variabel utama

Variabel utama memuat identifikasi semua variabel yang diteliti langsung. Variabel utama yang telah diidentifikasi terlebih dahulu dapat diklasifikasikan ke dalam berbagai variabel yaitu variabel bebas, variabel tergantung dan variabel terkontrol.

Variabel bebas adalah variabel yang sengaja diubah-ubah untuk dipelajari pengaruhnya terhadap variabel tergantung. Variabel bebas pada penelitian ini adalah dosis ekstrak etanol 96% daun rambusa.

Variabel tergantung pada penelitian ini adalah kadar MDA dan kadar glukosa darah pada tikus setelah pemberian ekstrak etanol daun rambusa 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 terkontrol adalah variabel yang mempengaruhi variabel terikat sehingga perlu dinetralisir atau ditetapkan kualifikasinya agar hasil yang didapatkan tidak tersebar dan dapat diulang oleh peneliti lain secara tepat. Variabel terkontrol pada penelitian ini adalah metode ekstraksi daun rambusa, kondisi fisik hewan uji meliputi berat badan tikus, galur, jenis kelamin, kondisi percobaan, laboratorium, zat penginduksi, dan peneliti.

3. Definisi operasional variabel utama

Pertama, daun rambusa adalah seluruh daun pada tanaman rambusa yang segar, berwarna hijau, tidak terlalu tua dan tidak terlalu muda dan tidak rusak yang diperoleh dari daerah Harjosari Kabupaten Karanganyar Jawa Tengah

Kedua, serbuk adalah simplisia kering daun rambusa yang dihaluskan dengan penggilingan dan diayak dengan pengayak ukuran mesh 40.

Ketiga, ekstrak etanol daun rambusa adalah cairan hasil dari penarikan sari dari daun rambusa 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 adalah serbuk obat hipoglikemik oral yang diperoleh dari PT. Ifars, Solo, Jawa Tengah.

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 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 pankreas tikus yang telah dipreparasi.

C. Bahan, Alat dan Hewan Uji

1. Bahan

1.1. Bahan Sampel. Bahan sampel yang digunakan pada penelitian ini adalah daun rambusa yang diperoleh dari daerah Harjosari Kabupaten Karanganyar Jawa Tengah.

1.2. Bahan Kimia. Bahan kimia yang digunakan pada penelitian ini adalah etanol 96% sebagai larutan penyari. Untuk uji farmakologi digunakan aloksan monohidrat, glibenklamid, CMC Na 0,5%, larutan fisiologis (NaCl 0,9%). Untuk uji identifikasi senyawa tanaman alkohol, anhidrida asam asetat, kloroform, asam sulfat, HCl 2N, metanol 50%, serbuk magnesium, amil alkohol, xylene, asam klorida, besi (III) klorida dan air suling.

2. Alat

Alat untuk membuat simplisia yaitu pisau untuk merajang, oven dengan suhu rendah dan konstan, mesin penggiling dan ayakan no. 40. Alat penyari yang digunakan adalah Alat untuk penyari adalah seperangkat alat maserasi, evaporator, bejana maserasi, kain flannel, neraca elektrik, pipet, tabung reaksi, *beaker glass*. Alat untuk perlakuan hewan uji adalah timbangan analitik, jarum oral, spuit injeksi insulin 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 daun rambusa

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, Surakarta, Jawa Tengah.

2. Pengambilan sampel

Pengambilan sampel daun rambusa dilakukan pada daun yang sudah tua daerah Harjosari kabupaten Karanganyar Jawa Tengah. Daun rambusa kemudian dicuci dengan air untuk membersihkan kotoran dan debu yang menempel pada daun lalu ditiriskan dan dikeringkan dengan oven.

3. Pembuatan serbuk daun rambusa

Daun rambusa yang sudah dicuci dengan air untuk membersihkan kotoran atau bahan asing yang menempel pada daun. Setelah itu dilakukan pengeringan, pengeringan dilakukan dengan cara di oven pada suhu 50° hingga kering yang bertujuan untuk mendapatkan simplisia yang tidak mudah rusak sehingga dapat disimpan dalam waktu yang lama (Voight 1994). Setelah itu dibuat serbuk diayak dengan ayakan nomor mesh 40, kemudian dilakukan perhitungan persentase bobot kering terhadap bobot basah.

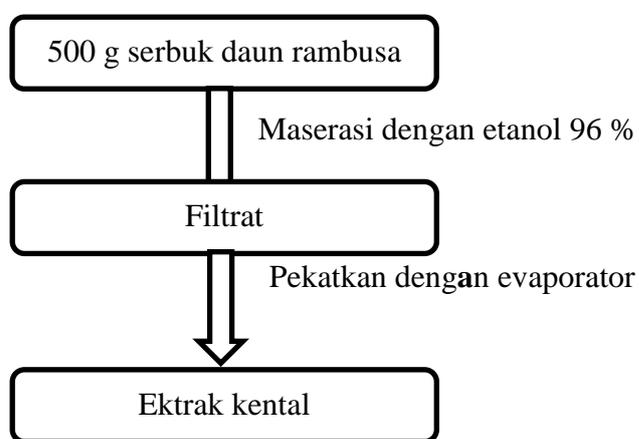
4. Penetapan kadar air

Penetapan kadar air daun rambusa dilakukan dengan menggunakan alat *Sterling-Bidwell*. Caranya dengan menimbang serbuk daun rambusa sebanyak 20 gram dimasukkan ke dalam labu destilasi dan ditambahkan pelarut sampai serbuk terendam, kemudian memasang alat *Sterling-Bidwell*, tahap selanjutnya dipanaskan. Cairan pembawa yang digunakan adalah xylen karena xylene memiliki titik didih lebih tinggi dari pada air dan tidak bercampur dengan air sehingga memudahkan dalam penetapan kadar air. 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)

5. Pembuatan ekstrak etanolik daun rambusa

Ekstraksi serbuk daun rambusa dilakukan dengan metode maserasi. Serbuk daun rambusa sebanyak 500 gram dimasukkan dalam botol coklat kemudian ditambahkan etanol 96% sebanyak 3750 ml ditutup dan direndam selama 5 hari dengan pengocokan berulang-ulang. Setelah 5 hari maserat disaring dan diperas dengan menggunakan kain flanel. Sari yang yang diperoleh dipekatkan dengan evaporator dengan suhu 40⁰ C sampai didapat ekstrak kental (Depkes 1986).



Gambar 4. Skema pembuatan ekstrak etanol 96% serbuk daun rambusa

6. Identifikasi senyawa kimia berdasarkan reaksi warna.

6.1. Identifikasi Flavonoid. Sejumlah tertentu ekstrak dilembabkan dengan 100 ml air panas kemudian dididihkan selama 5 menit, disaring dan ambil filtratnya 5 ml dimasukkan dalam tabung reaksi ditambahkan 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).

6.2. Identifikasi tanin. Pemeriksaan tanin dilakukan dengan cara serbuk dan ekstrak daun rambusa sebanyak 1 gram dilarutkan dalam 100 ml air panas, kemudian didinginkan dan disaring. Filtrat sebanyak 5 ml dimasukkan ke dalam tabung reaksi ditambah dengan 3 tetes pereaksi FeCl₃ 1%. Tanin positif apabila berbentuk warna hijau kehitaman pada reaksi dengan FeCl₃ (Depkes 1995).

6.3. 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).

6.4. 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).

6.5. 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 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 *Dragendorff* dan terbentuknya endapan menandakan adanya alkaloid (Harborne 1987).

7. Identifikasi kromatografi lapis tipis (KLT).

7.1. Identifikasi Flavonoid. Identifikasi flavonoid dengan menggunakan KLT dengan fase diam silika gel GF254 dan fase gerak menggunakan n-butanol : asam asetat : air (4:1:5). Setelah plat/lempeng KLT terelusi, kemudian dikeringkan dan dideteksi dibawah sinar UV 254 nm dan UV 366 nm yang hasilnya tidak menimbulkan bercak. Selanjutnya disemprot dengan pereaksi semprot uap amoniak (Harbone 1987)..

7.2. Identifikasi tanin. Fase gerak: kloroform: etil asetat: asam format (0,5:9:0,5) dengan pembanding tanin 10 mg/1 ml etanol. Bercak disemprot dengan $FeCl_3$. Kemudian bercak diamati dibawah lampu UV 366 nm. Hasil positif menunjukkan warna hijau coklat kehitaman (Widyowati & Rahmari 2010).

7.3. Identifikasi saponin. Identifikasi saponin dilakukan dengan cara KLT dengan fase diam silika gel 60 F254 dan fase gerak kloroform : metanol : aquades (6 : 3 : 1). Hasil positif jika bercak diamati di bawah lampu UV 254 nm berwarna gelap dan UV 366 nm berwarna hijau. Untuk memperjelas bercak disemprot

dengan larutan *Anisaldehyd* kemudian dipanaskan dan menunjukkan bercak coklat kehitaman di lempeng KLT (Suharto *et al* 2012).

7.4. Identifikasi steroid. Cuplikan ekstrak dilakukan kromatografi lapis tipis fase gerak yang digunakan dalam penelitian adalah n-heksan : etil asetat (93 : 1,5) dimasukkan hingga batas, angkat dan keringkan. Selanjutnya disemprotkan dengan pereaksi Liebermen-Bouchard. (Harborne 1987).

7.5. Identifikasi alkaloid. Identifikasi senyawa alkaloid dengan KLT menggunakan fase diam silika gel GF254 dan fase geraknya adalah toluen : etil asetat : dietilamin (7:2:1). Setelah plat/lempeng KLT terelusi, plat/lempeng dikeringkan kemudian dideteksi di bawah sinar UV 366 nm yang memberikan hasil bercak berwarna hijau. Selanjutnya untuk uji penegasan di semprot dengan pereaksi semprot yang sering digunakan untuk identifikasi alkaloid yaitu pereaksi Dragendrof (Harbone 1987).

8. Pembuatan Larutan Uji

8.1. 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 aquadest. Selanjutnya dipanaskan sampai mengembang kemudian dimasukkan ke dalam mortar dan menggerusnya dan menambahkan sedikit demi sedikit aquadest hingga 100 ml, diaduk hingga homogen.

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

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

8.4. 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.

9. Penentuan Dosis

9.1. Dosis glibenklamid. Dosis glibenklamid dihitung dari dosis lazim. 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.

9.2. Dosis sediaan uji. Dosis sediaan diberikan berdasarkan literatur. Dibuat tiga variasi dosis ekstrak etanol daun rambusa yaitu dosis 100 mg/kg BB, dosis 200 mg/kg BB dan dosis 400 mg/kg BB.

9.3. Dosis aloksan monohidrat. Dosis aloksan yang digunakan untuk membuat tikus diabetes adalah 150 mg /kg bb secara 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 30 mg/200 g berat badan tikus

10. Perlakuan hewan uji

Pengujian dilakukan dengan metode induksi aloksan terhadap 6 kelompok tikus. Tikus ditimbang dan masing-masing diberi tanda pengenal, tikus yang digunakan sebanyak 30 ekor. Semua tikus dipuasakan terlebih dahulu selama 16 jam dan diperiksa kadar gula darah awalnya dan diinduksi dengan aloksan kecuali pada tikus kelompok I sebagai kontrol negatif pada penelitian ini. Induksi aloksan dengan dosis 30 mg/200 g bb tikus, kemudian dilihat kadar gula darahnya pada hari ke 3. Jika kadar gula darah lebih dari 200 mg/dl maka tikus dikatakan sudah diabetes. Pemberian sediaan uji secara peroral selama 14 hari pada kelompok tikus. Secara acak tikus dibagi menjadi 6 kelompok, masing-masing kelompok terdiri dari 5 ekor.

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

Kelompok II = Kontrol negatif (CMC)

Kelompok III = Ekstrak etanol 96% daun rambusa dosis 100 mg/kg bb

Kelompok IV = Ekstrak etanol 96% daun rambusa dosis 200 mg/kg bb

Kelompok V = Ekstrak etanol 96% daun rambusa dosis 400 mg/kg bb

Kelompok VI = Kontrol positif (glibenklamid)

11. Penetapan kadar glukosa darah

Pengukuran kadar glukosa darah dilakukan 3 hari setelah diinduksi aloksan (T_1) dan hari ke-14 (T_2) 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 3.000 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 10 menit, kemudian diukur dengan menggunakan Spektrofotometer UV-Vis.

12. Pengukuran kadar malondialdehid (MDA)

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 80 $^{\circ}$ C 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 μ mol/ml. Kadar malondialdehid diukur dengan menggunakan persamaan $y = a + bx$ dimana y adalah absorbasni dan x adalah konsentrasi.

Tabel 1. Pengukuran kadar MDA

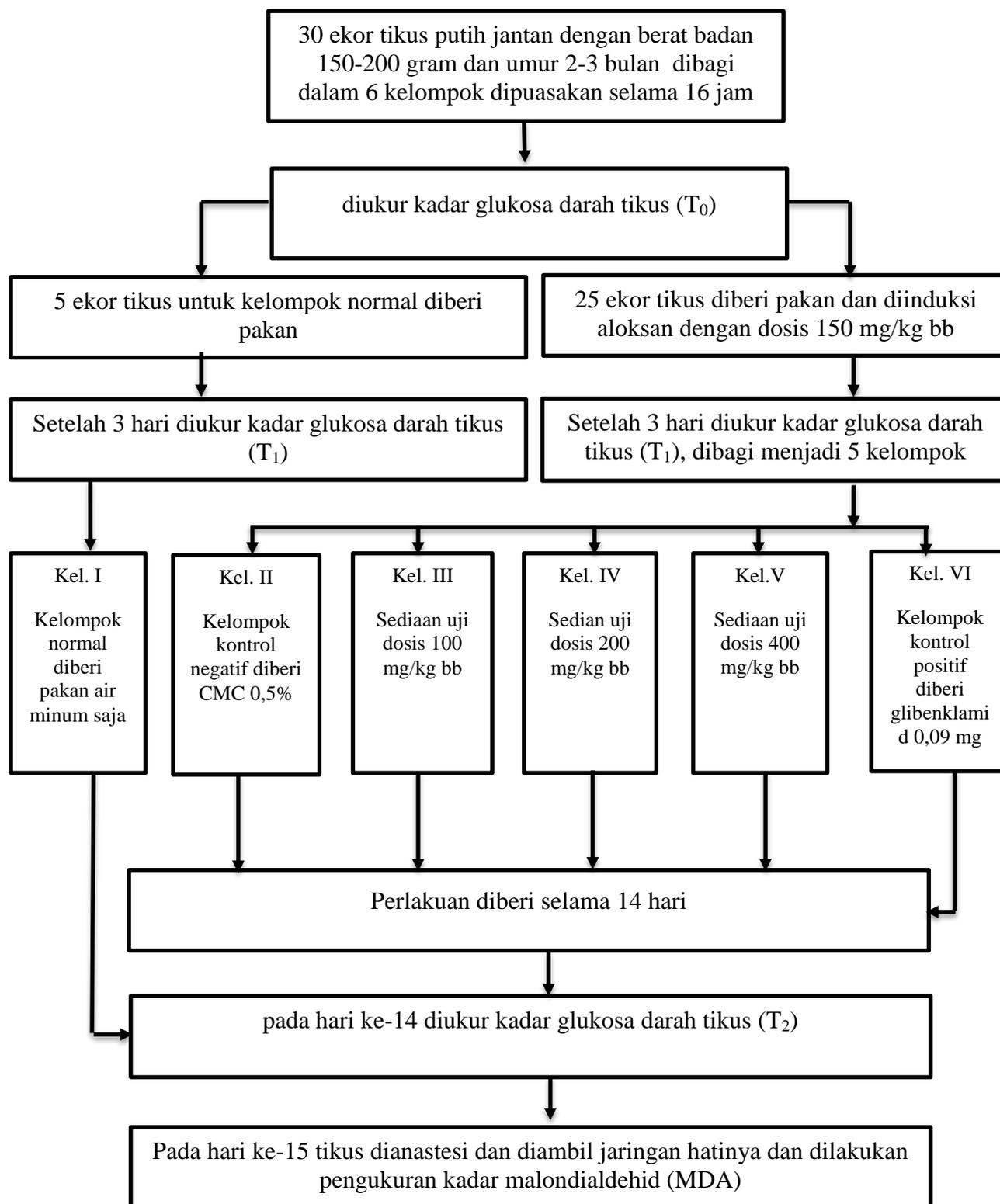
	Serum	Larutan standar (TEP)	HCl 0,25N	TCA	TBA	BHT
Sampel	0,5 ml	-	2 ml	15%	0,38%	0,5%
Standar	-	0,5 ml	2 ml	15%	0,38%	0,5%
Blanko	-	-	-	-	0,38%	-

E. Analisis Statistik

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*). Jika data terdistribusi normal

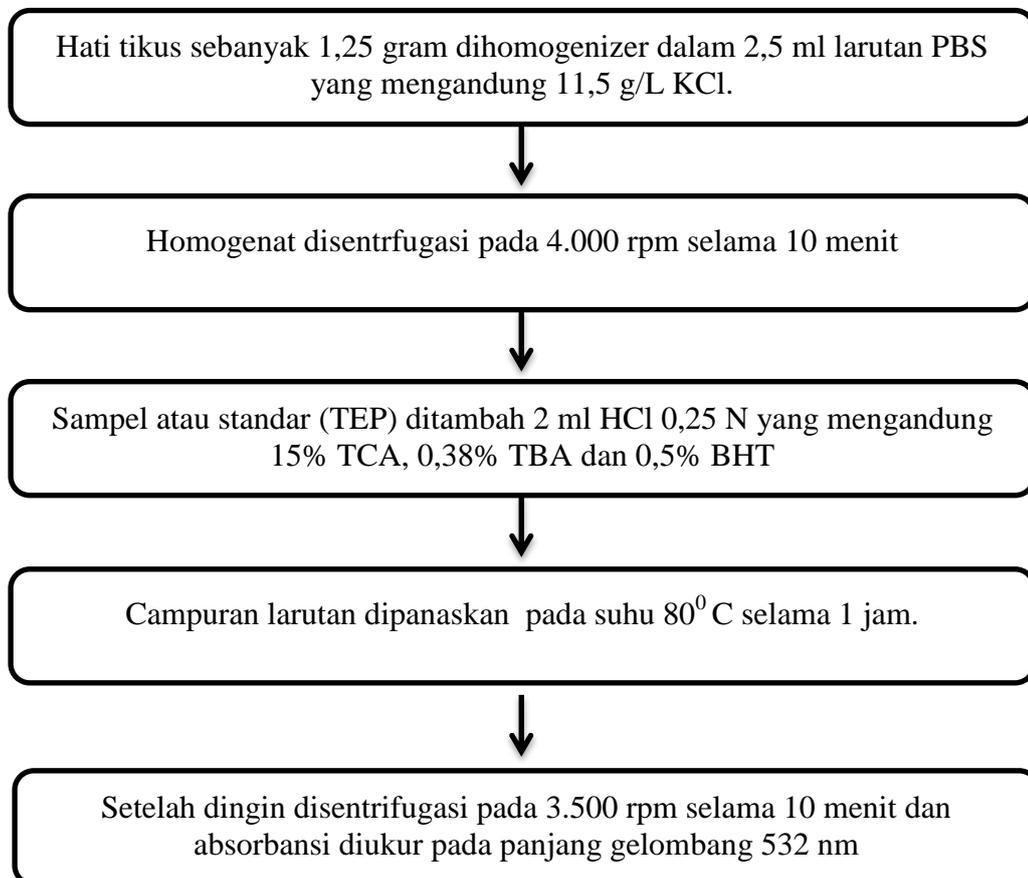
($p > 0,05$), analisis data dilanjutkan dengan uji parametrik (*One Way ANOVA*) untuk mengetahui perbedaan yang nyata diantara perlakuan. Jika hasil uji *One Way ANOVA* dan *uji Lavene Statistic* menunjukkan hasil normal ($> 0,05$), selanjutnya dilakukan uji *Post Hoc* untuk melihat penurunan kadar glukosadarah dan penurunan kadar malondialdehid yang efektif diantara kelompok perlakuan. Namun, jika hasilnya tidak normal ($p < 0,05$), maka dilakukan uji non parametrik menggunakan uji *Mann-Whitney*.

F. Skema Penelitian



Gambar 5. Skema prosedur pengujian

G. Pengukuran Kadar malondialdehid



Gambar 6. Skema pengukuran kadar malondialdehid

BAB IV

HASIL PENELITIAN DAN PEMBAHASAN

1. Hasil Determinasi Tanaman

Tanaman Rambusa yang digunakan dalam penelitian ini telah dilakukan determinasi, dinyatakan bahwa rambusa adalah benar-benar *Passiflora foetida* L. yang dimaksudkan, sehingga rambusa ini yang akan digunakan selanjutnya dalam penelitian. Data mengenai kebenaran hasil determinasi dapat dilihat pada kunci determinasi dibawah ini :

1b-2b-3b-4b-12b-13b-14b-17b-18b-19b-20b-21a_____73.
Passifloraceae 1b_____2.
Passiflora 1a-2b-3a-4b_____ *Passiflora*
foetida L. (C.A. Backer & R.C. Bakhuizen van den Brink, Jr.)

2. Deskripsi Tanaman

Habitus : terna, semusim merambat, panjang tanaman 1,5-5 meter. Akar : tunggang, bercabang, putih kotor atau putih kekuningan hingga coklat kekuningan. Batang : batang menjalar atau merambat, tidak berkayu, berbentuk bulat, permukaan batang berambut panjang dan jarang berwarna hijau, berbautidak enak; alat pembelit duduk pada batang. Daun : tunggal, terletak berseling, helaian berbentuk bulat telur memanjang hingga memanjang, selalu bertaju atau bertekuk 3, panjang 4.5-14 cm, lebar 3.5-13 cm, ujung meruncing pendek, tepi daun rata atau bergerigi tidak dalam, pangkal daun bertekuk seperti jantung, permukaan atas daun mengkilat dan berwarna hijau tua, permukaan daun berambut panjang, permukaan atas hijau tua, permukaan bawah hijau muda tangkai daun berambu panjang, bulat, panjang 2-10 cm, hijau, daun penumpu berbagi dalam, taju berbentuk benang dengan ujung membesar. Bunga : tunggal, berdiri sendiri atau berpasangan menjadi satu, panjang tangkai bunga 1.5-7 cm, berambut panjang; daun pembalut (involukrum) 3, panjang 1-3 cm, berbagi menyirip dengan taju berbentuk benang; tebaung kelopak bunga berbentuk lonceng lebar, taju sisi dalam putih, daun mahkota bunga memanjang, panjang 1.5-2.5 cm, putih cerah; mahkota bunga tambahan (corona) ada; benang sari

banyak, tangkai sari melekat, pendukung putik tingginya 6-8 mm; tangkai putik 3, berbentuk gada. Buah : buni, bulat memanjang, panjang 1.5-2 cm, dibungkus oleh daun pembalut, hijau ketika muda, oranye ketika masak. Biji : kecil, banyak, bentuk memanjang, berwarna putih kehijauan ketika muda dan hitam ketika masak.

3. Pembuatan Simplisia dan Serbuk

Daun rambusa yang masih segar dan berwarna hijau disortir dan dicuci dengan air mengalir hingga bersih kemudian ditiriskan. Setelah itu daun rambusa dikeringkan menggunakan oven pada suhu 50⁰C. Pengeringan tanaman ini bertujuan untuk mengurangi kandungan air pada tanaman dan menghentikan reaksi enzimatis yang dapat terjadi pada tanaman, selain itu kadar air yang terlalu tinggi dapat menjadi media yang baik untuk pertumbuhan mikroorganisme yang akan menyebabkan pembusukan pada tanaman. Daun rambusa yang telah kering kemudian dihaluskan menggunakan blender dan diayak dengan ayakan no. 40. Penyerbukan ini bertujuan untuk memperluas permukaan partikel yang kontak dengan pelarut saat penyarian. Daun rambusa sebanyak 10 kg yang dikeringkan, diperoleh persentase bobot kering terhadap bobot basah (Tabel 2).

Tabel 2. Hasil persentase bobot kering terhadap bobot basah daun rambusa

Bobot basah (kg)	Bobot kering (kg)	Rendemen (%)
10	1,6	16

4. Hasil Penetapan Kadar Air Serbuk Daun Rambusa

Penetapan kadar air daun rambusa menggunakan alat *Sterling-Bidwell*. Cairan pembawa yang digunakan adalah xylen karena xylen memiliki titik didih lebih tinggi dari pada air dan tidak bercampur dengan air sehingga memudahkan dalam penetapan kadar air. Gambar alat *Sterling-Bidwell* dapat dilihat pada lampiran 18.

Tabel 3. Hasil penetapan kadar air serbuk daun rambusa

Berat basah (g)	Kadar (%)
20,0	6
20,0	6
20,0	5
Rata-rata	5,6

Dari hasil penetapan kadar air serbuk simplisia daun rambusa dapat dilihat bahwa serbuk daun rambusa memiliki kadar air 5,6% (tabel 3). Hasil

penetapan kadar air yang memenuhi persyaratan adalah kurang dari 10%. Hal ini dimaksudkan untuk mengetahui ketahanan suatu bahan selama penyimpanan agar terhindar dari pengaruh aktivitas mikroorganisme. Kandungan air pada suatu bahan yang terlalu tinggi dapat membuat bahan tidak tahan terhadap penyimpanan dalam jangka waktu yang lama karena memungkinkan kerusakan bahan akibat jamur.

5. Hasil Pembuatan Ekstrak Etanol Daun Rambusa

Metode ekstraksi yang digunakan dalam penelitian ini yaitu dengan maserasi. Metode ini bertujuan untuk penyarian yang mengandung zat aktif yang mudah larut dalam larutan penyari, menghindari kerusakan zat aktif akibat pemanasan dan paling sederhana serta cepat dilakukan. Etanol 96% digunakan sebagai cairan penyari karena sifat etanol yang tidak beracun dan mudah menarik keluar senyawa aktif dari dalam sel dan dapat bercampur dengan air sebagai perbandingan, disamping itu etanol memiliki titik didih rendah sehingga mudah dan cepat diuapkan (DepKes 1986).

Serbuk daun rambusa sebanyak 500 gram dimasukkan dalam botol maserasi ditambah 3750 ml etanol 96%. Maserasi dilakukan selama 5 hari dengan sesekali penggojokan berulang-ulang. Penggojokan dilakukan untuk meratakan konsentrasi larutan di luar serbuk sehingga dengan penggojokan tersebut tetap terjaga adanya perbedaan konsentrasi antara larutan di dalam maupun di luar sel. Setelah 5 hari, maserat disaring dengan menggunakan kain flannel kemudian disaring dengan kertas saring. Kemudian pelarut yang ada pada filtrat diuapkan dengan menggunakan *rotary evaporator* dengan suhu 40°C sampai diperoleh ekstrak kental. Dari 500 gram serbuk diperoleh berat ekstrak 72,57 gram (tabel 4). Perhitungan rendemen ekstrak dalam tiap konsentrasi pelarut, data dapat dilihat pada lampiran 5.

Tabel 4. Rendemen ekstrak etanol daun rambusa

Berat serbuk (gram)	Berat ekstrak (gram)	Rendemen (%)
500	72,57	14,51

6. Identifikasi senyawa daun rambusa dengan metode reaksi kimia

Serbuk dan ekstrak etanol daun rambusa yang diperoleh diidentifikasi kandungan kimia yang terkandung di dalamnya. Hasil identifikasi kandungan kimia daun rambusa dapat dilihat pada Tabel 5.

Tabel 5. Hasil identifikasi kandungan kimia serbuk dan ekstrak daun rambusa

Senyawa	Prosedur	Hasil			Ket
		Serbuk	ekstrak	Pustaka (Depkes 1993)	
Tanin	5 ml sampel ditambah etanol ditambah besi (III) klorida	Terbentuk warna biru kehitaman	Warna hijau kehitaman	warna larutan akan berubah menjadi biru kehitaman atau hijau kehitaman	+
Saponin	0,05 gram Sampel + aquadest panas, kocok kuat	Terbentuk buih	Terbentuk buih	Adanya buih yang stabil	+
Alkaloid	Sampel + 5ml aquades + HCl 2M hingga asam, saring. Filtrat + 1mL pereaksi Dragendroff	Endapan merah kecoklatan	Endapan merah kecoklatan	Berwarna jingga atau adanya endapan jingga kemerahan	+
Steroid	Sampel ditambah Liebermann Bourchard	Terbentuk warna merah berubah menjadi hijau, ungu dan terakhir biru	Terbentuk warna merah berubah menjadi hijau, ungu dan terakhir biru	Terbentuk warna merah berubah menjadi hijau, ungu dan terakhir biru	+
Flavonoid	Sampel ditambah 5 ml air suling ditambah 0,1 serbuk mg ditambah 1 ml larutan alkohol ditambah asam klorida pekat ditambah amil alkohol	Merah jingga pada lapisan amil alkohol	Merah jingga pada lapisan amil alkohol	Merah jingga atau kuning jingga pada lapisan amil alkohol	+

Berdasarkan pengujian tersebut, serbuk dan ekstrak etanol daun rambusa mengandung tanin, saponin, alkaloid, terpenoid dan flavonoid. Hasil identifikasi ini sesuai dengan penelitian Asir *et al* (2014) bahwa daun rambusa mengandung senyawa tersebut.

7. Identifikasi senyawa daun rambusa dengan metode KLT

Kandungan kimia dalam ekstrak juga dapat diketahui dengan uji kualitatif secara KLT. Senyawa yang diidentifikasi antara lain flavonoid, saponin, alkaloid dan tanin. Fase diam pada identifikasi ini dengan menggunakan silika gel GF₂₅₄

yang bersifat polar dan penggunaan fase gerak berbeda-beda tergantung pada sifat kepolaran senyawa tersebut. Tabel 6 menunjukkan hasil identifikasi ekstrak daun rambusa dengan KLT.

Hasil identifikasi kandungan senyawa ini dapat disimpulkan bahwa daun rambusa mengandung senyawa flavonoid, tanin, saponin dan alkaloid. Hasil identifikasi dengan KLT dapat dilihat pada lampiran 7.

Tabel 6. Hasil identifikasi kandungan kimia ekstrak daun rambusa secara KLT

Senyawa	Fase diam	Fase gerak	Deteksi /Pereaksi	pembanding	Hasil	Rf ekstrak
Flavonoid	Silica gel GF 254	n-butanol: CH ₃ COOH : air (100: 13,5: 10)	UV 366/ Uap amonia	Rutin	Positif (bercak kuning)	0,84
Steroid	Silica gel GF 254	n-Heksan : etil asetat (93 : 1,5)	- / Liebermen – Burchard	-	Positif (bercak biru)	0,54
Saponin	Silica gel GF 254	kloroform : metanol : air (64:50:1)	UV 254/anisaldehyd	-	Positif (bercak coklat)	0,92
Tanin	Silica gel GF 254	kloroform : etil asetat : asam formiat (0,5:9:0,5)	./ FeCl ₃	Asam galat	Positif (bercak hitam)	0,94
Alkaloid	Silica Gel GF 254	Toluen: etil asetat: dietilamin (70: 20: 10)	- /Dragendroff		Positif (bercak jingga)	0,46

8. Hasil Uji Aktivitas Antidiabetes

Uji aktivitas antidiabetes ekstrak daun rambusa dilakukan terhadap hewan uji tikus putih jantan. Tikus putih jantan digunakan karena mempunyai kerja metabolisme obat yang lebih cepat dan kondisi biologis yang lebih stabil karena tikus jantan tidak dipengaruhi hormon estrogen, yang dapat mempengaruhi kadar gula darah. Tikus diadaptasi selama 1 minggu sebelum digunakan. Setelah diadaptasikan, berat badan tikus kemudian ditimbang. Tikus terlebih dahulu dipuasakan selama 16 jam sebelum diberi perlakuan. Tujuannya untuk meminimalkan faktor makanan yang dapat mempengaruhi kadar glukosa darah tikus dan absorpsi obat yang diberikan. Tikus kemudian dikondisikan diabetes

dengan induksi zat diabetogen yaitu aloksan. Glukosa darah diukur dengan menggunakan metode GOD-PAP menggunakan alat spektrofotometer uv-vis. Glukosa darah diukur sebelum diberi perlakuan (T_0), hari ke-3 (T_1) dan hari ke-14 (T_2).

Hasil pengukuran kadar glukosa darah dengan metode GOD-PAP didapatkan dari nilai absorbansi sampel dibanding dengan absorbansi standar. Aktivitas antidiabetes ekstrak daun rambusa dilihat dari penurunan kadar glukosa sebelum dan sesudah pemberian sediaan uji. Data rata-rata kadar glukosa darah pada tikus dapat dilihat pada tabel 7.

Tabel 7. Data kuantitatif rata-rata hasil pengukuran penurunan kadar glukosa darah berbagai kelompok perlakuan

Kel. uji	Rata-rata kadar Hlukosa darah awal (mg/dl) (T_0) \pm SD	Rata-rata kadar glukosa darah setelah diinduksi aloksan (mg/dl) (T_1) \pm SD	Rata-rata kadar glukosa darah (mg/dl) setelah pemberian uji
			Hari ke 14 (T_2) \pm SD
I	62,58 \pm 0,98	63,46 \pm 0,92	65,06 \pm 0,93 ^{bc}
II	63,64 \pm 1,67	202,13 \pm 1.36	206,77 \pm 3,47 ^{ac}
III	63,39 \pm 1,40	201,91 \pm 0,71	137,67 \pm 1,54 ^{abc}
IV	69,47 \pm 1,73	203,82 \pm 3	107,32 \pm 2,39 ^{abc}
V	69,24 \pm 1,64	202,65 \pm 1,15	91,98 \pm 1,19 ^{ab}
VI	64,02 \pm 1,37	201,62 \pm 1,09	88,56 \pm 2,93 ^{ab}

Keterangan :

I = Kontrol Normal

II = Kontrol Negatif

III = Dosis ekstrak daun rambusa (100 mg/kg BB)

IV = Dosis ekstrak daun rambusa (200 mg/kg BB)

V = Dosis ekstrak daun rambusa (400 mg/kg BB)

VI = Kontrol positif (Glibenklamid 0,09 mg)

a = berbeda signifikan terhadap kelompok normal

b = berbeda signifikan terhadap kelompok diabetes

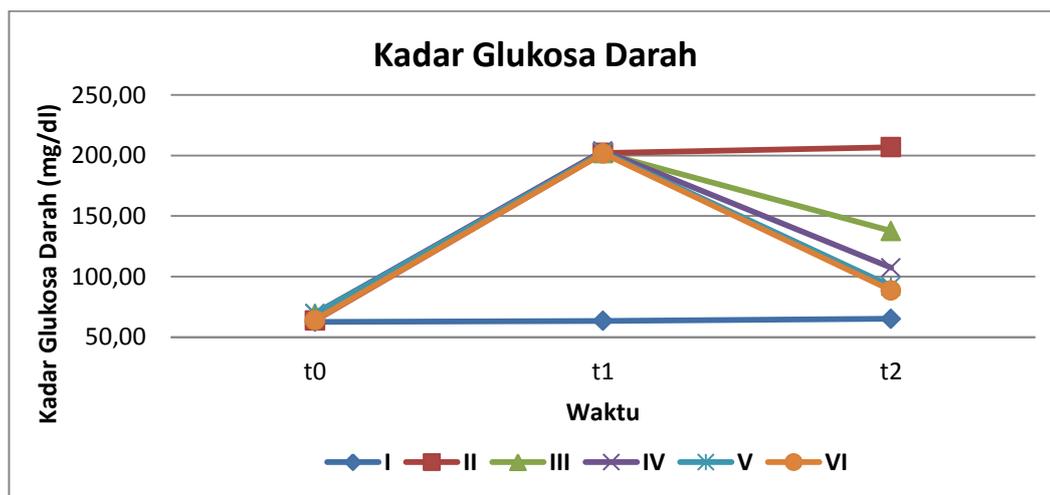
c = berbeda signifikan terhadap kelompok kontrol positif (glibenklamid)

Pada T_0 semua kelompok perlakuan belum menunjukkan perubahan dan menunjukkan kadar glukosa darah yang hampir sama, hal ini disebabkan karena semua kelompok belum mendapatkan perlakuan induksi aloksan. Setelah diinduksi aloksan (T_1) semua kelompok perlakuan kecuali kelompok normal mengalami peningkatan kadar glukosa darah. 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 (Szkuldelski 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 (Szkuldelski 2001). Induksi aloksan pada dosis 150 mg/kg bb secara intraperitoneal mampu meningkatkan kadar glukosa darah dan kerusakan pada sel β pankreas tikus.

Pada hari ke-14 setelah diberi sediaan uji, kadar glukosa darah semua kelompok mengalami penurunan. Dilihat dari hasil analisa statistik uji *post hoc test* kelompok V dengan dosis ekstrak daun rambusa 400 mg/kg BB menunjukkan tidak ada perbedaan yang bermakna ($p > 0,05$) dengan kelompok pembanding (glibenklamid 0,09 mg) $p = 0,202$ sehingga dapat disimpulkan bahwa ekstrak daun rambusa dengan dosis 400 mg/kg BB mempunyai efek menurunkan kadar glukosa darah secara nyata. Grafik hubungan rata-rata kadar glukosa dengan waktu dapat dilihat pada gambar 7.



Gambar 7. Grafik hubungan rata-rata kadar glukosa darah (mg/dl) dengan waktu

Keterangan :

- I = Kontrol Normal
- II = Kontrol Negatif
- III = Dosis ekstrak daun rambusa (100 mg/kg BB)
- IV = Dosis ekstrak daun rambusa (200 mg/kg BB)
- V = Dosis ekstrak daun rambusa (400 mg/kg BB)
- VI = Kontrol positif (Glibenklamid 0,09 mg)

Pada grafik di atas menunjukkan kadar glukosa darah pada kelompok I tidak mengalami kenaikan maupun penurunan yang signifikan karena kelompok I sebagai kontrol normal yang tidak diinduksi aloksan dan hanya diberi makan dan minum saja. Kelompok II (CMC 0,5%) setelah diinduksi terus mengalami peningkatan hingga hari ke 14, sedangkan grafik kelompok III hingga kelompok VI pada T1 (induksi aloksan) sama-sama mengalami peningkatan glukosa darah tetapi pada T2 mengalami penurunan glukosa darah.

Pada grafik di atas menunjukkan bahwa ekstrak daun rambusa dapat menurunkan kadar glukosa darah dilihat dari tiap waktu pengukuran glukosa darahnya. Kelompok dosis ekstrak daun rambusa 400 mg/kg BB mengalami penurunan kadar glukosa yang setara dengan kontrol positif (glibenklamid). Glibenklamid merupakan golongan sulfonilurea yang memiliki efek menurunkan kadar glukosa darah yang ditimbulkan dengan cara menstimulasi pelepasan insulin dari sel beta pankreas serta dapat meningkatkan kadar insulin dengan cara mengurangi hormon bersihan hati. Glibenklamid dimetabolisme oleh hati dan metabolitnya diekskresi di dalam urin (Prato *et al* 2007).

Tabel 8. Persentase penurunan kadar glukosa darah T1 ke T2

Kelompok	$\Delta T1 = T1 - T2$	Persentase Penurunan (%)
I	$-1,60 \pm 0,63$	$-2,53 \pm 1,02^c$
II	$-4,64 \pm 2,90$	$-2,29 \pm 1,43^c$
III	$64,25 \pm 0,93$	$31,82 \pm 0,55^{abc}$
IV	$96,51 \pm 3,04$	$47,35 \pm 1,20^{abc}$
V	$110,66 \pm 1,70$	$54,61 \pm 0,65^{ab}$
VI	$113,06 \pm 2,84$	$56,08 \pm 1,41^{ab}$

Keterangan :

- I = Kontrol Normal
- II = Kontrol Negatif
- III = Dosis ekstrak daun rambusa (100 mg/kg BB)
- IV = Dosis ekstrak daun rambusa (200 mg/kg BB)
- V = Dosis ekstrak daun rambusa (400 mg/kg BB)
- VI = Kontrol positif (Glibenklamid 0,09 mg)
- a = berbeda signifikan terhadap kelompok normal
- b = berbeda signifikan terhadap kelompok diabetes
- c = berbeda signifikan terhadap kelompok kontrol positif (glibenklamid)

Pada tabel 8 persen penurunan kadar glukosa darah pada hari ke-14. Pemberian ekstrak etanol daun rambusa dan kontrol positif (glibenklamid) terbukti mampu menurunkan kadar glukosa darah. Ekstrak etanol daun rambusa dengan dosis 100 mg/kg BB, 200 mg/kg BB dan 400 mg/kg BB berturut-turut mampu menurunkan kadar glukosa darah sebesar 31,82%, 47,35%, dan 54,08%. Glibenklamid mampu menurunkan glukosa darah sebesar 56,08%.

Berdasarkan analisa statistik uji ANOVA menunjukkan bahwa terdapat beda antar kelompok kecuali pada kelompok V dan VI yaitu kelompok dosis ekstrak etanol daun rambusa 400 mg/kg BB dengan kontrol positif glibenklamid dengan nilai sig = 0,315 ($p > 0,05$). Hal tersebut dapat disimpulkan bahwa kelompok V yaitu ekstrak etanol daun rambusa dengan dosis 400 mg/kg BB memiliki aktivitas setara dengan glibenklamid.

Penurunan kadar glukosa darah pada gambar 6, dosis ekstrak etanol daun rambusa dengan dosis 400 mg/kg BB menunjukkan persen penurunan kadar glukosa yang lebih tinggi dibanding dengan ekstrak etanol daun rambusa dosis 100 mg/kg BB dan dosis 200 mg/kg BB. Dosis ekstrak etanol daun rambusa 400 mg/kg BB juga memberikan hasil persen penurunan yang hampir sama dengan kontrol positif (glibenklamid).

Penurunan kadar glukosa darah dengan pemberian ekstrak etanol daun rambusa dapat disebabkan oleh adanya senyawa bioaktif yang terkandung dalam daun rambusa yang dapat mencegah terjadinya oksidasi pada sel β pankreas sehingga kerusakan dapat diminimalkan. Senyawa bioaktif yang terdapat dalam daun rambusa diantaranya adalah flavonoid, tanin, alkaloid, dan saponin.

Berdasarkan penelitian flavonoid dapat mencegah komplikasi atau progresifitas diabetes mellitus dengan cara 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 mempunyai efek penghambatan terhadap enzim alfa glukosidase melalui ikatan hidroksilasi dan substitusi pada cincin β . Prinsip penghambatan ini yaitu dengan menghasilkan penundaan hidrolisis karbohidrat dan disakarida dan absorpsi glukosa serta menghambat metabolisme

sukrosa menjadi glukosa dan fruktosa (Lee 2008). Selain itu flavonoid juga dapat berperan dalam melindungi terhadap kerusakan jaringan pankreas yang diakibatkan oleh alkilasi DNA akibat induksi aloksan sebagai akibatnya dapat memperbaiki morfologi pankreas tikus dan meningkatkan sensitivitas reseptor insulin pada tikus yang resistensi insulin. Flavonoid dilaporkan memiliki aktivitas antidiabetes yang mampu meregenerasi sel pada pulau Langerhans (Mohan & Nandhakumar 2014).

Tanin diketahui dapat memacu metabolisme glukosa dan lemak sehingga timbunan kedua sumber kalori ini dalam darah dapat dihindari. Tanin juga mempunyai aktivitas hipoglikemik yaitu dengan meningkatkan glikogenesis. Selain itu, tanin juga berfungsi sebagai pengkhalat yang dapat mengerutkan membran epitel usus halus sehingga mengurangi penyerapan sari makanan dan sebagai akibatnya menghambat asupan gula dan laju peningkatan gula darah tidak terlalu tinggi (Velayutham *et al* 2012).

Saponin dilaporkan dapat merangsang insulin di pankreas dan meningkatkan aktivitas insulin. Peningkatan kadar insulin akan menurunkan kadar glukosa darah (Oztasan 2013). Zat aktif lain yang juga dapat menurunkan kadar glukosa darah yaitu alkaloid bekerja dengan memperbaiki atau meregenerasi sel beta pankreas serta merangsang pelepasan insulin (Zhang *et al* 2008).

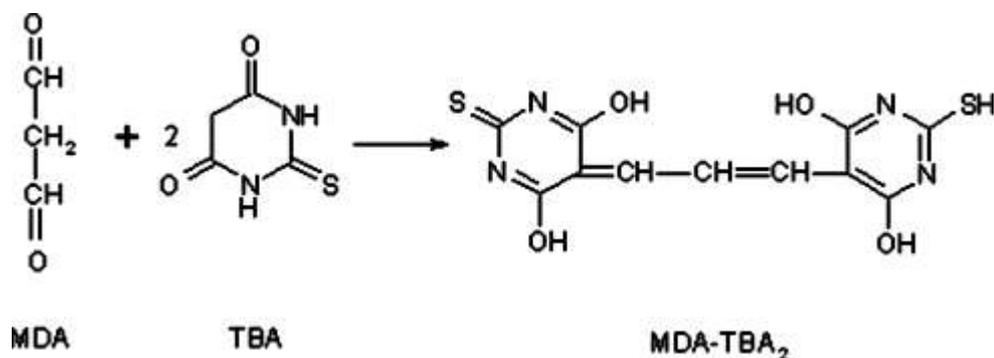
9. Hasil Pengukuran Kadar Malondialdehid (MDA)

Kemampuan ekstrak etanol daun rambusa dalam meningkatkan antioksidan dalam tubuh dievaluasi dengan mengukur kadar malondialdehid (MDA) pada homogenat hati tikus yang diberi pelakuan ekstrak etanol daun rambusa selama 2 minggu. Malondialdehid adalah senyawa *dialdehida* 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).

Larutan standar yang digunakan dalam pembuatan kurva baku dalam pengukuran kadar MDA adalah 1,1,3,3-tetraetoksipropana TEP. Larutan TEP dibuat 5 konsentrasi yaitu : 0 $\mu\text{mol/ml}$, 375 $\mu\text{mol/ml}$, 750 $\mu\text{mol/ml}$, 1500 $\mu\text{mol/ml}$

dan 3000 $\mu\text{mol/ml}$ lalu diukur absorbansinya pada λ 532 nm. Hasil pengukuran absorbansi yang didapat kemudian diplotkan menjadi kurva baku TEP untuk diketahui persamaan regresi linearnya. Persamaan regresi linear tersebut digunakan untuk menghitung kadar MDA. Hasil pengukuran diperoleh persamaan kurva baku yaitu $y = 0,0193750 + 0,0000823x$ dengan $R^2 = 0,9985$. Persamaan regresi linear dan kurva baku dapat dilihat pada lampiran 12.

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 alkoanol 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 (Soewoto *et al* 2001).



Gambar 8. Reaksi malondialdehid dengan asam tiobarbiturat (Soewoto *et al* 2001)

Sampel berupa hati yang telah dicacah dalam larutan PBS (*phosphate buffer saline*) yang mengandung larutan KCl 11,5 g/L yang kemudian disentrifugasi untuk memperoleh larutan serum. Fungsi PBS yaitu sebagai larutan penyangga untuk mempertahankan pH pada hati. Serum yang diperoleh dan standar (TEP) ditambahkan HCl 0,25 N yang mengandung TCA (*trichloro acid*) 15 % TBA 0,38% dan BHT (*butylated hydroxytoluene*) 0,5 %. Penambahan TCA berfungsi untuk mengendapkan makromolekul seperti protein, DNA dan RNA. Campuran kemudian dipanaskan 80°C selama 1 jam untuk mempercepat terbentuknya reaksi MDA-TBA yang menghasilkan warna merah muda. Setelah dingin diukur

absorbansinya pada panjang gelombang 532 nm menggunakan spektrofotometer UV-VIS. Hasil pengukuran absorbansi sampel kemudian dimasukkan ke dalam persamaan kurva baku dan diperoleh kadar MDA sampel. 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) \pm SD
I	5	1,13 \pm 0,08 ^{bc}
II	5	8,15 \pm 0,15 ^{ac}
III	5	3,97 \pm 0,14 ^{abc}
IV	5	2,75 \pm 0,16 ^{abc}
V	5	1,90 \pm 0,21 ^{ab}
VI	5	1,75 \pm 0,27 ^{ab}

Keterangan :

I = Kontrol Normal

II = Kontrol Negatif

III = Dosis ekstrak daun rambusa (100 mg/kg BB)

IV = Dosis ekstrak daun rambusa (200 mg/kg BB)

V = Dosis ekstrak daun rambusa (400 mg/kg BB)

VI = Kontrol positif (Glibenklamid 0,09 mg)

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 9). 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 peningkatan kadar yang signifikan ($p > 0,05$) dibandingkan dengan 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. Pembentukan spesies oksigen reaktif merupakan faktor utama pada kerusakan sel tersebut (Nugroho 2006).

Hiperglikemia kronik pada DM dapat menimbulkan stress 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). Hiperglikemia memicu terjadinya pembentukan radikal bebas yang lebih tinggi bila dibandingkan dengan kelompok kontrol normal. Tingginya kadar MDA yang dihasilkan pada kelompok kontrol negatif dapat digunakan sebagai penanda kerusakan oksidatif akibat radikal bebas. Suarsana dkk (2013) menyatakan stress oksidatif pada tikus 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. Reaktivitas tersebut ditandai dengan terjadinya peroksidasi lipid dengan terbentuk lebih banyak MDA. Produk MDA ini 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 terjadi penurunan dibandingkan dengan rata-rata kada kelompok negatif. Berdasarkan hasil analisis statistik penurunan kadar MDA kelompok kontrol dan kelompok perlakuan menunjukkan penurunan kadar yang signifikan ($p > 0,05$) jika dibandingkan dengan kelompok kontrol negatif. Hal ini disebabkan aktivitas glibenklamid dan senyawa metabolit yang terkandung dalam ekstrak etanol daun rambusa diduga bertindak sebagai 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 granula insulin. Peningkatan sekresi insulin ke permukaan sel dan eksositosis granula insulin. Peningkatan eksositosis granula insulin dari pankreas menyebabkan *intake* glukosa darah, sehingga kadar glukosa darah menjadi turun. Glibenklamid juga dapat menyebabkan homeostasis pada pankreas berjalan baik yang mengakibatkan enzim pertahanan endogen yang ada di dalam tubuh dapat bekerja maksimal menetralkan atau menangkap radikal bebas (Shakya *et al* 2012).

Hasil analisa statistik (lampiran 15) menunjukkan bahwa kelompok kontrol dan kelompok ekstrak etanol daun rambusa 400 mg/kg BB tidak terdapat perbedaan yang signifikan ($p > 0,05$). Pemberian ekstrak etanol daun rambusa dengan dosis 400 mg/kg BB memiliki pengaruh yang hampir sama dengan glibenklamid sebagai kontrol positif. Aktivitas senyawa metabolit yang terkandung dalam ekstrak etanol daun rambusa dapat bertindak sebagai antioksidan.

Hasil uji fitokimia membuktikan bahwa ekstrak etanol daun rambusa mengandung flavonoid, alkaloid, tanin dan saponin (Asir *et al* 2014). Penelitian yang dilakukan Bahmani (2014) terhadap beberapa tanaman telah menunjukkan bahwa beberapa metabolit sekunder yang dapat mengontrol glukosa darah adalah flavonoid, quercetin, quinolizidine, antosianin, katekin, flavon dan kumarin. Das dan Sarma (2009) menyatakan bahwa tanin, flavonoid dan glikosida fenolik adalah antioksidan alami yang berfungsi melindungi sel β pankreas dari radikal bebas.

10. Hubungan antara Kadar Glukosa Darah dan Kadar MDA

Hasil uji korelasi antara penurunan glukosa darah dengan penurunan 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 0,986 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 daun rambusa dapat menurunkan kadar glukosa darah pada tikus diabetes.

Kedua, ekstrak etanol daun rambusa dapat menurunkan kadar malondialdehid (MDA) pada tikus diabetes.

Ketiga, dosis ekstrak etanol daun rambusa yang paling efektif dalam menurunkan kadar glukosa dan kadar malondialdehid (MDA) adalah dosis 400 mg/kg BB tikus.

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 daun rambusa

Kedua, penelitian lebih lanjut tentang toksisitas akut dan kronik ekstrak etanol daun rambusa.

DAFTAR PUSTAKA

- Anderson MM, Requena JR, Crowley JR, Thorpe SR, Heinecke JW. 1999. The myeloperoxidase of human phagocytes generates *N*-carboxymethyl lysine on proteins: a mechanism for producing advanced glycation end products at sites of inflammation. *J Clin Invest* 1999;104(1):103-13.
- Anonim. 1993. *Pedoman Pengujian dan Pengembangan Fitofarmaka, Penapisan Farmakologi dan Pengujian Klinik*, Jakarta: Yayasan Pengembangan Obat Bahan Alam Phyto Medica. Hal 15-17, 195-200.
- Ansel HC. 1989. *Pengantar Bentuk Sediaan Farmasi*. Ed ke-4. Jakarta: Indonesia University Press hlm 605-606.
- Arkhaesi N. Kadar Malondialdehid (MDA) serum sebagai indikator prognosis keluaran pada sepsis neonatorum.
- Asir P Joseph, Hemmalakshmi S, Priyanga S, dan K.Devaki. 2014^a. Antidiabetic activity of aqueous and ethanolic extracts of *Passiflora foetida* L. in alloxan induced diabetes rats. *World journal of pharmaceutical research volume 3,1627-164*.
- Asir P Joseph, Hemmalakshmi S, Priyanga S, dan K.Devaki. 2014^b. In vitro free radical scavenging activity and secondary metabolites in *Passiflora foetida* L.. *World journal of pharmaceutical research volume 2, 3-11*.
- Asir P Joseph, Hemmalakshmi S, Priyanga S, dan K.Devaki. 2014. Phytochemical screening, GC-MS and enzyme inhibitory activity of *Pasiiflora foetida* L.. *World journal of pharmaceutical research volume 4,2231-6867*.
- Asni, E., dkk. 2009. Pengaruh Hipoksia Berkelanjutan Terhadap Kadar Malondialdehid, Glutation Tereduksi, dan Aktivitas Katalase Ginjal Tikus, *Maj Kedokt Indon*, 59(12): 595-600.
- Bahmani M, Golshahi H, Saki K, Rafieian-Kopaei M, Delfan B, Mohammadi T. 2014. Medicinal plants and secondary metabolites for diabetes mellitus control. *Asian Pacific Journal Tropical Biomedicine*. 4(2): S687-S692.
- Beckett AH, Kalsi VS, 2003. *Compelling need for supplementation: How specific nutrients help retard the complication of diabetes melitus*. Disampaikan dalam Symposium "Compeling Need For Nutrient Therapy in The Treatment of Diabetes Mellitus and The Associ- ated Complication", Surabaya, 8 February, 2003.
- Beckman Ja, Goldfine AB, Gordon MB, Creager MA. 2001. Ascorbate restores endothelium-dependent vasodilatation impaired by acute hyperglycemia in humans. *Circulation* ;103:1618-23.

- Bedoya FJ, Solano F, & Lucas M. 1996. N-Monomethyl-arginine and nicotinamide prevent streptozotocin-induced double strand DNA break formation in pancreatic rat islets. *Experienti* 52:344-347.
- Burda, S. dan Oleszek,W. 2001. Antioxidant and antiradi- Antioxidant and antiradi- cal activities of flavonoids. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 49: 2774 – 2779.
- Budiman H, Rahmawati, Sanjaya F. 2010. Isolasi dan identifikasi alkaloid pada biji kopi robusta (*Coffea robusta Lindl. Ex De Will*) dengan cara kromatografi lapis tipis. CERATA Jurnal Ilmu Farmasi (*Journal of Pharmacy Science*) 1(1): 57-58.
- Carr A, Frei B. 1999^a. Does vitamin C act as pro-oxidant under physiological conditions. *FASEB J* ; 13:1007-24.
- Carr A, Frei B. 1999^b. Toward a new recommended dietary allowance for vitamin C base antioxidant and health effects in humans. *Am J Clin Nutr*;69:1086-107.
- Cherubini A, Ruggerio C, Polidori MC, Mecocci P. 2005. *Potensial marker of oxidative stress in stroke*. *Free radic bio med* 39: 841-852
- Dalimartha S. 2005. *Ramuan Tradisional untuk Pengobatan Diabetes Melitus*. Cetakan ke-10. Jakarta: Penebar Swadaya. hlm 3-15.
- Dalimartha S. 2008. *1001 Resep Herbal*. Jakarta: Penebar Swadaya. 11-12
- Das S & Sarma G. 2009. Antidiabetic Action of Ethanolic Extract of *Punica granatum* Linn. in Alloxan-induced Diabetic Albino Rats. *S. J. Pharm. Sci.* 2(1): 14-21.
- Dalle-Donne I, Rossi R, Colombo R, Giustarini D, Milzani A. Biomarkers of Oxidative Damage in Human Disease. *Clin Chem* 2006;52:601-23.
- Departemen Kesehatan. 1985. *Sediaan Galenik. Edisi I*. Departemen Kesehatan Republik Indonesia. Jakarta .
- Departemen Kesehatan. 1986. *Sediaan Galenik. Jilid III*. Departemen Kesehatan Republik Indonesia. Jakarta.
- Departemen Kesehatan Republik Indonesia. 1993. *Pedoman Pengujian dan Pengembangan Fitokimia: Penapisan Farmakologi, Pengujian Fitokimia dan Pengujian Klinik*. Jakarta: Yayasan Perkembangan Obat Bahan Alam. Hal. 15-17.
- Departemen Kesehatan. 1995. *Farmakope Indonesia*. Edisi ke-4. Jakarta: Departemen Kesehatan Republik Indonesia.

- Departemen Kesehatan. 2005. *Pharmaceutical care untuk penyakit diabetes mellitus*. Jakarta: Direktorat Bina Farmasi Komunitas dan Klinik. Direktorat Jendral Bina Kefarmasian dan Alat Kesehatan, Departemen kesehatan RI. Hlm 15.
- Departemen Kesehatan. 2009. *Pedoman Pengendalian Tikus Khusus di Rumah Sakit*. Jakarta: Departemen Kesehatan Republik Indonesia.
- DiPiro JT, Talbert RI, Yee GC, Matzke GR, Wells BG, Posey LM. 2008. *Pharmacotherapy : A Pathophysiologic Approach, Seventh Edition*. McGraw-Hill, New York.
- Dewi RK. 2014. *Diabetes Bukan untuk Ditakuti*. Jakarta: Fmedia (Imprint Agro Media Pustaka).
- Droge W. 2002. Free radicals in the physiological control of cell function. *Physiol Rev*. 2002; 82:47-95.
- Elsner M, Guldbakke B, Tiedge M, Munday R & Lenzen S. 2000. Relative importance of transport and alkylation for pancreatic β -cell toxicity of streptozotocin. *Diabetologia* 43: 1528-1533.
- Gunawan SG. 2009. Farmakologi dan terapi. Edisi ke-5. Jakarta: Departemen Farmakologi dan FKUI. Hlm 489-493
- Halliwell B, Gutteridge JMC. 1999. *Free Radicals in Biology and Medicine*. Oxford University Press. New York.
- Harborne J.B. 1987. *Metode Fitokimia*. Ed ke-2. Diterjemahkan Ibrahim F. Bandung: ITB Bandung Press.
- Hernani, Rahardjo M. 2005. *Tanaman Berkhasiat Antioksidan*. Jakarta: penebar Swadaya. Hal 9-10, 10-11 & 15.
- International Diabetes Federation (IDF). 2012. *Diabetes Atlas 5th Edition*. Belgium: IDF.
- Jung M, Park M, Lee HC, Kang Y-H, Kang ES, And Kim SK. 2006 . Antidiabetic Agents from Medical Plants. *Current Medicinal Chemistry*. 13. Hlm 1203-1218.
- Kalivanam KN, Dharmalingram M, Marcus SR. Lipid peroxidation in type 2 diabetes mellitus. *Int J Diab Dev Ctries* 2006;26:30-2
- Katzung BG. 2010. *Farmakologi Dasar dan Klinik*. Edisi ke-10. Nugroho AW, Rendy L, Dwijayanthi L, penerjemah; Nirmala WK, editor. Jakarta: ECG. Terjemahan dari: *Basic and Clinical Pharmacology*.

- Ketaren S. 1986. *Pengantar Teknologi Minyak dan Lemak Pangan*. Jakarta: UI Press. Hlm 125.
- Khelifi S, Hachmini Y, Khalil A, Safi N, Abbouyi A. 2005. In vitro antioxidant effect of *Globularia alypum* L. Hy drometanolic extract. *Indian J Pharmacol* 37(4). hlm 227-231.
- Khomsan A. 2009. *Rahasia Sehat dengan Makanan Berkhasiat*. Jakarta: Kompas Media Nusantara. 12.
- Kowluru RA, Tang J, Kern TS. 2001. Abnormalities of retinal metabolism in diabetes and experiment galactosemia. *Diabetes*;50:1938-42.
- Kunyunga CN, Imungi JK, Okoth M, Momanyi, C. Biesalski HK and Vadivel V. 2011. Antioxidant and Antidiabetic Properties of Condensed Tannins in Acetonic Extract of Selected Raw and Processed Indigenous Food Ingredients from Kenya. *Journal of Food Science* Vol. 76 Issue 4.
- Haffner SM. 1999. The importance of hyperglycemia in the non fasting state to the development cardiovascular state. *Endocrine Review*;19(5):583-92.
- Ledoux SP, Hall CR, Forbes PM, Patton NJ, & Wilson GL. 1988. Mechanism of nicotinamide and thymidine protection from alloxan and streptozotocin toxicity. *Diabetes* 37(8): 1015-9
- Lee S, Lin H, Chen C. 2008. Acylated Flavonol monorhamnosides, α -glucosidase inhibitors, from *Machilus philippinensis*. *Phytochemistry*. 69;2347-2353.
- Lenzen. 2008. The Mechanism of alloxan and streptozotocin-induced diabetes. *Diabetologis* 51:216-226.
- Linghuat L. R. 2008. *Uji Efek Ekstrak Etanol Biji Mahoni (Swietenia mahagoni,jagz) terhadap Penurunan Kadar Gula Darah Tikus Putih [Skripsi]*. Medan:Fakultas Farmasi, Universitas Sumatera Utara.
- Mansjoer A, Triyanti K, Savitri R, Wardhani WI, Setiowulan W, (Ed.). 2001. *Kapita Selekta Kedokteran*. Edisi III. Jilid pertama. Jakarta: Media Aesculapius FKUI. Hal 580-587.
- Martindale. *The Extra Pharmacopoeia*, 29th ed, (Pharmaceutical Press 1989), p. 649.
- 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.

- Moron UM, Cortazar IC. 2012. Protection Against Oxidative Stress and “IGF-I Deficiency Conditions”. *Intech 1* : 89-116.
- Myeck MJ, Richard AH, Chmpe PC, Fisher BD. 2001. Farmakologi Ulasan Bergambar. Edisi ke 2. Jakarta: Widya medika. Hlm 260-261.
- Nishimura CY. 1998. Aldose reductase in glucose toxicity: A potential targets for the prevention of diabetic complications. *Pharmacological reviews*. 50(1):21-33.
- Niwa T, Katsuzaki T, Miyazaki S. 1997. Immunohistochemical detection of imidazolone, a novel advance glycation end product, in kidney and aortas of diabetic patients. *J Clin Invest*;99(6):1272-80.
- 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 patiens with non-insulin dependent diabetes mellitus. *Q J Med*; 92:33-8.
- Oldfield MD, Bach LA, Forbes JM. 2001. Advance glycation end products cause epithelial-myofibroblast transdifferentiation via the receptor for advance glycation end products (RAGE). *J Clin Invest*; 108:1853-63.
- Ozartan Nuray. 2013. The effect of yucca schidigera on blod glucose and lipid levels in diabetic rats. *African Journal of Biochemistry Research*. 7;179-183.
- Panovska TK, Kulevanova S, Stefova. 2005. In Vitro Antioxidant Activity of Some Teucrium Spesies (*Lamiaceae*). *Acta Pharm*. 55:207-214.
- Papalia DE, Olds SW, Feldman RD. Human development. 10th ed (New York): McGraw-Hill. 2005
- 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.
- Rahbani-Nobar ME, Rahimi-Pour A, 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(4):109-14.
- Redha A. 2010. Flavonoid: Struktur, Sifat Antioksidatif Dan Peranannya Dalam Sistem Biologis. *Jurnal Belian* Vol. 9 No. 2: 196 – 202.

- Robbins, Vinay K, Ramzi S, Cotran, Stanley. 2007. *Buku Ajar Patologi* Edisi 7. Jakarta:EGC Hal. 723-725.
- Sarker SD, Latif Z, Gray AI. 2006. *Natural Product Isolation*. Ed ke-2. Humana Press. Hlm 30-32, 340-342.
- Sauriasari R. 2006. *Mengenal dan Menangkal Radikal Bebas*. <http://www.chemis-try.org>
- Selawa W, Runtuwene MRJ, Citraningtyas G. 2013. Kandungan Flavonoid dan Kapasitas Antioksidan Total Ekstrak etanol Daun Binahong (*Anredera cordifolia* (Tenore) Steenis). *Jurnal Ilmiah Farmasi –UNSRAT* Vol. 2 No. 01.
- Setiawan B, Suhartono E. 2005. Stres oksidatif dan peran antioksidan pada diabetes melitus. *Majalah kedokteran Indonesia* 55(2): 86-91.
- Schnedl WJ, Ferber S, Johnson JH, & Newgard CB. 1994. STZ transport and cytotoxicity. Specific enhancement in GLUT2-expressing cells. *Diabetes* 35: 866-872.
- 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.
- Shoda H, Miyata S, Liu HF. 1997. Inhibitory effect of tenilsetain on the Maillard reaction. *Endocrinology*. 138(5): 1886-92.
- Simanjuntak D, Sudaryati E. 1998. Aspek pencegahan radikal bebas melalui antioksidan. *Majalah kedokteran Indonesia*;48(1):50-4.
- Sitorus, P. 2015. Characterization Simplisia and Ethanolic of Pirodt (*Saurauia Vulcani*, Kotrh) Leaves and Study of Antidiabetic Effect in Alloxan Induced Diabetic Mice. *International Journal of ChemTech Research* 8 (6):789-794.
- Smith JB, Mangkoewidjojo S. 1988. *Pemeliharaan, Pembiakan dan Penggunaan Hewan Percobaan di Daerah Tropis*. Jakarta: UI Press. hlm 37-38.
- Steenis, CGGJ van. 1992. *Flora, untuk sekolah di Indonesia*. Pradnya Paramita, Jakarta.
- Suarsana IN, Utama IH, Agung IG, Suartini A. 2011. Pengaruh hiperglikemia dan Vitamin E pada Kadar Malondialdehida dan Enzim Antioksidan. *MKB*. 43(2): 102-113

- Suarsana IN, Wresdiyati T, Suprayogi A. 2013. Respons Stress Oksidatif dan Pemberian Isoflavon Terhadap Aktivitas Enzim Superoksida Dismutase dan Perosidasi Lipid pada Hati Tikus. *JITV*. 18(2): 146-152.
- Sudarmadji S, Haryono B, Suhardi. 1997. *Prosedur Analisa untuk Bahan Makanan dan Pertanian*. Yogyakarta: Liberty. Hal 99-100.
- Sudoyo AW, Setiyohadi B, Alwi I, Simadibrata M, Setiadi S, editor. 2006. *Buku Ajar Penyakit Dalam*. Jilid 3 Edisi IV. Jakarta: Pusat Penerbitan Departemen Ilmu Penyakit Dalam FKUI. Hal 1852-1893
- Suharto M, Pratama A, Jaya EH, Dumanauw JM. 2012. Isolasi an identifikasi senyawa saponin dari ekstrak metanol batang pisang ambon (*Musa paradisiaca* var. *Spientum* L.). *Pharmacon* 1(2): 89
- Sujono TA, Sutrisna EM. 2010. Pengaruh lama perlakuan flavonoid rutin terhadap efek hipoglikemik tolbutamid pada tikus jantan yang diinduksi aloksan. *Jurnal penelitian sains dan teknologi*, 11(2):46-58.
- Sukandar EY, Andrajati R, Sigit JI, Adnyana IK, Setiadi AAP, Kusnandar. 2008 *ISO Farmakoterapi*. Jakarta: PT. ISFI Penerbitan. Hlm 26-36
- Sustrani L, Alam S, Hadibroto I. 2006. *Diabetes: Informasi Lengkap untuk Penderita dan Keluarganya*. Jakarta: PT. Gramedia pustaka utama
- Szkudelski T. 2001. The Mechanism of alloxan and streptozotocin action in β cells of the rats pankreas, *Physiology Research*, 50: 536-54
- Tjay H dan Rahardja K. 2002. *Obat-obat Penting, Khasiat Penggunaan dan Efek-efek Sampingnya*. Edisi ke-5 Jakarta : PT Alex Media Komputindo hlm 690-713.
- 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.
- Velayutham R, Sankaradoss N, Nazeer A. 2012. Protective effect of tannins from *ficus racemosa* in hypercholesterolemia and diabetes induced vascular tissue damage in rats. *Asian Pasific Journal of Tropical Medicin* 367-373
- Voight R. 1994. *Buku Pelajaran Teknologi Farmasi*. Edisi ke-5. Yogyakarta: Universitas Gajah Mada. Hlm 4-10, 560-564, 568, 570.
- Wagner H, Bland S. 1996. *Plant Drug Analysis: A Thin Layer Chromatography Atlas*. 2nd Edition. Berlin Heidelberg: Springer.

- Widodo A. 2013. Uji Aktivitas Antioksidan Fraksi Air, Fraksi etil Asetat, Fraksi Kloroform, dan Fraksi *n*-heksan Ekstrak Metanol BuahMerah (*Pandanus conoideus Lam*) terhadap Radikal DPPH (*1,1-difenil-2-pikrilhidrazil*) [Skripsi]. Surakarta: Fakultas Farmasi. Universitas Setia Budi.
- Widiowati W. 2008. Potensi antioksidan sebagai antidiabetes. *Jurnal Kedokteran Maranatha* 7(2).
- Widyowati R, Rahman A. 2010. Kandungan kimia dan aktivitas antimikroba ekstrak *garcinia celebica* I terhadap *staphylococcus aureus*, *shigella dysentriae*, dan *candida albicans*. *Majalah Farmasi Airlangga* 8(2):23
- Winarsi H. 2007. *Antioksidan Alami dan Radikal Bebas*. Yogyakarta: Kanisius. Hal 18-20.
- Yuriska F, Anindhita 2009. *Efek Aloksan Terhadap Kadar Glukosa Darah Tikus Wistar*. *Undergraduate thesis*, 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*. Vol. 1:222-228.
- Zada A. 2009. Pengaruh diet rumput laut *eucheuma sp.* terhadap jumlah eritrosit tikus wistar dengan diabetes aloksan [Laporan Akhir Penelitian Karya Tulis Ilmiah]. Semarang: Fakultas Kedokteran, Universitas Diponegoro.
- Zhang Y, Li X, Zou D, Liu W, Zhu N. 2008. Treatment of Tyoe 2 Diabetes and Dyslipidemia with the Natural Plant Alkaloid Berberine. *Phytochemistry*. 2340-2346.

LAMPIRAN

Lampiran 1. Tanaman rambusa



Lampiran 2. Identifikasi tanaman rambusa



KEMENTERIAN RISET, TEKNOLOGI DAN PENDIDIKAN TINGGI
UNIVERSITAS SEBELAS MARET
FAKULTAS MATEMATIKA DAN ILMU PENGETAHUAN ALAM
LAB. PROGRAM STUDI BIOLOGI

Jl. Ir. Sutarni 36A, Kentingan Surakarta 57126 Telp. (0271) 663375 Fax (0271) 663375
http://www.biology.mipa.uns.ac.id, E-mail: biologi@mpa.uns.ac.id

Nomor : 193/UN27.9.6.4/1.ab/2016
Hal : Hasil Determinasi Tumbuhan
Lampiran : -

Nama Pemesan : Marwin
NIM : 19133939A
Alamat : Program Studi S1 Farmasi Fakultas Farmasi Universitas Setia Budi Surakarta

HASIL DETERMINASI TUMBUHAN

Nama Sampel : *Passiflora foetida* L.
Familla : Passifloraceae

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-21a 73. Passifloraceae
1b 2. *Passiflora*
1a-2b-3a-4b *Passiflora foetida* L.

Deskripsi Tumbuhan :

Habitus : liana, semusim, merambat, panjang tanaman 1.5-5 m. Akar : tunggang, bercabang, putih kotor atau putih kekuningan hingga coklat kekuningan. Batang : batang menjalar atau merambat, tidak berkayu, berbentuk bulat, permukaan batang berambut panjang dan jarang, berwarna hijau, berbau tidak enak; alat pembelit duduk pada batang. Daun : tunggal, terletak berseling, helaian berbentuk bulat telur memanjang hingga memanjang, selalu bertaju atau berlekuk 3, panjang 4.5-14 cm, lebar 3.5-13 cm, ujung meruncing pendek, tepi daun rata atau bergigi tidak dalam, pangkal daun berlekuk seperti jantung, permukaan atas daun mengkilat dan berwarna hijau tua, permukaan daun berambut panjang, permukaan atas hijau tua, permukaan bawah hijau muda; tangkai daun berambut panjang, bulat, panjang 2-10 cm, hijau; daun penumpu berbagi dalam, taju berbentuk benang dengan ujung membesar. Bunga : tunggal, berdiri sendiri atau berpasangan menjadi satu; panjang tangkai bunga 1.5-7 cm, berambut panjang; daun pembantu (involokrum) 3, panjang 1-3 cm, berbagi menyirip dengan taju berbentuk benang; telapak kelopak bunga berbentuk lonceng lebar, taju sisi dalam putih; daun mahkota bunga memanjang, panjang 1.5-2.5 cm, putih cerah; mahkota bunga tambahan (corona) ada; benang sari banyak, tangkai sari melekat; pendukung putik tingginya 6-8 mm; tangkai putik 3, berbentuk gada. Buah : buni, bulat memanjang, panjang 1.5-2 cm, dibungkus oleh daun pembalut, hijau ketika muda, oranye ketika masak. Biji : kecil, banyak, bentuk memanjang, berwarna putih kehijauan ketika muda dan hitam ketika masak.

Surakarta, 23 Desember 2016

Peranggungjawab
Determinasi Tumbuhan

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



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

Lampiran 3. Etical Clearnce

**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 :185 / III/ HREC /2017

The Health Research Ethics Committee Dr. Moewardi General Hospital / School of Medicine Sebelas Maret University Of Surakarta

Komisi Etik Penelitian Kesehatan RSUD Dr. Moewardi / Fakultas Kedokteran Universitas Sebelas Maret Surakarta

after reviewing the proposal design, herewith to certify

setelah menilai rancangan penelitian yang diusulkan, dengan ini menyatakan

That the research proposal with topic :

Bahwa usulan penelitian dengan judul

PENGARUH EKSTRAK ETANOL DAUN RAMBUSA (*Passiflora foetida* L.) TERHADAP KADAR GLUKOSA DARAH DAN KADAR MALONDIALDEHID PADA TIKUS DIABETES*Principal investigator* : Marwin
Peneliti Utama 19133939A*Location of research* : Lab. Pusat Studi Pangan Dan Gizi
Lokasi Tempat Penelitian Universitas Gadjah Mada Yogyakarta**Is ethically approved**
Dinyatakan laik etik

Issued on : 10 Maret 2017

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

Lampiran 4. Hasil perhitungan rendemen serbuk daun rambusa

Simplisia	Berat basah (kg)	Berat kering (kg)	Rendemen (%)
Daun rambusa	10	1,6	16

Perhitungan rendemen

$$\text{Rendemen} = \frac{\text{berat kering serbuk}}{\text{berat basah serbuk}} \times 100\%$$

$$\text{Rendemen} = \frac{1,6 \text{ kg}}{10 \text{ kg}} \times 100\%$$

$$= 16 \%$$

Lampiran 5. Hasil perhitungan kadar air serbuk rambusa

Berat basah (gr)	Kadar (%)
20,0	6
20,0	6
20,0	5
Rata-rata	5,67

$$\text{Persen kadar air} = \frac{\text{air (ml)}}{\text{berat serbuk (g)}} \times 100\%$$

Serbuk daun rambusa

- replikasi 1 = $\frac{1,2 \text{ ml}}{20 \text{ g}} \times 100 \% = 6 \%$
- replikasi 2 = $\frac{1,2 \text{ ml}}{20 \text{ g}} \times 100 \% = 6 \%$
- replikasi 2 = $\frac{1 \text{ ml}}{20 \text{ g}} \times 100 \% = 5 \%$

Rata rata kadar air serbuk

$$\text{Rata-rata \%kadar air} = \frac{\text{total \%kadar air}}{3}$$

$$\text{Rata rata \% kadar air} = \frac{6+6+5}{3} = 5,67\%$$

Lampiran 6. Rendemen ekstrak daun rambusa

Berat serbuk (gram)	Berat ekstrak (gram)	Rendemen (%)
500	72,57	14,51

Perhitungan rendemen

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

$$\text{Rendemen} = \frac{72,57 \text{ g}}{500 \text{ g}} \times 100\%$$

$$= 14,51 \%$$

Lampiran 7. Hasil identifikasi kimia serbuk dan ekstrak daun rambusa

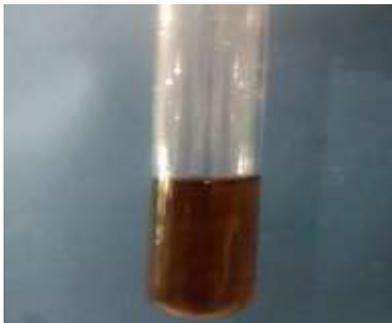
- **Serbuk daun rambusa**



Flavonoid



Saponin



Tanin

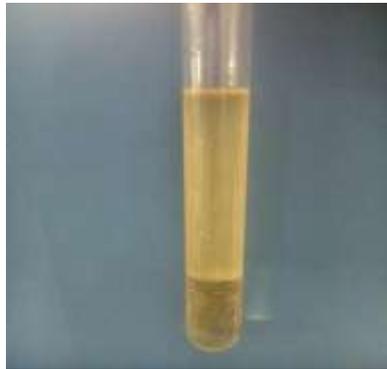


Steroid

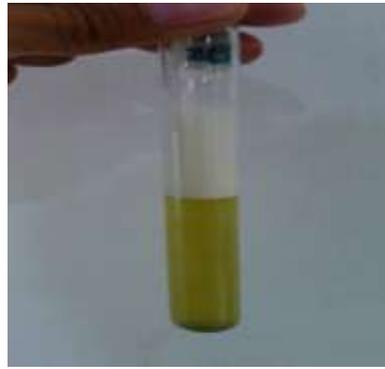


Alkaloid

- **Ekstrak daun rambusa**



Flavonoid



Saponin



Tanin

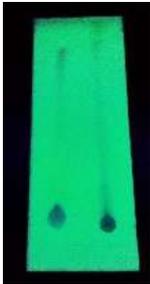
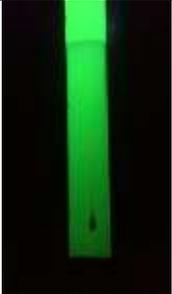


Steroid



Alkaloid

Lampiran 8. Hasil identifikasi KLT ekstrak daun rambusa

Senyawa	Fase gerak	Hasil		
		UV 254	UV 366	Sinar tampak
Flavonoid	n-butanol: CH ₃ COOH : air (100: 13,5: 10)			
Tanin	Etil asetat: asam formiat: kloroform (9: 0,5: 0,5)			
Saponin	Kloroform: metanol: air (64: 50: 10)			
Alkaloid	Toluen: etil asetat: dietilamin (70: 20: 10)			
Steroid	N-heksan : etil asetat (93 :1,5)			

Lampiran 9. Foto Serbuk dan Ekstrak daun rambusa



Ekstrak daun rambusa



Serbuk daun rambusa

Lampiran 10. Perhitungan dosis

1. Induksi aloksan

Induksi aloksan menggunakan dosis 150 mg/1000 kg BB

$$\text{dosis aloksan} = \frac{150 \text{ mg}}{1000 \text{ mg}} \times \text{berat badan tikus (gram)}$$

$$\text{contoh :dosis aloksan} = \frac{150 \text{ mg}}{1000 \text{ mg}} \times 200 \text{ mg} = 30 \text{ mg}$$

Dosis aloksan yang digunakan pada tikus dengan berat badan 200 mg/kg bb tikus adalah 30 mg dilarutkan dengan NaCl fisiologis sampai 1 ml.

2. Glibenklamid

Untuk glibenklamid 5 mg konversi dosis dari manusia dengan berat badan 70 kg terhadap tikus dengan berat badan 200 gram = 0,018

$$\text{Pemakaian untuk 1 hari} = 1 \times 5 \text{ mg} = 5 \text{ mg}$$

$$\begin{aligned} \text{Dosis tikus} &= 0,018 \times 5 \text{ mg}/200 \text{ g bb} \\ &= 0,09 \text{ mg}/200 \text{ g bb} \end{aligned}$$

$$\begin{aligned} \text{Larutan stok 0,009\%} &= 0,009 \text{ g}/100 \text{ ml} \\ &= 9 \text{ mg}/100 \text{ ml} \\ &= 0,09 \text{ mg/ml} \end{aligned}$$

3. Larutan CMC

Larutan stok CMC 0,5 %

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

Volume pemberian untuk tikus yang memiliki berat 200 gram dengan larutan CMC 0,5 % adalah 1 ml.

4. Dosis ekstrak daun rambusa 100 mg/kg bb tikus

$$\text{Faktor konversi ke tikus} = 56$$

$$\text{Dosis tikus} = 100 \text{ mg/kg bb} = 20 \text{ mg}/200 \text{ gram bb tikus}$$

$$\text{Dosis ekstrak ke manusia} = \text{Dosis tikus} \times \text{faktor konversi tikus ke manusia}$$

$$\begin{aligned}
 &= (20 \text{ mg}/200 \text{ gram bb tikus}) \times 56 \\
 &= 1.120 \text{ mg}/70 \text{ g bb manusia} \\
 &= \mathbf{1,1 \text{ gram}/70 \text{ g bb manusia}}
 \end{aligned}$$

Perhitungan dosis ekstrak berdasarkan berat badan dosis 80 mg

$$\begin{aligned}
 \text{Rumus perhitungan dosis ekstrak} &= \text{bb}/1000 \times \text{dosis } 100 \text{ mg} \\
 \text{contoh} &= 200 \text{ gram}/1000 \times 100 \text{ mg} \\
 &= 20 \text{ mg}/200 \text{ gram bb tikus}
 \end{aligned}$$

5. Dosis ekstrak daun rambusa 200 mg/kg bb tikus

$$\begin{aligned}
 \text{Dosis tikus} &= 200 \text{ mg/kg bb} = 40 \text{ mg}/200 \text{ gram bb tikus} \\
 \text{Dosis ekstrak ke manusia} &= \text{Dosis tikus} \times \text{faktor konversi tikus ke manusia} \\
 &= (40 \text{ mg}/200 \text{ gram bb tikus}) \times 56 \\
 &= 2240 \text{ mg}/70 \text{ kg bb manusia} \\
 &= \mathbf{2,2 \text{ gram}/70 \text{ kg bb manusia}}
 \end{aligned}$$

Perhitungan dosis ekstrak berdasarkan berat badan dosis 160 mg

$$\begin{aligned}
 \text{Rumus perhitungan dosis ekstrak} &= \text{bb}/1000 \times \text{dosis } 200 \text{ mg} \\
 \text{contoh} &= 200 \text{ gram}/1000 \times 200 \text{ mg} \\
 &= 40 \text{ mg}/200 \text{ gram bb tikus}
 \end{aligned}$$

6. Dosis ekstrak daun rambusa 400 mg/kg bb tikus

$$\begin{aligned}
 \text{Faktor konversi ke tikus} &= 56 \\
 \text{Dosis tikus} &= 400 \text{ mg/kg bb} = 80 \text{ mg}/200 \text{ gram bb tikus} \\
 \text{Dosis ekstrak ke manusia} &= \text{Dosis tikus} \times \text{faktor konversi tikus ke manusia} \\
 &= (80 \text{ mg}/200 \text{ gram bb tikus}) \times 56 \\
 &= 4480 \text{ mg}/70 \text{ kg bb manusia} \\
 &= \mathbf{4,5 \text{ gram}/70 \text{ kg bb manusia}}
 \end{aligned}$$

Perhitungan dosis ekstrak berdasarkan berat badan dosis 160 mg

$$\begin{aligned}
 \text{Rumus perhitungan dosis ekstrak} &= \text{bb}/1000 \times \text{dosis } 400 \text{ mg} \\
 \text{contoh} &= 200 \text{ gram}/1000 \times 400 \text{ mg} \\
 &= 80 \text{ mg}/200 \text{ gram bb tikus}
 \end{aligned}$$

Lampiran 11. Berat badan hewan uji

No	Kode	31-Jan-17	07-Feb-17	10-Feb-17	17-Feb-17	25-Feb-17
		BB gram				
1	K.1	150	154	160	168	177
2	K.2	154	160	165	172	180
3	K.3	151	156	163	170	178
4	K.4	191	195	199	207	213
5	K.5	158	163	169	178	187
6	K (-).1	164	169	164	161	157
7	K (-).2	187	193	189	184	180
8	K (-).3	202	208	202	198	195
9	K (-).4	187	192	189	186	183
10	K (-).5	175	179	175	172	169
11	K (+).1	171	176	171	175	183
12	K (+).2	156	160	155	160	169
13	K (+).3	156	161	158	164	172
14	K (+).4	154	160	156	161	168
15	K (+).5	170	175	171	177	183
16	M1.1	161	166	163	167	173
17	M1.2	153	157	154	157	162
18	M1.3	160	164	161	166	170
19	M1.4	153	159	156	160	166
20	M1.5	150	155	150	154	160
21	M2.1	182	187	182	187	194
22	M2.2	162	166	164	170	178
23	M2.3	157	161	157	162	169
24	M2.4	162	167	163	169	177
25	M2.5	160	165	160	164	173
26	M3.1	163	168	164	171	180
27	M3.2	154	160	157	164	174
28	M3.3	201	206	202	209	218
29	M3.4	167	171	168	173	183
30	M3.5	158	163	160	166	176

Lampiran 12. Kadar glukosa darah hewan uji T0, T1 dan T2

No	Kode	Abs	T0 Glukosa mg/dl	Abs	T1 Glukosa mg/dl	Abs	T2 Glukosa mg/dl
1	K.1	0.169	64.02	0.175	64.34	0.170	66.15
2	K.2	0.166	62.88	0.174	63.97	0.167	64.98
3	K.3	0.165	62.50	0.171	62.87	0.164	63.81
4	K.4	0.162	61.36	0.169	62.13	0.166	64.59
5	K.5	0.164	62.12	0.174	63.97	0.169	65.76
6	K (-).1	0.172	65.15	0.550	202.21	0.543	211.28
7	K (-).2	0.165	62.50	0.556	204.41	0.537	208.95
8	K (-).3	0.162	61.36	0.547	201.10	0.520	202.33
9	K (-).4	0.169	64.02	0.549	201.84	0.527	205.06
10	K (-).5	0.172	65.15	0.547	201.10	0.530	206.23
11	K (+).1	0.168	63.64	0.548	201.47	0.231	89.88
12	K (+).2	0.173	65.53	0.549	201.84	0.229	89.11
13	K (+).3	0.168	63.64	0.547	201.10	0.217	84.44
14	K (+).4	0.172	65.15	0.550	202.21	0.237	92.22
15	K (+).5	0.164	62.12	0.552	202.94	0.224	87.16
16	M1.1	0.180	68.18	0.545	200.37	0.351	136.58
17	M1.2	0.184	69.70	0.549	201.84	0.356	138.52
18	M1.3	0.188	71.21	0.560	205.88	0.349	135.80
19	M1.4	0.179	67.80	0.561	206.25	0.354	137.74
20	M1.5	0.185	70.08	0.557	204.78	0.359	139.69
21	M2.1	0.190	71.97	0.549	201.84	0.269	104.67
22	M2.2	0.186	70.45	0.552	202.94	0.283	110.12
23	M2.3	0.182	68.94	0.551	202.57	0.277	107.78
24	M2.4	0.180	68.18	0.556	204.41	0.280	108.95
25	M2.5	0.179	67.80	0.548	201.47	0.270	105.06
26	M3.1	0.181	68.56	0.547	201.10	0.232	90.27
27	M3.2	0.177	67.05	0.553	203.31	0.237	92.22
28	M3.3	0.186	70.45	0.548	201.47	0.240	93.39
29	M3.4	0.182	68.94	0.549	201.84	0.235	91.44
30	M3.5	0.188	71.21	0.545	200.37	0.238	92.61
	Standart	0.264		0.272		0.257	

Lampiran 13. Perasmaan regresi linier dan kurva baku tetraetoksipropana (TEP)

Konsentrasi (nmol/ml)	absorbansi
0	0,019
375	0,049
750	0,077
1500	0,152
3000	0,263

$$a = 0,0193750$$

$$b = 0,0000823$$

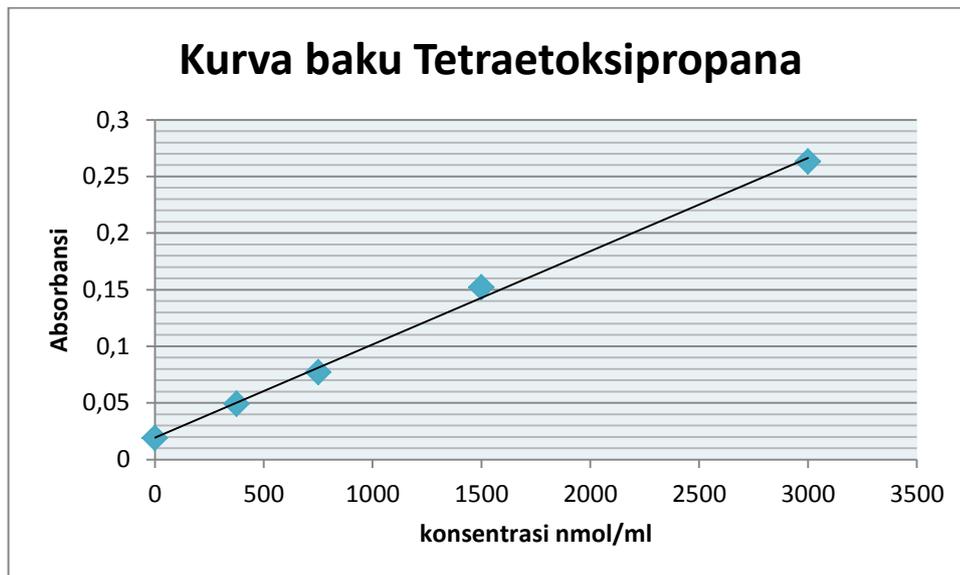
$$r = 0,998516$$

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

$$= y = 0,0193759 + 0,0000823x$$

X = kadar malondialdehid (MDA)

Y = absorbansi



Lampiran 14. Kadar MDA hewan uji

No	Kode	Abs	MDA nmol/g
1	K.1	0.021	1.08
2	K.2	0.024	1.23
3	K.3	0.022	1.13
4	K.4	0.020	1.03
5	K.5	0.023	1.18
6	K (-).1	0.157	8.10
7	K (-).2	0.160	8.25
8	K (-).3	0.156	8.05
9	K (-).4	0.155	8.00
10	K (-).5	0.162	8.36
11	K (+).1	0.033	1.70
12	K (+).2	0.036	1.85
13	K (+).3	0.042	2.16
14	K (+).4	0.029	1.49
15	K (+).5	0.030	1.54
16	M1.1	0.070	3.61
17	M1.2	0.074	3.82
18	M1.3	0.071	3.66
19	M1.4	0.072	3.71
20	M1.5	0.077	3.97
			3.75
21	M2.1	0.053	2.73
22	M2.2	0.056	2.89
23	M2.3	0.051	2.63
24	M2.4	0.057	2.94
25	M2.5	0.050	2.58
26	M3.1	0.035	1.80
27	M3.2	0.043	2.22
28	M3.3	0.038	1.96
29	M3.4	0.036	1.85
30	M3.5	0.032	1.65

Lampiran 15. Hasil uji statistik one way anova kadar glukosa darah

Tests of Normality

kelompok	Kolmogorov-Smirnov ^a			Shapiro-Wilk		
	Statistic	df	Sig.	Statistic	df	Sig.
Glukosa Darah Kontrol Normal	.175	5	.200	.974	5	.899
Kontrol Negatif	.162	5	.200	.988	5	.971
Dosis Ekstrak 100 mg/kg BB	.160	5	.200	.982	5	.947
Dosis Ekstrak 200 mg/kg BB	.227	5	.200	.911	5	.473
Dosis Ekstrak 400 mg/kg BB	.178	5	.200	.981	5	.940
Kontrol Positif	.174	5	.200	.988	5	.972

a. Lilliefors Significance Correction

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

Oneway

Test of Homogeneity of Variances

Glukosa Darah

Levene Statistic	df1	df2	Sig.
2.415	5	24	.066

ANOVA

Glukosa Darah

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	63541.582	5	12708.316	2462.575	.000
Within Groups	123.854	24	5.161		
Total	63665.436	29			

Post Hoc Tests

Multiple Comparisons

Glukosa Darah Tukey HSD

(I) kelompok	(J) kelompok	Mean Difference (I-J)	Std. Error	Sig.	95% Confidence Interval	
					Lower Bound	Upper Bound
Kontrol Normal	Kontrol Negatif	-141.71200 ^z	1.43674	.000	-146.1543	-137.2697
	Dosis Ekstrak 100 mg/kg BB	-72.60800 ^z	1.43674	.000	-77.0503	-68.1657
	Dosis Ekstrak 200 mg/kg BB	-42.25800 ^z	1.43674	.000	-46.7003	-37.8157
	Dosis Ekstrak 400 mg/kg BB	-26.92800 ^z	1.43674	.000	-31.3703	-22.4857
	Kontrol Positif	-23.50400 ^z	1.43674	.000	-27.9463	-19.0617
Kontrol Negatif	Kontrol Normal	141.71200 ^z	1.43674	.000	137.2697	146.1543
	Dosis Ekstrak 100 mg/kg BB	69.10400 ^z	1.43674	.000	64.6617	73.5463
	Dosis Ekstrak 200 mg/kg BB	99.45400 ^z	1.43674	.000	95.0117	103.8963
	Dosis Ekstrak 400 mg/kg BB	114.78400 ^z	1.43674	.000	110.3417	119.2263
	Kontrol Positif	118.20800 ^z	1.43674	.000	113.7657	122.6503
Dosis Ekstrak 100 mg/kg BB	Kontrol Normal	72.60800 ^z	1.43674	.000	68.1657	77.0503
	Kontrol Negatif	-69.10400 ^z	1.43674	.000	-73.5463	-64.6617
	Dosis Ekstrak 200 mg/kg BB	30.35000 ^z	1.43674	.000	25.9077	34.7923
	Dosis Ekstrak 400 mg/kg BB	45.68000 ^z	1.43674	.000	41.2377	50.1223
	Kontrol Positif	49.10400 ^z	1.43674	.000	44.6617	53.5463
Dosis Ekstrak 200 mg/kg BB	Kontrol Normal	42.25800 ^z	1.43674	.000	37.8157	46.7003
	Kontrol Negatif	-99.45400 ^z	1.43674	.000	-103.8963	-95.0117
	Dosis Ekstrak 100 mg/kg BB	-30.35000 ^z	1.43674	.000	-34.7923	-25.9077
	Dosis Ekstrak 400 mg/kg BB	15.33000 ^z	1.43674	.000	10.8877	19.7723

	Kontrol Positif	18.75400 [*]	1.43674	.000	14.3117	23.1963
Dosis Ekstrak 400 mg/kg BB	Kontrol Normal	26.92800 [*]	1.43674	.000	22.4857	31.3703
	Kontrol Negatif	-114.78400 [*]	1.43674	.000	-119.2263	-110.3417
	Dosis Ekstrak 100 mg/kg BB	-45.68000 [*]	1.43674	.000	-50.1223	-41.2377
	Dosis Ekstrak 200 mg/kg BB	-15.33000 [*]	1.43674	.000	-19.7723	-10.8877
	Kontrol Positif	3.42400	1.43674	.202	-1.0183	7.8663
Kontrol Positif	Kontrol Normal	23.50400 [*]	1.43674	.000	19.0617	27.9463
	Kontrol Negatif	-118.20800 [*]	1.43674	.000	-122.6503	-113.7657
	Dosis Ekstrak 100 mg/kg BB	-49.10400 [*]	1.43674	.000	-53.5463	-44.6617
	Dosis Ekstrak 200 mg/kg BB	-18.75400 [*]	1.43674	.000	-23.1963	-14.3117
	Dosis Ekstrak 400 mg/kg BB	-3.42400	1.43674	.202	-7.8663	1.0183

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

Homogeneous Subsets

Glukosa Darah

Tukey HSD^a

Kelompok	N	Subset for alpha = 0.05				
		1	2	3	4	5
Kontrol Normal	5	65.0580				
Kontrol Positif	5		88.5620			
Dosis Ekstrak 400 mg/kg BB	5		91.9860			
Dosis Ekstrak 200 mg/kg BB	5			107.3160		
Dosis Ekstrak 100 mg/kg BB	5				137.6660	
Kontrol Negatif	5					206.7700
Sig.		1.000	.202	1.000	1.000	1.000

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 5.000.

Lampiran 16. Hasil uji statistik one way anova persen penurunan glukosa darah

Tests of Normality

kelompok		Kolmogorov-Smirnov ^a			Shapiro-Wilk		
		Statistic	df	Sig.	Statistic	df	Sig.
% Penurunan Kadar Glukosa	kontrol normal	.224	5	.200 [*]	.897	5	.395
	kontrol negatif	.242	5	.200 [*]	.850	5	.195
	Dosis 100 mg/kg BB	.151	5	.200 [*]	.993	5	.988
	Dosis 200 mg/kg BB	.245	5	.200 [*]	.924	5	.557
	Dosis 400 mg/kg BB	.218	5	.200 [*]	.960	5	.807
	kontrol positif	.216	5	.200 [*]	.973	5	.893

a. Lilliefors Significance Correction

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

Oneway

Test of Homogeneity of Variances

% Penurunan Kadar Glukosa

Levene Statistic	df1	df2	Sig.
.987	5	24	.446

ANOVA

% Penurunan Kadar Glukosa

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	18584.372	5	3716.874	2938.539	.000
Within Groups	30.357	24	1.265		
Total	18614.729	29			

Post Hoc Tests

Multiple Comparisons

% Penurunan Kadar Glukosa
Tukey HSD

(I) kelompok	(J) kelompok	Mean Difference (I-J)	Std. Error	Sig.	95% Confidence Interval	
					Lower Bound	Upper Bound
kontrol normal	kontrol negatif	.51600	.71130	.977	-1.6833	2.7153
	Dosis 100 mg/kg BB	-33.99400	.71130	.000	-36.1933	-31.7947
	Dosis 200 mg/kg BB	-49.87600	.71130	.000	-52.0753	-47.6767
	Dosis 400 mg/kg BB	-56.76800	.71130	.000	-58.9673	-54.5687
	kontrol positif	-58.57200	.71130	.000	-60.7713	-56.3727
kontrol negatif	kontrol normal	-.51600	.71130	.977	-2.7153	1.6833
	Dosis 100 mg/kg BB	-34.51000	.71130	.000	-36.7093	-32.3107
	Dosis 200 mg/kg BB	-50.39200	.71130	.000	-52.5913	-48.1927
	Dosis 400 mg/kg BB	-57.28400	.71130	.000	-59.4833	-55.0847
	kontrol positif	-59.08800	.71130	.000	-61.2873	-56.8887
Dosis 100 mg/kg BB	kontrol normal	33.99400	.71130	.000	31.7947	36.1933
	kontrol negatif	34.51000	.71130	.000	32.3107	36.7093
	Dosis 200 mg/kg BB	-15.88200	.71130	.000	-18.0813	-13.6827
	Dosis 400 mg/kg BB	-22.77400	.71130	.000	-24.9733	-20.5747
	kontrol positif	-24.57800	.71130	.000	-26.7773	-22.3787
Dosis 200 mg/kg BB	kontrol normal	49.87600	.71130	.000	47.6767	52.0753
	kontrol negatif	50.39200	.71130	.000	48.1927	52.5913
	Dosis 100 mg/kg BB	15.88200	.71130	.000	13.6827	18.0813
	Dosis 400 mg/kg BB	-6.89200	.71130	.000	-9.0913	-4.6927
	kontrol positif	-8.69600	.71130	.000	-10.8953	-6.4967
Dosis 400 mg/kg BB	kontrol normal	56.76800	.71130	.000	54.5687	58.9673
	kontrol negatif	57.28400	.71130	.000	55.0847	59.4833
	Dosis 100 mg/kg BB	22.77400	.71130	.000	20.5747	24.9733
	Dosis 200 mg/kg BB	6.89200	.71130	.000	4.6927	9.0913
	kontrol positif	-1.80400	.71130	.153	-4.0033	.3953
kontrol positif	kontrol normal	58.57200	.71130	.000	56.3727	60.7713
	kontrol negatif	59.08800	.71130	.000	56.8887	61.2873
	Dosis 100 mg/kg BB	24.57800	.71130	.000	22.3787	26.7773
	Dosis 200 mg/kg BB	8.69600	.71130	.000	6.4967	10.8953
	Dosis 400 mg/kg BB	1.80400	.71130	.153	-.3953	4.0033

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

Homogeneous Subsets

% Penurunan Kadar Glukosa

Tukey HSD^a

Kelompok	N	Subset for alpha = 0.05			
		1	2	3	4
kontrol negatif	5	-3.0460			
kontrol normal	5	-2.5300			
Dosis 100 mg/kg BB	5		31.4640		
Dosis 200 mg/kg BB	5			47.3460	
Dosis 400 mg/kg BB	5				54.2380
kontrol positif	5				56.0420
Sig.		.977	1.000	1.000	.153

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 5.000.

Lampiran 17. Hasil uji statistik one way anova kadar malondialdehid (MDA)

Tests of Normality

kelompok	Kolmogorov-Smirnov ^a			Shapiro-Wilk		
	Statistic	df	Sig.	Statistic	df	Sig.
Kadar MDA Kontrol Normal	.136	5	.200 [*]	.987	5	.967
Kontrol Negatif	.236	5	.200 [*]	.928	5	.584
Dosis Ekstrak 100 mg/kg BB	.220	5	.200 [*]	.936	5	.636
Dosis Ekstrak 200 mg/kg BB	.206	5	.200 [*]	.918	5	.520
Dosis Ekstrak 400 mg/kg BB	.186	5	.200 [*]	.963	5	.831
Kontrol Positif	.179	5	.200 [*]	.926	5	.567

a. Lilliefors Significance Correction

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

Oneway

Test of Homogeneity of Variances

Kadar MDA

Levene Statistic	df1	df2	Sig.
1.407	5	24	.257

ANOVA

Kadar MDA

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	165.563	5	33.113	1033.263	.000
Within Groups	.769	24	.032		
Total	166.332	29			

Post Hoc Tests

Multiple Comparisons

Kadar MDA

Tukey HSD

(I) kelompok	(J) kelompok	Mean Difference (I-J)	Std. Error	Sig.	95% Confidence Interval	
					Lower Bound	Upper Bound
Kontrol Normal	Kontrol Negatif	-7.02200*	.11322	.000	-7.3721	-6.6719
	Dosis Ekstrak 100 mg/kg BB	-2.62400*	.11322	.000	-2.9741	-2.2739
	Dosis Ekstrak 200 mg/kg BB	-1.62400*	.11322	.000	-1.9741	-1.2739
	Dosis Ekstrak 400 mg/kg BB	-.76600*	.11322	.000	-1.1161	-.4159
	Kontrol Positif	-.61800*	.11322	.000	-.9681	-.2679
Kontrol Negatif	Kontrol Normal	7.02200*	.11322	.000	6.6719	7.3721
	Dosis Ekstrak 100 mg/kg BB	4.39800*	.11322	.000	4.0479	4.7481
	Dosis Ekstrak 200 mg/kg BB	5.39800*	.11322	.000	5.0479	5.7481
	Dosis Ekstrak 400 mg/kg BB	6.25600*	.11322	.000	5.9059	6.6061
	Kontrol Positif	6.40400*	.11322	.000	6.0539	6.7541
Dosis Ekstrak 100 mg/kg BB	Kontrol Normal	2.62400*	.11322	.000	2.2739	2.9741
	Kontrol Negatif	-4.39800*	.11322	.000	-4.7481	-4.0479
	Dosis Ekstrak 200 mg/kg BB	1.00000*	.11322	.000	.6499	1.3501
	Dosis Ekstrak 400 mg/kg BB	1.85800*	.11322	.000	1.5079	2.2081
	Kontrol Positif	2.00600*	.11322	.000	1.6559	2.3561
Dosis Ekstrak 200 mg/kg BB	Kontrol Normal	1.62400*	.11322	.000	1.2739	1.9741
	Kontrol Negatif	-5.39800*	.11322	.000	-5.7481	-5.0479
	Dosis Ekstrak 100 mg/kg BB	-1.00000*	.11322	.000	-1.3501	-.6499
	Dosis Ekstrak 400 mg/kg BB	.85800*	.11322	.000	.5079	1.2081
	Kontrol Positif	1.00600*	.11322	.000	.6559	1.3561
Dosis Ekstrak 400 mg/kg BB	Kontrol Normal	.76600*	.11322	.000	.4159	1.1161
	Kontrol Negatif	-6.25600*	.11322	.000	-6.6061	-5.9059
	Dosis Ekstrak 100 mg/kg BB	-1.85800*	.11322	.000	-2.2081	-1.5079
	Dosis Ekstrak 200 mg/kg BB	-.85800*	.11322	.000	-1.2081	-.5079
	Kontrol Positif	.14800*	.11322	.778	-.2021	.4981
Kontrol Positif	Kontrol Normal	.61800*	.11322	.000	.2679	.9681
	Kontrol Negatif	-6.40400*	.11322	.000	-6.7541	-6.0539

Dosis Ekstrak 100 mg/kg BB	-2.00600*	.11322	.000	-2.3561	-1.6559
Dosis Ekstrak 200 mg/kg BB	-1.00600*	.11322	.000	-1.3561	-.6559
Dosis Ekstrak 400 mg/kg BB	-.14800	.11322	.778	-.4981	.2021

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

Homogeneous Subsets

Kadar MDA

Tukey HSD^a

kelompok	N	Subset for alpha = 0.05				
		1	2	3	4	5
Kontrol Normal	5	1.1300				
Kontrol Positif	5		1.7480			
Dosis Ekstrak 400 mg/kg BB	5		1.8960			
Dosis Ekstrak 200 mg/kg BB	5			2.7540		
Dosis Ekstrak 100 mg/kg BB	5				3.7540	
Kontrol Negatif	5					8.1520
Sig.		1.000	.778	1.000	1.000	1.000

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 5.000.

Lampiran 18. Hasil uji statistik correlation antara kadar glukosa darah dan kadar malondialdehid (MDA)

Correlations

Descriptive Statistics

	Mean	Std. Deviation	N
Glukosa Darah	116.2263	46.85467	30
Kadar MDA	3.2390	2.39491	30

Correlations

		Glukosa Darah	Kadar MDA
Glukosa Darah	Pearson Correlation	1	.986**
	Sig. (2-tailed)		.000
	N	30	30
Kadar MDA	Pearson Correlation	.986**	1
	Sig. (2-tailed)	.000	
	N	30	30

** . Correlation is significant at the 0.01 level (2-tailed).

Lampiran 19. Alat dan Bahan

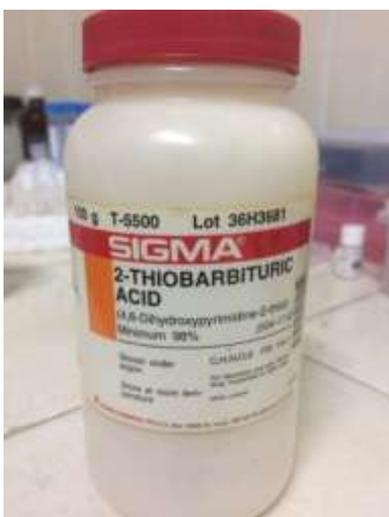
**Sterling-bidwell****Tikus****Evaporator****Hati tikus****Kit assay GOD-PAP****Darah tikus**



Sentrifugase



TEP



TBA



Aloksan