

**PENGARUH PEMBERIAN KOMBINASI EKSTRAK ETANOL DAUN
SALAM (*Eugenia polyantha* W.) DAN DAUN MANGGA ARUMANIS
(*Mangifera indica* L.) TERHADAP KADAR MALONALDEHIDA
(MDA) PADA TIKUS PUTIH JANTAN YANG
DIINDUKSI ALOKSAN**



Oleh :

**Lilik Kartini
19133970A**

**FAKULTAS FARMASI
UNIVERSITAS SETIA BUDI
SURAKARTA
2017**

**PENGARUH PEMBERIAN KOMBINASI EKSTRAK ETANOL DAUN
SALAM (*Eugenia polyantha* W.) DAN DAUN MANGGA ARUMANIS
(*Mangifera indica* L.) TERHADAP KADAR MALONALDEHIDA
(MDA) PADA TIKUS PUTIH JANTAN YANG
DIINDUKSI ALOKSAN**

SKRIPSI

 *Diajukan untuk memenuhi salah satu syarat mencapai
Derajat Sarjana Farmasi (S.Farm)
Program Studi Ilmu Farmasi pada Fakultas Farmasi
Universitas Setia Budi*

Oleh:

**Lilik Kartini
19133970A**

**FAKULTAS FARMASI
UNIVERSITAS SETIA BUDI
SURAKARTA
2017**

PENGESAHAN SKRIPSI

berjudul

**PENGARUH PEMBERIAN KOMBINASI EKSTRAK ETANOL DAUN
SALAM (*Eugenia polyantha* W.) DAN DAUN MANGGA ARUMANIS
(*Mangifera indica* L.) TERHADAP KADAR MALONALDEHIDA
(MDA) PADA TIKUS PUTIH JANTAN YANG
DIINDUKSI ALOKSAN**

Oleh:

**Lilik Kartini
19133970A**

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

Mengetahui,
Fakultas Farmasi
Universitas Setia Budi



Dekan,

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

Pembimbing Utama

Dr. Gunawan Pamudji W MSi., Apt

Pembimbing Pendamping

Vivin Nopiyanti, M.Sc., Apt

Penguji :

1. Tri Wijayanti MPH., Apt

1.....

2. Reslely Harjanti MSc., Apt

2.....

3. Ghani Nurfiana Fadma S M.Farm., Apt 3.....

4. Dr Gunawan Pamudji W MSi., Apt

4.....

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 atau karya ilmiah atau skripsi orang lain, maka saya siap menerima sanksi, baik secara akademis maupun hukum.

Surakarta, April 2017



Lilik Kartini

HALAMAN PERSEMBAHAN

“ Sesungguhnya Allah tidak mengubah keadaan suatu kaum sehingga mereka mengubah keadaan yang ada pada diri mereka sendiri ”

(ar-Ra’d:1)

“Allah akan mengangkat orang-orang yang beriman di antara kalian dan

orang-orang yang berilmu beberapa derajat”

(QS. Al-Mujadilah: 21)

“Keutamaan orang yang berilmu atas orang yang tidak berilmu adalah seperti keutamaan bulan purnama atas semua bintang-bintang.”

(HR A bu Dawud & At Tirmidzi)

Hidup akan terasa indah bila kita selalu bersyukur atas apa yang telah terjadi disetiap hari. Selalu bersyukur dan ikhlas dalam menjalani hidup. Memiliki sebuah impian dalam hidup akan membuat kita berusaha mewujudkannya. Meskipun perjalanan amat panjang dan terasa berat, percayalah semua itu pasti akan terasa manis di suatu hari nanti.

Kupersembahkan karya ini untuk :

Allah SWT yang dengan rahmat dan kasih sayang-Nya

penulis dapat menyelesaikan skripsi ini

Bapak dan Ibuku tercinta terimakasih atas doanya

Adikku yang kusayangi

Sahabat yang menyayangi dan mendukungku

KATA PENGANTAR



Assalamu'alaikum Wr. Wb.

Alhamdulillah, puji syukur penulis panjatkan kepada Allah SWT atas segala nikmat, karunia, rahmat, dan hidayahNya, sehingga penulis dapat menyelesaikan skripsi ini. Shalawat dan salam semoga tetap tercurahkan pada Nabi Muhammad SAW beserta para pengikutnya.

Skripsi ini berjudul **“PENGARUH PEMBERIAN KOMBINASI EKSTRAK ETANOL DAUN SALAM (*Eugenia polyantha* W.) DAN DAUN MANGGA ARUMANIS (*Mangifera indica* L.) TERHADAP KADAR MALONALDEHIDA (MDA) PADA TIKUS PUTIH JANTAN YANG DIINDUKSI ALOKSAN”** yang disusun demi memenuhi sebagian syarat untuk memperoleh derajat Sarjana Farmasi di Universitas Setia Budi, Surakarta. Saya harapkan skripsi ini dapat menambah khasanah ilmu pengetahuan pada umumnya dan pengobatan herbal pada khususnya.

Keberhasilan penyelesaian skripsi ini tidak terlepas dari doa dan dukungan berbagai pihak. Maka pada kesempatan ini penulis ingin menyampaikan rasa terima kasih yang tulus kepada:

1. Allah SWT atas segala bantuan yang diberikan
2. Dr.Ir.Djoni Tarigan, MBA selaku Rektor Universitas Setia Budi Surakarta.
3. Prof. Dr. R.A. Oetari, SU., MM., M.Sc., Apt. selaku Dekan Fakultas Farmasi Universitas Setia Budi.
4. Dr. Gunawan Pamudji W.M.Si.,Apt.,selaku pembimbing utama yang telah memberi dukungan, nasehat, petunjuk dan pengarahan sehingga penyusunan skripsi ini dapat terselesaikan.
5. Vivin Nopiyanti M.Sc.,Apt.,selaku pembimbing pendamping yang telah memberikan bantuan, dorongan, nasehat, bimbingan, dan masukan yang maksimal kepada penulis demi kesempurnaan skripsi ini.
6. Bapak Yuli yang telah membantu dalam penelitian ini

7. Tim penguji yang telah menyediakan waktu untuk menguji dan memberikan masukan untuk penyempurnaan skripsi ini.
8. Kedua orang tuaku Bapak Karmo, Ibu Mulyani, serta adikku Rizky Gumilar tercinta. Terimakasih atas doa, kasih sayang, semangat dan dukungannya sehingga penulis dapat menyelesaikan skripsi ini.
9. Rizka Despianty sebagai partner segala hal terimakasih atas dukungan, bantuan, dan semangatnya.
10. Sahabatku Sejawat farmasi: Afifah, afra, april, erni, hapsari, ita, linda, meliana, mila, nia, uni, dan yuni, serta teman-teman Kost Puteri Desy Ayu, bungki, dewi, dan indah. Teman lainnya di universitas Setia Budi yang khususnya Teori 5 yang telah memberikan semangat dan dukungannya.
11. Segenap pihak yang tidak bisa disebutkan satu demi satu telah membantu penulisan

Akhir kata penulis menyadari bahwa skripsi ini masih jauh dari sempurna dikarenakan keterbatasan pengetahuan dan kemampuan yang penulis miliki. Oleh karena itu, penulis sangat mengharapkan saran dan kritik yang bersifat membangun untuk memperbaiki skripsi ini. Semoga skripsi ini dapat bermanfaat bagi perkembangan ilmu pengetahuan khususnya dibidang farmasi.

Wabillahittaufik walhidayah wassalamu'alaikum Wr. Wb.

Surakarta,2017

Penulis

DAFTAR ISI

	Halaman
HALAMAN JUDUL	i
HALAMAN PENGESAHAN	ii
HALAMAN PERNYATAAN	iii
HALAMAN PERSEMBAHAN	iv
HALAMAN KATA PENGANTAR	v
DAFTAR ISI	vii
DAFTAR GAMBAR	xi
DAFTAR TABEL	xii
DAFTAR LAMPIRAN	xiii
DAFTAR SINGKATAN	xiv
INTISARI	xv
ABSTRACT	xvi
 BAB I. PENDAHULUAN	1
A. Latar Belakang	1
B. Perumusan Masalah	4
C. Tujuan Penelitian	4
D. Kegunaan Penelitian	4
 BAB II. TINJAUAN PUSTAKA	5
A. Tanaman Salam	5
1. Sistematika tanaman	5
2. Nama lain dan nama daerah	5
3. Morfologi tanaman	5
4. Kandungan zat kimia	5
4.1 Flavonoid	6
4.2 Alkaloid	6
4.3 Tanin	6
4.4 Saponin	6
5. Khasiat dan kegunaan tanaman	6
B. Tanaman Mangga	6
1. Sistematika tanaman	6
2. Nama lain dan nama daerah	7
3. Morfologi tanaman	7
4. Kandungan zat kimia	7
4.1 Saponin	7
4.2 Flavonoid	8
4.3 Tanin	8
5. Khasiat dan kegunaan tanaman	8
C. Simplisia	8
1. Pengertian simplisia	8
2. Pengeringan simplisia	8
3. Pengertian ekstraksi	9
4. Metode ekstraksi	9

D. Kombinasi Obat	10
E. Diabetes Mellitus	10
1. Definisi DM.....	10
2. Klasifikasi DM	11
2.1 DM tipe 1.....	11
2.2 DM tipe 2.....	11
2.3 DM gestasional	11
3. Pengelolaan DM	12
3.1 Terapi Non Farmakologi	12
3.1.1 Diet.....	12
3.1.2 Gerak badan	12
3.1.3 Berhenti merokok.....	12
3.2 Insulin	12
3.3 Terapi Farmakologi	13
3.3.1 Pemicu sekresi insulin.....	13
3.3.2 Sensitivitas Insulin	13
3.3.3 Penghambat α glucosidase.....	14
3.3.4 Penghambat dipeptyl peptidase IV.....	14
4. Glibenklamid	14
4.1 Pemerian dan kelarutan	14
4.2 Indikasi dan kontraindikasi.....	14
4.3 Farmakokinetika	15
4.4 Mekanisme kerja	15
4.5 Efek samping	15
4.6 Interaksi obat	15
4.7 Dosis dan aturan pakai.....	15
F. Uji Antidiabetes.....	15
1. Metode uji toleransi glukosa	15
2. Metode uji Na_2EDTA	16
3. Metode uji aloksan	16
4. Metode uji streptozotocin	17
5. Metode uji resistensi insulin.....	17
G. Malonaldehida (MDA)	17
1. Definisi MDA.....	17
2. Pembentukan MDA	17
3. Cara pemeriksaan dan Interpretasi hasil.....	18
4. DM, MDA, dan Stress Oksidatif	18
H. Aloksan	18
I. Hewan Uji	19
1. Sistematika hewan uji.....	19
2. Karakteristik utama hewan uji.....	19
3. Pengambilan organ hewan uji	19
J. Landasan Teori.....	20
K. Hipotesis	21

BAB III. METODE PENELITIAN	22
A. Populasi dan sampel	22
1. Populasi	22
2. Sampel	22
B. Variabel penelitian	22
1. Identifikasi variabel utama.....	22
2. Klasifikasi variabel utama	22
3. Definisi operasional variabel utama	23
C. Alat dan Bahan.....	23
1. Alat	23
2. Bahan	24
2.1 Bahan sampel.....	24
2.2 Bahan kimia.....	24
3. Hewan uji.....	24
D. Jalannya Penelitian	24
1. Determinasi tanaman	24
2. Pengambilan sampel.....	24
3. Pengeringan dan pembuatan serbuk	25
4. Penetapan kadar air.....	25
5. Pembuatan ekstrak.....	25
5.1 Ekstrak etanol daun salam	25
5.2 Ekstrak etanol daun mangga.....	25
6. Identifikasi senyawa kimia daun salam dan mangga	26
6.1 Flavonoid.....	26
6.2 Alkaloid	26
6.3 Tanin.....	26
6.4 Saponin	26
7. Pembuatan larutan	26
7.1 Larutan CMC.....	26
7.2 Larutan Na Fisiologis	26
7.3 Aloksan.....	26
8. Penetapan dosis	27
8.1 Dosis ekstrak etanol daun salam.....	27
8.2 Dosis ekstrak etanol daun mangga	27
8.3 Dosis aloksan.....	27
8.4 Dosis glibenklamid.....	27
8.5 Dosis kombinasi	27
9. Perlakuan hewan uji	27
10. Pemeriksaan kadar MDA	28
11. Analisa statistik	28
BAB IV. HASIL DAN PEMBAHASAN	32
A. Hasil Penelitian	32
1. Hasil determinasi tanaman	32
2. Hasil pengeringan dan pembuatan serbuk.....	32
3. Hasil penetapan kadar air	33

4. Hasil pembuatan ekstrak.....	33
5. Hasil Identifikasi kandungan kimia.....	34
B. Hasil Pemeriksaan Kadar MDA.....	35
 BAB V. KESIMPULAN DAN SARAN	41
A. Kesimpulan	41
B. Saran	41
 DAFTAR PUSTAKA	42
LAMPIRAN.....	47

DAFTAR GAMBAR

	Halaman
Gambar 1. Skema pembuatan ekstrak etanol daun salam dan mangga.....	29
Gambar 2. Skema jalannya penelitian secara sistematis.....	30
Gambar 3. Skema jalannya pengukuran kadar MDA	31
Gambar 4. Diagram kadar MDA.....	38

DAFTAR TABEL

	Halaman
Tabel 1. Hasil pengeringan daun salam dan daun mangga	33
Tabel 2. Hasil penetapan kadar air daun salam dan daun mangga.....	33
Tabel 3. Hasil esktraksi daun salam dan daun mangga.....	34
Tabel 4. Hasil identifikasi serbuk daun salam dan daun mangga	35
Tabel 5. Hasil identifikasi ekstrak daun salam dan daun mangga	35
Tabel 6. Hasil rata-rata pengukuran KGD	37
Tabel 7. Hasil rata-rata kadar MDA hati	38

DAFTAR LAMPIRAN

	Halaman
Lampiran 1. Determinasi tanaman salam.....	47
Lampiran 2. Determinasi tanaman mangga	48
Lampiran 3. Surat keterangan glibenklamid	49
Lampiran 4. Foto tanaman salam	50
Lampiran 5. Foto tanaman mangga.....	51
Lampiran 6. Foto peralatan dan perlengkapan penelitian	52
Lampiran 7. Foto hasil ekstrak daun salam dan daun mangga	54
Lampiran 8. Foto hasil identifikasi serbuk dan ekstrak	55
Lampiran 9. Foto hewan uji dan perlakuan.....	57
Lampiran 10. Foto larutan suspensi	59
Lampiran 11. Perhitungan rendemen serbuk	60
Lampiran 12. Perhitungan rendemen ekstrak.....	61
Lampiran 13. Perhitungan kadar air	62
Lampiran 14. Perhitungan dosis.....	63
Lampiran 15. Perhitungan KGD dan kadar MDA hati	69
Lampiran 16. Analisis data	74

DAFTAR SINGKATAN

ADA	: American Diabetes Association
AL	: Asidosis Laktat
ALE	: Advanced Lipoxidation End Products
AGEs	: Advanced Glycation End Products
BHT	: Butylated Hydroxytoluene
CMC	: Carboksi Metil Cellulose
DM	: Diabetes Mellitus
DNA	: Deoxyribonucleic Acid
DPP	: Dipeptidyl Peptidase-IV
EDTA	: Ethylenediamine Tetracetic Acid
GDM	: Gestasional Diabetes Mellitus
GSH-Px	: Glutathione Peroxidase
GLP-1	: Glucagon Like Peptide-1
GLUC-H	: Glucose Dehydrogenase
HNK	: Hipoosmolar Non Ketotik
IDDM	: Insulin Dependent Diabetes Mellitus
KAD	: Keto Asidosis Diabetik
KGD	: Kadar Glukosa Darah
MDA	: Malonaldehid
NIDDM	: Non Insulin Dependent Diabetes Mellitus
OHO	: Obat Hipoglikemik Oral
PUFA	: Poly Unsaturated Fatty Acid
PKC	: Protein Kinase C
SOD	: Superoksida Dismutase
TZD	: Thiazolidinedione
TBA	: Thiobarbituric Acid
TCA	: Trichloro Acetic Acid
TEP	: 1,1,3,3-Tetraethoxypropane

INTISARI

KARTINI, L. 2017, PENGARUH PEMBERIAN KOMBINASI EKSTRAK ETANOL DAUN SALAM (*Eugenia polyantha* W.) DAN DAUN MANGGA ARUMANIS (*Mangifera indica* L.) TERHADAP KADAR MALONALDEHIDA (MDA) PADA TIKUS PUTIH JANTAN YANG DIINDUKSI ALOKSAN, SKRIPSI, FAKULTAS FARMASI, UNIVERSITAS SETIA BUDI, SURAKARTA.

Stress oksidatif yang terjadi pada DM yang tidak terkontrol dapat menyebabkan peningkatan peroksidasi lipid yang menghasilkan produk akhir yaitu MDA. Antioksidan digunakan untuk menekan stress oksidatif. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui efek kombinasi dan dosis efektif ekstrak daun salam dan daun mangga terhadap kadar MDA hati tikus DM akibat induksi aloksan.

Hewan uji dibagi menjadi 8 kelompok yaitu 3 kelompok kontrol (normal, negatif, positif), 2 kelompok dosis tunggal (salam 91,7 mg/Kg BB dan mangga 147 mg/Kg BB), dan 3 kelompok variasi dosis kombinasi 25% : 75% (22,925 mg/Kg BB : 110,25 mg/Kg BB), 75% : 25% (68,775 mg/Kg BB : 36,75 mg/Kg BB), dan 50% : 50% (45,85 mg/Kg BB : 73,5 mg/Kg BB). Hewan diberi perlakuan selama 14 hari dan pengukuran kadar MDA dilakukan pada hari terakhir menggunakan spektrofotometer λ 532 nm. Data yang diperoleh dianalisis secara statistik dengan uji Anova.

Hasil penelitian dosis kombinasi ekstrak daun salam dan daun mangga 75% : 25% (68,775 mg/Kg BB : 36,75 mg/Kg BB) mempunyai pengaruh penurunan kadar MDA hati sebesar $2,452 \pm 0,118$ nmol/g merupakan dosis yang paling efektif dibandingkan dengan kontrol positif.

Kata kunci: salam (*Eugenia polyantha* W.), mangga (*Mangifera indica* L.), aloksan, diabetes mellitus, kadar malondialdehyde (MDA).

ABSTRACT

KARTINI, L. 2017, THE EFFECT OF THE COMBINATION OF THE ETHANOL EXTRACT OF SALAM (*Eugenia polyantha* W.) AND MANGO (*Mangifera indica* L.) LEAVES AGAINST MALONDIALDEHIDE (MDA) LEVEL IN MALE RATS INDUCED ALLOXAN, UNDERGRADUATE THESIS, FACULTY OF PHARMACY, SETIA BUDI UNIVERSITY, SURAKARTA.

Oxidative stress that occurs in uncontrolled diabetes could lead to increased lipid peroxidation produce a final product that is MDA. Antioxidants were used to suppress oxidative stress. This aim of this study was determine the effect and effective dose of the combination of salam and mango leaves against MDA level in male rats induced by alloxan.

White male rats were divided into eight groups: three groups of controls (normal, negative, positive), two groups are single dose (salam leaves 91,7 mg/Kg BW and mango leaves 147 mg/Kg BW), and three groups of variations in dose combination

25% : 75% (22,925 mg/Kg BW : 110,25 mg/Kg BW), 75% : 25% (68,775 mg/Kg BW : 36,75 mg/Kg BW), and 50% : 50% (45,85 mg/Kg BW : 73,5 mg/ Kg BW) Rats were treated for 14 days orally and MDA level was measured by spectrophotometer λ 532 nm. MDA levels were statistically analyzed by ANOVA.

The results of research showed that dose combination of salam and mango leaves 75% : 25% (68,775 mg/Kg BW : 36,75 mg/Kg BW) have influence decreased levels of liver MDA of 2.452 ± 0.118 nmol/g being the most effective dose were compared with the positive control group.

Keywords: salam (*Eugenia polyantha* W.), mango (*Mangifera indica* L.), alloxan, diabetes mellitus, level malondialdehyde (MDA)

BAB I

PENDAHULUAN

A. Latar Belakang

Hiperglikemia yang terjadi pada DM menyebabkan autooksidasi glukosa, glikasi protein, dan aktivasi jalur metabolisme poliol yang selanjutnya mempercepat pembentukan senyawa oksigen reaktif. Pembentukan senyawa oksigen reaktif tersebut dapat meningkatkan modifikasi lipid, *deoxyribonucleic acid* (DNA), dan protein pada berbagai jaringan (Ueno 2002). Senyawa oksigen reaktif yang berinteraksi dengan *lipid bilayer* pada membran sel akan menghasilkan peroksidase lipid dan akan membentuk produk akhir yang stabil berupa malonaldehida (MDA) (Mahreen 2010). Modifikasi molekuler pada berbagai jaringan tersebut akan mengakibatkan ketidakseimbangan antara antioksidan protektif (pertahanan antioksidan) dan peningkatan produksi radikal bebas yang berakhir pada kerusakan oksidatif.

Diabetes mellitus merupakan penyakit kronis yang ditandai adanya abnormalitas metabolisme karbohidrat, lipid, protein, dan berkaitan dengan defisiensi insulin (Suryawanshi *et al* 2006). Terdapat 2 tipe diabetes mellitus yaitu: diabetes mellitus yang disebabkan karena tidak adanya insulin dan diabetes mellitus karena tubuh mengalami ketidakpekaan terhadap insulin (Almater *et al* 1991). Diabetes disebabkan oleh diet yang tidak seimbang, diabetes mellitus dapat terjadi akibat adanya stress oksidatif (Hanachi *et al* 2009). Stress oksidatif adalah terjadi karena adanya ketidak seimbangan antara oksidan dan antioksidan yang kemudian berpotensi menimbulkan kerusakan sel (Elgaml & Hashish 2014).

Radikal bebas dapat meningkatkan peroksidasi lipid yang kemudian akan mengalami oksidasi menjadi malonaldehida. Uji MDA dapat digunakan untuk mengukur peroksidasi yang terjadi pada membran lipid. Profil MDA dalam serum berfungsi sebagai sebuah penanda kerusakan seluler akibat radikal bebas (Inoue 2001).

Untuk meredam kerusakan dari stress oksidatif tersebut diperlukan antioksidan. Antioksidan adalah zat yang memperlambat atau menghambat stress

oksidatif. Antioksidan terbagi menjadi antioksidan enzimatis (enzim) dan antioksidan non enzimatis (ekstraseluler). Antioksidan enzimatis antara lain superoksida dismutase (SOD), glutathion peroksidase (GSH-Px), dan katalase. Antioksidan non enzimatis (ekstraseluler) diantaranya adalah vitamin E, vitamin C, beta-karoten, dan senyawa fitokimia (Priyanto 2007).

Senyawa antioksidan dapat diperoleh dalam berbagai tumbuh-tumbuhan. Antioksidan alami dapat dihasilkan dari rempah-rempah, tanaman herbal, sayuran dan buah. Tanaman herbal lebih banyak mempunyai daya aktivitas antioksidan lebih tinggi dibandingkan dengan buah dan sayuran (Hernani & Rahardjo 2005). Senyawa kimia yang tergolong dalam kelompok antioksidan untuk mengurangi reaksi radikal bebas. Senyawa yang tergolong kelompok antioksidan yang ditemukan pada tanaman, antara lain golongan polifenol, flavonoid, vitamin C, vitamin E, dan karotenoid.

Tubuh manusia tidak mempunyai cadangan antioksidan dalam jumlah berlebih, sehingga apabila terbentuk banyak radikal maka tubuh membutuhkan antioksidan eksogen. Adanya kekhawatiran kemungkinan efek samping yang belum diketahui dari antioksidan sintetik menyebabkan antioksidan alami menjadi alternatif yang sangat dibutuhkan. Flavonoid merupakan salah satu dari kelompok senyawa fenolik yang ditemukan dalam buah dan sayur. Senyawa fenolik mempunyai berbagai efek biologis seperti aktivitas antioksidan melalui mekanisme sebagai pereduksi, penangkap radikal bebas, pengkkelat logam, peredam terbentuknya singlet oksigen serta pendonor elektron (Karadeniz *et al* 2005).

Tanaman obat yang digunakan adalah daun salam (*Eugenia polyantha* W). Kandungan kimia yang terdapat dalam daun salam adalah saponin, flavonoid, tanin, alkaloid, dan minyak atsiri. Penelitian yang telah dilakukan terhadap tanaman ini antara lain penelitian uji aktivitas penurunan kadar glukosa darah ekstrak daun *Eugenia polyantha* W pada mencit yang diinduksi aloksan dengan dosis 2,62 mg/20 g BB dan 5,24 mg/20 g BB dapat menurunkan secara kadar glukosa darah mencit jantan yang diinduksi dengan aloksan ($p < 0,05$). Aktivitas antidiabetes dari daun salam diduga karena adanya glikosida flavonoid yang

bertindak sebagai penangkap radikal bebas hidroksil (Herra & Mulya 2005). Menurut penelitian Ita (2013) ekstrak etanol daun salam (*Eugenia polyantha* W) dengan dosis 312,5 mg/kg BB, 625 mg/kg BB dan 1250 mg/kg BB dapat menurunkan kadar glukosa darah terhadap tikus galur wistar yang diinduksi aloksan.

Penelitian terhadap daun salam telah terbukti memiliki aktivitas antioksidan yang telah dilakukan Sulistiyani *et al* (2014) diketahui memiliki aktivitas antioksidan dengan nilai IC₅₀ sebesar 18,84 $\mu\text{g/ml}$ dengan senyawa aktif yang diperoleh adalah flavonoid.

Tanaman lain seperti daun mangga telah dilakukan penelitian menunjukan bahwa daun mangga memiliki kandungan kimia glikosida, glukosa xanthone, saponin, tanin, triterpen, alkaloid dan flavonoid (Sayed *et al* 2011). Penelitian yang telah dilakukan terhadap tanaman ini seperti penelitian uji aktivitas antidiabetes ekstrak etanol daun mangga arumanis (*Mangifera indica* L.) pada mencit dapat memberikan efek penurunan kadar glukosa darah pada dosis 4,2 mg/20 g BB mencit (Ilham *et al* 2015). Penelitian lain adalah aktivitas antihiperglikemia *Mangifera indica* L yang diinduksi aloksan terhadap tikus dengan dosis 300 mg/kg BB dapat memberikan efek hipoglikemik yang signifikan (Venkatalakshmi *et al* 2011). Penelitian lain yaitu infus daun mangga (*Mangifera indica* L.) dengan dosis 36,75 mg/bb mencit memberikan efek hipoglikemik yang lebih baik dibanding dosis 18,37 mg/bb mencit (Andi *et al* 2015).

Penelitian terhadap daun mangga telah terbukti memiliki aktivitas antioksidan yang telah dilakukan Mindiarti (2016) diketahui memiliki aktivitas antioksidan dengan nilai IC₅₀ sebesar 73,32 $\mu\text{g/ml}$ dengan senyawa aktif yang diperoleh adalah flavonoid.

Berdasarkan senyawa aktif dari masing-masing tanaman maka dalam penelitian ini dilakukan kombinasi ekstrak etanol daun salam dan daun mangga untuk mengetahui adanya pengaruh pemberian kombinasi ekstrak daun salam dan daun mangga terhadap kadar malonaldehida (MDA).

B. Perumusan Masalah

Berdasarkan latar belakang, dapat dirumuskan permasalahan sebagai berikut:

Pertama, apakah ada pengaruh pemberian kombinasi ekstrak etanol daun salam dan daun mangga terhadap kadar MDA pada tikus putih jantan yang diinduksi aloksan?

Kedua, berapakah dosis efektif kombinasi ekstrak daun salam dan daun mangga yang dapat menurunkan kadar MDA pada tikus putih jantan yang diinduksi aloksan?

C. Tujuan Penelitian

Pertama, penelitian ini bertujuan untuk mengetahui pengaruh pemberian kombinasi ekstrak etanol daun salam dan daun mangga terhadap kadar MDA pada tikus putih jantan yang diinduksi aloksan.

Kedua, mengetahui dosis efektif kombinasi ekstrak daun salam dan daun mangga yang dapat menurunkan kadar MDA pada tikus putih jantan yang diinduksi aloksan.

D. Manfaat Penelitian

Hasil penelitian ini diharapkan dapat memberikan informasi ilmiah mengenai pengaruh pemberian kombinasi ekstrak daun salam dan daun mangga terhadap kadar MDA pada tikus putih jantan yang diinduksi aloksan, serta memberi informasi dan ilmu tambahan dalam bidang farmasi kepada masyarakat bahwa dalam mengembangkan obat tradisional yang dapat dijadikan pedoman untuk pencegahan maupun pengobatan dalam penyakit diabetes mellitus. Penggunaan tanaman herbal ini diharapkan masyarakat dapat meningkatkan taraf kesehatan serta dapat memelihara dan mengembangkan tanaman herbal asli dari Indonesia.

BAB II

TINJAUAN PUSTAKA

A. Tanaman Salam (*Eugenia polyantha* W.)

1. Sistematika tanaman

Kedudukan tanaman salam dalam sistematika tanaman (Dalimartha 2000):

Divisio : Spermatophyta
Subdivisi : Angiospermae
Klassis : Dicotyledone
Ordo : Myrtales
Familia : Myrtaceae
Genus : Eugenia
Species : *Eugenia polyantha* W.

2. Nama lain dan nama daerah

Sumatra: meselanagan, ubar serai (melayu), Jawa: gowok (sunda), salam (jawa), salam (madura) (Dalimartha 2000).

3. Morfologi tanaman

Pohon, bertajuk rimbun, tinggi sampai 25 m. Daun bila diremas berbau harum, daun majemuk, menyirip genap, permukaan licin, tepi rata, ujung meruncing, pangkal runcing, panjang 10-14 cm, lebar 4-8 cm, panjang tangkai daun kurang lebih 1 cm, pertulangan menyirip, permukaan atas hijau tua, permukaan bawah hijau muda. Perbungaan majemuk, keluar dari ranting, berbau harum. Bunga majemuk, tumbuh di ujung batang, kelopak bunga berbentuk piala dengan diameter 4 mm. Mahkota bunga berwarna putih panjang 2-3 mm, putik panjang 1,5-2 mm, hijau keputih-putihan. Buah buni, bulat, diameter kurang lebih 1,2 cm masih hijau setelah tua coklat kehitaman. Biji bulat, diameter kurang lebih 1 cm, warna coklat dan berakar tunggang berwarna coklat muda (Dalimartha 2002).

4. Kandungan zat kimia

Daun salam mengandung saponin, flavonoid, alkaloid, tanin, dan minyak atsiri (Herra & Mulya 2005)

4.1. Flavonoid. Flavonoid adalah suatu kelompok senyawa fenol yang terbesar ditemukan di alam. Senyawa-senyawa ini merupakan zat warna merah, ungu, biru, dan sebagian zat warna kuning yang ditemukan dalam tumbuhan (Harborne 1987). Flavonoid dapat bersifat antidiabetes karena flavonoid mampu menghambat enzim alfa glukosidase menyebabkan penundaan penyerapan glukosa (Candra 2012).

4.2. Alkaloid. Alkaloid bertindak sebagai tendon, penyimpanan nitrogen, meskipun banyak alkaloid ditimbun dan tidak mengalami metabolisme lebih lanjut. Alkaloid berkhasiat sebagai antidiabetes dengan aktivitas menghambat α -glukoside dan transportasi penurunan glukosa melalui epitel usus (Sigh *et al* 2003).

4.3. Tanin. Senyawa tanin merupakan sejenis kandungan tumbuhan berisi fenol mempunyai rasa sepat dan mempunyai kemampuan menyamak kulit. Tanin biasanya berupa senyawa amorf berwarna coklat kuning yang larut dalam pelarut organik polar, tapi tidak larut dalam pelarut organik non polar seperti benzen dan kloroform. Beberapa tanin mempunyai aktivitas antioksidan, menghambat pertumbuhan tumor dan menghambat enzim serta dapat mendenaturasi protein (Robinson 1995).

4.4. Saponin. Saponin mencegah pengosongan lambung dan mencegah peningkatan uptake glukosa pada brush border intestinal di usus halus yang merupakan penyerap glukosa (Widowati 2008).

5. Khasiat dan kegunaan tanaman

Daun salam digunakan untuk pengobatan: kolesterol tinggi, diabetes mellitus, hipertensi, obat sakit maag, diare, pencernaan, dan lemah lambung (Dalimartha 2000). Dalam penelitian ini daun salam mempunyai kandungan flavonoid yang bersifat antidiabetes.

B. Tanaman Mangga (*Mangifera indica* L.)

1. Sistematika tanaman

Sistematika dari tanaman mangga (*Mangifera indica* L.) adalah sebagai berikut:

Divisio : Spermatophyta
 Subdivisi : Angiospermae
 Kelas : Dicotyledone
 Ordo : Sapindales
 Familia : Anacardiaceae
 Genus : *Mangifera*
 Species : *Mangifera indica* L.

2. Nama lain dan nama daerah

Tumbuhan ini dikenal dengan beberapa nama yaitu Sumatera: mamplam (Aceh), Jawa: mangga (Jawa), Bali: amplem, Sulawesi: Taipa pao (Makasar), Maluku: Maplane (Buru) (Depkes 1994).

3. Morfologi tanaman

Mangga dikenal sebagai tanaman tingkat tinggi. Tanaman ini memiliki batang yang tegak, berkayu, bulat, percabangan sympodial, coklat. Daun tunggal, berseling, lonjong, tepi rata, ujung runcing, pertulangan menyirip, panjang 13-28 cm, lebar 3-8 cm, hijau. Bunga majemuk, berkelamin dua, berambut kelopak lonjong, benang sari dan tangkai putik panjang 2-3 cm, kepala sari bentuk ginjal, putik bentuk segitiga, kuning kemerahan. Buah buni, bulat telur, hijau atau kuning. Biji keras, tebal, kuning muda. Akar tunggang, coklat (Hutapea 1994).

4. Kandungan zat kimia

Studi kimia yang pernah dilakukan menunjukkan bahwa daun manga memiliki kandungan glikosida, glukosa xanthone, saponin, tanin, triterpen, alkaloid dan flavonoid (Sayed *et al* 2011). Aktivitas hipoglikemik pada daun mangga diduga karena adanya kandungan mangifera (Murugunandan 2004).

4.1. Saponin. Saponin adalah suatu glikosida alamiah yang terikat dengan steroid atau triterpena. Saponin mempunyai aktivitas farmakologi yang cukup luas diantaranya meliputi: immunomodulator, anti tumor, anti inflamasi, antivirus, anti jamur, dapat membunuh kerang-kerangan, hipoglikemik, dan efek hipokolesterol. Saponin juga mempunyai sifat bermacam-macam, misalnya: terasa manis, ada

yang pahit, dapat berbentuk buih, dapat menstabilkan emulsi, dapat menyebabkan hemolysis (Robinson 1995).

4.2. Flavonoid adalah suatu kelompok senyawa fenol yang terbesar ditemukan di alam. Senyawa-senyawa ini merupakan zat warna merah, ungu, biru, dan sebagian zat warna kuning yang ditemukan dalam tumbuhan (Harborne 1987). Flavonoid dapat bersifat antidiabetes karena flavonoid mampu menghambat enzim alfa glukosidase menyebabkan penundaan penyerapan glukosa (Candra 2012).

4.3. Tanin. Tanin secara umum didefinisikan sebagai senyawa polifenol yang memiliki berat molekul cukup tinggi (lebih dari 1000) dan dapat membentuk kompleks dengan protein. Berdasarkan strukturnya, tanin dibedakan menjadi dua kelas yaitu tanin terkondensasi dan tanin terhidrolisis (Harborne 1987).

5. Khasiat dan kegunaan tanaman

Daun manga di gunakan untuk pengobatan penyakit ringan seperti asma, batuk, diare, disentri, jaundice, malaria, dan diabetes.

C. Simplisia

1. Pengertian simplisia

Simplisia adalah bahan alami yang belum mengalami perubahan proses apapun, kecuali dinyatakan lain, berupa bahan yang dikeringkan. Simplisia terdiri atas tiga golongan yaitu, simplisia nabati, simplisia hewani, dan simplisia pelican atau mineral. Simplisia nabati adalah simplisia yang dapat berupa tanaman utuh, bagian tanaman, eksudat tanaman, atau gabungan ketiganya. Simplisia hewani adalah simplisia yang berupa hewan utuh atau zat-zat berguna yang dihasilkan oleh hewan dan belum berupa bahan kimia murni. Simplisia pelican atau mineral adalah simplisia berupa bahan pelican atau mineral yang belum diolah atau telah diolah dengan cara sederhana dan tidak berupa bahan kimia murni (Gunawan & Mulyani 2004).

2. Pengeringan simplisia

Pengeringan bertujuan menurunkan kadar air sehingga bahan tersebut tidak mudah ditumbuhi jamur dan bakteri, menghilangkan aktivitas enzim yang

bisa menguraikan lebih lanjut kandungan zat aktif dan memudahkan dalam hal pengelolaan proses selanjutnya. Faktor-faktor yang mempengaruhi proses pengeringan yaitu waktu pengeringan, suhu pengeringan, kelembapan udara dan kelembapan bahan, ketebalan bahan, sirkulasi udara dan luas permukaan bahan (Gunawan & Mulyani 2004).

3. Pengertian ekstraksi

Ekstraksi adalah penarikan zat pokok yang diinginkan dari bahan mentah obat dan menggunakan pelarut yang dipilih dimana zat yang diinginkan larut. Bahan mentah obat yang berasal dari tumbuh-tumbuhan atau hewan tidak perlu diproses lebih lanjut kecuali dikumpulkan atau dikeringkan. Ekstrak mengandung berbagai macam unsur, tergantung pada obat yang digunakan dan kondisi dari ekstraksi (Ansel 1989).

4. Metode ekstraksi

4.1. Maserasi. Maserasi adalah proses pengeskrakan simplisia dengan menggunakan pelarut dengan beberapa kali pengocokan atau pengadukan pada temperatur ruangan (kamar). Maserasi kinetik berarti dilakukan pengadukan yang kontinue (terus-menerus). Remaserasi berarti dilakukan pengulangan penambahan pelarut setelah dilakukan penyaringan maserat pertama dan seterusnya (Linghuat 2008).

4.2. Perkolasi. Perkolasi adalah ekstraksi dengan pelarut yang selalu baru sampai sempurna yang umumnya dilakukan pada temperatur ruangan. Proses ini terdiri dari pengembangan bahan, tahap maserasi antara, tahap perkolasi sebenarnya (penetesan/penampungan ekstrak), terus-menerus sampai diperoleh perkolat yang jumlahnya 1-5 kali bahan (Linghuat 2008).

4.3. Refluks. Refluks adalah ekstraksi dengan pelarut pada temperatur titik didihnya, selama waktu tertentu dan jumlah pelarut terbatas yang relatif konstan dengan adanya pendingin balik. Umumnya dilakukan pengulangan proses pada residu pertama 3-5 kali sehingga dapat termasuk proses ekstraksi sempurna (Linghuat 2008).

4.4. Soxhlet. Soxhlet adalah ekstraksi menggunakan pelarut yang selalu baru yang umumnya dilakukan dengan alat khusus yang sampelnya dibungkus

dengan kertas saring sehingga terjadi ekstraksi kontinu dengan jumlah pelarut relatif konstan dengan adanya pendingin balik (Linghuat 2008).

4.5. Digesti. Digesti adalah maserasi kinetik (dengan pengadukan kontinu) pada temperatur yang lebih tinggi dari temperatur ruangan (kamar), yaitu secara umum dilakukan pada temperatur 40-50°C (Linghuat 2008).

4.6. Infus. Infus adalah ekstraksi dengan pelarut air pada temperatur penangas air (bejana infus tercelup dalam penangas air mendidih, temperatur 96-98°C) selama waktu tertentu (15-20 menit) (Linghuat 2008).

D. Kombinasi Obat

Kombinasi obat adalah campuran dua atau lebih obat dalam satu formulasi, penggunaan dua obat dalam formulasi yang berbeda dan diminum bersama-sama, atau penggunaan dua obat yang diminum dalam waktu yang berbeda tetapi kemudian berada bersama-sama dalam darah. Kombinasi obat dapat menimbulkan interaksi, sehingga kemungkinan terjadi peningkatan atau penurunan efek obat (Siswandono & Soekardjo 2000).

Kombinasi dapat dibagi menjadi tiga, yaitu efek sinergisme, aditif, dan antagonis. Efek sinergisme adalah dua obat atau lebih diberikan bersama-sama, obat yang satu dapat memperkuat terhadap obat yang lain. Efek antagonis adalah dua obat dikombinasi yang mempunyai efek kerja berlawanan. Efek aditif adalah dua obat dengan kerja yang serupa diberikan dari jumlah kedua obat, efeknya dapat menjadi diinginkan atau tidak diinginkan (Joyce & Evelyn 1996).

E. Diabetes Mellitus

1. Definisi DM

Diabetes Mellitus adalah suatu kelompok penyakit metabolik dengan karakteristik hiperglikemia yang terjadi karena kelainan sekresi insulin, gangguan kerja insulin atau keduanya, yang menimbulkan berbagai komplikasi kronik pada mata, ginjal, saraf dan pembuluh darah. Diabetes Mellitus merupakan kumpulan gejala yang timbul pada seseorang yang disebabkan adanya peningkatan kadar gula dalam darah, hal ini diakibatkan karena tubuh memproduksi hormon insulin

dalam kadar yang lebih rendah. Insulin adalah hormon pankreas, zat utama yang bertanggung jawab mempertahankan kadar gula darah yang tepat (Hasdianah 2012).

2. Klasifikasi DM

2.1. Diabetes Mellitus tipe 1. Insulin Dependent Diabetes Mellitus (IDDM) adalah diabetes yang terjadi karena berkurangnya rasio insulin dalam sirkulasi darah akibat hilangnya sel beta penghasil insulin pada pulau pulau langerhans pankreas. IDDM dapat diderita oleh anak-anak maupun dewasa. Sekarang IDDM tidak dapat dicegah dan tidak dapat disembuhkan, bahkan dengan diet maupun olahraga. Penderita tipe 1 memiliki kesehatan dan berat badan yang baik saat penyakit ini mulai dideritanya. Sensitivitas maupun respon tubuh terhadap insulin umumnya normal pada penderita diabetes tipe ini, terutama pada tahap awal (Hasdianah 2012).

2.2. Diabetes Mellitus tipe 2. Non Insulin Dependent Diabetes Mellitus (NIDDM) merupakan tipe diabetes mellitus yang terjadi bukan disebabkan oleh rasio insulin di dalam sirkulasi darah, melainkan merupakan kelainan metabolisme yang disebabkan oleh mutasi pada banyak gen termasuk yang mengekspresikan disfungsi sel β , gangguan sekresi hormon insulin (Hasdianah 2012).

Diabetes tipe 2 ditandai oleh resistensi jaringan terhadap kerja insulin disertai defisiensi relatif pada sekresi insulin. Individu dengan diabetes tipe 2 mungkin tidak memerlukan insulin untuk bertahan hidup, namun 30% pasien atau lebih akan memperoleh keuntungan dari terapi insulin untuk mengontrol glukosa darah (Katzung 2010).

2.3. Gestasional Diabetes Mellitus (GDM). Diabetes mellitus gestasional atau diabetes yang terjadi hanya selama kehamilan dan pulih setelah melahirkan, dengan keterlibatan interleukin-6 dan protein C pada lintasan patogenesisnya. GDM mungkin dapat merusak kesehatan janin atau ibu, dan sekitar 20-50% dari wanita penderita GDM bertahan hidup. Diabetes Mellitus pada kehamilan terjadi disekitar 2-5% dari semua kehamilan. GDM dapat disembuhkan, namun memerlukan pengawasan medis yang cermat selama masa kehamilan. Resiko

yang dapat dialami oleh bayi meliputi macrosomia (berat bayi yang tinggi/diatas normal), penyakit jantung bawaan, kelainan system saraf pusat, dan cacat otot rangka (Hasdianah 2012).

3. Pengelolaan DM

Dalam mengelola DM langkah pertama yang harus dilakukan adalah pengelolaan non farmakologi, berupa perencanaan makan dan kegiatan jasmani. Bila dengan langkah-langkah tersebut sasaran pengendalian diabetes yang ditentukan belum tercapai, dilanjutkan dengan langkah berikut, yaitu penggunaan obat dan pengelolaan farmakologi (Waspadji & Sarwono 1996).

3.1. Terapi non farmakologis DM

3.1.1. Diet. Pokok pangkal penanganan DM adalah makan dengan bijaksana. Semua pasien harus selalu memulai diet dengan pembatasan kalori, terlebih-lebih pada pasien dengan overweight (DM tipe 2). Makanan yang perlu dipilih secara seksama, terutama pembatasan lemak total dan lemak jenuh untuk mencapai normalisasi kadar glukosa dan lemak darah (Tjay & Rahardja 2002).

3.1.2. Gerak badan. Bila terdapat resistensi insulin, gerak badan secara teratur (jalan kaki, bersepeda, olahraga) dapat mengurangi DM. Hasilnya insulin dapat dipergunakan secara lebih baik oleh sel tubuh dan pada umumnya dosis dapat diturunkan (Tjay & Rahardja 2002).

3.1.3. Berhenti merokok. Kandungan nikotin dalam rokok dapat mempengaruhi secara buruk penyerapan glukosa oleh sel. Merokok perlu sekali dihentikan agar perburukan lebih lanjut dari arteriole terhambat (Tjay & Rahardja 2002).

3.2. Insulin. Insulin adalah protein kecil dengan berat molekul sebesar 5.808. Dalton pada manusia. Insulin disintesis oleh pulau Langerhans, dimana pulau Langerhans terdiri dari empat jenis sel, masing-masing mensintesis dan mensekresi hormon polipeptida yang berbeda yaitu insulin didalam sel β (B), glucagon di dalam sel α (A), somastatin di dalam sel δ (D), dan polipeptida pankreatik di dalam sel PP dan F (Katzung 2012). Sekresi insulin adalah suatu proses yang diatur secara ketat, yang dirancang untuk menghasilkan glukosa dalam darah yang stabil selama puasa dan makan. Pengaturan ini dicapai melalui

proses yang saling mempengaruhi antara lain nutrisi, hormon gastrointestinal, hormone pankreas, dan neurotransmitter automi yang terkoordinasi. Glukosa, asam amino, asam lemak, dan badan keton meningkatkan sekresi insulin (Katzung 2012).

3.3. Terapi farmakologi DM. Senyawa yang dapat menurunkan kadar glukosa darah dan berikan secara oral disebut Obat Hipoglikemik Oral (OHO). Obat-Obat ini mempengaruhi metabolisme glukosa dengan merangsang sekresi insulin dan mungkin juga dengan resistensi terhadap insulin. Indikasi obat-obat ini adalah untuk penatalaksanaan penderita DM Tipe 2 dan jenis lain (Woodley & Whelan 1995).

3.3.1. Pemicu Sekresi Insulin

3.3.1.1. Sulfonilurea. Agen-agen ini diklasifikasikan sebagai perangsang sekresi insulin karena agen-agen ini mencetuskan pelepasan insulin dari sel-sel β pankreas. Obat-obat primer yang digunakan saat ini adalah tolbutamide dan derivat generasi kedua, glyburide, glipizide, dan glimepiride. Mekanisme kerja sulfonilurea meliputi stimulasi pelepasan insulin oleh sel-sel β pankreas dengan cara menghambat kanal K^+ sensitif-ATP, mengakibatkan depolarisasi dan pemasukan Ca^{2+} , penurunan produksi gula hepatic dan peningkatan sensitivitas perifer terhadap insulin (Katzung 2012).

3.3.1.2 Meglitinide. Agen-agen golongan ini meliputi repaglinide dan nateglinide. Mekanisme kerja seperti sulfonilurea, kerja obat-obat ini bergantung pada fungsi sel-sel β pankreas. Obat-obat ini berikatan pada lokasi yang berbeda pada reseptor sulfonilurea yang terkait kanal kalium sensitif ATP; dengan demikian, mengawali serangkaian reaksi yang puncaknya adalah pelepasan insulin. Namun, berbeda dengan sulfonilurea, meglitinide memiliki awitan yang cepat dan durasi kerja yang pendek (Katzung 2012).

3.3.2 Sensitivitas Insulin

3.3.2.1. Biguanid. Metformin, satu-satunya biguanid yang saat ini tersedia, digolongkan sebagai penyensitasi insulin; obat ini meningkatkan ambilan glukosa dan penggunaannya oleh jaringan-jaringan target sehingga menurunkan resistensi insulin. Mekanisme kerja utama metformin adalah reduksi keluaran

(output) glukosa hepatic, sebagian besar dengan menghambat gluconeogenesis hepatic. Metformin juga memperlambat absorpsi gula oleh usus dan meningkatkan ambilan dan pengambilan glukosa di perifer (Katzung 2012).

3.3.2.2. Thiazolidinedione atau glitazone. Kelompok lain penyesitas insulin adalah thiazolidinedione (TZD) atau disebut glitazone. Meskipun insulin diperlukan untuk kerja obat-obat ini, obat-obat ini tidak memicu pelepasan insulin dari sel β pankreas sehingga tidak terjadi hiperinsulinemia. Saat ini, dua anggota kelompok ini telah tersedia adalah pioglitazone dan rosiglitazone (Katzung 2012).

3.3.3. Penghambat α -Glukosidase. Acarbose dan miglitol merupakan obat-obat peroral yang aktif yang digunakan untuk terapi pasien dengan diabetes tipe 2. Obat-obat ini digunakan saat permulaan makan. Obat-obat ini bekerja menunda pencernaan karbohidrat sehingga mengakibatkan penurunan kadar glukosa pascaprandial. Kedua obat ini menghasilkan efek dengan menghambat α -glukosidase yang terikat membran secara reversibel pada batas vili usus. Enzim ini bertanggung jawab pada hidrolisis oligosakarida menjadi glukosa dan gula-gula lainnya (Katzung 2012).

3.3.4. Penghambat dipeptidyl peptidase-IV. Sitagliptin merupakan penghambat dipeptidyl peptidase-IV (DPP) yang aktif per oral dan digunakan untuk terapi pasien dengan diabetes tipe 2. Sitagliptin menghambat enzim DPP-IV, yang bertanggung jawab untuk inaktivasi hormon-hormon incretin, seperti peptide-1 mirip glucagon (glucagon-like peptide-1/GLP-1). Pemanjangan aktivitas hormon-hormon incretin mengakibatkan peningkatan pelepasan insulin sebagai respons terhadap makan dan reduksi sekresi glucagon yang tidak sesuai (Katzung 2012).

4. Glibenklamid

4.1 Pemerian dan kelarutan. Kelarutan glibenklamid adalah praktis tidak larut dalam air dan dalam eter, sukar larut dalam etanol dan dalam metanol, larut sebagian dalam kloroform (Depkes 1995).

4.2 Indikasi dan kontraindikasi. Glibenklamid merupakan salah satu golongan sulfonilurea, pada obat ini sedapat mungkin dihindari pada gangguan fungsi hati; gagal ginjal dan pada porifiria. Golongan obat ini tidak digunakan

pada ibu hamil dan menyusui sebaiknya diganti dengan terapi insulin, dikontraindikasikan jika terjadi ketoasidosis (BPOM 2008).

4.3 Farmakokinetika. Resorpsi glibenklamid di usus praktis lengkap, glibenklamid terikat oleh protein plasma di atas 90% dan $t_{1/2}$ mencapai 10 jam, kerjanya dapat bertahan sampai 24 jam. Zat ini akan dirombak dalam hati menjadi metabolit kurang aktif yang diekskresikan sama rata lewat kemih dan tinja (Tjay & Rahardja 2002).

4.4 Mekanisme kerja. Mekanisme kerja glibenklamid mengurangi gula darah dengan menstimulasi pelepasan insulin dari pankreas, mengurangi produksi glukosa hati dan meningkatkan respon insulin. Secara umum glibenklamid menstimulasi sel-sel β dari pulau Langerhans, sehingga sekresi insulin ditingkatkan (Tjay & Rahardja 2002).

4.5 Efek samping. Umumnya ringan dan jarang, diantaranya gangguan gastrointestinal seperti mual, muntah, diare, dan konstipasi. Menyebabkan gangguan fungsi hati, yang mungkin menyebabkan jaundice kolestatik, hepatitis dan kegagalan fungsi hati meski jarang (BPOM 2008).

4.6 Interaksi obat. Glibenklamid meningkat seiring dengan pemberian insulin, alkohol, fenformin, fenilbutazon, kloramfenikol, guanetidin, fenfluramin, klofibrat. Glibenklamid mengurangi efek hipoglikemik dengan menginduksi aktivitas enzim mikrosomal hati misalnya rifampisin, barbiturat atau obat yang menghambat pelepasan aktivitas insulin misalnya diuretik tiazid, diazoksid, glukokortikoid, estrogen atau amin simpatomimetik (Hardjasaputra *et al* 2002).

4.7 Dosis dan aturan pakai. Dosis awal yang biasa diberikan adalah 2,5 mg per hari atau lebih kecil. Dosis pemeliharaan rata-rata 5-10 mg per hari, yang diberikan pada dosis tunggal dipagi hari. Dosis pemeliharaan yang lebih tinggi dari 20 mg per hari tidak dianjurkan (Katzung 2010).

F. Uji Antidiabetes

1. Metode uji toleransi glukosa

Metode uji toleransi glukosa prinsipnya yaitu hewan uji telah dipuaskan 20-24 jam diberi larutan glukosa per oral dan pada awal percobaan sebelum

pemberian obat dilakukan pengambilan cuplikan darah sebagai kadar awal glukosa awal. Pengambilan cuplikan darah diulangi setelah perlakuan pada waktu tertentu. Keadaan hiperglikemia pada uji toleransi glukosa hanya berlangsung beberapa jam setelah pemberian glukosa sebagai diabetogen (Serang 2015).

2. Metode uji Na₂EDTA

Ethylen diamin tetracetic acid (EDTA) pada awalnya dibuat untuk mengikat ion Ca dan Mg. Senyawa EDTA tidak terlalu bisa larut, namun garamnya (Na₂EDTA) jauh lebih mudah larut dalam air maupun garam saline. Na₂EDTA diberikan secara intravena terlalu cepat, maka akan terjadi persenyawaan yang cepat dengan ion Ca dalam serum, Ca dalam serum bisa habis dengan cepat. Pengikatan senyawa Na₂EDTA dalam mengikat ion Mg yang berfungsi untuk mempertahankan seluruh struktur selubung sel, sehingga pemberian Na₂EDTA dengan dosis toksis (40-100 mg/kgBB) dapat membuat membran sel mudah rusak (lisis). Fase awal terjadinya hiperglikemik yang diinduksi Na₂EDTA terlihat setelah 2 jam, diikuti dengan fase normoglikemik setelah 8 jam dan menimbulkan hiperglikemik permanen yang kedua setelah 24-72 jam (Serang 2015).

3. Metode uji aloksan

Prinsip metode ini adalah induksi diabetes yang dilakukan pada tikus yang disuntik aloksan dengan dosis 65 mg/kgBB. Penyuntikan dilakukan secara intravena dan perkembangan hiperglikemia diperiksa setiap hari. Aloksan dapat diberikan secara intraperitoneal atau subkutan dengan dosis efektif 2-3 kali lebih tinggi. Induksi aloksan pada hewan uji merusak jaringan pankreas sehingga terjadi penurunan produksi insulin oleh sel islet pankreas (Szkudelski 2001).

Penelitian terhadap mekanisme kerja aloksan secara *in vitro* menunjukkan bahwa aloksan menginduksi pengeluaran ion kalsium dari mitokondria yang mengakibatkan proses oksidasi sel terganggu. Keluarnya ion kalsium dari mitokondria ini mengakibatkan gangguan homeostatis yang merupakan awal dari matinya sel (Suharmiati 2003).

4. Metode uji streptozotocin

Streptozotocin adalah antibiotik yang mengandung metilnitrourea. Obat ini mempunyai afinitas yang tinggi terhadap sel-sel pulau Langerhans pankreas yang menyebabkan diabetes pada hewan uji (Gunawan & Mulyani 2007).

5. Metode uji resistensi insulin

Prinsip metode ini yaitu induksi diabetes dilakukan pada mencit yang diinduksi obesitas dengan pemberian pakan kaya lemak dan karbohidrat serta asupan glukosa tinggi dilakukan sampai terjadi peningkatan kadar glukosa darah, yang dapat terjadi dalam waktu 4 minggu setelah pemberian pakan tersebut (Lian *et al* 2007).

G. Malonaldehida (MDA)

1. Definisi MDA

Malonaldehida (MDA) adalah senyawa yang terbentuk dari hidrolisis asam *1,1,3,3-tetraethoxypropane* (Slatter 1998). MDA merupakan salah satu biomarker yang sering digunakan untuk mengetahui level peroksidasi lipid total (MDA) (Nielsen 1997).

Malonaldehida (MDA) merupakan produk hasil peroksidasi lipid dalam tubuh dan terdapat dalam bebas atau terikat dengan jaringan di dalam tubuh. Konsentrasi MDA telah digunakan secara luas sebagai indikator kerusakan oksidatif pada lemak tak jenuh dan sekaligus merupakan indikator keberadaan radikal bebas (Bird & Drapper 1984).

2. Pembentukan MDA

Malonaldehida terbentuk dari peroksidasi lipid (*lipid peroxidation*) pada membran sel yang merupakan reaksi radikal bebas. Reaksi tersebut terjadi secara berantai dan akibat akhir dari reaksi rantai tersebut adalah terbentuknya hidrogen peroksida. Hidrogen peroksida akan bereaksi dengan molekul-molekul biologi termasuk protein dan lipid serta dapat menyebabkan dekomposisi beberapa produk aldehyd yang bersifat toksik terhadap sel. MDA merupakan salah satu aldehyd utama yang terbentuk dari proses ini (Edyson 2003).

3. Cara pemeriksaan dan Interpretasi hasil

Terdapat beberapa metode yang dapat digunakan untuk memeriksa kadar MDA, salah satunya *TBA (Thiobarbituric Acid) reactivity test*. Tes ini didasarkan pada reaksi antara molekul MDA dengan molekul TBA pada kondisi asam. Hasilnya adalah pigmen berwarna merah yang dapat diukur pada panjang gelombang 532 nm dengan menggunakan metode spektrofotometer. Jumlah MDA yang terdeteksi menggambarkan banyaknya peroksidasi lipid yang terjadi (Josephy 1997).

4. Diabetes Melitus, MDA dan Stres Oksidatif

Terdapat beberapa jalur mekanisme peningkatan stres oksidatif akibat hiperglikemia, yaitu jalur poliol, jalur peningkatan produksi *Advanced Glycation End products* (AGEs), jalur aktivasi protein kinase C (PKC) dan autooksidasi glukosa (Setiawan & Suhartono 2005). Keadaan hiperglikemia terjadi proses peningkatan produksi AGEs precursor yang mengakibatkan kerusakan sel melalui 3 mekanisme yang berakhir pada kerusakan vaskular sehingga kadar MDA meningkat. Jalur poliol juga dapat merusak sel yang berakibat pada peningkatan kadar MDA. Jalur heksosamin turut meningkatkan produksi hidrogen peroksida sehingga terjadi peningkatan pembentukan MDA.

H. Aloksan

Aloksan merupakan bahan kimia yang digunakan untuk menginduksi diabetes pada binatang percobaan. Efek diabetogeniknya bersifat antagonis dengan glutathion yang bereaksi dengan gugus SH nya. Mekanisme aksi dalam menimbulkan kerusakan yang selektif belum diketahui dengan jelas. Beberapa hipotesis tentang mekanisme aksi yang telah diajukan antara lain: pembentukan khelat terhadap Zn, interferensi dengan enzim-enzim sel serta deaminasi dan dekarboksilasi asam amino.

Penelitian terhadap mekanisme kerja aloksan secara invitro menunjukkan bahwa aloksan menginduksi pengeluaran ion kalsium dari mitokondria yang mengakibatkan proses oksidasi sel terganggu. Keluarnya ion kalsium dari mitokondria ini mengakibatkan gangguan homeostasis yang merupakan awal dari

kematian sel. Aloksan digunakan karena zat kimia ini menimbulkan hiperglikemik yang permanen dalam 2-3 hari (Suharmiati 2003).

I. Hewan Uji

1. Sistematika hewan uji

Sistem taksonomi tikus putih menurut (Sugiyanto 1995) adalah sebagai berikut:

Filum	: Chordata
Sub Filum	: Vertebrata
Classis	: Mamalia
Sub Classis	: Placentalia
Ordo	: Rodentia
Familia	: Muridae
Genus	: Rattus
Species	: Rattus norvegicus

2. Karakteristik utama hewan uji

Tikus relatif resisten terhadap infeksi dan tikus merupakan hewan cerdas. Tikus putih umumnya tenang dan mudah ditangani. Tikus putih bersifat fotopobik seperti halnya mencit cenderung untuk berkumpul dengan sesamanya tidak begitu besar, hal ini sangat berbeda dengan mencit. Suhu tubuhnya 37,5°C dan apabila diperlakukan kasar tikus akan menjadi galak dan biasanya akan menyerang pemegangnya (Sugiyanto 1995).

Hewan uji merupakan suatu sumber variasi availability sistemik, distribusi dan kecepatan eliminasi obat-obat. Tikus jantan kecepatan metabolisme lebih cepat dibandingkan dengan tikus betina. Tikus betina secara berkala dalam tubuhnya mengalami berbagai perubahan kondisi seperti ini biasanya masa kehamilan, menyusui, dan menstruasi (Sugiyanto 1995).

3. Pengambilan organ hewan percobaan

Pengambilan berbagai organ tubuh, hewan uji dikorbankan terlebih dahulu. Ada beberapa cara pengorbanan tikus, yaitu dengan cara kimia (eter atau kloroform) dalam wadah khusus dan cara fisik dislokasi leher.

J. Landasan Teori

Diabetes Mellitus merupakan suatu penyakit menahun yang ditandai oleh kadar glukosa darah melebihi normal dan gangguan metabolisme karbohidrat, lemak dan protein yang disebabkan oleh kekurangan hormon insulin secara relatif maupun absolut. Apabila hal ini dibiarkan tidak terkendali dapat terjadi komplikasi metabolit akut maupun komplikasi vaskuler jangka panjang, baik mikroangiopati maupun makroangiopati (Darmono 2007).

Hiperglikemia yang terjadi pada DM menyebabkan autooksidasi glukosa, glikasi protein, dan aktivasi jalur metabolisme poliol yang selanjutnya mempercepat pembentukan senyawa oksigen reaktif. Pembentukan senyawa oksigen reaktif tersebut dapat meningkatkan modifikasi lipid, *deoxyribonucleic acid* (DNA), dan protein pada berbagai jaringan (Ueno 2002). Senyawa oksigen reaktif yang berinteraksi dengan *lipid bilayer* pada membran sel akan menghasilkan peroksidase lipid dan akan membentuk produk akhir berupa *Malonaldehida* (MDA) (Mahreen 2010). Modifikasi molekuler pada berbagai jaringan tersebut akan mengakibatkan ketidakseimbangan antara antioksidan protektif (pertahanan antioksidan) dan peningkatan produksi radikal bebas yang berakhir pada kerusakan oksidatif.

Penggunaan kombinasi tanaman memungkinkan terjadinya aktivitas sinergistik yang lebih efektif pada terapi diabetes. Pengobatan dengan formulasi polih herbal kemungkinan dapat memiliki aktivitas farmakologis sinergik, potensiasi, agonis/antagonis (Ragvendra *et al* 2011). Penelitian ini menggunakan kombinasi dari tanaman obat herbal yaitu, kombinasi daun salam (*Eugenia polyantha* W.) dan daun mangga (*Mangifera indica* L.).

Hasil penelitian uji aktivitas penurunan kadar glukosa darah ekstrak daun *Eugenia polyantha* W pada mencit yang diinduksi aloksan dengan dosis 2,62 mg/20 g BB dan 5,24 mg/20 g BB dapat menurunkan secara bermakna kadar glukosa darah mencit jantan yang diinduksi dengan aloksan. Aktivitas antidiabetes dari daun salam diduga karena adanya glikosida flavonoid yang bertindak sebagai penangkap radikal bebas hidroksil (Herra & Mulya 2005). Menurut hasil penelitian Ita (2013) ekstrak etanol daun salam (*Eugenia polyantha* W.) dengan

dosis 312,5 mg/kg BB, 625 mg/kg BB dan 1250 mg/kg BB dapat menurunkan kadar glukosa darah terhadap tikus galur wistar yang diinduksi aloksan.

Hasil penelitian yang telah dilakukan menunjukkan bahwa daun mangga memiliki kandungan kimia glikosida, glukosa xanthone, saponin, tanin, triterpen, alkaloid dan flavonoid (Sayed *et al* 2011). Penelitian yang telah dilakukan terhadap tanaman ini seperti penelitian uji aktivitas antidiabetes ekstrak etanol daun mangga arumanis (*Mangifera indica* L. “Arumanis”) pada mencit dapat memberikan efek penurunan kadar glukosa darah pada dosis 4,2 mg/20 g BB mencit (Ilham *et al* 2015). Penelitian lain adalah aktivitas antihiperglikemia *Mangifera indica* L yang diinduksi aloksan terhadap tikus dengan dosis 300 mg/kg BB dapat memberikan efek hipoglikemik yang signifikan (Venkatalakshmi *et al* 2011). Penelitian lain yaitu infus daun mangga (*Mangifera indica* L.) varietas golek dengan dosis 36,75 mg/bb mencit memberikan efek hipoglikemik yang lebih baik dibanding dosis 18,37 mg/bb mencit (Andi *et al* 2015).

Pada penelitian ini digunakan pelarut etanol 96 % karena menghasilkan suatu bahan aktif yang optimal, dimana bahan pengotornya hanya dalam skala kecil turut dalam cairan pengekstraksi (Voight 1994).

Cara ekstraksi menggunakan metode maserasi karena tanaman yang digunakan tidak tahan panas. Keuntungan maserasi adalah pengerjaan dan peralatan yang digunakan sederhana, sedangkan kerugian metode maserasi adalah pengerjaannya lama (Depkes 1986).

K. Hipotesis

Berdasarkan uraian diatas dapat disusun hipotesis bahwa:

Pertama, pemberian kombinasi ekstrak etanol daun salam dan daun mangga dapat memberikan pengaruh terhadap kadar MDA pada tikus putih jantan yang diinduksi aloksan.

Kedua, dosis yang paling efektif kombinasi ekstrak etanol daun salam dan daun mangga dapat menurunkan kadar MDA pada tikus putih jantan yang diinduksi aloksan.

BAB III

METODE PENELITIAN

A. Populasi dan Sampel

1. Populasi

Populasi adalah semua individu yang menjadi sumber pengambilan sampel. Populasi yang digunakan dalam penelitian ini adalah daun salam (*Eugenia polyantha* W.) dan daun mangga (*Mangifera indica* L.) yang berasal dari daerah Boyolali, Jawa Tengah.

2. Sampel

Sampel adalah representasi yang dijadikan sumber informasi bagi semua data yang diperoleh untuk menjawab permasalahan penelitian. Sampel yang digunakan dalam penelitian ini ada dua yaitu, daun salam (*Eugenia polyantha* W.) dan daun mangga (*Mangifera indica* L.).

Daun salam dan daun mangga diambil secara acak dengan memilih daun yang berwarna hijau tidak terlalu tua dan tidak terlalu muda, bebas hama, dan masih dalam keadaan segar. Sampel diperoleh dari daerah Boyolali, Jawa Tengah pada bulan desember 2016.

B. Variabel Penelitian

1. Identifikasi variabel utama

Variabel utama dalam penelitian ini adalah daun salam (*Eugenia polyantha* W) dan daun mangga (*Mangifera indica* L) yang diperoleh dengan cara ekstraksi dengan etanol 96 %.

2. Klasifikasi variabel utama

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

Variabel bebas adalah variabel yang sengaja diubah-ubah untuk dipelajari pengaruhnya terhadap variabel tergantung. Variabel bebas dalam penelitian ini

adalah variasi dosis kombinasi ekstrak etanol daun salam dan daun mangga dengan berbagai dosis perbandingan.

Variabel tergantung adalah variabel akibat dari variabel utama, variabel tergantung dalam penelitian ini adalah pengaruh pemberian kombinasi ekstrak daun salam dan daun mangga terhadap kadar malonaldehida (MDA).

Variabel terikat adalah variabel yang mempengaruhi variabel tergantung sehingga perlu dinetralisir atau ditetapkan kualifikasinya agar hasil yang didapatkan tidak tersebar dan dapat diulang oleh peneliti lain secara tepat. Variabel terikat dalam penelitian ini adalah peneliti, kondisi fisik hewan uji yang meliputi berat badan, usia, jenis kelamin, dan kondisi laboratorium.

3. Definisi operasional variabel

Pertama, daun salam adalah tanaman obat yang digunakan pada penelitian ini, yang diperoleh dari daerah Boyolali, Jawa Tengah.

Kedua, daun mangga adalah tanaman obat yang digunakan pada penelitian ini, yang diperoleh dari daerah Boyolali, Jawa Tengah.

Ketiga, ekstrak daun salam (*Eugenia polyantha* W.) dan daun mangga (*Mangifera indica* L.) di dapatkan dengan cara ekstraksi menggunakan metode maserasi dengan pelarut etanol 96 %.

Keempat, perbandingan kombinasi ekstrak daun salam (*Eugenia polyantha* W.) dan daun mangga (*Mangifera indica* L.) adalah sebesar 25% : 75% , 75% : 25%, dan 50% : 50%

Kelima, pengukuran kadar MDA dengan menggunakan metode Ohkawa *et al* (1979) dan Suarsana *et al* (2011) dengan uji Thio Barbiturat Acid (TBA) dan pembacaannya dengan menggunakan Spektrofotometer pada panjang gelombang 532 nm.

C. Alat, Bahan dan Hewan Uji

1. Alat

Alat yang digunakan untuk maserasi yaitu: nampan, ember, pisau, oven, ayakan, timbangan bahan, penggiling, blender, vacuum rotary evaporator, gelas kaca, gelas ukur, corong kaca, beaker glass, kain flannel, dan botol berwarna gelap.

Alat untuk perlakuan hewan uji: seperangkat kandang hewan, spuit injeksi, spuit oral, syringe, gunting bedah. Alat untuk mengukur kadar MDA organ hati adalah homogenizer, waterbath, spektrofotometer, sentrifuge, seperangkat tabung reaksi, vortex.

2. Bahan

2.1. Bahan sampel. Bahan sampel yang digunakan dalam penelitian ini adalah daun salam dan daun mangga yang berwarna hijau tidak terlalu tua dan tidak terlalu muda berasal dari Boyolali, Jawa Tengah.

2.2. Bahan kimia. Bahan kimia yang digunakan untuk pembuatan ekstrak dengan metode maserasi adalah etanol 96 %. Bahan kimia yang digunakan untuk penginduksi diabetes adalah aloksan. Bahan yang digunakan sebagai kontrol negatif adalah *Carboksi Metil Cellulose* (CMC) 0,5% dan kontrol positif adalah serbuk glibenklamid. Bahan kimia yang digunakan untuk pengujian kandungan kimia adalah reagen asam asetat, asam sulfat, asam klorida, amil alkohol, HCl 2N, larutan mayer, besi (III) klorida. Bahan kimia yang digunakan untuk pengujian kadar MDA adalah KCl 1,15%, sodium dodecyl sulfat 8,1%, larutan asam asetat 20%, larutan TBA 0,8% dan larutan standar TEP (*1,1,3,3-tetraethoxypropane*).

3. Hewan uji

Hewan uji dalam penelitian ini adalah tikus putih jantan berumur 2-3 bulan dengan berat badan sekitar 150-200 gram sebanyak 40 ekor.

D. Jalannya Penelitian

1. Determinasi tanaman

Tahap pertama yang dilakukan dalam penelitian ini adalah melakukan determinasi tanaman daun salam dan daun mangga. Determinasi ini bertujuan untuk menetapkan kebenaran sampel yang digunakan dalam penelitian ini, selain determinasi harus diperhatikan pula ciri-ciri morfologi tanaman terhadap kepustakaan dan dibuktikan. Determinasi akan dilakukan di Laboratorium Biologi Universitas Setia Budi.

2. Pengambilan sampel

Daun salam dan daun mangga, diambil secara acak dengan memilih daun yang berwarna hijau tidak terlalu tua dan tidak terlalu muda, bebas hama, dan masih dalam keadaan segar yang diperoleh dari Boyolali, Jawa Tengah.

3. Pengeringan bahan dan pembuatan serbuk

Bahan baku segar dibersihkan dan dicuci terlebih dahulu dengan air bersih, lalu bahan diletakkan pada loyang yang terbuat dari alumunium dan dikeringkan di dalam oven pada suhu 50°C sampai kering. Daun salam dan daun mangga yang telah kering kemudian dibuat serbuk dengan cara diblender kemudian diayak dengan no mesh 40 sehingga diperoleh serbuk dengan derajat kehalusan yang diinginkan. Pembuatan serbuk ini bertujuan untuk memperluas permukaan partikel bahan yang kontak dengan pelarut sehingga penyarian dapat berlangsung efektif.

4. Penetapan kadar air

Penetapan kadar air dilakukan dengan cara menimbang 20 g serbuk kering daun salam atau daun mangga kemudian kedalam albu alas bulat pada alat *Sterling Bidwell* kemudian ditambahkan xylen sebanyak 100 ml dan dipanaskan sampai tidak ada tetesan air lagi kemudian dilihat volume tetesan tadi dan dihitung kadarnya dalam satuan persen.

5. Pembuatan ekstrak

5.1. Ekstrak etanol daun salam (*Eugenia polyantha* W.). Serbuk daun salam sebanyak 250 gram dimaserasi. Serbuk dimasukkan ke dalam botol berwarna gelap, kemudian ditambah etanol 96 % sebanyak 1875 ml. Tutup dan didiamkan selama 5 hari dengan pengocokan berulang. Setelah 5 hari maserasi disaring dengan kain flanel, sisa serbuk yang terdapat dalam botol dibilang dengan 125 ml, filtrat hasil maserasi kemudian ditampung dan dipekatkan menggunakan evaporator hingga didapatkan ekstrak kental.

5.2. Ekstrak etanol daun mangga (*Mangifera indica* L.). Serbuk daun mangga sebanyak 250 gram dimaserasi. Serbuk dimasukkan ke dalam botol berwarna gelap, kemudian ditambah etanol 96 % sebanyak 1875 ml. Tutup dan didiamkan selama 5 hari dengan pengocokan berulang. Setelah 5 hari maserasi disaring dengan kain flanel, sisa serbuk yang terdapat dalam botol dibilang

dengan 125 ml, filtrat hasil maserasi kemudian ditampung dan dipekatkan menggunakan evaporator hingga didapatkan ekstrak kental.

6. Identifikasi kandungan senyawa kimia

6.1. Identifikasi flavonoid. Serbuk dan ekstrak daun salam dan daun mangga dimasukkan dalam tabung reaksi, kemudian ditambahkan 10 ml air panas, 0,1 gram serbuk Mg, kemudian ditambahkan asam klorida, pelarut amil alkohol, kemudian dikocok kuat dan dibiarkan memisah. Reaksi positif ditunjukkan dengan warna merah/kuning/jingga pada amil alkohol (Depkes 1978).

6.2. Identifikasi alkaloid. Serbuk dan ekstrak simplisia daun salam dan daun mangga ditambah dengan sedikit larutan HCl 2N, dipanaskan kemudian ditambahkan larutan Mayer terbentuk endapan menggumpal berwarna putih atau kuning maka ada kemungkinan terdapat alkaloid (Depkes 1980).

6.3. Identifikasi tanin. Serbuk dan ekstrak simplisia daun salam dan daun mangga ditambah 10 ml air panas kemudian dididihkan dan saring. Filtrat yang diperoleh ditambah FeCl_3 1%. Reaksi positif ditunjukkan dengan warna hijau kehitaman (Robinson 1995).

6.4. Identifikasi saponin. Serbuk dan ekstrak simplisia daun salam atau daun mangga ditambahkan 10 ml air panas, kemudian dikocok kuat-kuat selama 10 detik. Uji positif ditunjukkan dengan terbentuknya buih yang stabil selama tidak kurang dari 10 menit setinggi 1-10 cm (Depkes 1980).

7. Pembuatan larutan

7.1. Larutan CMC 0,5%. Larutan CMC konsentrasi 0,5% dibuat dengan cara melarutkan 0,5 gram CMC sedikit demi sedikit dalam aquadest panas sambil diaduk pada volume 100 ml aquadest. Dibuat untuk bahan pensuspensi.

7.2. Larutan garam fisiologis. Larutan fisiologis 0,9% dibuat dengan cara melarutkan 0,9 gram NaCl dalam aquadest pada volume 100 ml dibuat untuk melarutkan aloksan monohidrat.

7.3. Larutan aloksan monohidrat. Larutan aloksan monohidrat konsentrasi 1% dibuat dengan cara melarutkan 1 gram aloksan monohidrat dalam larutan garam fisiologis pada volume 100 ml.

8. Penetapan dosis

8.1. Dosis ekstrak etanolik daun salam. Dosis ekstrak etanol daun salam berdasarkan penelitian (Herra & Mulja 2005) yaitu sebesar 2,62 mg/20 g BB mencit. Berdasarkan konversi dosis mencit ke tikus yaitu sebesar 91,7 mg/Kg BB.

8.2. Dosis ekstrak etanolik daun mangga. Dosis ekstrak etanol daun mangga berdasarkan penelitian (Ilham et al 2015) adalah sebesar 4,2 mg/20 g BB mencit. Berdasarkan konversi mencit ke tikus yaitu sebesar 147 mg/Kg BB.

8.3. Dosis aloksan. Dosis aloksan yang digunakan sebagai penginduksi hiperglikemik adalah sebesar 150 mg/kgBB.

8.4. Dosis glibenklamid. Dosis glibenklamid yang digunakan sebagai kontrol positif adalah sebesar 5 mg/kgBB manusia.

8.5. Dosis kombinasi ekstrak etanol daun salam dan daun mangga. Dosis kombinasi ekstrak etanol daun salam dan daun mangga dengan berbagai variasi dosis yaitu menggunakan perbandingan sebesar (dosis VI) 25%:75%, (dosis VII) 75%:25%, (dosis VIII) 50%:50%.

9. Perlakuan hewan uji

Tikus ditimbang dan masing-masing diberi tanda pengenalan, tikus yang digunakan 40 ekor secara acak dibagi 8 kelompok, masing-masing kelompok terdiri dari 5 ekor, tikus dipuasakan terlebih dahulu selama 12 jam. Tikus di cek KGD terlebih dahulu sebagai T0 kemudian diberikan aloksan 150 mg/Kg BB tikus secara intraperitoneal kecuali untuk kelompok kontrol normal. Setelah 2-3 hari diinduksi dengan larutan aloksan, diperiksa KGD sebagai T1 kemudian masing-masing kelompok diberi perlakuan sebagai berikut:

- Kelompok I : kontrol normal (hanya diberi makan dan minum)
- Kelompok II : kontrol negatif (diberi larutan CMC 0,5%)
- Kelompok III : kontrol positif (diberi glibenklamid 5 mg/kgBB)
- Kelompok IV : perlakuan ekstrak daun salam tunggal dosis 91,7 mg/Kg BB
- Kelompok V : perlakuan ekstrak daun mangga tunggal dosis 147 mg/Kg BB
- Kelompok VI : perlakuan kombinasi ekstrak daun salam dan daun mangga perbandingan 25% dan 75% (22,925 mg/Kg BB : 110,25 mg/Kg BB)

Kelompok VII : perlakuan kombinasi ekstrak daun salam dan daun mangga perbandingan 75% dan 25% (68,775 mg/Kg BB : 36,75 mg/Kg BB)

Kelompok VIII : perlakuan kombinasi ekstrak daun salam dan daun mangga perbandingan 50% dan 50% (48,85 mg/Kg BB : 73,5 mg/Kg BB).

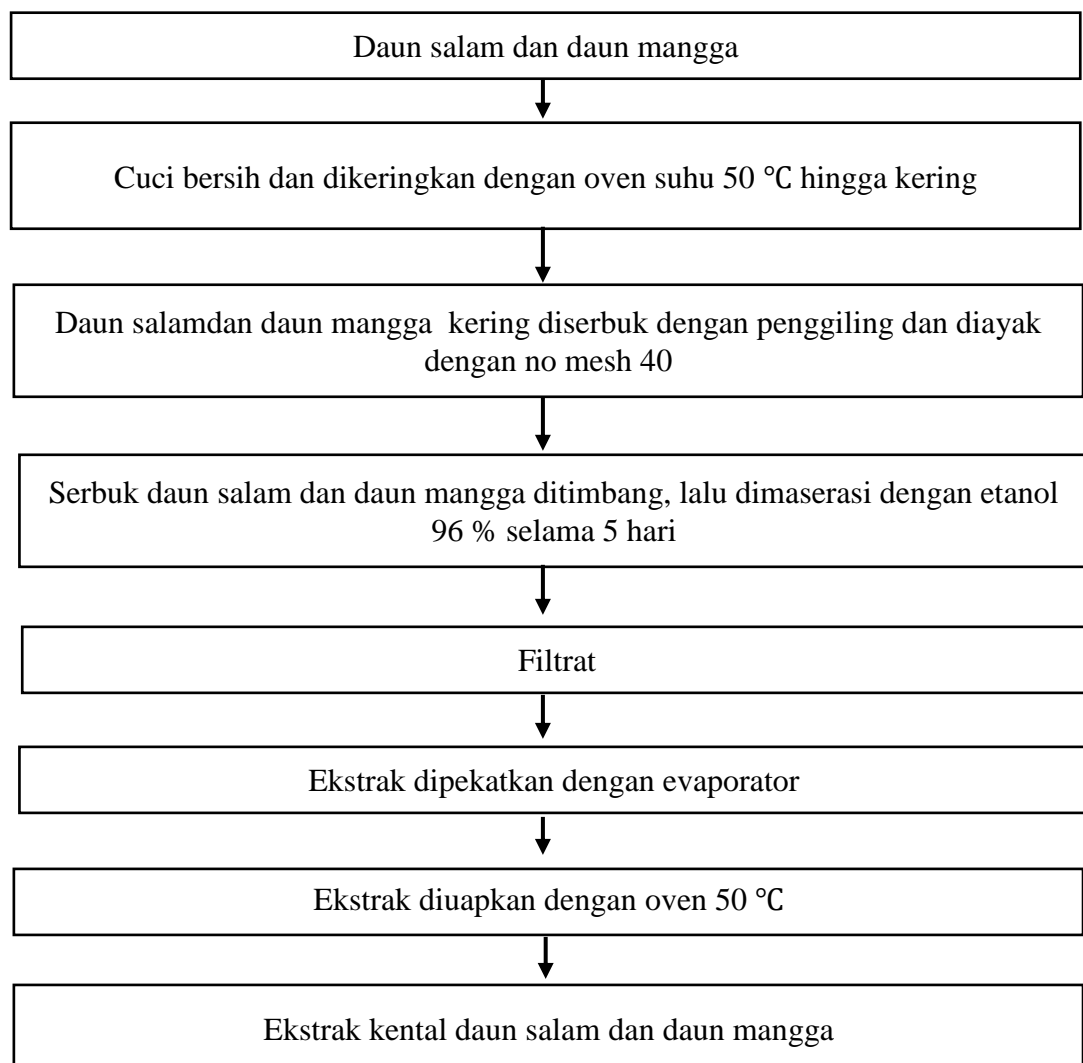
Kombinasi ekstrak daun salam dan daun mangga yang diberikan dengan dosis perbandingan 25% dan 75% ; 75% dan 25% ; 50% dan 50% secara per oral selama 14 hari (kelompok VI, VII ,dan VIII). Pengukuran kadar MDA organ hati dilakukan pada hari terakhir penelitian.

10. Pemeriksaan Kadar MDA

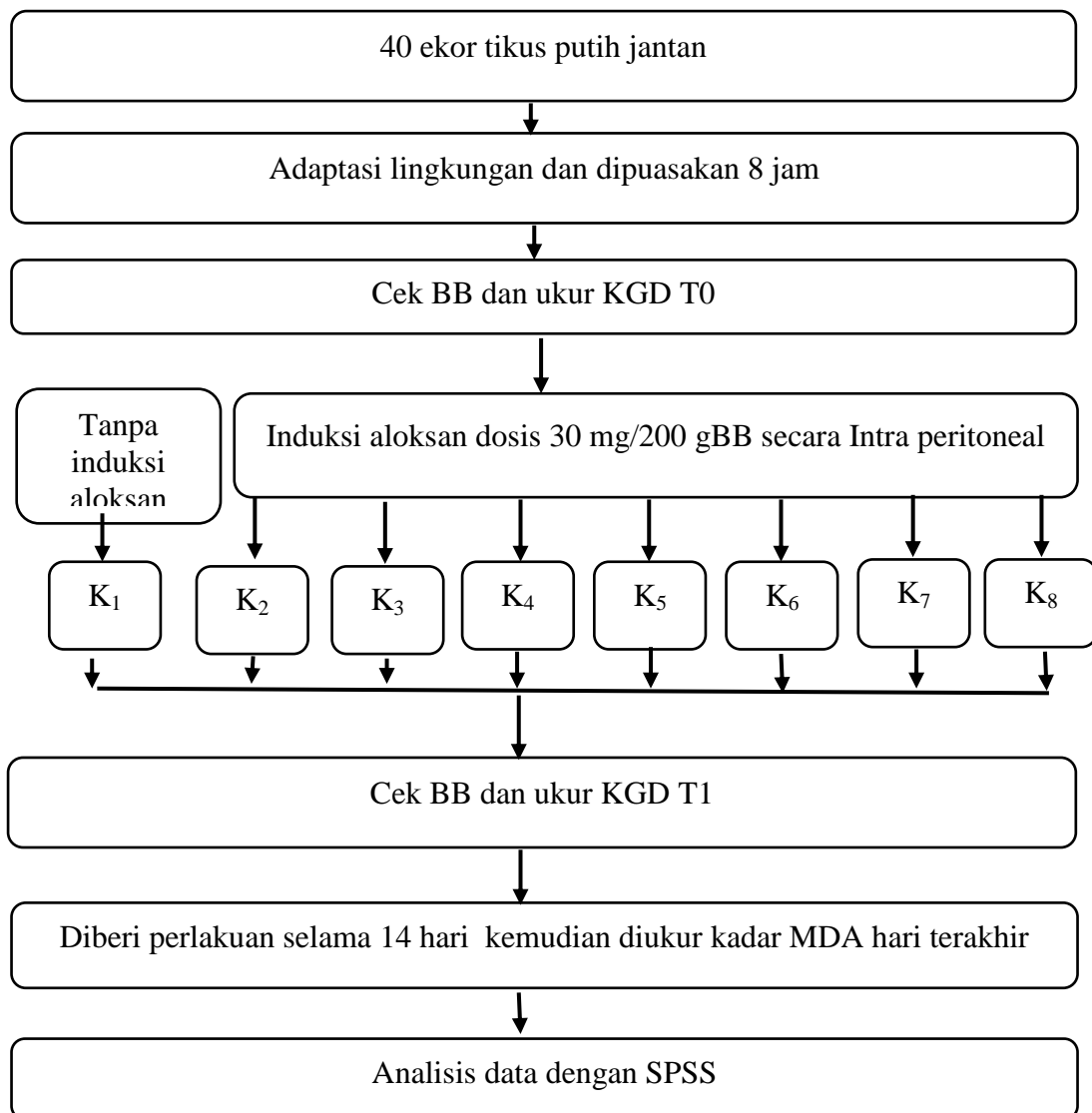
Analisis kadar MDA dilakukan menurut metode yang telah dilakukan Ohakawa *et al* (1979) dan Suarsana *et al* (2011). Sampel hati yang telah ditimbang ditambahkan larutan 9 ml KCl 1,15% kemudian dihomogenkan menggunakan alat homogenizer. Setelah homogen sampel di sentrifugasi 4000 rpm selama 10 menit, lalu supernatan yang diperoleh diambil dan ditambahkan dengan 0,2 ml sodium dodecyl sulfat 8,1%, 1,5 ml larutan asam acetat 20% dan 1,5 ml larutan TBA 0,8%. Campuran larutan diinkubasi menggunakan waterbath dengan suhu 95⁰C selama 60 menit. Absorbansi diukur dengan spektrofotometer pada λ 532 nm. Larutan standar yang digunakan TEP (*1,1,3,3-tetraethoxypropane*).

11. Analisis statistik

Analisis statistik yang digunakan dalam penelitian ini yaitu dilihat terlebih dahulu apakah data tersebut terdistribusi normal atau tidak dengan menggunakan uji distribusi normal (*Shapiro-Wilk*), data terdistribusi normal ($p > 0,05$) dilanjutkan dengan uji parametrik (ANOVA). Analisis statistik pada penelitian ini menggunakan one way ANOVA. Uji dilanjutkan dengan Post Hoc test untuk melihat apakah terdapat perbedaan di antara masing-masing kelompok perlakuan.



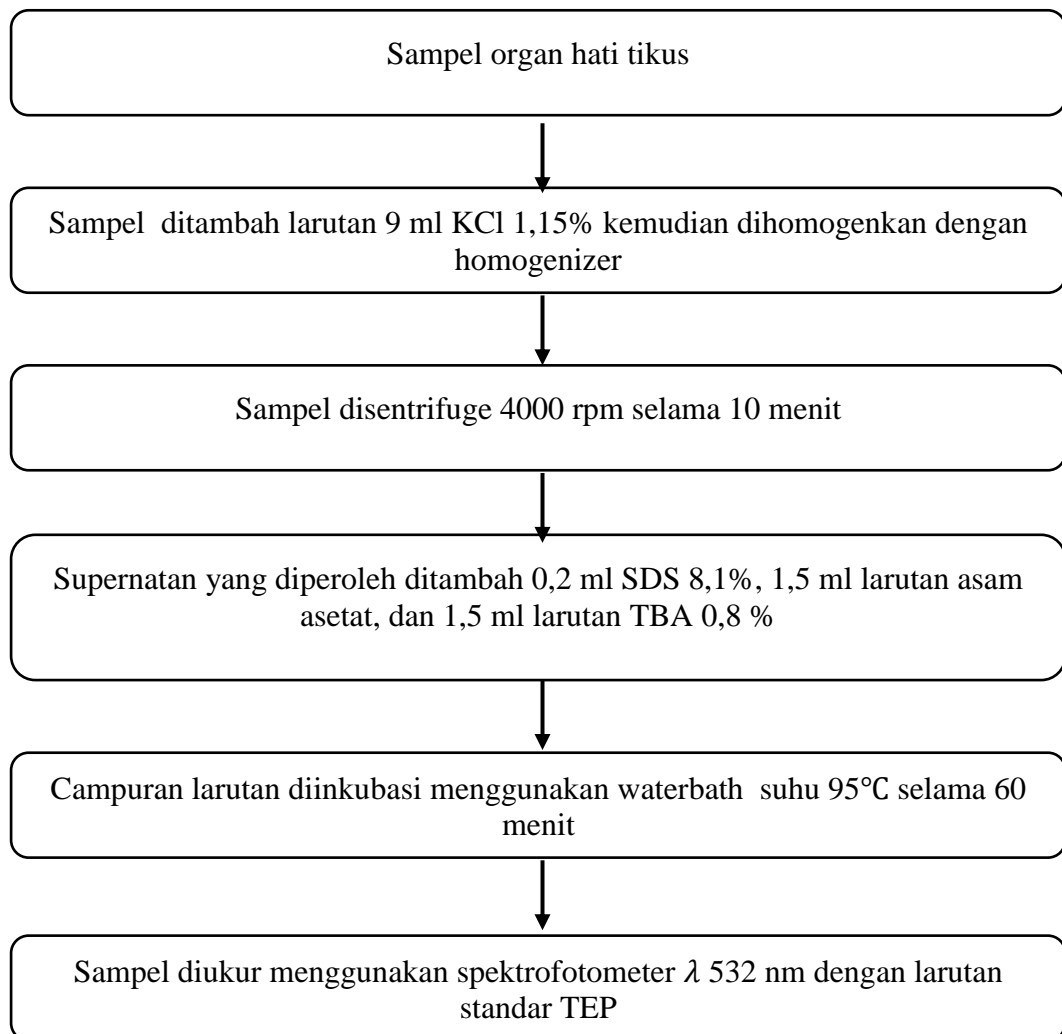
Gambar 1. Skema pembuatan ekstrak etanol daun salam dan daun mangga



Keterangan:

- K₁ : Kelompok I (normal)
- K₂ : Kelompok II (negatif)
- K₃ : Kelompok III (positif)
- K₄ : Kelompok IV (ekstrak daun salam tunggal)
- K₅ : Kelompok V (ekstrak daun mangga tunggal)
- K₆ : Kelompok VI (kombinasi ekstrak daun salam dan mangga 25%:75%)
- K₇ : Kelompok VII (kombinasi ekstrak daun salam dan mangga 75%:25%)
- K₈ : Kelompok VIII (kombinasi ekstrak daun salam dan mangga 50%:50%)

Gambar 2. Skema jalannya penelitian secara sistematis



Gambar 3. Skema pengukuran kadar MDA

BAB IV

HASIL PENELITIAN DAN PEMBAHASAN

A. Hasil Penelitian

1. Hasil determinasi tanaman salam dan tanaman mangga

Tanaman yang digunakan dalam penelitian ini adalah daun salam dan daun mangga yang diperoleh dari Boyolali, Jawa Tengah. Foto tanaman yang digunakan dalam penelitian ini dapat dilihat pada lampiran 4 dan lampiran 5.

Langkah awal dalam penelitian ini adalah determinasi tanaman salam dan tanaman mangga yang dilakukan di Laboratorium Biologi Universitas Setia Budi Surakarta. Determinasi tanaman ini dilakukan untuk menguji kebenaran tanaman yang diambil, menyesuaikan ciri morfologi tanaman, dan menghindari kesalahan dalam pengumpulan bahan yang ada pada tanaman terhadap kepustakaan.

Hasil determinasi berdasarkan Backer dan Steenis, Flora of the Java dapat diketahui bahwa tanaman yang digunakan dalam penelitian ini adalah tanaman Salam (*Eugenia polyantha* W.) dan tanaman Mangga (*Mangifera indica* L.). Keterangan identifikasi tanaman ini dapat dilihat pada lampiran 1 dan lampiran 2.

2. Hasil pengeringan bahan dan pembuatan serbuk

Berat daun salam segar yang diperoleh adalah sebanyak 6 kg sedangkan berat daun mangga segar adalah 5 kg. Daun salam dan daun mangga yang diperoleh dicuci dengan air bersih yang mengalir agar bebas dari kotoran, kemudian dikeringkan menggunakan oven pada suhu 50°C agar pengeringan dapat merata, serta untuk mengurangi kadar air dan mencegah penurunan mutu atau kerusakan dari simplisia sehingga dapat disimpan dalam jangka waktu yang lebih lama.

Simplisia yang sudah kering kemudian digiling sampai halus dan diayak menggunakan dengan no mesh 40. Simplisia dibuat menjadi serbuk adalah untuk memperluas permukaan partikel simplisia yang kontak dengan pelarut sehingga penyaringan dapat berlangsung secara efektif. Hasil pengeringan daun salam dan daun mangga bisa dilihat di tabel 1 dan perhitungan rendemen serbuk dapat dilihat di lampiran 11.

Tabel 1. Hasil pengeringan daun salam dan mangga

Simplisia	Berat basah (g)	Berat kering (g)	Rendemen (%)
Daun salam	6000	892	15
Daun mangga	5000	1332	27

3. Hasil penetapan kadar air serbuk daun salam dan daun mangga

Serbuk daun salam dan daun mangga sebanyak 20 g, diukur kandungan kadar air dengan menggunakan alat *Sterling Bidwell*. Kandungan air yang terlalu tinggi pada serbuk akan memudahkan pertumbuhan jamur dan bakteri sehingga dapat merusak serbuk. Hasil penetapan kandungan kadar air serbuk daun salam dan daun mangga dapat dilihat pada tabel berikut.

Tabel 2. Hasil penetapan kadar air serbuk daun salam dan daun mangga

No.	Berat serbuk (g)	Kadar air (%)	
		Daun salam	Daun mangga
1	20	8,0	8,5
2	20	9,0	8,0
3	20	7,5	8,5
Rata-rata \pm SD		8,2 \pm 0,764	8,3 \pm 0,289

Tabel 2. menunjukkan hasil penentuan kandungan kadar air serbuk menggunakan alat *Sterling Bidwell*, waktu yang diperlukan dalam pengukuran adalah kisaran ± 60 menit untuk setiap penetapan, Persentase rata-rata kandungan kadar air serbuk daun salam sebesar 8,2 % dan daun mangga sebesar 8,3 %. Hal ini menunjukkan bahwa susut pengukuran kandungan kadar air daun salam dan daun mangga memenuhi syarat, yaitu kandungan kadar air serbuk tidak lebih dari 10 %. Perhitungan % kadar air dapat dilihat di lampiran 13.

4. Hasil pembuatan ekstrak etanol daun salam dan daun mangga

Ekstrak etanol yang diperoleh dalam penelitian ini adalah dengan proses ekstraksi yang menggunakan metode maserasi karena peralatan alat yang digunakan sangat sederhana serta mudah dilakukan. Pelarut yang digunakan adalah etanol 96%, karena etanol merupakan pelarut universal, dapat melarutkan zat aktif yang akan digunakan dalam penelitian seperti flavonoid, alkaloid, dan tanin. Wadah maserasi yang digunakan adalah botol kaca gelap untuk menghindari sinar matahari secara langsung.

Maserasi dilakukan dalam keadaan tertutup agar etanol tidak menguap pada suhu kamar dan dilakukan penggojokan pada botol supaya serbuk dapat bersentuhan langsung dengan pelarut sehingga proses penarikan zat aktif dapat berlangsung maksimal. Proses maserasi dilakukan selama 5 hari, setelah 5 hari maserat disaring dan dilakukan proses penguapan dilakukan dengan *vacuum rotary evaporator*, kemudian diuapkan kembali menggunakan oven suhu hingga diperoleh ekstrak kental. Data hasil ekstrak dapat dilihat pada tabel berikut dan perhitungan rendemen ekstrak dapat dilihat di lampiran 12.

Tabel 3. Hasil ekstraksi daun salam dan daun mangga

Simplisia	Berat serbuk (g)	Berat ekstrak (g)	Rendemen (%)
Daun salam	250	24	9,6
Daun mangga	250	82	32,8

5. Hasil Identifikasi kandungan kimia

Identifikasi serbuk dan ekstrak etanol daun salam dan daun mangga menggunakan uji tabung untuk mengetahui kebenaran kandungan kimia yang terdapat dalam daun salam dan daun mangga. Identifikasi dalam penelitian ini dilakukan di Laboratorium Fitokimia Universitas Setia Budi. Hasil foto identifikasi kimia ini dapat dilihat pada lampiran 8.

Hasil identifikasi terhadap serbuk dan ekstrak daun salam dan daun mangga menunjukkan adanya kandungan senyawa kimia berupa saponin, dan tanin. Hasil ini dapat diketahui dengan membandingkan uji tabung yang dilakukan dengan pustaka. Hasil identifikasi kandungan serbuk dan ekstrak etanol daun dalam dan daun mangga dapat dilihat pada tabel berikut.

Tabel 4. Hasil identifikasi serbuk daun salam dan daun mangga

N	Kandungan kimia	Hasil	Pustaka (Depkes 1978)	Peraksi	Simplisia	
					Daun salam	Daun mangga
1	Alkaloid	Endapan hitam	Endapan putih/kuning	Mayer	-	-
2	Flavonoid	Kuning pada lapisan amil alkohol	Warna merah/kuning/jingga pada lapisan amil alkohol	Amil alkohol	+	+
3	Saponin	Buih/busanya	Buih selama 10 menit, tinggi 1-10 cm	HCl 2N	+ 1 cm	+ 2 cm
4	Tanin	Hijau kehitaman	Warna coklat kehijauan atau hijau kehitaman	FeCl ₃	+	+

N	Kandungan kimia	Hasil	Pustaka (Depkes 1978)	Pereaksi	Simplisia	
					Daun salam	Daun mangga
1	Alkaloid	Endapan hitam	Endapan putih/kuning	Mayer	-	-
2	Flavonoid	Kuning pada lapisan amil alkohol	Warna merah/kuning/jingga pada lapisan amil alkohol	Amil alkohol	+	+
3	Saponin	Buih/busanya	Buih selama 10 menit, tinggi 1-10 cm	HCl 2N	+ 5 cm	+ 2,5 cm
4	Tanin	Hijau kehitaman	Warna coklat kehijauan atau hijau kehitaman	FeCl ₃	+	+

Tabel 5. Hasil identifikasi ekstrak daun salam dan daun mangga**Keterangan:**

+ : mengandung zat kimia

- : tidak mengandung zat kimia

B. Hasil Pemeriksaan Kadar MDA

Diabetes mellitus yang tidak dikontrol dengan baik dapat menyebabkan stress oksidatif, dimana produksi radikal bebas yang melebihi kemampuan antioksidan tubuh untuk meredamnya. MDA merupakan salah satu produk akhir dari peroksidasi lipid yang mudah untuk dideteksi.

Aloksan digunakan sebagai penginduksi DM pada hewan coba. Pemberian dosis aloksan yang tepat dapat merusak sel β pankreas sehingga dapat

menimbulkan efek DM yang menyebabkan terjadinya peningkatan produksi radikal bebas. Peningkatan radikal bebas ini menyebabkan terjadinya peroksidasi lipid yang akan berujung menjadi peningkatan MDA.

Larutan yang digunakan dalam pembuatan kurva standar dalam analisa kadar MDA adalah larutan standar TEP (1,1,3,3-tetraethoxypropane). Larutan tersebut diperoleh dari larutan TEP murni yang dibuat dengan 5 seri konsentrasi TEP yaitu : 0 $\mu\text{l/ml}$, 375 $\mu\text{l/ml}$, 750 $\mu\text{l/ml}$, 1500 $\mu\text{l/ml}$, dan 3000 $\mu\text{l/ml}$. Hasil pengukuran absorbansi yang diperoleh kemudian diplotkan menjadi kurva standar TEP untuk diketahui persamaan regresi linearnya. Persamaan regresi linear tersebut kemudian digunakan untuk menghitung kadar malonaldehida (MDA) yang dapat dilihat pada lampiran 15.

Pengukuran kadar MDA dilakukan dengan metode TBA. Pengukuran kadar MDA hati digunakan TEP (1,1,3,3-tetraethoxypropane) sebagai standar. Apabila larutan TEP bereaksi dengan air akan terhidrolisis membentuk senyawa malonaldehida (MDA). Larutan TEP dapat digunakan untuk larutan standar MDA yang dapat bereaksi dengan asam tiobarbiturat (TBA) untuk menentukan kurva baku dan dapat menggambarkan besarnya nilai MDA yang terdapat dalam penelitian ini. Prinsip dari pengukuran kadar MDA adalah reaksi antara molekul MDA dengan molekul asam tiobarbiturat (TBA) membentuk senyawa merah muda yang diukur pada spektrofotometer dengan panjang gelombang 532 nm. MDA akan membentuk senyawa MDA-TBA. Semakin pekat warna yang dihasilkan maka konsentrasi MDA juga semakin tinggi (Arkhaesi 2008).

Pengukuran kadar MDA pada sampel hati tikus, sebelumnya telah dilakukan pembuatan kurva standar yang akan digunakan untuk menghitung kadar MDA pada sampel. Setiap kelompok perlakuan memiliki kurva standar yang sama. Hasil pengukuran diperoleh persamaan kurva standar adalah $y = 0,0000823x - 0,0193750$ dengan nilai $R^2 = 0,9985$. Sampel berupa hancuran organ hati dalam larutan KCl 1,15 yang kemudian disentrifuge untuk mendapatkan supernatan. Supernatan yang diperoleh ditambahkan larutan sodium dodecyl sulfat (SDS) 8,1% yang berfungsi mengendapkan lemak, kemudian penambahan larutan asam

asetat 20% yang berfungsi mengkondisikan reaksi dalam suasana asam, dan penambahan larutan TBA 0,8% yang akan bereaksi dengan MDA. Campuran kemudian dipanaskan dengan waterbath untuk mempercepat terbentuknya reaksi kompleks MDA-TBA yang akan menghasilkan warna merah muda. Campuran didinginkan hingga suhu ruang kemudian diukur absorbansinya pada panjang gelombang 532 nm menggunakan spektrofotometer. Hasil pengukuran absorbansi sampel kemudian dimasukkan ke dalam persamaan kurva standar dan diperoleh kadar MDA sampel yang dapat dilihat pada lampiran 15.

Penelitian pengaruh pemberian kombinasi ekstrak etanol daun salam dan daun mangga terhadap kadar malonaldehid tikus putih jantan yang induksi aloksan didapatkan KGD untuk tikus kontrol normal $63,456 \pm 0,924$ mg/dL dengan kadar MDA $1,204 \pm 0,109$ nmol/g. Pemberian aloksan dosis 30 mg/200 g BB yang diberikan dalam selang waktu 3 hari menunjukkan peningkatan KGD menjadi $200,662 \pm 1,548$ mg/dL yang diiringi dengan peningkatan kadar MDA tikus diabetes menjadi $7,934 \pm 0,393$ nmol/g.

Tabel 6. Hasil rata-rata pengukuran kadar glukosa darah tikus dengan berbagai kelompok yang diinduksi aloksan 30mg/200 g BB

Perlakuan	KGD sebelum induksi aloksan (T0) (mg/dL) \pm SD	KGD sesudah induksi aloksan (T1) (mg/dL) \pm SD
K ₁	62,576 \pm 0,984	63,456 \pm 0,924
K ₂	63,636 \pm 1,673	200,662 \pm 1,548
K ₃	63,336 \pm 0,680	201,47 \pm 1,327
K ₄	62,27 \pm 1,329	199,926 \pm 1,389
K ₅	63,334 \pm 0,820	200,81 \pm 1,087
K ₆	62,122 \pm 1,104	200,072 \pm 1,083
K ₇	66,97 \pm 1,922	201,072 \pm 2,494
K ₈	69,242 \pm 1,704	202,058 \pm 4,999

Keterangan:

- K₁ : Kelompok I (normal)
- K₂ : Kelompok II (negatif)
- K₃ : Kelompok III (positif)
- K₄ : Kelompok IV (ekstrak daun salam tunggal)
- K₅ : Kelompok V (ekstrak daun mangga tunggal)
- K₆ : Kelompok VI (kombinasi ekstrak daun salam dan mangga 25%:75%)
- K₇ : Kelompok VII (kombinasi ekstrak daun salam dan mangga 75%:25%)
- K₈ : Kelompok VIII (kombinasi ekstrak daun salam dan mangga 50%:50%)

Dari tabel 6 di atas dapat diketahui bahwa dosis aloksan sebesar 30 mg/200 g BB dapat menimbulkan efek DM pada seluruh kelompok perlakuan,

kecuali untuk kelompok 1 tidak memberikan efek DM karena kelompok 1 merupakan kelompok kontrol normal sehingga tidak diberi perlakuan aloksan.

Tabel 7. Hasil rata-rata pengukuran kadar MDA sampel hati tikus

Kelompok Perlakuan	Kadar MDA (nmol/g) \pm SD
Kontrol Normal	1,204 \pm 0,109 ^{bc}
Kontrol negatif	7,934 \pm 0,393 ^{ac}
Kontrol positif	1,748 \pm 0,270 ^{ab}
Ekstrak salam tunggal	2,298 \pm 0,228 ^{abc}
Ekstrak mangga tunggal	4,426 \pm 0,411 ^{abc}
Kombinasi ekstrak 25% : 75%	3,464 \pm 0,239 ^{abc}
Kombinasi ekstrak 75% : 25%	2,452 \pm 0,118 ^{abc}
Kombinasi ekstrak 50% : 50%	3,05 \pm 0,145 ^{abc}

Keterangan:

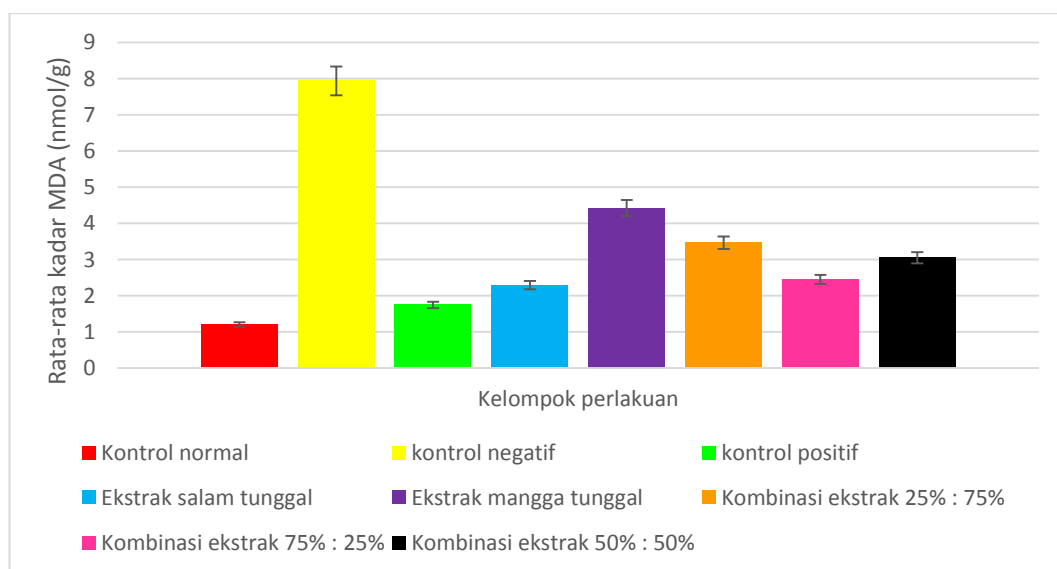
Terdapat perbedaan bermakna $\alpha = 95 \%$, $p < 0,05$

a= perbedaan terhadap kontrol normal

b= perbedaan terhadap kontrol negatif

c= perbedaan terhadap kontrol positif

Berdasarkan hasil tabel 7 diatas diketahui bahwa terdapat perbedaan bermakna $p < 0,05$ pada setiap perlakuan yang diberikan. Hasil analisis statistik tingkat kemaknaan hasil uji tukey HSD terhadap kadar MDA hati tikus dapat dilihat pada lampiran 16.



Gambar 4. Diagram kadar MDA

Berdasarkan gambar 4 diketahui bahwa kelompok normal memiliki kadar rata-rata MDA sebesar 1,204 \pm 0,109 (nmol/g). Kelompok normal yang hanya diberikan aquadest memiliki kadar MDA yang lebih rendah dibandingkan

kelompok perlakuan lainnya. Hal ini dapat terjadi karena kadar MDA yang terbentuk sangat bergantung pada jumlah stress oksidatif dan hanya mampu dinetralkan dengan antioksidan, sedangkan pada kondisi normal kadar MDA yang terbentuk pada kadar yang rendah. Saat keadaan normal, peroksidasi lipid di dalam tubuh masih dapat diatasi oleh antioksidan alami (antioksidan endogen).

Kelompok kontrol negatif memiliki kadar rata-rata MDA sebesar $7,934 \pm 0,393$ (nmol/g) kelompok ini mengalami peningkatan kadar MDA tertinggi dikarenakan hewan uji dalam kelompok ini hanya diberikan aloksan sehingga mengalami kerusakan pada sel β pankreas dan menyebabkan terjadinya peningkatan produksi radikal bebas. Saat keadaan abnormal peroksidasi lipid didalam tubuh dapat diatasi dengan antioksidan eksogen seperti tanaman, sayuran dan buah-buahan, karena pada kelompok ini tidak diberikan antioksidan maka diperoleh kadar MDA tertinggi.

Kelompok perlakuan kombinasi ekstrak daun salam dan mangga diketahui mampu memberikan pengaruh terhadap penurunan kadar MDA namun tidak setara dengan kontrol positif glibenklamid. Dosis yang paling efektif dosis kombinasi 68,775 mg/Kg BB : 36,75 mg/Kg BB pada perlakuan kombinasi ekstrak daun salam dan daun mangga 75% : 25%. Hal ini dikarenakan daun salam memiliki kandungan flavonoid yang bertindak sebagai antioksidan lebih tinggi daripada daun mangga.

Penelitian pengaruh pemberian kombinasi ekstrak etanol daun salam dan daun mangga terhadap kadar MDA menunjukkan bahwa penurunan kadar MDA paling besar terdapat pada dosis kombinasi 68,775 mg/Kg BB : 36,75 mg/Kg BB pada perlakuan kombinasi ekstrak daun salam dan daun mangga 75% : 25%, selanjutnya dosis kombinasi 48,85 mg/Kg BB : 73,5 mg/Kg BB pada perlakuan kombinasi ekstrak daun salam dan daun mangga 50% : 50% dan dosis kombinasi 22,925 mg/Kg BB : 110,25 mg/Kg BB pada perlakuan kombinasi ekstrak daun salam dan daun mangga 25% : 75%.

Penurunan kadar MDA darah pada kelompok perlakuan di atas disebabkan pengaruh kombinasi ekstrak daun salam dan daun mangga berfungsi sebagai antioksidan. Ekstrak daun salam dan daun mangga memiliki kandungan zat kimia

yang bertindak sebagai antioksidan yaitu flavonoid sehingga dapat meredam radikal bebas pada tikus DM akibat pemberian aloksan. Berdasarkan penelitian antioksidan terhadap daun salam telah terbukti memiliki aktivitas antioksidan yang telah dilakukan Sulistiyani *et al* (2014) diketahui memiliki aktivitas antioksidan dengan nilai IC_{50} sebesar $18,84 \mu g/ml$ dengan senyawa aktif yang diperoleh adalah flavonoid. Penelitian terhadap daun mangga arumanis telah terbukti memiliki aktivitas antioksidan yang telah dilakukan Mindiarti (2016) diketahui memiliki aktivitas antioksidan dengan nilai IC_{50} sebesar $73,32 \mu g/ml$ dengan senyawa aktif yang diperoleh adalah flavonoid.

Hasil penelitian Despianty (2017) menunjukkan bahwa pemberian kombinasi ekstrak daun salam dan daun mangga dosis $68,775 \text{ mg/Kg BB} : 36,75 \text{ mg/Kg BB}$ dapat menurunkan kadar glukosa darah sebesar $98,52 \pm 2,58 \text{ mg/dL}$. Hal ini dibuktikan dengan penurunan kadar MDA kelompok kombinasi perbandingan (75% : 25%) menjadi $2,452 \pm 0,118 \text{ nmol/g}$ dibandingkan dengan kelompok kontrol negatif (DM) yang berkisar $7,934 \pm 0,109 \text{ nmol/g}$. Berdasarkan hasil analisis data diketahui bahwa kombinasi ekstrak daun salam dan daun mangga mampu menurunkan kadar MDA namun tidak setara dengan kontrol positif glibenklamid. Hal ini dikarenakan glibenklamid bekerja lebih baik dalam mengurangi kadar glukosa darah dengan cara meningkatkan sekresi insulin.

Berdasarkan penelitian ini dapat disimpulkan bahwa stress oksidatif pada diabetes mellitus dapat diatasi dengan pemberian kombinasi ekstrak daun salam dan daun mangga yang dapat dilihat dari nilai kadar MDA kelompok perlakuan dibandingkan dengan kelompok kontrol positif dan dapat disimpulkan juga bahwa pemberian kombinasi ekstrak daun salam dan daun mangga dapat menurunkan aktivitas radikal bebas yang dipicu oleh stress oksidatif akibat induksi aloksan.

BAB V

KESIMPULAN DAN SARAN

A. Kesimpulan

Kesimpulan yang dapat diperoleh dari penelitian ini adalah sebagai berikut:

Pertama, dari ketiga dosis kombinasi ekstrak etanol daun salam dan mangga memiliki pengaruh terhadap penurunan kadar MDA pada tikus jantan yang diinduksi aloksan.

Kedua, kombinasi ekstrak daun salam dan daun mangga dosis 68,775 mg/Kg BB : 36,75 mg/Kg BB pada perlakuan kombinasi ekstrak daun salam dan daun mangga (75% : 25%) menunjukkan penurunan kadar MDA paling efektif.

B. Saran

Saran pada para peneliti selanjutnya adalah:

Pertama, perlu dilakukan penelitian lebih lanjut tentang pengujian pengaruh pemberian kombinasi ekstrak etanol daun salam dan daun mangga terhadap penurunan kadar MDA menggunakan metode ekstraksi yang lain, dosis yang lebih besar dan pelarut yang berbeda untuk mendapatkan hasil yang lebih optimal.

Kedua, perlu dilakukan penelitian lebih lanjut tentang uji toksisitas dari tanaman salam dan mangga agar mengetahui batasan dosis maksimum yang dapat digunakan.

DAFTAR PUSTAKA

- Ahsana D, Shaheen F, Sabira N, Talat R, Sadia ZR, Muhammad A, Sadiqa F, Syed TM. 2005. Analgesic and Antioxidant Activity of Mangiferin and Its Derivatives: the Structure Activity Relationship. *Biol. Pharm. Bull.* 28 (4): 596-600.
- Almater E, Vendemisle G and Chicco D. 1991. Increased Lipid peroxidation in Type-2 Diabetes poorly control Diabetic patients. *Diabetes. Etab.* 18(4).
- Andi E, Safriani R, Andi SR. 2015. Uji Efek Hipoglikemik Infus Daun Mangga Varietas Golek Terhadap Mencit (*Mus musculus*) Diabetik Yang Diinduksi Aloksan. *Jurnal Sains dan Kesehatan.* 1(3):2303-0267.
- Ansel H.C. 1989. *Pengantar Bentuk Sediaan Farmasi*. Edisi IV. Jakarta: Penerbit Universitas Indonesia.
- Bird RP & Draper HH. 1984. Comparative Studies on Different Methods of Malonaldehyde Determination. *Methods in Enzymology.* 105: 299-304.
- BPOM. 2008. *IONI: Informatorium Obat Nasional Indonesia*. Jakarta: Badan Pengawas Obat dan Makanan Republik Indonesia.
- Candra S. 2012. Pengaruh Pemberian Ekstrak Buah Belimbing Wuluh Terhadap Penurunan Kadar Glukosa Darah Tikus Putih Wistar Yang Diinduksi Aloksan [Skripsi]. Semarang: Fakultas Kedokteran, Universitas Semarang.
- Dalimartha, S.I. 2000. *Atlas Tumbuhan Obat Indonesia*. Edisi II. Jakarta: Trubus Agriwidya, 162-163.
- Depkes. RI 2000. *Inventaris Tanaman Obat Indonesia*. Jilid I. Jakarta: Badan Penelitian dan Pengembangan Kesehatan.
- Despianty R. 2017. Uji Aktivitas Antidiabetes Kombinasi Ekstrak Etanol Daun Salam (*Eugenia polyantha* W.) dan Daun Mangga (*Mangifera indica* L.) Terhadap Tikus Putih Jantan Yang Diinduksi Aloksan.[Skripsi]. Surakarta: Fakultas Farmasi, Universitas Setia Budi.
- Ditjen POM 2000. *Parameter Standar Umum Ekstrak Tumbuhan Obat*. Jakarta: Departemen Kesehatan RI.
- Gunawan D. dan Mulyani S. 2007. *Ilmu Obat Alam*. Jilid Pertama. Jakarta: Swadaya. Halaman 13, 87-89.
- Hanachi, P., Maghadam, R.H, Latiffah, A.L. 2009. Investigation of Lipid Profile and Lipid Peroxidation in patients with Type-2 Diabetes. *European J, of sci.res.* 28(1): 6-13.


- Harborne, J. B. 1987. *Metode Fitokimia, Penuntun Cara Modern Menganalisis Tumbuhan*. Penerjemah; Patmawinata K, Soediro I, Bandung: Penerbit ITB. Terjemahan dari: *Phytochemical Methods*.
- Hasdianah H.R. 2012. *Mengenal Diabetes Mellitus Pada Orang Dewasa Dan Anak- Anak Dengan Solusi Herbal*. Yogyakarta: Nuhamedika.
- Hardjasaputra P, Budipranoto G, Sembiring SU, Kamil I. 2002. *Daftar Obat Indonesia*. Edisi 10. Gravidia Medipress.
- Herra dan Mulja H.S. 2005. Uji Aktivitas Penurunan Kadar Glukosa Darah Ekstrak Daun *Eugenia polyantha* pada Mencit Yang Diinduksi Aloksan [Skripsi]. Surabaya: Fakultas Farmasi, Universitas Airlangga.
- Ilham MS, suwendar, Lanny M. 2015. Uji Aktivitas Ekstrak Etanol Daun Mangga Arumanis (*Mangifera indica* L. "Arumanis") pada Mencit Swiss Webster Jantan dengan Metode Test Toleransi Glukosa Oral (TGO). *Spesia unisba*.
- Ita L.W. 2013. Uji Aktivitas Antidiabetes Ekstrak Etanol Daun Salam (*Eugenia polyantha*) Terhadap Tikus Galur Wistar Yang Diinduksi Aloksan [Skripsi]. Surakarta: Fakultas Farmasi, Universitas Muhamadiyah Surakarta.
- Joyce & Evelyn. 1996. *Farmakologi Pendekatan Proses Keperawatan Buku Kedokteran*: Jakarta: EGC.
- Katzung. BG. 2010. *Farmakologi Dasar dan Klinik*. Edisi 10. Jakarta: Penerbit Buku Kedokteran. Hal 705.
- Lee WH, Intan SI. 2012. Antioxidant Activity Total Phenolics and Flavonoid of *Sgizium polyanthum* (Wight). Walp Leaves. *Int. J. Med. Arom. Plants*. 2 (2): 219-228.
- Linghuat LR. 2008. Uji Efek Ekstrak Etanol Biji Mahoni Terhadap Penurunan Kadar Gula Darah Tikus Putih [Skripsi]. Medan: Fakultas Farmasi, Universitas Sumatra Utara.
- Lian et al. 2007. The Use Of High-Fat/Carbohydrate Diet Fat and Streptozotocin-Treated Mice as a Suitable Animal Model Of Type 2 Diabetes Mellitus. Second. *J.Lab. Anim. Sci*. 34(1): 23.
- Mahreen R, Mohsin M and Nasreen Z. 2010. Significantly Increased Levels of Serum Malondialdehyde in Type 2 Diabetic with Myocardial Infarction. *Int J Diab Ctries* 30(1):49-51.
- Merck. 1987. *Buku Pedoman Kerja Kimia Klinik*. Jakarta: EGC.

- Mindiarti D. 2016. Perbandingan Aktivitas Antioksidan Fraksi Etil Asetat Ekstrak Etanol Buah Mangga Arumanis (*Mangifera indica* L.) dan Mangga Kweni (*Mangifera odorata* Griff.) Dengan Metode Dpph Serta Identifikasi Flavonoidnya. [Skripsi]. Semarang: Fakultas Farmasi, Universitas Wahid Hasyim.
- Nielsen F and Andersen HR. 1997. Plasma malondialdehyde as biomarker for oxidative stress: reference interval and effects of life-style factors. *Clinical Chemistry* 43(7):1209–1214.
- Nugroho. AE. 2006. *Review Hewan Percobaan Diabetes Mellitus: Patologi dan Mekanisme Aksi Diabetogenik*. Surakarta: Biodiversitas.
- Nunung H. 2015. Aktivitas Antioksidan Ekstrak Etanol Daun Salam. *Pena Medika*. 5(1) 55-59.
- Ohakawa H, Oshishi N, Yagi K. 1979. Assay For Lipid Peroxidation In Animal Tissue by Thiobarbituric Acid Reaction. *Anal. Biochem.* 75: 351-358.
- Paende PS. 2016. Efek Antihiperglikemik, Antioksidan dan Regenerasi Pankreas Fraksi Etil Asetat Ekstrak Etanol Kulit Batang Juwet (*Syzgium cumini* L.) Pada Tikus Putih Yang Diinduksi Aloksan. [Tesis]. Surakarta: Fakultas Farmasi, Universitas Setia Budi.
- Price, S dan Wilson, S. 1995. *Patofisiologi*. Edisi IV. Jakarta: EGC. Hal 1117.
- Priyanto. 2007. *Toksisitas Obat. Zat kimia dan terapi antidotum*. Depok: Lenskof.
- Ribeiro SMR., Barbosa LCA., Queiroz JH , Kno M, Schieber A. 2008. Phenolic compounds and antioxidant capacity of Brazilian mango (*Mangifera indica* L.) varieties. *Food Chemistry* 110: 620–626.
- Robinson T. 1995. *Kandungan organik Tumbuhan Tinggi*. Edisi VI. Padmawinata K, penerjemah: Bandung: ITB. Terjemahan dari: *The Organic Constituent Of Higher Plants*.
- Serang Y. 2015. Uji Aktivitas Hiperglikemik Penghambatan Stress Oksidatif dan Regenerasi Pankreas Ekstrak Etanol Kulit Buah Delima Pada Tikus Diabetes Yang Diinduksi Aloksan. [Tesis]. Surakarta: Fakultas Farmasi, Universitas Setia Budi.
- Setiawan B & Suhartono E. 2005. Stress Oksidatif dan Peran Antioksidan pada Diabetes Mellitus. *Majalah Kedokteran Indonesia* 55 (2): 86-91.
- Sigh *et al.* 2003. Chemistry and Medicinal. Properties of tinospora cordifolia. *Indian Journal Pharmacology*. 35: 83-91.

- Suarsana IN, Wresdiyati T, Suprayogi A. 2013. Respon Stres Oksidatif dan Pemberian Isoflavon terhadap Aktivitas Enzim Superoksida Dismutase dan Peroksidasi Lipid pada Hati Tikus. *JITV*. 18 (2): 146-152
- Sugianto. 1995. *Petunjuk praktek farmakologi. Edisi IV*. Laboratorium Farmakologi dan Toksikologi. Yogyakarta: Fakultas Farmasi Universitas Gajah Mada.
- Suharmiati. 2003. *Cermin Dunia Kedokteran* No. 140: Pengujian Bioaktivitas Antidiabetes Mellitus Tumbuhan Obar. Surabaya: Departemen Kesehatan RI.
- Sukandar et al. 2008. ISO Farmakoterapi buku 1. Jakarta: PT. ISFI Penerbitan.
- Sulistiyani. S Falah. W.T Wahyuni. T Sugaraha.S Tachibana.Syaefudin.2014. Cellular Mechanism Of The Cytotoxic Effect Of Extract From *Syzygium polyanthum* Leaves.*Academic Journals Inc*. 4(2): 90-101.
- Suryawanshi, N.P., Bhuteg, A.K., Nagdeote, A.A.Manoorkar, G.S. 2006. Study of Lipid Peroxide and Lipid Profile in Diabetic Mellitus. *Indian J. Biochem*, 21 (1): 126-130.
- Smith JB, Mangkoewidjojo S. 1988. *Pemeliharaan, Pembiakan, Penggunaan Hewan Percobaan di daerah Tropis*. Jakarta: Penerbit Universitas Indonesia.
- Szkudelski T. 2001.The Mechanism of Alloxan and Streptozotocin Action in B Cells of the Rat Pancreas.*Physiol Res* 50: 536-546.
- Tjay, T.H dan Rahardja, K. (2002). *Obat-obatan penting: Khasiat, Penggunaan, dan Efek-efek Sampingnya*. Edisi VI. Jakarta: Penerbit PT. Elex Media Komputindo.Hal 693-713
- Venkatalakshmi P et al. 2011. Antihyperglycemic activity of *Mangifera indica* Linn. in alloxan induced diabetic rats. *India J. Chem. Pharm. Res*. 3(5):653-659.
- Waspadji dan Sarwono. 1996. *Buku Ajar Ilmu Penyakit Dalam*. Jilid I. Edisi III. Jakarta: Gaya Baru. Hal 648.
- Widowati. 2008. Potensi Antioksidan Sebagai Antidiabetes. *Jurnal Kesehatan Masyarakat*. 7: 193-202.
- Wong, S. H. Y., Knight, J.A., Hopfer, S.M., Zaharia, O., Leach. Jr C.N., Sunderman Jr., F.W. 1987. Lipoperoxides in Plasma as Measured by Liquid Chromatographic Separation of malonaldehyde thiobarbituric Acid Adduct. *Clinical Chemistry*. 3(2): 214.

- Woodley M & Whelan A. 1995. *Pedoman Pengobatan*. Yogyakarta: Yayasan Essetia Medika. Hal 58.
- Yessi P. 2010. Pengaruh Pemberian Ekstrak Herba Anting-Anting (*Acalypha Indica* Linn.) Terhadap Kadar Malondialdehyde Pada Mencit Balb/C Induksi Streptozotocin. [Skripsi]. Surakarta: Fakultas Kedokteran, Universitas Sebelas Maret.

Lampiran 1. Surat keterangan hasil determinasi tanaman salam



UPT- LABORATORIUM

No : 100/DET/UPT-LAB/08/XI/2016
Hal : Surat Keterangan Determinasi Tumbuhan

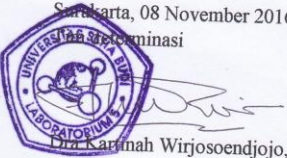
Menerangkan bahwa :


Nama : Lilik Kartini
NIM : 19133970 A
Fakultas : Farmasi Universitas Setia Budi

Telah mendeterminasikan tumbuhan : **Salam / *Syzygium polyanthum* (Wight.) Walp.**
Determinasi berdasarkan : Backer : Flora of Java
1b – 2b – 3b – 4b – 12b – 13b – 14b – 17b – 18b – 19b – 20b – 21b – 22b – 23b – 24b – 25b
– 26b – 27a – 28b – 29b – 30b – 31b – 403b – 404b – 406a – 407b. familia 84. Myrtaceae. 1b
– 7b – 8b – 11a – 12b. *Syzygium polyanthum* (Wight.) Walp. Sinonim :
***Eugenia polyantha* W**

Deskripsi :


Habitus : Pohon, percabangan monopodial.
Akar : Tunggang, berwarna coklat muda.
Batang : Bulat, permukaan licin, putih kecoklatan.
Daun : **Tunggal, bangun daun jorong sampai lonjong, panjang 9,5 – 16,1 cm, lebar 4,2 – 5,9 cm, ujung meruncing, pangkal runcing, tepi rata, pertulangan daun menyirip, duduk daun berhadapan, permukaan atas berwarna hijau tua mengkilat, permukaan bawah berwarna hijau muda.**
Bunga : majemuk, malai, tumbuh di ujung batang, kelopak berwarna hijau, bentuk seperti mangkuk, mahkota berwarna putih, benangsari berjumlah banyak.
Buah : Buni, bulat, waktu masih muda berwarna hijau, setelah tua berwarna coklat kehitaman.
Biji : Bentuk bulat, coklat.
Pustaka : Backer c.A. & Brink R.C.B. (1965): *Flora of Java* (Spermatophytes only).
N.V.P. Noordhoff – Groningen – The Netherlands

Surabaya, 08 November 2016
Surat Keterangan Determinasi

Dra. Kartimah Wirjosoendjojo, SU.



Jl. Let.jen Sutoyo, Mojosongo-Solo 57127 Telp.0271-852518, Fax.0271-853275
Homepage : www.setiabudi.ac.id, e-mail : info@setiabudi.ac.id

Lampiran 2. Surat keterangan hasil determinasi tanaman manga



UPT- LABORATORIUM

No : 100/DET/UPT-LAB/08/XI/2016
Hal : Surat Keterangan Determinasi Tumbuhan

Menerangkan bahwa :

Nama : Lilik Kartini
NIM : 19133970 A
Fakultas : Farmasi Universitas Setia Budi

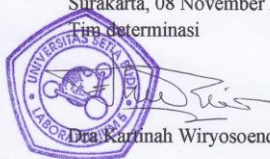
Telah mendeterminasikan tumbuhan : **Mangga (*Mangifera indica* L.)**
Hasil determinasi berdasarkan : Steenis : FLORA
1b – 2b – 3b – 4b – 6b – 7b – 9b – 10b – 11b – 12b – 13b – 14b – 15a. Golongan 8. 109b – 119b – 120b – 128b – 129b – 135b – 136b – 139b – 140b – 142b – 143b – 146b – 154b – 155b – 156b – 162b – 163b – 167b – 169b – 171b – 177a – 178a. Familia 68. Anacardiaceae.
1a – 2b. 1. *Mangifera* 1. *Mangifera indica* L.

Deskripsi :

Habitus : Pohon, tinggi mencapailebih dari 6 meter.
Akar : Tunggang, sangat panjang.
Batang : Percabangan monopodial, berkayu, coklat, bercabang banyak.
Daun : Tunggal, bangun lanset, ujung runcing, tepi rata, tulang daun menyirip, panjang 7 – 12 cm, lebar 2,5 – 3,5 cm, tangkai daun 3 – 5 cm, permukaan atas hijau mengkilat, permukaan bawah hijau suram, waktu muda berwarna kemerahan.
Bunga : Majemuk, malai, panjang sampai 40 cm, anak tangkai 2 – 4 mm. Bunga berbilangan 5; daun kelopak bulat telur memanjang; daun mahkota bulat telur memanjang, gundul, putih, panjang 3 – 5 mm; benangsari lk sama panjang dengan mahkota, staminodia pendek, seperti benangsari tertancap pada tonjolan dasar bunga.
Buah : Besar, bentuk, besar dan ukuran bervariasi, bentuk bola sampai elipsoid, dengan pangkal yang miring. Daging buah kuning atau oranye, berserabut atau tidak.
Biji : Batu berdinding tebal.
Akar : Tunggang.

Pustaka : Steenis C.G.G.J., Bloembergen S. Eyma P.J. (1978): *FLORA*, PT Pradnya Paramita. Jl. Kebon Sirih 46. Jakarta Pusat, 1978.


Surakarta, 08 November 2016
Tina determinasi




Dra. Kartinah Wiryosoendjojo, SU.

Jl. Let.jen Sutoyo, Mojosongo-Solo 57127 Telp.0271-852518, Fax.0271-853275
Homepage : www.setiabudi.ac.id, e-mail : info@setiabudi.ac.id

Lampiran 3. Surat keterangan glibenklamid



PT. FIRST MEDIPHARMA
 Jalan Raya Sumorame 41 Candi - Sidoarjo 61271, Jawa Timur, Indonesia
 Phone : (62-31) 896 3818 Fax. : (62-31) 896 6839



Sidoarjo , 10 Februari 2017

SURAT JALAN
No. : 006/FM/II/2017

Kepada Yth ,
Dekan Universitas Setia Budi
Fakultas Farmasi
Di Tempat

Dengan hormat ,
Bersama ini kami kirimkan bahan baku dari PT. First Medipharma untuk kepentingan penyelesaian penelitian tugas akhir mahasiswa Program studi S1 Fakultas Farmasi Universitas Setia Budi.
Atas nama:

Nama	NIM
Rizka Despianty	19133960A
Lilik Kartini	19133970A
Vianda Ekta Putri	19133924A
Marwin	19133939A
Karnila	19133721A

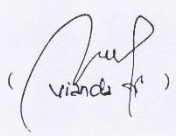
Adapun bahan baku tersebut adalah :

No.	Nama Bahan	Satuan	Jumlah
1.	Glibenclamide	gram	5
2.	Simvastatin	gram	2

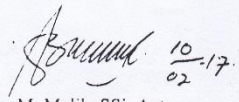
Beserta COA-nya

Demikian surat dari kami mohon diterima dengan baik, dan terima kasih

Penerima



Pengirim



M. Malik, SSi, Apt
Production Manager

Lampiran 4. Foto tanaman salam**Daun salam****Daun salam segar****Daun salam kering****Serbuk daun salam**

Lampiran 5. Foto tanaman mangga**Daun mangga****Daun mangga segar****Daun mangga kering****Serbuk daun mangga**

Lampiran 6. Peralatan dan perlengkapan dalam penelitian



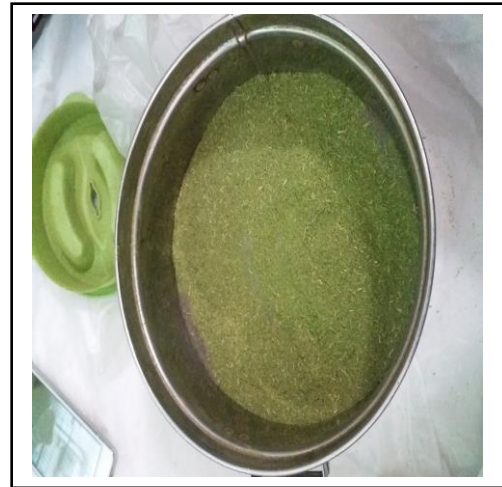
Sentrifuge



Oven



Botol maserasi



ayakan no 40



Rotary evaporator

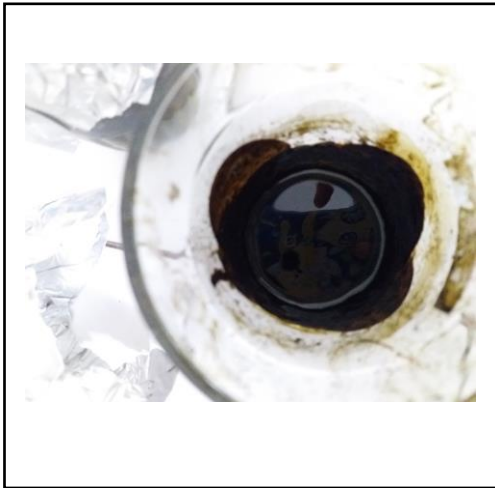


sterling bidwell

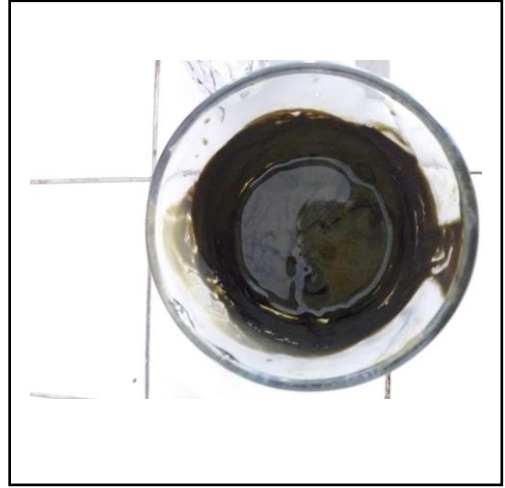


Homogenizer

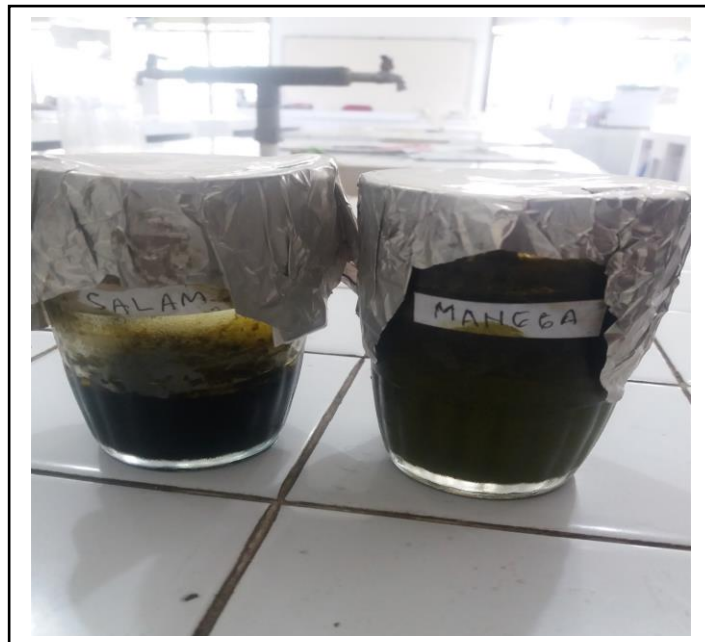
Lampiran 7. Foto ekstrak daun salam dan daun mangga



Ekstrak daun salam



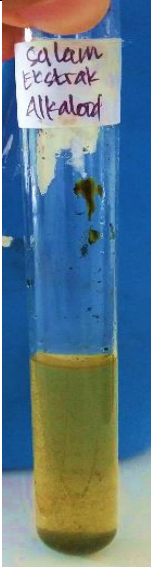












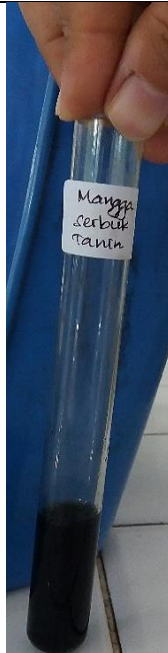


Ekstrak daun mangga



Ekstrak daun salam dan daun mangga

Lampiran 8. Foto identifikasi serbuk dan ekstrak daun salam dan daun mangga

Senyawa	Serbuk		Ekstrak	
	Salam	Mangga	Salam	Mangga
Alkaloid				
Flavonoid				

Saponin				
Tanin				

Lampiran 9. Hewan uji dan perlakuan



Kandang hewan



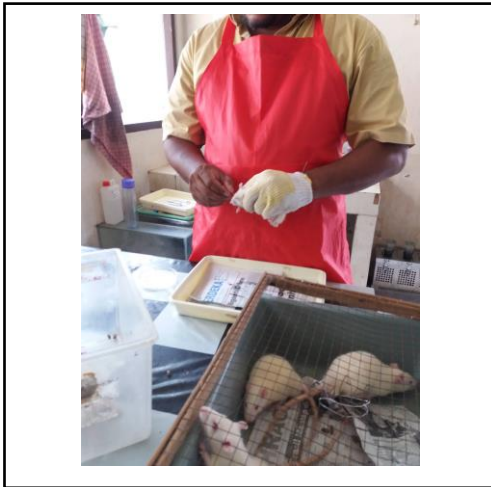
Hewan uji



Timbangan tikus



Induksi aloksan



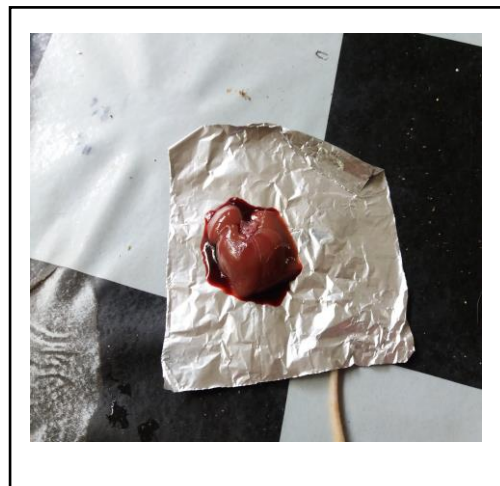
Ambil darah



Darah



Ambil organ



Organ Hati

Lampiran 10. Suspensi larutan stok

Larutan stok aloksan 1 %, glibenklamid 0,005%, CMC 0,5 %, esktrak salam 1 %, dan ekstrak mangga 1,5 %

Lampiran 11. Perhitungan rendemen serbuk terhadap tanaman

Rendemen serbuk terhadap tanaman

No	Daun	Berat basah (g)	Berat kering (g)	Rendemen (%)
1	Salam	6000	892	15
2	Mangga	5000	1332	27

Perhitungan rendemen

Rumus	Rendemen daun salam	Rendemen daun mangga
Rendemen $= \frac{\text{Berat kering (g)}}{\text{Berat basah (g)}} \times 100\%$	Rendemen $= \frac{892 \text{ g}}{6000 \text{ g}} \times 100\%$ $= 14,866\% \approx 15\%$	Rendemen $= \frac{1332 \text{ g}}{5000 \text{ g}} \times 100\%$ $= 26,64\% \approx 27\%$

Lampiran 12. Perhitungan rendemen ekstrak terhadap tanaman

Rendemen serbuk terhadap tanaman

No	Daun	Berat serbuk (g)	Berat ekstrak (g)	Rendemen (%)
1	Salam	250	24	10
2	Mangga	250	82	33

Perhitungan rendemen

Rumus	Rendemen daun salam	Rendemen daun mangga
Rendemen $= \frac{\text{Berat ekstrak(g)}}{\text{Berat serbuk (g)}} \times 100\%$	Rendemen $= \frac{24 \text{ g}}{250 \text{ g}} \times 100\%$ $= 9,6\% \approx 10\%$	Rendemen $= \frac{82 \text{ g}}{250 \text{ g}} \times 100\%$ $= 32,8\% \approx 33\%$

Lampiran 13. Penetapan kadar air serbuk

Daun	Berat serbuk (g)	Volume terukur (ml)	% kadar air
Salam	20	1,6	8
	20	1,8	9
	20	1,5	7,5
	Rata-rata		8,2
Mangga	20	1,7	8,5
	20	1,6	8
	20	1,7	8,5
	Rata-rata		8,3

Perhitungan Kadar air:

Rumus	% kadar salam	% kadar mangga
$\% \text{ Kadar air} = \frac{\text{Volume terukur (ml)}}{\text{Berat serbuk (g)}} \times 100\%$	$\frac{1,6 \text{ (ml)}}{20 \text{ (g)}} \times 100\%$ = 8 %	$\frac{1,7 \text{ (ml)}}{20 \text{ (g)}} \times 100\%$ = 8,5 %
	$\frac{1,8 \text{ (ml)}}{20 \text{ (g)}} \times 100\%$ = 9 %	$\frac{1,6 \text{ (ml)}}{20 \text{ (g)}} \times 100\%$ = 8 %
	$\frac{1,5 \text{ (ml)}}{20 \text{ (g)}} \times 100\%$ = 7,5 %	$\frac{1,7 \text{ (ml)}}{20 \text{ (g)}} \times 100\%$ = 8,5 %

Perhitungan rata-rata kadar air :

Rumus	Daun salam	Daun mangga
$\text{Rata-rata \% kadar} = \frac{\text{Total kadar air}}{3}$	$\% \text{ kadar} = \frac{(8+9+7,5)}{3}$ = 8,166 \approx 8,2 %	$\% \text{ kadar} = \frac{(8,5+8+8,5)}{3}$ = 8,333 \approx 8,3 %

Lampiran 14. Perhitungan dosis dan volume pemberian

1. Induksi aloksan

Aloksan 1 % dilarutkan dengan NaCl fisiologis 0,9 %. Dosis aloksan yang digunakan pada tikus adalah sebesar 150 mg/ kg bb tikus.

Larutan stok 1%

1 g / 100 ml

1000 mg / 100 ml

10 mg / ml

2. CMC 0,5%

Larutan stok 0,5%

0,5 g / 100 ml

500 mg / 100 ml

3. Glibenklamid dosis 0,09 mg / 200 g BB

- Larutan stok 0,005 %

0,005 g / 100 ml

5 mg / 100 ml

0,05mg / ml

4. Ekstrak daun salam tunggal dosis 18,34 mg / 200 g BB

- Larutan stok 1 %

1 g / 100 ml

1000 mg / 100 ml

10 mg / ml

- Dosis dan Volume pengoralan salam tunggal

Rumus		Dosis (mg)	Volume Pemberian (ml)
		$\text{Dosis} = \frac{\text{BB tikus (g)}}{200 \text{ (g)}} \times \text{Dosis}$	$\frac{\text{Dosis diperoleh (mg)}}{\text{Dosis diketahui (mg)}} \times \text{vol Pemberian}$
No	Berat Tikus	Dosis (mg)	Volume Pemberian (ml)

	(g)		
1	163	$\frac{163 \text{ g}}{200 \text{ g}} \times 18,34 \text{ mg} = 14,947 \text{ mg}$	$\frac{14,947 \text{ mg}}{10 \text{ mg}} \times 1 \text{ ml} = 1,49 \text{ ml}$
2	198	$\frac{193 \text{ g}}{200 \text{ g}} \times 18,34 \text{ mg} = 18,157 \text{ mg}$	$\frac{18,257 \text{ mg}}{10 \text{ mg}} \times 1 \text{ ml} = 1,82 \text{ ml}$
3	160	$\frac{160 \text{ g}}{200 \text{ g}} \times 18,34 \text{ mg} = 14,672 \text{ mg}$	$\frac{14,672 \text{ mg}}{10 \text{ mg}} \times 1 \text{ ml} = 1,46 \text{ ml}$
4	205	$\frac{205 \text{ g}}{200 \text{ g}} \times 18,34 \text{ mg} = 18,799 \text{ mg}$	$\frac{18,799 \text{ mg}}{10 \text{ mg}} \times 1 \text{ ml} = 1,88 \text{ ml}$
5	185	$\frac{185 \text{ g}}{200 \text{ g}} \times 18,34 \text{ mg} = 16,965 \text{ mg}$	$\frac{16,965 \text{ mg}}{10 \text{ mg}} \times 1 \text{ ml} = 1,70 \text{ ml}$

5. Ekstrak daun mangga tunggal dosis 29,4 mg / 200 g BB

- Larutan stok 1,5%

1,5 g / 100 ml

1500 mg / 100 ml

15 mg / ml

- Dosis dan Volume pengorolan mangga tunggal

Rumus		Dosis (mg)	Volume Pemberian (ml)
		$\text{Dosis} = \frac{\text{BB tikus (g)}}{200 \text{ (g)}} \times \text{Dosis}$	$\frac{\text{Dosis diperoleh (mg)}}{\text{Dosis diketahui (mg)}} \times \text{vol Pemberian}$
No	Berat Tikus (g)	Dosis (mg)	Volume Pemberian (ml)
1	165	$\frac{165 \text{ g}}{200 \text{ g}} \times 29,4 \text{ mg} = 24,255 \text{ mg}$	$\frac{24,255 \text{ mg}}{15 \text{ mg}} \times 1 \text{ ml} = 1,62 \text{ ml}$
2	162	$\frac{162 \text{ g}}{200 \text{ g}} \times 29,4 \text{ mg} = 23,814 \text{ mg}$	$\frac{23,814 \text{ mg}}{15 \text{ mg}} \times 1 \text{ ml} = 1,59 \text{ ml}$
3	159	$\frac{159 \text{ g}}{200 \text{ g}} \times 29,4 \text{ mg} = 23,373 \text{ mg}$	$\frac{23,373 \text{ mg}}{15 \text{ mg}} \times 1 \text{ ml} = 1,56 \text{ ml}$
4	161	$\frac{161 \text{ g}}{200 \text{ g}} \times 29,4 \text{ mg} = 23,667 \text{ mg}$	$\frac{23,667 \text{ mg}}{15 \text{ mg}} \times 1 \text{ ml} = 1,58 \text{ ml}$
5	164	$\frac{164 \text{ g}}{200 \text{ g}} \times 29,4 \text{ mg} = 24,108 \text{ mg}$	$\frac{24,108 \text{ mg}}{15 \text{ mg}} \times 1 \text{ ml} = 1,61 \text{ ml}$

6. Kombinasi ekstrak daun salam dan daun mangga 25 % : 75 %

Dosis kombinasi salam 4,585 mg dan mangga 22,05 mg

- Larutan stok salam 1 %

1 g / 100 ml

1000 mg / 100 ml

- Larutan stok mangga 1,5 %

1,5 g / 100 ml

1500 mg / 100 ml

15 mg / ml

- Dosis dan Volume pengoralan salam dan mangga

Rumus		Dosis (mg)	Volume Pemberian (ml)
		$\text{Dosis} = \frac{\text{BB tikus (g)}}{200 \text{ (g)}} \times \text{Dosis}$	$\frac{\text{Dosis diperoleh (mg)}}{\text{Dosis diketahui (mg)}} \times \text{vol Pemberian}$
No	Berat Tikus (g)	Dosis (mg) dan VP (ml) ekstrak daun salam	Dosis (mg) dan VP (ml) ekstrak daun mangga
1	172	<ul style="list-style-type: none"> ▪ $\text{Do} = \frac{172 \text{ g}}{200 \text{ g}} \times 4,585 \text{ mg} = 3,943 \text{ mg}$ ▪ $\text{VP} = \frac{3,943 \text{ mg}}{10 \text{ mg}} \times 1 \text{ ml} = 0,39 \text{ ml}$ 	<ul style="list-style-type: none"> ▪ $\text{Do} = \frac{172 \text{ g}}{200 \text{ g}} \times 22,05 \text{ mg} = 18,963 \text{ mg}$ ▪ $\text{VP} = \frac{18,963 \text{ mg}}{15 \text{ mg}} \times 1 \text{ ml} = 1,26 \text{ ml}$
2	162	<ul style="list-style-type: none"> ▪ $\text{Do} = \frac{162 \text{ g}}{200 \text{ g}} \times 4,585 \text{ mg} = 3,714 \text{ mg}$ ▪ $\text{VP} = \frac{3,714 \text{ mg}}{10 \text{ mg}} \times 1 \text{ ml} = 0,37 \text{ ml}$ 	<ul style="list-style-type: none"> ▪ $\text{Do} = \frac{162 \text{ g}}{200 \text{ g}} \times 22,05 \text{ mg} = 17,860 \text{ mg}$ ▪ $\text{VP} = \frac{17,860 \text{ mg}}{15 \text{ mg}} \times 1 \text{ ml} = 1,19 \text{ ml}$
3	166	<ul style="list-style-type: none"> ▪ $\text{Do} = \frac{166 \text{ g}}{200 \text{ g}} \times 4,585 \text{ mg} = 3,805 \text{ mg}$ ▪ $\text{VP} = \frac{3,805 \text{ mg}}{10 \text{ mg}} \times 1 \text{ ml} = 0,38 \text{ ml}$ 	<ul style="list-style-type: none"> ▪ $\text{Do} = \frac{166 \text{ g}}{200 \text{ g}} \times 22,05 \text{ mg} = 18,302 \text{ mg}$ ▪ $\text{VP} = \frac{18,302 \text{ mg}}{15 \text{ mg}} \times 1 \text{ ml} = 1,22 \text{ ml}$
4	156	<ul style="list-style-type: none"> ▪ $\text{Do} = \frac{156 \text{ g}}{200 \text{ g}} \times 4,585 \text{ mg} = 3,576 \text{ mg}$ ▪ $\text{VP} = \frac{3,576 \text{ mg}}{10 \text{ mg}} \times 1 \text{ ml} = 0,36 \text{ ml}$ 	<ul style="list-style-type: none"> ▪ $\text{Do} = \frac{156 \text{ g}}{200 \text{ g}} \times 22,05 \text{ mg} = 17,199 \text{ mg}$ ▪ $\text{VP} = \frac{17,199 \text{ mg}}{15 \text{ mg}} \times 1 \text{ ml} = 1,15 \text{ ml}$
5	154	<ul style="list-style-type: none"> ▪ $\text{Do} = \frac{154 \text{ g}}{200 \text{ g}} \times 4,585 \text{ mg} = 3,530 \text{ mg}$ ▪ $\text{VP} = \frac{3,530 \text{ mg}}{10 \text{ mg}} \times 1 \text{ ml}$ 	<ul style="list-style-type: none"> ▪ $\text{Do} = \frac{154 \text{ g}}{200 \text{ g}} \times 22,05 \text{ mg} = 16,978 \text{ mg}$ ▪ $\text{VP} = \frac{16,978 \text{ mg}}{15 \text{ mg}} \times 1 \text{ ml}$

		= 0,35 ml	= 1,13 ml
--	--	-----------	-----------

7. Kombinasi ekstrak daun salam dan daun mangga 75 % : 25 %

Dosis kombinasi salam 13,755 mg dan mangga 7,35 mg

- Larutan stok salam 1 %

1 g / 100 ml

1000 mg / 100 ml

- Larutan stok mangga 1,5 %

1,5 g / 100 ml

1500 mg / 100 ml

15 mg / ml

- Dosis dan Volume pengorolan salam dan mangga

Rumus		Dosis (mg)	Volume Pemberian (ml)
		$\text{Dosis} = \frac{\text{BB tikus (g)}}{200 \text{ (g)}} \times \text{Dosis}$	$\frac{\text{Dosis diperoleh (mg)}}{\text{Dosis diketahui (mg)}} \times \text{vol Pemberian}$
No	Berat Tikus (g)	Dosis (mg) dan VP (ml) ekstrak daun salam	Dosis (mg) dan VP (ml) ekstrak daun mangga
1	159	<ul style="list-style-type: none"> ▪ $\text{Do} = \frac{159 \text{ g}}{200 \text{ g}} \times 13,755 \text{ mg}$ = 10,935 mg ▪ $\text{VP} = \frac{10,935 \text{ mg}}{10 \text{ mg}} \times 1 \text{ ml}$ = 1,09 ml 	<ul style="list-style-type: none"> ▪ $\text{Do} = \frac{159 \text{ g}}{200 \text{ g}} \times 7,35 \text{ mg}$ = 5,843 mg ▪ $\text{VP} = \frac{5,843 \text{ mg}}{15 \text{ mg}} \times 1 \text{ ml}$ = 0,39 ml
2	155	<ul style="list-style-type: none"> ▪ $\text{Do} = \frac{155 \text{ g}}{200 \text{ g}} \times 13,755 \text{ mg}$ = 10,660 mg ▪ $\text{VP} = \frac{10,660 \text{ mg}}{10 \text{ mg}} \times 1 \text{ ml}$ = 1,07 ml 	<ul style="list-style-type: none"> ▪ $\text{Do} = \frac{155 \text{ g}}{200 \text{ g}} \times 7,35 \text{ mg}$ = 5,696 mg ▪ $\text{VP} = \frac{5,696 \text{ mg}}{15 \text{ mg}} \times 1 \text{ ml}$ = 0,38 ml
3	153	<ul style="list-style-type: none"> ▪ $\text{Do} = \frac{153 \text{ g}}{200 \text{ g}} \times 13,755 \text{ mg}$ = 10,523 mg ▪ $\text{VP} = \frac{10,523 \text{ mg}}{10 \text{ mg}} \times 1 \text{ ml}$ = 1,05 ml 	<ul style="list-style-type: none"> ▪ $\text{Do} = \frac{153 \text{ g}}{200 \text{ g}} \times 7,35 \text{ mg}$ = 5,623 mg ▪ $\text{VP} = \frac{5,623 \text{ mg}}{15 \text{ mg}} \times 1 \text{ ml}$ = 0,37 ml
4	157	<ul style="list-style-type: none"> ▪ $\text{Do} = \frac{157 \text{ g}}{200 \text{ g}} \times 13,755 \text{ mg}$ 	<ul style="list-style-type: none"> ▪ $\text{Do} = \frac{157 \text{ g}}{200 \text{ g}} \times 7,35 \text{ mg}$

		$= 10,798 \text{ mg}$ $\blacksquare \text{ VP} = \frac{10,798 \text{ mg}}{10 \text{ mg}} \times 1 \text{ ml}$ $= 1,08 \text{ ml}$	$= 5,769 \text{ mg}$ $\blacksquare \text{ VP} = \frac{5,769 \text{ mg}}{15 \text{ mg}} \times 1 \text{ ml}$ $= 0,38 \text{ ml}$
5	163	$\blacksquare \text{ Do} = \frac{163 \text{ g}}{200 \text{ g}} \times 13,755 \text{ mg}$ $= 11,210 \text{ mg}$ $\blacksquare \text{ VP} = \frac{11,210 \text{ mg}}{10 \text{ mg}} \times 1 \text{ ml}$ $= 1,12 \text{ ml}$	$\blacksquare \text{ Do} = \frac{163 \text{ g}}{200 \text{ g}} \times 7,35 \text{ mg}$ $= 5,990 \text{ mg}$ $\blacksquare \text{ VP} = \frac{5,990 \text{ mg}}{15 \text{ mg}} \times 1 \text{ ml}$ $= 0,40 \text{ ml}$

8. Kombinasi ekstrak daun salam dan daun mangga 50 % : 50 %

Dosis kombinasi salam 9,17 mg dan mangga 14,7 mg = 23,87 mg

- Larutan stok salam 1 %

1 g / 100 ml

1000 mg / 100 ml

- Larutan stok mangga 1,5 %

1,5 g / 100 ml

1500 mg / 100 ml

15 mg / ml

- Dosis dan Volume pengorolan salam dan mangga

Rumus		Dosis (mg)	Volume Pemberian (ml)
		$\text{Dosis} = \frac{\text{BB tikus (g)}}{200 \text{ (g)}} \times \text{Dosis}$	$\frac{\text{Dosis diperoleh (mg)}}{\text{Dosis diketahui (mg)}} \times \text{vol Pemberian}$
No	Berat Tikus (g)	Dosis (mg) dan VP (ml) ekstrak daun salam	Dosis (mg) dan VP (ml) ekstrak daun mangga
1	164	$\blacksquare \text{ Do} = \frac{164 \text{ g}}{200 \text{ g}} \times 9,17 \text{ mg}$ $= 7,519 \text{ mg}$ $\blacksquare \text{ VP} = \frac{7,519 \text{ mg}}{10 \text{ mg}} \times 1 \text{ ml}$ $= 0,75 \text{ ml}$	$\blacksquare \text{ Do} = \frac{164 \text{ g}}{200 \text{ g}} \times 14,7 \text{ mg}$ $= 12,054 \text{ mg}$ $\blacksquare \text{ VP} = \frac{12,054 \text{ mg}}{15 \text{ mg}} \times 1 \text{ ml}$ $= 0,80 \text{ ml}$
2	166	$\blacksquare \text{ Do} = \frac{166 \text{ g}}{200 \text{ g}} \times 9,17 \text{ mg}$ $= 7,611 \text{ mg}$ $\blacksquare \text{ VP} = \frac{7,611 \text{ mg}}{10 \text{ mg}} \times 1 \text{ ml}$ $= 0,76 \text{ ml}$	$\blacksquare \text{ Do} = \frac{166 \text{ g}}{200 \text{ g}} \times 14,7 \text{ mg}$ $= 12,201 \text{ mg}$ $\blacksquare \text{ VP} = \frac{12,201 \text{ mg}}{15 \text{ mg}} \times 1 \text{ ml}$ $= 0,81 \text{ ml}$

3	161	<ul style="list-style-type: none"> ▪ $Do = \frac{161 \text{ g}}{200 \text{ g}} \times 9,17 \text{ mg}$ = 7,382 mg ▪ $VP = \frac{7,382 \text{ mg}}{10 \text{ mg}} \times 1 \text{ ml}$ = 0,74 ml 	<ul style="list-style-type: none"> ▪ $Do = \frac{161 \text{ g}}{200 \text{ g}} \times 14,7 \text{ mg}$ = 11,834 mg ▪ $VP = \frac{11,834 \text{ mg}}{15 \text{ mg}} \times 1 \text{ ml}$ = 0,79 ml
4	154	<ul style="list-style-type: none"> ▪ $Do = \frac{154 \text{ g}}{200 \text{ g}} \times 9,17 \text{ mg}$ = 7,061 mg ▪ $VP = \frac{7,061 \text{ mg}}{10 \text{ mg}} \times 1 \text{ ml}$ = 0,71 ml 	<ul style="list-style-type: none"> ▪ $Do = \frac{154 \text{ g}}{200 \text{ g}} \times 14,7 \text{ mg}$ = 11,319 mg ▪ $VP = \frac{11,319 \text{ mg}}{15 \text{ mg}} \times 1 \text{ ml}$ = 0,75 ml
5	150	<ul style="list-style-type: none"> ▪ $Do = \frac{150 \text{ g}}{200 \text{ g}} \times 9,17 \text{ mg}$ = 6,878 mg ▪ $VP = \frac{6,878 \text{ mg}}{10 \text{ mg}} \times 1 \text{ ml}$ = 0,69 ml 	<ul style="list-style-type: none"> ▪ $Do = \frac{150 \text{ g}}{200 \text{ g}} \times 14,7 \text{ mg}$ = 11,025 mg ▪ $VP = \frac{11,025 \text{ mg}}{15 \text{ mg}} \times 1 \text{ ml}$ = 0,74 ml

Lampiran 15. Perhitungan kadar glukosa darah dan kadar MDA

Perhitungan Kadar glukosa darah T0

Standar GODPAP: 0,264

$$\text{Kadar glukosa} = \frac{\text{Absorbansi Sampel}}{\text{Absorbansi Standar}} \times 100 \text{ mg/dl}$$

$$\text{Kadar glukosa} = \frac{0,169}{0,264} \times 100 \text{ mg/dl}$$

$$= 64,02 \text{ mg/dl}$$

Tabel 1. Hasil pengukuran kadar glukosa darah T0

Perlakuan	Tikus	Absorbansi	Kadar Glukosa T0 (mg/dl)
Kelompok Normal	1	0,169	64,02
	2	0,166	62,88
	3	0,165	62,50
	4	0,162	61,36
	5	0,164	62,12
Rata-rata ± SD			62,576 ± 0,984
Kelompok Negatif (DM)	1	0,172	65,15
	2	0,165	62,50
	3	0,162	61,36
	4	0,169	64,02
	5	0,172	65,15
Rata-rata ± SD			63,636 ± 1,673
Kelompok positif (Glibenklamid)	1	0,168	63,64
	2	0,173	65,53
	3	0,168	63,64
	4	0,172	65,15
	5	0,164	62,12
Rata-rata ± SD			63,336 ± 0,680
Ekstrak salam tunggal	1	0,161	60,98
	2	0,164	62,12
	3	0,162	61,36
	4	0,170	64,39
	5	0,165	62,50
Rata-rata ± SD			62,27 ± 1,329
Ekstrak mangga tunggal	1	0,169	64,02
	2	0,166	62,88
	3	0,170	64,39
	4	0,165	62,50
	5	0,166	62,88
Rata-rata ± SD			63,334 ± 0,820

Kombinasi ekstrak 25% : 75 %	1	0,166	62,88
	2	0,160	60,61
	3	0,167	63,26
	4	0,165	62,50
	5	0,162	61,36
Rata-rata ± SD			62,122 ± 1,104
Kombinasi ekstrak 75% : 25 %	1	0,170	64,39
	2	0,174	65,91
	3	0,180	68,18
	4	0,177	67,05
	5	0,183	69,32
Rata-rata ± SD			66,97 ± 1,922
Kombinasi ekstrak 50% : 50 %	1	0,189	71,59
	2	0,185	70,08
	3	0,178	67,42
	4	0,179	67,80
	5	0,183	69,32
Rata-rata ± SD			69,242 ± 1,704

Perhitungan Kadar glukosa darah T1

Standar GODPAP: 0,272

$$\text{Kadar glukosa} = \frac{\text{Absorbansi Sampel}}{\text{Absorbansi Standar}} \times 100 \text{ mg/dl}$$

$$\text{Kadar glukosa} = \frac{0,175}{0,272} \times 100 \text{ mg/dl}$$

$$= 64,34 \text{ mg/dl}$$

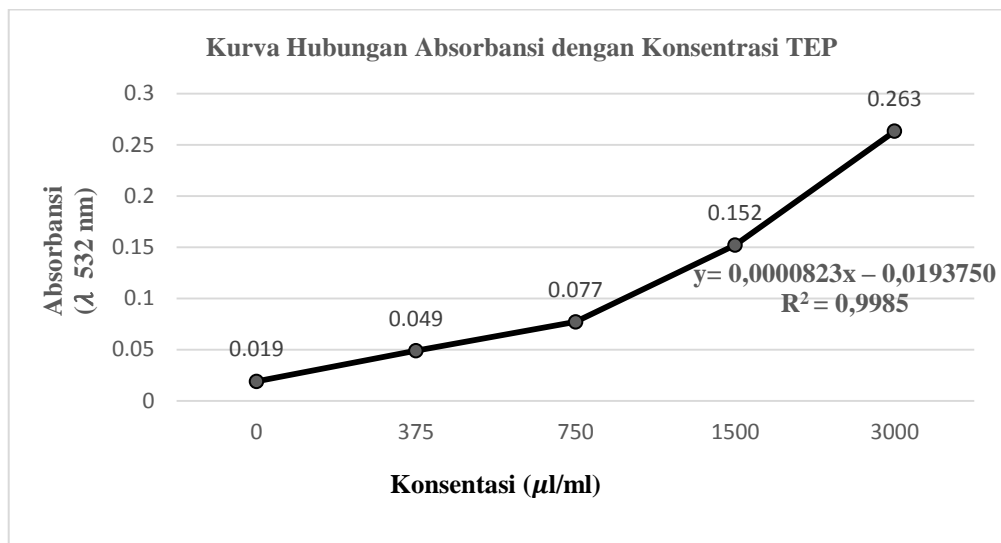
Tabel 2. Hasil pengukuran kadar glukosa darah T1

Perlakuan	Tikus	Absorbansi	Kadar Glukosa T1 (mg/dl)
Kelompok Normal	1	0,175	64,34
	2	0,174	63,97
	3	0,171	62,87
	4	0,169	62,13
	5	0,174	63,97
Rata-rata ± SD			63,456 ± 0,924
Kelompok Negatif (DM)	1	0,550	202,21
	2	0,543	199,63
	3	0,540	198,53
	4	0,549	201,84
	5	0,547	201,10
Rata-rata ± SD			200,662 ± 1,548
Kelompok positif (Glibenklamid)	1	0,547	201,10
	2	0,553	203,31

	3	0,548	201,47
	4	0,549	201,84
	5	0,543	199,63
Rata-rata \pm SD			201,47 \pm 1,327
Ekstrak salam tunggal	1	0,540	198,53
	2	0,542	199,26
	3	0,544	200,00
	4	0,550	202,21
	5	0,543	199,63
Rata-rata \pm SD			199,926 \pm 1,389
Ekstrak mangga tunggal	1	0,549	201,84
	2	0,542	199,26
	3	0,549	201,84
	4	0,545	200,37
	5	0,546	200,74
Rata-rata \pm SD			200,81 \pm 1,087
Kombinasi ekstrak 25% : 75 %	1	0,544	200,00
	2	0,540	198,53
	3	0,547	201,10
	4	0,543	199,63
	5	0,547	201,10
Rata-rata \pm SD			200,072 \pm 1,083
Kombinasi ekstrak 75% : 25 %	1	0,542	199,26
	2	0,550	202,21
	3	0,560	205,88
	4	0,546	200,74
	5	0,547	201,10
Rata-rata \pm SD			201,072 \pm 2,494
Kombinasi ekstrak 50% : 50 %	1	0,564	207,35
	2	0,554	203,68
	3	0,530	194,85
	4	0,558	205,15
	5	0,542	199,26
Rata-rata \pm SD			202,058 \pm 4,999

Tabel 3. Hasil pengukuran Absorbansi kurva standar

Konsentrasi (μ l/ml)	Absorbansi
0	0,019
375	0,049
750	0,077
1500	0,152
3000	0,263



Gambar 1. Kurva standar TEP

Perhitungan Kadar MDA hati tikus

Persamaan kurva :

$$Y = 0,0000823 x - 0,0193750$$

$$0,021 = 0,0000823 x - 0,0193750$$

$$X = 1,08 \text{ nmol/g}$$

Tabel 4. Hasil pengukuran kadar MDA hati

Perlakuan	Tikus	Absorbansi	Kadar MDA (nmol/g)
Kelompok Normal	1	0,021	1,08
	2	0,026	1,34
	3	0,022	1,13
	4	0,025	1,29
	5	0,023	1,18
Rata-rata ± SD			1,204 ± 0,109
Kelompok Negatif (DM)	1	0,145	7,48
	2	0,160	8,25
	3	0,147	7,58
	4	0,155	8,00
	5	0,162	8,36
Rata-rata ± SD			7,934 ± 0,393
Kelompok positif (Glibenklamid)	1	0,033	1,70
	2	0,036	1,85
	3	0,042	2,16
	4	0,029	1,49
	5	0,030	1,54

Rata-rata ± SD			1,748 ± 0,270
Ekstrak salam tunggal	1	0,040	2,06
	2	0,046	2,37
	3	0,041	2,11
	4	0,051	2,63
	5	0,045	2,32
Rata-rata ± SD			2,298 ± 0,228
Ekstrak mangga tunggal	1	0,099	5,11
	2	0,087	4,49
	3	0,082	4,23
	4	0,079	4,07
	5	0,082	4,23
Rata-rata ± SD			4,426 ± 0,411
Kombinasi ekstrak 25% : 75 %	1	0,068	3,51
	2	0,072	3,71
	3	0,066	3,40
	4	0,060	3,09
	5	0,070	3,61
Rata-rata ± SD			3,464 ± 0,239
Kombinasi ekstrak 75% : 25 %	1	0,049	2,52
	2	0,050	2,58
	3	0,047	2,42
	4	0,044	2,27
	5	0,048	2,47
Rata-rata ± SD			2,452 ± 0,118
Kombinasi ekstrak 50% : 50 %	1	0,060	3,09
	2	0,058	2,99
	3	0,055	2,83
	4	0,062	3,20
	5	0,061	3,14
Rata-rata ± SD			3,05 ± 0,145

Lampiran 16. Analisis Data

Data yang diperoleh kemudian dianalisis secara statistik dengan uji *Anova* menggunakan program *SPSSfor Windows Release 17.0* dan $p < 0,05$ dipilih sebagai tingkat minimal signifikansinya. Syarat untuk melakukan uji *Anova* yaitu data harus terdistribusi normal. Berdasarkan uji distribusi normal *Shapiro-Wilk* didapatkan nilai signifikansi untuk masing-masing kelompok $p > 0,05$ sehingga dapat diambil kesimpulan bahwa distribusi kelompok tersebut adalah normal. Berikut ini hasil uji normalitas *Shapiro-Wilk* :

Tests of Normality

		Kolmogorov-Smirnov ^a			Shapiro-Wilk		
		Statistic	df	Sig.	Statistic	df	Sig.
Kadar MDA	Kelompok kontrol normal	.187	5	.200 [*]	.945	5	.699
	Kelompok kontrol negatif	.216	5	.200 [*]	.903	5	.428
	Kelompok kontrol positif	.179	5	.200 [*]	.926	5	.567
	Kelompok salam tunggal	.195	5	.200 [*]	.938	5	.652
	Kelompok mangga tunggal	.283	5	.200 [*]	.842	5	.169
	Kelompok kombinasi 25% : 75%	.194	5	.200 [*]	.940	5	.663
	Kelompok kombinasi 75% : 25%	.193	5	.200 [*]	.955	5	.772
	Kelompok kombinasi 50% : 50%	.209	5	.200 [*]	.945	5	.703

a. Lilliefors Significance Correction

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

Output Shapiro-Wilk diperoleh hasil signifikansi masing-masing kelompok adalah $> 0,05$ karena nilai $p > 0,05$ maka dapat ditarik kesimpulan bahwa data tersebut adalah terdistribusi normal. Syarat uji *Anova* terpenuhi sehingga uji *Anova* dapat dilakukan. Hasil uji *Anova* ditunjukkan dalam tabel berikut:

Test of Homogeneity of Variances

Kadar MDA

Levene Statistic	df1	df2	Sig.
2.223	7	32	.058

ANOVA

Kadar MDA

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	156.762	7	22.395	324.600	.000
Within Groups	2.208	32	.069		
Total	158.970	39			

Dari hasil *Significancy Test homogeneity of variances* didapatkan angka 0,058 ($p>0,05$) sehingga dapat diambil kesimpulan bahwa tidak ada perbedaan varian antara kelompok data yang dibandingkan, karena varian data sama, maka hasil uji Anova pada tabel tersebut adalah valid. Berdasarkan uji Anova didapatkan nilai signifikansi $p=0,000$ sehingga untuk masing-masing kelompok memiliki perbedaan kadar MDA secara bermakna. Uji dilanjutkan dengan Post Hoc Test untuk melihat apakah terdapat perbedaan yang signifikan di antara masing-masing kelompok perlakuan.

Multiple Comparisons

Kadar MDA
Tukey HSD

(I) Perlakuan kelompok	(J) Perlakuan kelompok	Mean Difference (I-J)	Std. Error	Sig.	95% Confidence Interval	
					Lower Bound	Upper Bound
Kelompok kontrol normal	Kelompok kontrol negatif	-6.73000 [*]	.16612	.000	-7.2681	-6.1919
	Kelompok kontrol positif	-.54400 [*]	.16612	.046	-1.0821	-.0059
	Kelompok salam tunggal	-1.09400 [*]	.16612	.000	-1.6321	-.5559
	Kelompok mangga tunggal	-3.22200 [*]	.16612	.000	-3.7601	-2.6839
	Kelompok kombinasi 25% : 75%	-2.26000 [*]	.16612	.000	-2.7981	-1.7219
	Kelompok kombinasi 75% : 25%	-1.24800 [*]	.16612	.000	-1.7861	-.7099
	Kelompok kombinasi 50% : 50%	-1.84600 [*]	.16612	.000	-2.3841	-1.3079
Kelompok kontrol negatif	Kelompok kontrol normal	6.73000 [*]	.16612	.000	6.1919	7.2681
	Kelompok kontrol positif	6.18600 [*]	.16612	.000	5.6479	6.7241
	Kelompok salam tunggal	5.63600 [*]	.16612	.000	5.0979	6.1741
	Kelompok mangga tunggal	3.50800 [*]	.16612	.000	2.9699	4.0461
	Kelompok kombinasi 25% : 75%	4.47000 [*]	.16612	.000	3.9319	5.0081
	Kelompok kombinasi 75% : 25%	5.48200 [*]	.16612	.000	4.9439	6.0201
	Kelompok kombinasi 50% : 50%	4.88400 [*]	.16612	.000	4.3459	5.4221
Kelompok kontrol positif	Kelompok kontrol normal	.54400 [*]	.16612	.046	.0059	1.0821
	Kelompok kontrol negatif	-6.18600 [*]	.16612	.000	-6.7241	-5.6479
	Kelompok salam tunggal	-.55000 [*]	.16612	.042	-1.0881	-.0119
	Kelompok mangga tunggal	-2.67800 [*]	.16612	.000	-3.2161	-2.1399
	Kelompok kombinasi 25% : 75%	-1.71600 [*]	.16612	.000	-2.2541	-1.1779

	Kelompok kombinasi 75% : 25%	- .70400	.16612	.004	-1.2421	-.1659
	Kelompok kombinasi 50% : 50%	-1.30200	.16612	.000	-1.8401	-.7639
Kelompok salam tunggal	Kelompok kontrol normal	1.09400	.16612	.000	.5559	1.6321
	Kelompok kontrol negatif	-5.63600	.16612	.000	-6.1741	-5.0979
	Kelompok kontrol positif	.55000	.16612	.042	.0119	1.0881
	Kelompok mangga tunggal	-2.12800	.16612	.000	-2.6661	-1.5899
	Kelompok kombinasi 25% : 75%	-1.16600	.16612	.000	-1.7041	-.6279
	Kelompok kombinasi 75% : 25%	-.15400	.16612	.981	-.6921	.3841
	Kelompok kombinasi 50% : 50%	-.75200	.16612	.002	-1.2901	-.2139
Kelompok mangga tunggal	Kelompok kontrol normal	3.22200	.16612	.000	2.6839	3.7601
	Kelompok kontrol negatif	-3.50800	.16612	.000	-4.0461	-2.9699
	Kelompok kontrol positif	2.67800	.16612	.000	2.1399	3.2161
	Kelompok salam tunggal	2.12800	.16612	.000	1.5899	2.6661
	Kelompok kombinasi 25% : 75%	.96200	.16612	.000	.4239	1.5001
	Kelompok kombinasi 75% : 25%	1.97400	.16612	.000	1.4359	2.5121
	Kelompok kombinasi 50% : 50%	1.37600	.16612	.000	.8379	1.9141
Kelompok kombinasi 25% : 75%	Kelompok kontrol normal	2.26000	.16612	.000	1.7219	2.7981
	Kelompok kontrol negatif	-4.47000	.16612	.000	-5.0081	-3.9319
	Kelompok kontrol positif	1.71600	.16612	.000	1.1779	2.2541
	Kelompok salam tunggal	1.16600	.16612	.000	.6279	1.7041
	Kelompok mangga tunggal	-.96200	.16612	.000	-1.5001	-.4239
	Kelompok kombinasi 75% : 25%	1.01200	.16612	.000	.4739	1.5501
	Kelompok kombinasi 50% : 50%	.41400	.16612	.235	-.1241	.9521
Kelompok kombinasi 75% : 25%	Kelompok kontrol normal	1.24800	.16612	.000	.7099	1.7861
	Kelompok kontrol negatif	-5.48200	.16612	.000	-6.0201	-4.9439
	Kelompok kontrol positif	.70400	.16612	.004	.1659	1.2421
	Kelompok salam tunggal	.15400	.16612	.981	-.3841	.6921
	Kelompok mangga tunggal	-1.97400	.16612	.000	-2.5121	-1.4359
	Kelompok kombinasi 25% : 75%	-1.01200	.16612	.000	-1.5501	-.4739
	Kelompok kombinasi 50% : 50%	-.59800	.16612	.021	-1.1361	-.0599
Kelompok kombinasi 50% : 50%	Kelompok kontrol normal	1.84600	.16612	.000	1.3079	2.3841
	Kelompok kontrol negatif	-4.88400	.16612	.000	-5.4221	-4.3459
	Kelompok kontrol positif	1.30200	.16612	.000	.7639	1.8401
	Kelompok salam tunggal	.75200	.16612	.002	.2139	1.2901
	Kelompok mangga tunggal	-1.37600	.16612	.000	-1.9141	-.8379

Kelompok kombinasi 25% : 75%	-.41400	.16612	.235	-.9521	.1241
Kelompok kombinasi 75% : 25%	.59800	.16612	.021	.0599	1.1361

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

Homogeneous Subsets

Kadar MDA

Tukey HSD^a

Perlakuan kelompok	N	Subset for alpha = 0.05					
		1	2	3	4	5	6
Kelompok kontrol normal	5	1.2040					
Kelompok kontrol positif	5		1.7480				
Kelompok salam tunggal	5			2.2980			
Kelompok kombinasi 75% : 25%	5			2.4520			
Kelompok kombinasi 50% : 50%	5				3.0500		
Kelompok kombinasi 25% : 75%	5				3.4640		
Kelompok mangga tunggal	5					4.4260	
Kelompok kontrol negatif	5						7.9340
Sig.		1.000	1.000	.981	.235	1.000	1.000

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 5.000.

Kesimpulannya yaitu pada output Anova terlihat bahwa nilai $F = 324,600$ dengan probabilitas $0,000 < 0,05$ maka H_0 ditolak, yang berarti delapan kelompok perlakuan tersebut memang berbeda nyata. Tanda * diangka Mean Difference pada tukey test menunjukkan bahwa perbedaan tiap kelompok perlakuan adalah signifikan. Bagian Homogeneous Subsets terlihat kelompok perlakuan terbagi dalam enam grup, yang menunjukkan : kadar kelompok 4 dan kelompok 7 tidak mempunyai perbedaan yang nyata karena terdapat dalam satu grup, kadar kelompok 8 dan kelompok 6 tidak mempunyai perbedaan yang nyata karena terdapat dalam satu grup dan kadar kelompok 1, 2, 3, 5, 4/7, 6/8 mempunyai perbedaan yang nyata, karena tidak terdapat dalam satu grup.