

EFEK PEMBERIAN EKSTRAK DAUN BINAHONG (*Anredera cordifolia*)

TERHADAP PROFIL SEL BETA PANKREAS PADA TIKUS WISTAR

DIABETES MELLITUS TIPE 2

TUGAS AKHIR

Untuk Memenuhi Persyaratan

Memperoleh Gelar Sarjana Farmasi



Oleh:

Aderiel Anes K

NIM: 105070500111041

PROGRAM STUDI FARMASI

FAKULTAS KEDOKTERAN

UNIVERSITAS BRAWIJAYA

MALANG

2014

HALAMAN PENGESAHAN

TUGAS AKHIR

**EFEK PEMBERIAN EKSTRAK DAUN BINAHONG (*Anredera cordifolia*)
TERHADAP PROFIL SEL BETA PANKREAS PADA TIKUS (*Rattus
novergicus*) STRAIN WISTAR DIABETES MELLITUS TIPE 2**

Oleh:

Aderiel Anes K

NIM: 105070500111041

Telah diuji pada

Hari : Senin

Tanggal : 30 Juni 2014

dan dinyatakan lulus oleh:

Penguji I

Dr. Sri Winarsih, M.Si., Apt.

NIP. 19540823 198103 2 001

Penguji II/Pembimbing I

Penguji III/Pembimbing II

Dra. Diana Lyrawati, Apt., M.S., Ph.D

NIP. 19681101 199303 2 004

Dra. S. J. Iswarin, M.Si., Apt.

NIP. 19510728 198403 2 001

Mengetahui

Plt. Ketua Program Studi Farmasi

Drs. Bambang Sidharta, MS., Apt.

NIK.140148623

KATA PENGANTAR

Puji dan syukur penulis panjatkan kehadiran Tuhan Yesus Kristus, yang telah melimpahkan berkat dan anugerah-Nya kepada penulis sehingga penulis dapat menyelesaikan skripsi ini yang berjudul Efek Pemberian Ekstrak Daun Binahong (*Anredera cordifolia*) terhadap Profil Sel Beta Pankreas pada Tikus Wistar Diabetes Melitus Tipe 2.

Pada penyusunan Skripsi ini tidak semata-mata hasil kerja penulis sendiri, melainkan juga berkat bimbingan dan dorongan dari pihak-pihak yang telah membantu, baik secara materi maupun secara non materi. Maka dari itu penulis ingin mengucapkan banyak terima kasih yang tak terhingga serta penghargaan yang setinggi-tingginya kepada orang-orang yang telah membantu penulis secara langsung maupun tidak langsung kepada yang terhormat:

1. Yang tersayang dan yang tercinta papa dan mama yang telah menyayangi, mencintai dan mendukung penulis secara menyeluruh semenjak penulis di dalam kandungan sampai dengan tumbuh dewasa dengan tubuh yang sehat dan jiwa yang kuat seperti saat ini, sehingga penulis dapat menyelesaikan jenjang pendidikan perguruan tinggi tanpa kekurangan sesuatu apapun.
2. Drs. Bambang Sidharta, MS., Apt. selaku Kepala Jurusan Program Studi Farmasi yang telah membimbing penulis selama masa perkuliahan.

3. Ayuk Lawuningtyas, S.Farm, Apt. selaku Dosen Wali yang telah banyak membimbing penulis dalam proses akademik selama masa perkuliahan.
4. Dr. Sri Winarsih, M.Si., Apt. selaku dosen penguji yang telah banyak mengarahkan, memberikan masukan, dan mengajarkan penulis sebuah pelajaran berharga selama revisi skripsi.
5. Dra. Diana Lyrawati, Apt. MS. PhD. dan Dra. S. J. Iswarin, M. Si., Apt. selaku dosen pembimbing yang telah banyak mengarahkan, mendukung, memberikan masukan dan mengajarkan penulis sebuah pelajaran berharga selama penyusunan skripsi.
6. Seluruh staff Dosen program studi Farmasi Fakultas Kedokteran Universitas Brawijaya yang telah banyak mengajarkan penulis berbagai pelajaran berharga selama masa perkuliahan.
7. Seluruh staff Sekretariat program studi Farmasi Fakultas Kedokteran Universitas Brawijaya yang telah banyak memberikan dukungan kepada penulis dalam bidang administrasi dari awal hingga akhir selama penulis menjadi mahasiswa Universitas Brawijaya.
8. Seluruh Civitas Akademika Universitas Brawijaya.

9. Teman sebibingan dalam penyusunan skripsi (Wahyu, Siti Rochma, Sri Indrawati, Yashinta, dan Devy) akhirnya harapan penulis diwujudkan oleh Tuhan Yang Maha Esa bahwa kita dapat lulus bersama.

10. Dian Indra yang telah banyak memberikan dukungan, motivasi dan bantuan dalam pencetakan draft.

11. Teman-teman Farmasi angkatan tahun 2009 dan 2010 yang telah bersama-sama dengan penulis dari awal hingga akhir masa perkuliahan.

12. Penulis tidak dapat menulis seluruh nama di lembar ini, namun penulis telah mengukir nama kalian di dalam hati, yang telah hadir di hidup penulis baik itu dalam hal penelitian, penyusunan skripsi, perkuliahan, dan lingkungan di sekeliling penulis. Kisah kalian takkan terlupakan.

Malang, Juni 2014

Penulis

ABSTRAK

Koeswanto, Aderiel A. 2014. Efek Ekstrak Daun Binahong (*Anredera cordifolia*) terhadap Profil Sel Beta Pankreas Tikus (*Rattus novergicus*) Strain Wistar Diabetes Melitus Tipe 2. Tugas Akhir, Program Studi Farmasi Fakultas Kedokteran Universitas Brawijaya. Pembimbing: (1) Dra. Diana Lyrawati, Apt., M.S., Ph.D. (2) Dra. S. J. Iswarin, M.Si., Apt.

Terapi diabetes melitus tipe 2 saat ini tidak ada yang dapat memperbaiki sel beta pankreas dan masih memiliki banyak efek samping. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui efek ekstrak daun binahong terhadap penurunan kadar glukosa darah, perbaikan jaringan pankreas, berat pankreas dan jumlah sel β pankreas. Penelitian ini merupakan penelitian eksperimental menggunakan hewan coba tikus putih galur Wistar dengan bahan uji ekstrak daun binahong. Tikus diabetes melitus tipe 2 diinduksi dengan diet tinggi lemak selama 5 minggu dan Streptozotocin dengan dosis 35 mg/kg bb secara intraperitoneal satu kali. Dosis ekstrak binahong yang digunakan adalah 17,5; 35 dan 70 mg/kg bb/hari secara oral selama 2 minggu. Kadar glukosa darah ditentukan pada 7 dan 15 hari setelah pemberian ekstrak. Pankreas tikus ditimbang dan diamati secara histologi pada hari ke 15. Analisis data menggunakan *Kruskal-Wallis*. Penelitian menunjukkan bahwa pemberian ekstrak daun binahong dapat menurunkan kadar glukosa darah secara bermakna ($p=0,001$; $p<0,05$) terhadap kontrol diabetes melitus tipe 2 setelah pemberian ekstrak selama 15 hari dan secara histologi dapat memperbaiki kerusakan sel beta pankreas. Tidak ada perbedaan yang terlihat baik pada berat pankreas ($p=0,061$) maupun rerata jumlah sel beta pankreas ($p=0,273$) antar perlakuan. Berat pankreas lebih mendekati kondisi kontrol diabetes dan pada dosis 35 mg/kg BB/ hari jumlah sel beta lebih mendekati kontrol negatif (normal). Ekstrak daun binahong dapat menurunkan kadar glukosa darah dan memperbaiki kerusakan sel beta pankreas tetapi, tidak ada perbedaan yang terlihat pada berat pankreas. Dosis 35 mg/kg BB/hari ekstrak daun binahong dapat meningkatkan jumlah sel beta pankreas.

Kata kunci: Binahong, *Anredera cordifolia*, diabetes melitus, kadar glukosa darah, sel beta pankreas.

ABSTRACT

Koeswanto, Aderiel A. 2014. Effect of *Anredera cordifolia* Leaves Extract on Pancreatic Beta Cell Profile in Diabetes Mellitus Type 2 Model Rat (*Rattus novergicus*). Final Assignment, Pharmacy Program, Faculty of Medicine, University of Brawijaya. Supervisors: (1) Dra. Diana Lyrawati, Apt., M.S., Ph.D. (2) Dra. S. J. Iswarin, M.Si., Apt.

There is no Diabetes mellitus type 2 therapy that can repair β cell pancreas and current therapy still have many side effects. This study aims to determine the effect of *Anredera cordifolia* leaves extract in blood glucose level, pancreas tissue repairing, pancreas weight and number of pancreatic β cells. This research uses Wistar rat and *Anredera cordifolia* leaves extract. Diabetic Wistar rat was induced by high fat diet for 5 weeks and a single intraperitoneal injection of Streptozotocin at a dose of 35 mg/kg bw. Doses of extract binahong used for treating these rat were 17,5; 35 dan 70 mg/kg bw/day orally for 2 weeks. Blood glucose level of the rat were measured after 7 and 15 days administration of the extract. The pancreas was weighed and histologically observed on day 15. Data was analyzed with Kruskal-Wallis. The research showed that the extract of *Anredera cordifolia* leaves at dose of 35 and 70 mg/kg bw/day could lower blood glucose level significantly compared to diabetic type 2 control group ($p=0,001$; $p<0,05$) on day 15 and could repair the damage of pancreatic tissue. There is no difference of pancreas weight ($p=0,061$) and number of pancreatic β cells ($p=0,273$). Pancreas weights is more like diabetic control pancreas condition and number of pancreatic β cells is more like negative control (normal) at dose of 35 mg/kg bw/day of *Anredera cordifolia* leaves extract. Extract of *Anredera cordifolia* leaves can lower glucose blood level and repair the damage of pancreatic β cells but, there is no difference that can be seen on pancreas weight. *Anredera cordifolia* leaves extract 35 mg/kg bw/day can increase number of pancreatic β cells.

Key words: *Anredera cordifolia*, diabetes mellitus, blood glucose level, beta pancreas cell.

DAFTAR ISI

Judul	i
Halaman pengesahan.....	ii
Kata pengantar	iii
Abstrak	vi
Daftar isi	viii
Daftar gambar dan tabel	xiii
Daftar Lampiran	xv
Bab 1. Pendahuluan	
1.1 Latar Belakang	1
1.2 Rumusan Masalah.....	3
1.3 Tujuan	
1.3.1 Tujuan Umum	4
1.3.2 Tujuan Khusus.....	4
1.4 Manfaat	
1.4.1 Akademik.....	4
1.4.2 Praktis.....	5
Bab 2. Tinjauan Pustaka	
2.1 Diabetes Melitus	
2.1.1 Definisi	6
2.1.2 Epidemiologi	7
2.1.3 Klasifikasi.....	7
2.1.4 Patofisiologi	9
2.1.5 Faktor Resiko.....	10

2.1.6 Tanda dan manifestasi klinis	11
2.1.7 Diagnosis	12
2.1.8 Terapi	13
2.2 Pankreas	
2.2.1 Anatomi dan Histologi	16
2.2.2 Fisiologi Regulasi Sekresi Insulin	17
2.2.3 Disfungsi pankreas pada diabetes	18
2.3 Streptozotocin	19
2.4 Diet Tinggi Lemak	20
2.5 Binahong	21
Bab 3 Kerangka Konsep dan Hipotesis Penelitian	
3.1 Kerangka Konsep Penelitian	23
3.2 Hipotesis Penelitian	25
Bab 4 Metode Penelitian	
4.1 Rancangan Penelitian	26
4.2 Subjek Penelitian	26
4.2.1 Kriteria Inklusi dan Eksklusi	26
4.2.1.1 Kriteria Inklusi	26
4.2.1.2 Kriteria Eksklusi	27
4.2.2 Sampel	27
4.2.3 Estimasi Jumlah Sampel Penelitian	28
4.3 Variabel Penelitian	29
4.4 Lokasi dan Waktu Penelitian	29
4.5 Bahan dan Alat Penelitian	30
4.5.1 Bahan Penelitian	30

4.5.2 Alat Penelitian	31
4.6 Definisi Operasional	32
4.7 Prosedur Penelitian dan Pengumpulan Data	
4.7.1 Persiapan Kandang	33
4.7.2 Persiapan Hewan Coba	33
4.7.3 Penimbangan Berat Badan Tikus.....	33
4.7.4 Pembuatan Pakan Normal	34
4.7.5 Pembuatan Diet Tinggi Lemak.....	34
4.7.6 Pembuatan Larutan Streptozotocin	34
4.7.7 Induksi Larutan STZ pada Tikus Wistar	35
4.7.8 Pemberian Induksi Glukosa	35
4.7.9 Pemeriksaan Glukosa Darah Tikus	36
4.7.10 Pemberian Ekstrak Binahong	
4.7.10.1 Proses Pembuatan Ekstrak Etanol Binahong	37
4.7.11 Uji Kualitatif Senyawa dalam Ekstrak Etanol Binahong	39
4.7.12 Pembuatan Larutan Ekstrak Daun Binahong.....	39
4.7.13 Pembuatan Suspensi Glimepiride	39
4.7.14 Pemberian Ekstrak Binahong dan Glimepiride ke Tikus yang telah Diinduksi.....	40
4.7.15 Pembedahan.....	40
4.7.16 Penimbangan Pankreas	40
4.7.17 Pembuatan Preparat Histopatologi Pankreas	41
4.7.18 Pengumpulan Data	42
4.7.17.1 Penimbangan Berat Badan Tikus.....	42
4.7.17.2 Pengukuran Kadar Glukosa Darah	43

4.7.17.3 Pemeriksaan Profil Pankreas.....	43
4.8 Alur Penelitian	44
4.9 Pengolahan dan Analisis Data.....	45
Bab 5 Hasil Penelitian dan Analisis Data	
5.1 Hasil Ekstraksi Daun Binahong.....	46
5.2 Hasil Uji Fitokimia.....	46
5.3 Sisa Pakan Tikus.....	47
5.4 Hasil Pengukuran Kadar Glukosa Darah	48
5.5 Profil Penurunan Glukosa Darah	50
5.6 Profil Pankreas	
5.6.1 Hasil Histologi Pankreas dengan Pewarnaan HE.....	52
5.6.2 Berat Pankreas	54
5.6.3 Jumlah Rerata Sel Beta Pankreas	56
Bab 6 Pembahasan	
6.1 Ekstraksi Daun Binahong	59
6.2 Uji Fitokimia.....	60
6.2 Glukosa Darah	60
6.3 Profil Penurunan Glukosa Darah	62
6.5 Profil Pankreas	
6.5.1 Histologi Pankreas	62
6.5.2 Berat Pankreas	63
6.5.3 Jumlah Sel Beta Pankreas	64
Bab 7 Penutup	
7.1 Kesimpulan.....	68
7.2 Saran.....	68



DAFTAR GAMBAR DAN TABEL

Tabel 2.1 Manifestasi Klinis Diabetes Melitus	11
Gambar 2.1 Anatomi Pankreas.....	16
Gambar 2.2 Histologi Pankreas Normal dan Pankreas Diabetes	17
Gambar 2.3 Mekanisme Regulasi Sekresi Insulin.....	18
Gambar 2.4 Struktur Streptozotocin.....	20
Gambar 2.5 Binahong.....	21
Gambar 3.1 Kerangka Konsep.....	23
Gambar 4.1 Alur Penelitian.....	44
Gambar 5.1 Berat Badan Tikus.....	47
Gambar 5.2 Kadar Glukosa pada Hari ke-15)	48
Gambar 5.3 Glukosa Darah Puasa dan Farmakokinetik	51
Gambar 5.4 Histologi Sel Beta Pankreas dalam Pulau Langerhans dengan Pewarnaan Hematoxylen-Eosin (HE)	53
Gambar 5.5 Rasio Berat Pankreas dengan Berat Badan Tikus.....	54
Gambar 5.6 Rerata Jumlah Sel Beta	56
Gambar 6.1 Median Jumlah Sel Beta Pankreas	64
Tabel 4.1 Lokasi Penelitian.....	30
Tabel 4.2. Bahan-bahan Penelitian.....	30
Tabel 4.3 Peralatan Penelitian	31
Tabel 4.4 Penimbangan Berat Badan Tikus.....	42
Tabel 4.5 Pengukuran Kadar Glukosa Darah.....	42
Tabel 5.1 Hasil Uji Fitokimia Ekstrak Daun Binahong	46

Tabel 5.2 Signifikansi *Mann-Whitney* Antar Kelompok Perlakuan pada Kadar

Glukosa Darah.....49

Tabel 5.3 Penurunan Glukosa Darah (rerata $\pm$ SD)50

Tabel 5.4 Signifikansi *Mann-Whitney* Antar Kelompok Perlakuan pada Rasio

Berat Pankreas dengan Berat Badan Tikus55

Tabel 5.5 Mean Rasio Berat Pankreas dengan Berat Badan Tikus (Rerata $\pm$ SD)56

Tabel 5.6 Signifikansi *Mann-Whitney* Antar Kelompok Perlakuan pada Jumlah

Sel Beta57

Tabel 5.7 Mean Jumlah Sel Beta Pankreas (Mean $\pm$ Standar Deviasi)58

Tabel 8.1 Konversi Perhitungan Dosis.....110



DAFTAR LAMPIRAN

1. Analisis Statistik.....	76
2. Berat Badan Tikus	90
3. Data Survival Tikus.....	92
4. Dokumentasi Kegiatan.....	93
5. Dosis Glukosa.....	102
6. Hasil Pengukuran Glukosa Darah Acak dan Puasa	103
7. Hasil Perhitungan Dosis Streptozotocin (STZ)	104
8. Keterangan Kelaikan Etik.....	105
9. Pembuatan Ekstrak Daun Binahong dan Uji Kualitatif Ekstrak Daun Binahong	106
10. Penentuan Dosis Ekstrak Binahong dan Glimepiride	109
11. Pernyataan Keaslian Tulisan	116
12. Proses Pengerjaan Preparat Histo Patologi	117
13. Randomisasi Tikus ke dalam masing-masing Kelompok.....	120
14. Rasio Berat Pankreas dengan Berat Badan Tikus dan Rata-Rata Jumlah Sel Beta Pankreas	121
15. Sertifikat Serbuk Daun Binahong	123
16. Sertifikat Tikus	124
17. Sisa Pakan Tikus	125

BAB 1

PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

Diabetes Mellitus adalah suatu sindrom metabolik yang ditandai dengan terjadinya defisiensi insulin yang menyebabkan hiperglikemi (Arora *et al.*, 2009). Diabetes diklasifikasikan menjadi 2 macam yaitu diabetes mellitus tipe I (*Insulin Dependent Diabetes Mellitus*), yang merupakan penyakit autoimun yang dipengaruhi oleh faktor genetik serta seringkali terjadi pada anak-anak, dan diabetes mellitus tipe II (*Non-Insulin Dependent Diabetes Mellitus*), yang biasanya timbul pada penderita dengan usia di atas 40 tahun disertai dengan kegemukan (Amilia, 2009). Salah satu penyebab diabetes mellitus adalah kerusakan sel β pankreas yang merupakan kelainan sekunder yang terjadi setelah progresivitas penyakit di mana sel β pankreas tak mampu lagi meningkatkan sekresi insulin (Arjadi *et al.*, 2010). Insulin inilah yang berperan dalam kontrol glukosa darah (Amilia, 2009).

Menurut WHO, 80% orang dengan diabetes berada di negara dengan penghasilan rendah atau menengah dan sebagian besar berusia 45-64 tahun yang masih tergolong dalam usia produktif. Diabetes Melitus Tipe 2 mewakili sekitar 90% dari seluruh penderita diabetes (Susilowati, 2011). Indonesia berada di peringkat ke enam dengan jumlah penderita diabetes mellitus terbanyak setelah India, Cina, Rusia, Jepang, dan Brasil. Diperkirakan tahun 2020 nanti terdapat 178 juta penduduk di Indonesia yang di atas umur 20 tahun,

dan dari jumlah tersebut diasumsikan ada 9 juta orang penderita diabetes mellitus (Al Farabi *et al.*, 2010).

Pengobatan diabetes yang tersedia saat ini masih sering memiliki banyak efek samping dan tidak mampu mengembalikan homeostasis glukosa normal dan harganya mahal (Al Farabi *et al.*, 2010). Macam-macam terapi yang saat ini menjadi trend dalam pengobatan diabetes antara lain menggunakan sulfonilurea, biguanida, dan alfa glukosidase inhibitor yang memiliki tujuan untuk meningkatkan produksi insulin, sensitifitas insulin ataupun mencegah pemecahan makanan menjadi glukosa (Olokoba, 2012). Namun, semua terapi itu tidak ada yang dapat memperbaiki sel β pankreas dan digunakan dalam jangka waktu yang lama yang ternyata menurut Cramer (2004) dapat menurunkan tingkat kepatuhan pasien. Cina dan negara bagian dari Asia Timur lainnya telah menggunakan terapi herbal untuk pengobatan diabetes tipe 2 dan gangguan metabolik lainnya selama beribu-ribu tahun. Produk alam ini memiliki efek samping dan toksisitas yang minimal (Kim *et al.*, 2009).

Anredera cordifolia (Ten) yang di Indonesia biasa disebut dengan nama Binahong, merupakan tanaman yang dapat mengobati pentakit diabetes mellitus. Selain itu, menurut sebagian penduduk Pulau Jawa, Binahong dapat digunakan untuk mengobati typhoid, hipertensi, pendarahan, tuberkulosis, rematik, asam urat, asma (Astuti *et al.*, 2011), menurunkan kreatinin dan ureum dalam darah, menurunkan kolesterol pada tikus Wistar, memperbaiki sel ginjal yang rusak, menunjukkan efek antiinflamasi, efek antibiotik terhadap Gram positif dan negatif pada konsentrasi 50 mg/mL dan efek antioksidan serta memiliki aktivitas hepatoprotektor. Kandungan utama daun binahong adalah flavonoid. Selain itu, daun binahong juga mengandung saponin triterpenoid, steroid (Astuti *et al.*,

2011), quinon, monoterpenoid, dan sesquiterpenoid (Sukandar, 2011). Berdasarkan penelitian yang dilakukan oleh Sukandar *et al.* (2011), pemberian ekstrak metanol daun binahong dapat menurunkan kadar glukosa darah secara signifikan dan secara histologi dapat meningkatkan jumlah sel dan memperbaiki kerusakan sel β –pankreas.

LD₅₀ etanol adalah 6.200 mg/kgBB (Tesoro Corporation, 2012) dan LD₅₀ metanol adalah 5630 mg/kgBB (Bursztyn, 2013) sehingga dosis toksisitas etanol lebih rendah bila dibandingkan dengan metanol.

Berdasarkan penjelasan tersebut akan dilakukan penelitian mengenai pengaruh antidiabetik ekstrak daun binahong terhadap profil sel beta pankreas tikus wistar dm tipe 2 dengan induksi STZ (*Streptozocin*) dan HFD (*High Fat Diet*).

1.2 Rumusan Masalah

- Apakah ekstrak daun Binahong dapat menurunkan kadar glukosa darah tikus diabetes melitus tipe 2?
- Apakah ekstrak daun Binahong dapat memperbaiki kerusakan pulau Langerhans pankreas secara histologi pada tikus diabetes melitus tipe 2 ?
- Apakah ekstrak daun Binahong dapat meningkatkan jumlah sel β pankreas pada tikus diabetes melitus tipe 2?
- Apakah ekstrak daun Binahong dapat meningkatkan berat organ pankreas pada tikus diabetes melitus tipe 2 ?

1.3 Tujuan

1.3.1 Tujuan Umum

- a. Membuktikan bahwa ekstrak daun Binahong dapat menurunkan kadar glukosa darah, meningkatkan jumlah sel beta pankreas, meningkatkan berat organ pankreas, dan memperbaiki kerusakan pulau Langerhans secara histologi tikus diabetes melitus tipe 2

1.3.2 Tujuan Khusus

- a. Mengukur kadar glukosa darah tikus normal dan tikus diabetes melitus tipe 2 baik yang tidak maupun yang mendapat perlakuan.
- b. Mengukur jumlah sel beta pankreas tikus normal dan tikus diabetes melitus tipe 2 baik yang tidak maupun yang mendapat perlakuan.
- c. Mengukur berat organ pankreas tikus normal dan tikus diabetes melitus tipe 2 baik yang tidak maupun yang mendapat perlakuan.
- d. Mengamati kerusakan pulau Langerhans pankreas secara histologi tikus normal dan tikus diabetes melitus tipe 2 baik yang tidak maupun yang mendapat perlakuan.

1.4 Manfaat

1.4.1 Akademik

Menambah referensi bagi peserta akademik lainnya dalam pengembangan obat herbal. Peserta akademik lainnya diharapkan dapat mengembangkan penelitian ini lebih lagi sehingga dapat menghasilkan terapi yang baru.

1.4.2 Praktis

- Menambah wawasan mengenai terapi diabetes dengan binahong yang selama ini dipercaya masyarakat. Penelitian ini setidaknya dapat menjadi jawaban akan kepercayaan yang selama ini dianut masyarakat tersebut sehingga masyarakat lebih waspada akan penggunaan obat herbal.
- Memberikan sumbangsih bagi pemerintah sebagai acuan dalam mengembangkan penggunaan obat-obat herbal khususnya dalam pengobatan diabetes. Pemerintah pada akhirnya diharapkan dapat menggerakkan masyarakat untuk membudidayakan tanaman binahong sebagai tanaman obat keluarga.



BAB 2

TINJAUAN PUSTAKA

2.1 Diabetes Melitus

2.1.1 Definisi

Diabetes mellitus adalah penyakit metabolik yang ditandai dengan hiperglikemia sebagai akibat dari gangguan produksi insulin, aktivitas insulin ataupun keduanya (American Diabetes Association, 2008). Abnormalitas pada karbohidrat, lemak, dan protein yang ditemukan saat seseorang menderita diabetes sangat berkaitan dengan defisiensi aktivitas insulin pada jaringan target (Craig *et al.*, 2009). Hiperglikemia kronik pada diabetes sering menyebabkan kerusakan, gangguan fungsi, dan kegagalan jangka panjang pada organ-organ tertentu khususnya mata, ginjal, saraf, jantung, dan pembuluh darah. Perkembangan penyakit diabetes ini melibatkan beberapa proses patogenesis. Proses tersebut dimulai dari kerusakan autoimun dari sel beta pankreas yang menyebabkan penurunan produksi insulin yang berujung pada resistensi insulin. Resistensi insulin ini merupakan hasil dari produksi insulin yang tidak cukup dan/atau hilangnya respon jaringan terhadap insulin pada 1 titik atau beberapa titik jalur aksi hormon. Penurunan produksi insulin dan resistensi insulin inilah yang menjadi penyebab terjadinya hiperglikemia (American Diabetes Association, 2008). Jika keton muncul dalam darah atau urin, maka harus segera ditangani karena kondisi ini dapat berkembang secara cepat menjadi ketoacidosis (Craig *et al.*, 2009).

2.1.2 Epidemiologi

Menurut WHO, 80% orang dengan diabetes berada di negara dengan penghasilan rendah atau menengah dan sebagian besar dari mereka berusia 45-64 tahun yang masih tergolong dalam usia produktif. Diabetes Tipe 2 mewakili sekitar 90% dari seluruh penderita diabetes (Susilowati, 2011). Jumlah penderita diabetes melitus akan meningkat menjadi 2 kali lipat dalam 2 tahun mendatang (Ekoe *et al.*, 2001). Berdasarkan klasifikasinya, jumlah kasus diabetes tipe 1 meningkat di Eropa, Timur tengah, dan Australia sebesar 2-5% per tahun. Prevalensi diabetes tipe 1 tertinggi terdapat di Scandinavia sekitar 20% dari jumlah total pengidap diabetes dan yang terendah adalah Cina dan Jepang (Khardori, 2013). Diabetes Melitus tipe 2 jarang terjadi pada orang di negara non-bagian barat yang mana makanannya mengandung kalori yang lebih sedikit dan pengeluaran kalori yang lebih tinggi. Namun, orang-orang saat ini banyak yang mengadopsi gaya hidup negara barat sehingga diabetes tipe 2 meningkat. Jumlah pengidap diabetes tipe 2 diprediksikan akan meningkat dari 366 juta orang pada tahun 2011 menjadi 552 juta orang pada tahun 2030. 10 negara teratas dalam jumlah pengidap diabetes adalah India, Cina, Amerika, Indonesia, Jepang, Pakistan, Rusia, Brazil, dan Bangladesh (Khardori, 2014). Indonesia berada di peringkat ke enam dengan jumlah penderita diabetes mellitus terbanyak. Diperkirakan tahun 2020 nanti terdapat 178 juta penduduk di Indonesia yang di atas umur 20 tahun, dan dari jumlah tersebut diasumsikan 9 juta orang penderita diabetes mellitus (Al Farabi *et al.*, 2010).

2.1.3 Klasifikasi

Goldenberg *et al.* (2013) menyebutkan bahwa sebelum diabetes ada suatu kondisi yang disebut prediabetes. Prediabetes adalah suatu istilah untuk

menggambarkan pasien yang mengalami gangguan kadar glukosa darah setelah puasa (*Impaired Fasting Glucose*), gangguan toleransi glukosa (*Impaired Glucose Tolerance*) atau memiliki nilai hemoglobin terglikasi (HbA1C) sebesar 6,0% hingga 6,4%. Kondisi tersebut beresiko tinggi untuk berkembang ke arah diabetes dan komplikasinya. Diabetes melitus diklasifikasikan menjadi 4, yaitu (Dipiro *et al.*, 2008) :

a. Diabetes Tipe 1

Diabetes yang merupakan akibat dari kerusakan autoimun sel beta pankreas. Diabetes ini dapat terjadi pada segala usia. Pada pasien yang lebih muda, kerusakan sel beta lebih cepat dan cenderung disertai dengan ketoasidosis.

b. Diabetes Tipe 2

Diabetes ini ditandai dengan terjadinya resistensi insulin dan penurunan sekresi insulin secara progresif. Sebagian besar pasien diabetes tipe 2 merupakan pasien obesitas, yang mana menyebabkan resistensi insulin.

c. Diabetes Gestasional

Diabetes gestasional diartikan sebagai intoleransi glukosa yang pertama kali diketahui saat hamil.

d. Diabetes tipe lainnya

Kelainan genetik dapat menyebabkan seseorang mengalami gangguan sekresi insulin disertai dengan/tanpa resistensi insulin. Pada kondisi ini, tubuh pasien tidak mampu mengubah proinsulin menjadi insulin yang menyebabkan hiperglikemia ringan dan diwariskan dalam pola dominan autosomal. Selain itu, terkadang juga dapat diproduksi suatu insulin mutan yang menyebabkan intoleransi glukosa.

2.1.4 Patofisiologi

Pada kondisi normal, kadar glukosa dalam darah dipertahankan dalam rentang yang sempit meskipun terjadi fluktuasi yang besar saat tubuh membutuhkan glukosa ataupun mendapatkan glukosa. Keberhasilan tubuh dalam mempertahankan kadar glukosa dalam darah tergantung pada sensitivitas jaringan (khususnya hati) terhadap insulin dan sekresi insulin. Pada saat diabetes tipe 2, mekanisme ini terganggu sehingga menyebabkan sekresi insulin terganggu, karena disfungsi sel beta pankreas dan gangguan aktivitas insulin (resistensi insulin) (Holt, 2004).

a. Resistensi insulin

Resistensi insulin diartikan sebagai suatu kondisi di mana saat kadar insulin yang sebenarnya normal tetapi tidak dapat menghasilkan respon biologis yang normal. Insulin memiliki peran penting dalam metabolisme karbohidrat, lemak, dan protein. Reaven (1988) menyebutkan bahwa sindrom X, sekarang disebut sindrom metabolik atau sindrom resistensi insulin berhubungan dengan beberapa faktor resiko kardiovaskular seperti hipertensi, dislipidemia, dan toleransi glukosa.

b. Disfungsi sel beta

Insulin disekresikan sebagai respon terhadap glukosa dengan pola *biphasic*, yang mana fase pertama berakhir dalam beberapa menit dan kemudian diikuti dengan fase 2 yang lambat. Abnormalitas pada sel beta yang paling utama saat diabetes tipe 2 adalah penurunan sekresi insulin pada fase 1. Abnormalitas pada fungsi sel beta muncul saat awal penyakit diabetes tipe 2 terjadi. Dalam hasil studi *UK Prospective Study* (1995), ditemukan bahwa pada pasien diabetes tipe 2 terjadi penurunan progresif fungsi sel beta sekitar 4% tiap tahun, dan saat

dilakukan diagnosa fungsi sel beta rata-rata sudah kurang dari 50%. Penurunan lebih lanjut fungsi ini tidak dapat dicegah dengan terapi diabetes yang digunakan dalam studi tersebut.

Pada saat *stage* awal, toleransi glukosa biasanya masih normal meskipun resistensi insulin terjadi karena sel beta pankreas mengkompensasi dengan cara meningkatkan produksi insulin. Keadaan resistensi insulin dan hiperinsulinemia ini akhirnya dalam tahap yang lebih lanjut menyebabkan pankreas tidak dapat mempertahankan lagi kondisi hiperinsulin tersebut sehingga kegagalan sel beta pankreas terjadi (Fauci and Longo, 2008).

2.1.5 Faktor Resiko

Beberapa faktor resiko yang meningkatkan resiko diabetes tipe 2 adalah (MayoClinic staff, 2013) :

a. Berat badan

Berat badan yang berlebih menjadi faktor resiko primer untuk diabetes tipe 2. Semakin banyak jaringan lemak pada seseorang, maka sel akan menjadi lebih resisten.

b. Distribusi lemak

Tubuh yang mendistribusikan sebagian besar lemak di daerah perut memiliki resiko diabetes tipe 2 lebih tinggi daripada tubuh yang mendistribusikan lemaknya di daerah lainnya, seperti pinggul dan paha.

c. Kurang aktivitas

Semakin sedikit aktivitas fisik seseorang maka akan semakin besar resiko orang tersebut untuk diabetes tipe 2 karena aktivitas fisik dapat mengontrol berat badan, menggunakan glukosa sebagai energi dan membuat sel menjadi lebih sensitif terhadap insulin.

d. Riwayat keluarga

Resiko diabetes tipe 2 meningkat jika orang tua atau saudaranya memiliki diabetes tipe 2.

e. Ras

Orang dari ras kulit hitam, Hispanic, Amerika, India, dan Asia-Amerika lebih beresiko untuk diabetes tipe 2 daripada orang dengan ras kulit putih.

f. Umur

Resiko diabetes tipe 2 meningkat seiring dengan bertambahnya usia, khususnya sesudah usia 45 tahun karena pada umumnya orang pada usia-usia tersebut cenderung jarang berolahraga, kehilangan massa otot dan berat badan meningkat, akhir-akhir ini diabetes tipe 2 meningkat drastis pada anak-anak, orang dewasa, dan dewasa muda.

2.1.6 Tanda dan manifestasi klinis

Manifestasi klinis dari diabetes tipe 1 dan diabetes tipe 2 sangatlah berbeda, perbedaan itu dapat dilihat pada Tabel 2.1 di bawah ini (Dipiro *et al.*, 2008):

Tabel 2.1 Manifestasi Klinis Diabetes Melitus (Dipiro *et al.*, 2008)

Characteristic	Type 1 DM	Type 2 DM
Age	<30 years ^b	>30 years ^b
Onset	Abrupt	Gradual
Body habitus	Lean	Obese or history of obesity
Insulin resistance	Absent	Present
Autoantibodies	Often present	Rarely present
Symptoms	Symptomatic ^c	Often asymptomatic
Ketones at diagnosis	Present	Absent ^d
Need for insulin therapy	Immediate	Years after diagnosis
Acute complications	Diabetic ketoacidosis	Hyperosmolar hyperglycemic state
Microvascular complications at diagnosis	No	Common
Macrovascular complications at or before diagnosis	Rare	Common

DM, diabetes mellitus.

^aClinical presentation can vary widely.

^bAge of onset for type 1 DM is generally <20 years of age but can present at any age. The prevalence of type 2 DM in children, adolescents, and young adults is increasing. This is especially true in ethnic and minority children.

^cType 1 can present acutely with symptoms of polyuria, nocturia, polydipsia, polyphagia, and weight loss.

^dType 2 children and adolescents are more likely to present with ketones but after the acute phase can be treated with oral agents. Prolonged fasting can also produce ketones in individuals.

Gejala seperti poliuria, polidipsi, polifagi, dan berat badan menurun pada umumnya muncul hanya pada diabetes tipe 1 dan pada pasien diabetes tipe 2 umumnya tidak ada gejala. Namun, akhir-akhir ini, berbagai gejala seperti lesu, poliuria, nokturia, dan polidipsi mulai ditemui dalam diagnosis diabetes tipe 2 (Dipiro *et al.*, 2008).

2.1.7 Diagnosis

American Diabetes Association telah menetapkan kriteria diagnosa diabetes pada pasien yang tidak hamil dan untuk segala usia (Kroon *et al.*, 2009):

- a. Tanda dan gejala seperti poliuria, polidipsi, ketonuria, atau penurunan berat badan yang disertai dengan kadar Glukosa Darah Acak (GDA) ≥ 200 mg/dL.
- b. Gula Darah Puasa (GDP) ≥ 126 mg/dL. Puasa yang dimaksud adalah tidak ada *intake* kalori selama 8 jam sebelum pemeriksaan
- c. Sesudah pemberian glukosa oral (75 g glukosa untuk dewasa atau 1,75 g/kg untuk anak-anak), konsentrasi glukosa plasma vena ≥ 200 mg/dL saat 2 jam setelahnya dan > 200 mg/dL saat pemeriksaan selang waktu berikutnya (0,5 jam, 1 jam, atau 1,5 jam). Hasil dari pengukuran ini disebut uji toleransi glukosa oral.

Cara untuk menentukan pasien ini tergolong dalam diabetes tipe 1 atau tipe 2 tidaklah mudah. Tipe 1 lebih sering muncul pada pasien yang berusia kurang dari 30 tahun, kurus, memiliki nilai GDP yang meningkat serta beberapa gejala diabetes pada umumnya. Munculnya ketonuria saat hipoglikemia dapat memperkuat dugaan seseorang terkena diabetes tipe 1 (Lippincott *et al.*, 2009). Tanda-tanda tersebut dapat dibedakan sesuai dengan Tabel 2.1.

2.1.8 Terapi

Banyak obat antihiperglikemia yang tersedia untuk mengontrol kadar glukosa darah pada pasien diabetes tipe 2. Sebagian besar obat digunakan untuk meningkatkan sensitifitas insulin (Simon & Zieve, 2013).

a. Biguanida (Metformin)

Metformin bekerja dengan cara mengurangi produksi glukosa di hepar dan meningkatkan sensitifitas jaringan terhadap insulin. Metformin ini merupakan terapi lini pertama untuk diabetes tipe 2. Metformin memiliki dampak yang positif terhadap kolesterol dan kadar lemak serta terdapat kemungkinan bersifat hepatoprotektif. Obat golongan ini memiliki efek samping antara lain rasa logam pada mulut, gangguan pencernaan seperti mual-muntah dan diare. Pasien dengan gagal jantung atau ginjal tidak dianjurkan untuk menggunakan obat ini.

b. Sulfonilurea

Sulfonilurea bekerja dengan cara menstimulasi pankreas untuk memproduksi insulin. Contoh dari golongan ini adalah chlorpropamide, tolazamide, glipizide, tolbutamide, glyburide, dan glimepiride. Obat harus diminum 20-30 menit sebelum makan pagi agar efektif dalam mengontrol gula darah. Penggunaan obat ini hanya dianjurkan hingga 7-10 tahun saja. Pada umumnya, perempuan yang sedang mengandung atau alergi terhadap obat golongan sulfa tidak dianjurkan untuk menggunakan sulfonilurea. Efek samping dari sulfonilurea adalah peningkatan berat badan, retensi air, hipoglikemia, dan gangguan kardiovaskular.

c. Meglitinide

Meglitinide menstimulasi sel beta untuk memproduksi insulin. Contoh obat golongan ini adalah repaglinide dan nateglinide. Obat golongan ini cepat dimetabolisme dan *short-acting*. Jika diminum sebelum makan pagi secara teratur, obat ini dapat menormalkan kadar insulin setelah makan. Efek samping dari obat ini adalah diare dan sakit kepala. Pasien dengan gagal jantung atau gangguan hepar harus menggunakan obat ini dengan perhatian dan monitoring khusus.

d. Thiazolidinedione

Thiazolidinedione dikenal juga sebagai *proliferator activated receptor* (PPAR) *agonist*. Contohnya pioglitazone dan rosiglitazone. Biasanya obat ini digunakan bersamaan dengan obat anti diabetes (OAD) lainnya atau insulin. Obat ini juga tersedia dalam bentuk kombinasi 2 in 1 seperti rosiglitazone dan metformin (Avandamet), rosiglitazone dan glimepiride (Avandaryl), dan pioglitazone dan metformin (Actoplus Met). Efek samping dari obat golongan Thiazolidinedione adalah memperburuk gagal jantung sehingga penggunaannya sama sekali tidak dianjurkan untuk pasien dengan gagal jantung. Obat golongan ini juga yang memiliki kecenderungan paling besar untuk meningkatkan berat badan. Efek samping lainnya yang mungkin terjadi adalah retensi air, nafas pendek, pengeroposan tulang, meningkatkan resiko kanker kandung kemih dan retinopathy.

e. Alpha-Glucosidase Inhibitor

Contoh obat golongan ini adalah acarbose dan miglitol yang bekerja dengan cara mengganggu absorpsi karbohidrat di usus kecil. Acarbose cenderung untuk mengurangi kadar insulin sesudah makan pagi, yang dapat menguntungkan bagi pasien karena kadar insulin yang tinggi dapat

meningkatkan resiko penyakit jantung. Obat ini harus diminum bersama makanan. Efek samping dari obat ini adalah diare dan kecenderungan untuk buang gas.

f. GLP-1 Inhibitor (Exenatide dan Liraglutide)

GLP-1 inhibitor diberikan secara injeksi dan diresepkan pada pasien dengan diabetes tipe 2 yang tidak dapat mengontrol gula darahnya dengan metformin atau sulfonilurea. Exenatide adalah GLP1 inhibitor pertama yang ditemukan. Exenatide merupakan adalah hormon sintesis dari kelenjar Gila *monster*, sejenis kadal padang pasir yang beracun. Exenatide diinjeksikan 2 kali sehari, 1 jam sebelum makan pagi dan malam. Obat ini menstimulasi produksi insulin hanya saat kadar glukosa darah tinggi sehingga resiko hipoglikemi kecil. Efek samping dari obat ini hanyalah sekedar mual, muntah, dan diare. Namun, obat golongan ini ternyata justru memiliki hubungan dengan terjadinya pankreatitis akut. Sedangkan pankreas ini seharusnya harus ditingkatkan fungsinya dalam memproduksi insulin untuk mengontrol kadar glukosa darah.

g. DPP-4 Inhibitor (Gliptins)

GLP-1 inhibitor dan DPP-4 inhibitor termasuk dalam obat golongan Incretin. Contoh dari golongan ini adalah sitagliptin, saxagliptin, dan linagliptin. Cara kerja obat golongan ini hampir sama dengan GLP-1 inhibitor tetapi, obat ini diberikan secara oral. Efek samping yang paling potensial terjadi adalah Infeksi Saluran Pernafasan Atas (ISPA), sakit tenggorokan, dan diare. Sitagliptin juga memiliki hubungan dengan terjadinya pankreatitis.

h. Dopamin Agonist (Cycloset)

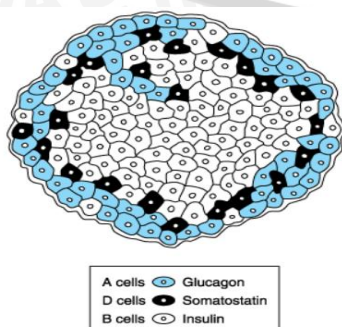
Cycloset bekerja dengan cara meningkatkan level dopamin (neurotransmitter).

Neurotransmitter inilah yang dapat membantu mengontrol kadar glukosa darah.

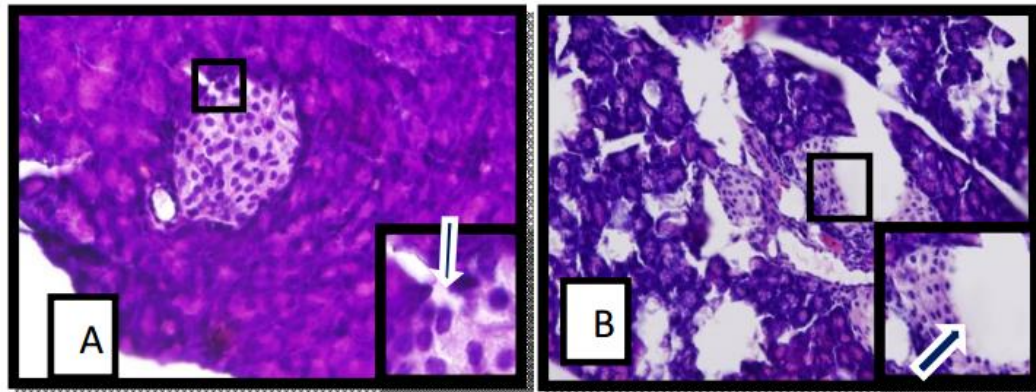
2.2 Pankreas

2.2.1 Anatomi dan Histologi

Endokrin pankreas tersusun dari sekumpulan sel yang disebut kepulauan Langerhans yang terdistribusi pada eksokrin pankreas. Ada 4 tipe sel dalam kepulauan tersebut yang memproduksi sekret yang berbeda-beda. Sel β memproduksi insulin, sel ini terletak di bagian tengah pulau dan merupakan sel yang paling dominan (80%). Sel α memproduksi glukagon, sel ini terletak di bagian perifer dengan jumlah sekitar 20% dari total keseluruhan. Sel yang ketiga adalah sel delta yang memproduksi somatostatin dan terletak di antara sel α dan sel β . Kemudian yang terakhir adalah sel PP atau sel F yang terletak di kepala pankreas bagian lobus posterior. Vaskularisasi lebih banyak terdapat di bagian endokrin pankreas daripada bagian eksokrin pankreas. Aliran darah masuk ke pankreas melalui bagian tengah kemudian ke bagian perifer sehingga dengan cara demikian insulin dapat dihasilkan oleh sel β untuk menghambat pelepasan glukagon oleh sel α . Setelah dari kepulauan, darah mengalir ke vena porta hepar sehingga sekret yang dihasilkan akhirnya dapat dihantarkan ke dalam hepar yang merupakan organ utama tempat reseptor insulin dan glukagon (McPhee *et al.*, 2005).



Gambar 2.1 Anatomi Pankreas
(McPhee *et al.*, 2005)

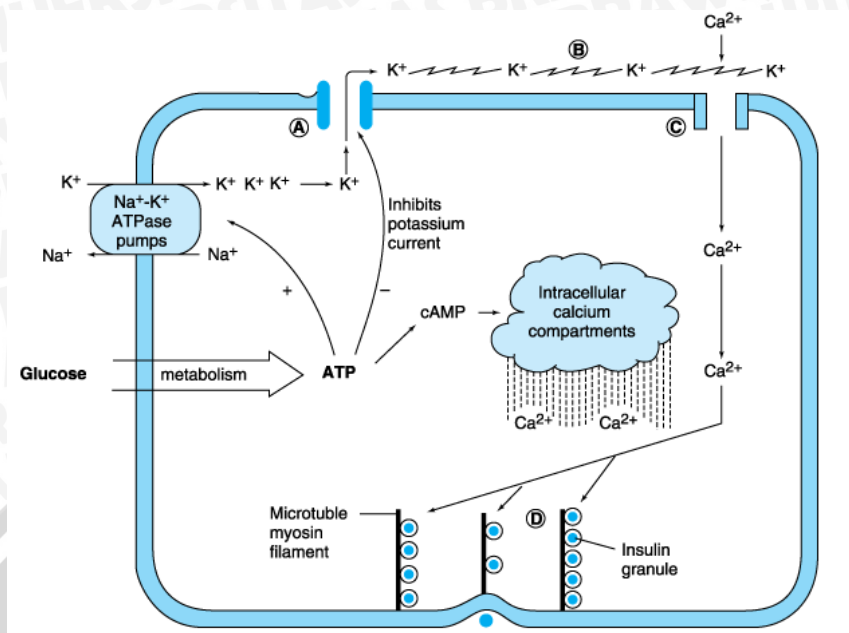


Gambar 2.2 Histologi pankreas normal (a) dan pankreas diabetes (b) (Al Farabi *et al.*, 2010)

Kerusakan pulau Langerhans di bawah mikroskop dapat dilihat dari morfologi dari pulau Langerhans yang pada kondisi normal berbentuk bundar atau lonjong, tetapi saat terjadi kerusakan, maka bentuk bundar ini akan berubah menjadi tidak beraturan dan dari inti sel betapun terlihat bahwa bentuk sel beta pankreas yang rusak memiliki ukuran yang lebih kecil.

2.2.2 Fisiologi Regulasi Sekresi Insulin

Glukosa masuk ke dalam sel beta melalui *glucose transporter* yang dapat menciptakan keseimbangan konsentrasi glukosa di intra maupun ekstraseluler. Saat berada dalam sel, metabolisme glukosa menstimulasi sekresi insulin dan glukokinase yang berfungsi untuk melakukan fosforilasi glukosa menjadi glukosa 6-fosfat. Enzim inilah yang dianggap sebagai sensor glukosa di sel beta. Metabolisme glukosa memproduksi faktor metabolisme kopling seperti *Adenosine Triphosphate* (ATP), lalu menghambat keluarnya K^+ dari sel beta. Hal ini akhirnya mendepolarisasi sel dan menyebabkan Ca^{2+} dapat masuk sehingga memicu eksositosis dari granul-granul yang mengandung insulin (McPhee *et al.*, 2005).



Gambar 2.3 Mekanisme Regulasi Sekresi Insulin (McPhee *et al.*, 2005)

2.2.3 Disfungsi pankreas pada diabetes

Faktor genetik, beberapa faktor lingkungan (termasuk malnutrisi dan obesitas), hiperglikemia, dan hiperlipidemia dapat mempercepat penurunan fungsi sel beta sehingga mekanisme yang benar-benar mendasari terjadinya disfungsi ini masih belum jelas karena bersifat multifaktorial. Meskipun belum jelas namun, sudah ada banyak diskusi yang dilakukan mengenai hubungan antara resistensi insulin dan fungsi sel beta yang terjadi saat awal penyakit diabetes terjadi. Saat sensitivitas insulin turun, sel beta akan merespon dengan cara meningkatkan sekresi insulin untuk mengkompensasi dan mempertahankan konsentrasi normal glukosa dalam darah. Kapasitas maksimal sel beta akhirnya tercapai dan pada satu titik sel beta menjadi lelah dan sekresi insulin akhirnya menurun. Kadar glukosa darah akhirnya tetap meningkat sehingga pada akhirnya terjadilah gangguan toleransi glukosa. Sel beta yang sudah payah ini akhirnya akan mengalami penurunan fungsi yang dapat mengarah ke diabetes tipe 1 di mana sel beta sudah benar-benar rusak sehingga pasien memerlukan

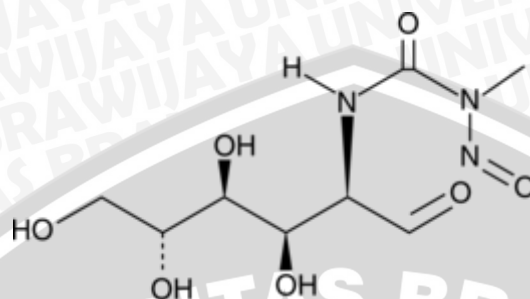
insulin eksogen untuk mengontrol kadar glukosa dalam darahnya (Holt,2004). Disfungsi sel beta pankreas ini memang belum jelas mekanismenya, sementara ini yang diduga kuat menyebabkan disfungsi yaitu hiperglikemia. Disfungsi dari pankreas ini dapat dilihat dari massa pankreas yang berkurang pada diabetes tipe 2 (Kanth, 2003).

2.3 Streptozotocin

Streptozotocin (STZ, 2-deoxy-2-(3-(methyl-3-nitrosoureido)-D-glucopyranose) disintesis oleh *Streptomyces achromogenes* dapat digunakan untuk menginduksi diabetes tipe 1 maupun diabetes mellitus tipe 2. Injeksi streptozotocin 60 mg/kg intra vena pada tikus wistar dewasa menyebabkan pancreas membengkak dan pada akhirnya menyebabkan degenerasi sel B pulau langerhans dan mendorong timbulnya diabetes mellitus dalam waktu 2-4 hari. Sedangkan suntikan STZ dosis rendah (30 mg/kgBB) menyebabkan gangguan ringan pada sekresi insulin sehingga terjadi kelelahan sel beta pancreas (Szkudelski, 2001).

Streptozotocin memasuki sel B via GLUT2 (*glucose transporter*) dan menyebabkan alkilasi DNA. Kerusakan DNA menyebabkan aktivasi poly ADP-ribosilasi, proses yang lebih penting untuk diabetogenisitas daripada kerusakan DNA itu sendiri. Poly ADP-ribosilasi mengarahkan pada terjadinya deplesi dari NAD⁺ dan ATP sel. Peningkatan defosforilasi ATP setelah pemberian streptozotocin menghasilkan substrat untuk *xanthine oxidase* yang pada akhirnya membentuk formasi radikal superoksida. Akibatnya, hydrogen peroksida dan radikal hidroksil juga dihasilkan. Lebih jauh lagi, streptozotocin membebaskan kadar toksik nitrit oksida yang menghambat aktivitas *acotinase* dan ambil bagian

dalam kerusakan DNA. Sebagai akibat dari aksi streptozotocin, sel B mengalami kerusakan akibat nekrosis (Akbarzadeh *et al.*, 2007).



Gambar 2.4 Struktur Streptozotocin (Cayman Chemical)

2.4 Diet Tinggi Lemak

Diet tinggi lemak merupakan diet yang 32-60% kalorinya dari lemak. Makanan sejumlah 60 kcal % lemak sudah dapat menginduksi obesitas pada tikus. Tipe dari lemak harus dipertimbangkan ketika memilih diet tinggi lemak untuk hewan coba. Banyak diet tinggi lemak yang mengandung lemak jenuh, seperti lemak babi, daging, dan minyak kelapa. Makanan tersebut sudah cukup untuk menginduksi obesitas pada tikus dengan strain yang rentan. Tipe dan level dari diet tinggi lemak sangat penting diketahui untuk membandingkan data – data yang akan didapatkan selama penelitian (Gadja *et al.*, 2008).

Komposisi diet tinggi lemak mengandung karbohidrat, protein (tepung terigu), lemak (kolesterol, minyak babi), air, dan asam kolat. Asam kolat larut dalam air, digunakan untuk lisis sel oleh bile-acid, persiapan liposom, isolasi dari membrane protein dan lipid, mencegah terjadinya ikatan nonspesifik pada afinitas kromatografi, dan media sel kultur (Zhang, 2008).

Kombinasi diet tinggi lemak sering digunakan untuk pembuatan model hewan coba DM tipe 2 dikombinasi dengan Streptozotocin (STZ). Menurut Shridar *et al* (2008), diet tinggi lemak terbukti dapat menurunkan sensitivitas

insulin yang ditandai dengan meningkatnya jumlah insulin serum. Pada penelitian Lian *et al.* (2007) juga menyebutkan bahwa diet tinggi lemak dapat menginduksi resistensi insulin, dan gangguan sekresi insulin.

2.5 Binahong

Klasifikasi binahong adalah sebagai berikut (BPOM RI, 2008) :

Divisi : Spermatophyta

Sub divisi : Angiospermae

Kelas : Dicotyledoneae

Bangsa : Caryophyllales

Suku : Basellaceae

Marga : Anredera

Jenis : *Anredera cordifolia* (Ten.) Steenis

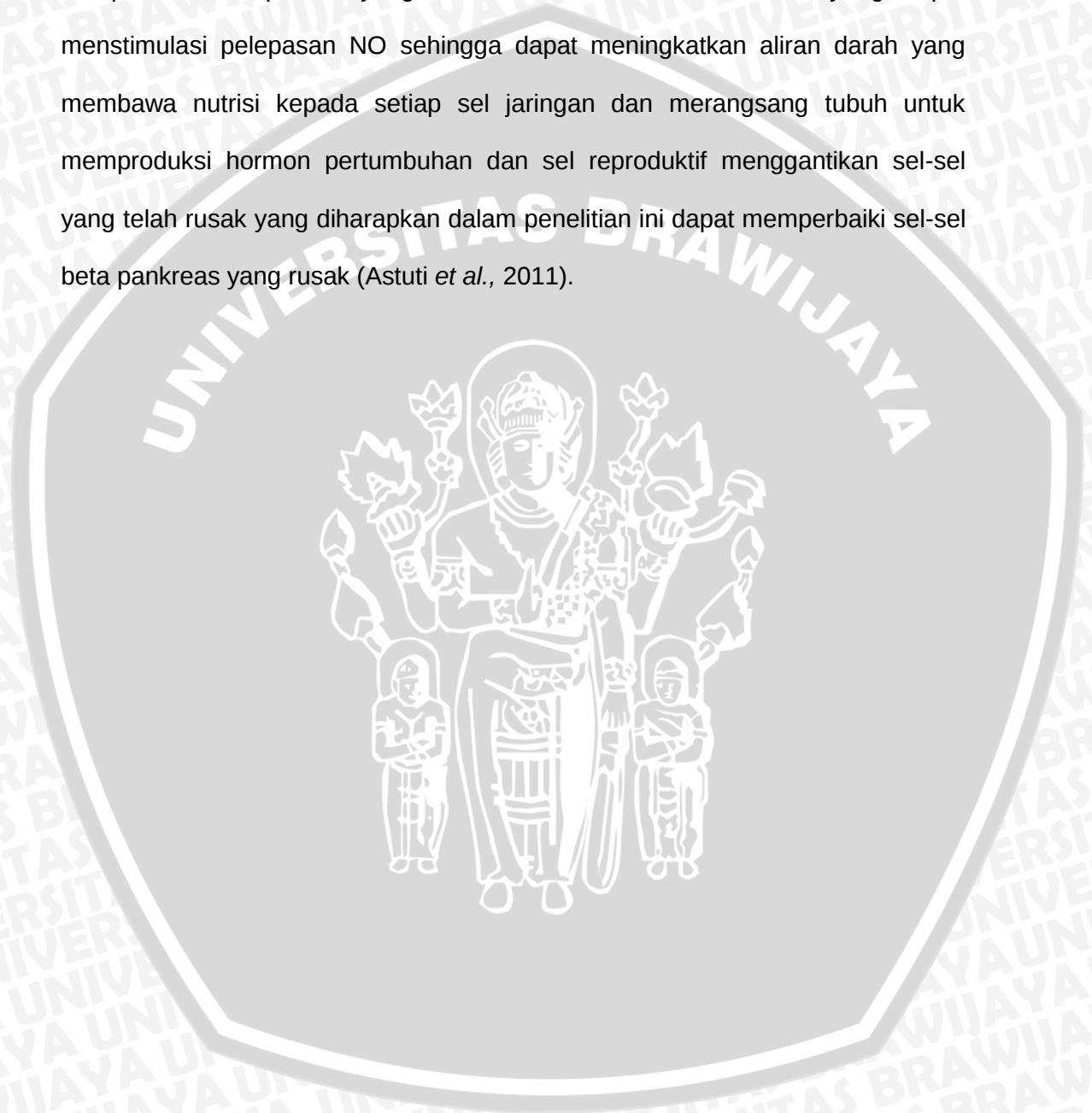


Gambar 2.5 Binahong (BPOM, 2008)

Tanaman ini berasal dari dataran Cina dengan nama aslinya adalah *Dheng shan chi*. Binahong ini merupakan makanan wajib bagi orang Vietnam. Tanaman ini merupakan tanaman yang bersifat perennial dan tumbuh menjalar dan panjangnya dapat mencapai 5 meter, berbatang lunak berbentuk silindris, saling membelit, berwarna merah, bagian dalam solid, permukaan halus, kadang membentuk semacam umbi pada ketiak daun yang bertekstur kasar. Daunnya tunggal dan mempunyai tangkai pendek, bersusun berselang-seling, berwarna hijau dan berbentuk jantung. Panjang daun antara 5-10 cm, lebar antara 3-7 cm, helaian daun tipis lemas, ujung runcing, pangkal berlekuk, tepi rata, permukaan licin (Kardinan, 2009).

Daun binahong mengandung flavonoid yang memiliki aktivitas antioksidan (Rahmawati *et al.*, 2012). Daun binahong juga mengandung asam askorbat dan komponen fenol yang cukup tinggi (Uchida, 2003). Komponen tersebut memiliki

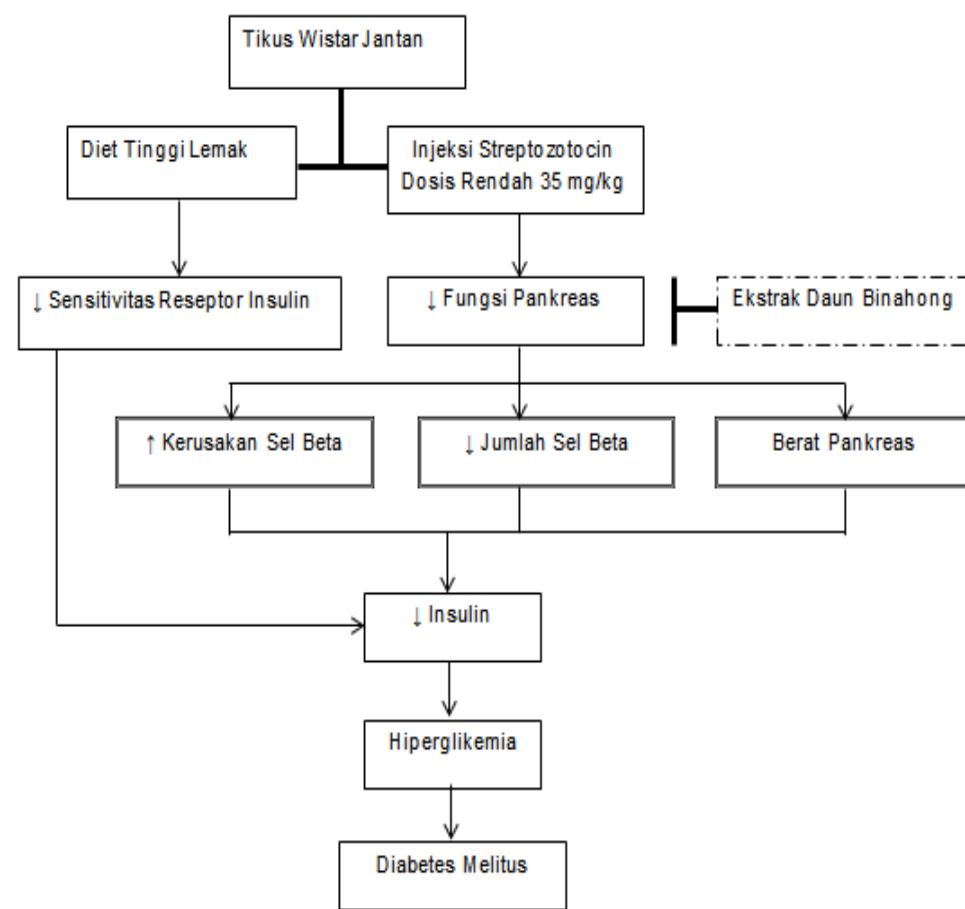
aktivitas bakteriostatik terhadap Gram positif dan Gram negatif (Tshikalange *et al.*, 2005). Selain itu, Binahong juga mengandung asam oleanolik yang tergolong triterpenoid dan protein yang disebut *ancordin*. Protein inilah yang dapat menstimulasi pelepasan NO sehingga dapat meningkatkan aliran darah yang membawa nutrisi kepada setiap sel jaringan dan merangsang tubuh untuk memproduksi hormon pertumbuhan dan sel reproduktif menggantikan sel-sel yang telah rusak yang diharapkan dalam penelitian ini dapat memperbaiki sel-sel beta pankreas yang rusak (Astuti *et al.*, 2011).



BAB 3

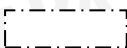
KERANGKA KONSEP DAN HIPOTESIS PENELITIAN

3.1 Kerangka Konsep Penelitian

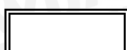


Gambar 3.1. Kerangka Konsep

Keterangan :



: Perlakuan



: Parameter yang dinilai



: Menghambat



: Jalur pathogenesis Diabetes Melitus Tipe 2



: Induksi Diabetes Melitus Tipe 2

Tikus model diabetes melitus (DM) tipe 2 pada penelitian ini menggunakan induksi diet tinggi lemak (high fat diet) yang akan menurunkan sensitivitas reseptor insulin pada jaringan dan injeksi streptozotocin dengan dosis rendah yang akan menurunkan fungsi dari pankreas khususnya sel beta Langerhans dalam memproduksi insulin. Kedua keadaan ini merupakan keadaan etiologis dari diabetes mellitus tipe 2.

Insulin berfungsi untuk menurunkan kadar glukosa darah dengan menyimpannya menjadi glikogen dalam jaringan. Saat organ-organ terpapar oleh diet tinggi lemak secara terus-menerus, maka dapat menurunkan sensitivitas dari reseptor insulin. Pada penyakit diabetes melitus tipe 2 yang sebenarnya (bukan induksi), sensitivitas reseptor insulin merupakan keadaan etiologis pertama yang terjadi sehingga kadar glukosa dalam darah tinggi (hiperglikemia). Kondisi hiperglikemia ini akan menyebabkan *feedback* untuk memerintahkan pankreas memproduksi insulin lebih banyak lagi. Kerja dari pankreas secara otomatis menjadi lebih berat karena dipaksa untuk memproduksi insulin terus-menerus sehingga pankreas akan “lelah” dan mulai mengalami penurunan fungsi dalam jangka waktu yang lama. Penurunan fungsi pankreas ini akan menyebabkan produksi insulin turun sehingga kadar glukosa darah akan semakin tinggi dan menyebabkan penyakit Diabetes Melitus tipe 2. Oleh karena itu, penelitian ini menggunakan induksi streptozotocin dosis rendah untuk menurunkan fungsi pankreas dengan cara merusak sel beta pankreas dalam waktu yang lebih singkat. Dosis yang digunakan adalah dosis rendah agar streptozotocin tidak sampai menyebabkan kerusakan yang parah pada pankreas, karena jika kerusakan sudah cukup parah, maka keadaan ini sudah mewakili keadaan etiologis penyakit Diabetes Melitus tipe 1.

Berdasarkan penelitian yang dilakukan oleh Yang *et al.* (2008) ekstrak daun binahong mengandung quercetin (golongan flavonoid). Flavonoid ini memiliki aktivitas sebagai antioksidan yang sangat berkaitan dengan perbaikan kerusakan organ (Abdel-Raheem *et al.*, 2009) sehingga pemberian ekstrak ini diharapkan juga akan memperbaiki fungsi pankreas agar pankreas dapat memproduksi insulin dengan baik dan kadar glukosa darah turun.

3.2 Hipotesis Penelitian

3.2.1 Ekstrak daun binahong dapat menurunkan kadar glukosa darah pada tikus strain wistar model diabetes melitus tipe 2 yang diinduksi diet tinggi lemak dan streptozotocin.

3.2.1 Ekstrak daun binahong meningkatkan jumlah sel β pankreas pada tikus strain wistar model diabetes melitus tipe 2 yang diinduksi diet tinggi lemak dan streptozotocin.

3.2.3 Ekstrak daun binahong meningkatkan berat pankreas pada tikus strain wistar model diabetes melitus tipe 2 yang diinduksi diet tinggi lemak dan streptozotocin.

3.2.4 Ekstrak daun binahong dapat memperbaiki kerusakan pulau Langerhans pankreas secara histologi pada tikus strain wistar model diabetes melitus tipe 2 yang diinduksi diet tinggi lemak dan streptozotocin.

BAB 4

METODE PENELITIAN

4.1 Rancangan Penelitian

Penelitian ini dilakukan dengan *True Experimental Design* menggunakan jenis post test dengan kelompok kontrol (*Post Test, Control Group*). Subjek dipilih secara acak untuk pengelompokan dan pemberian perlakuan karena hewan coba, tempat percobaan, dan bahan yang digunakan dianggap sama. Metode pemilihan sampel dilakukan secara acak sederhana (*Simple Random Sampling*), karena setiap populasi memiliki kesempatan yang sama untuk dijadikan sampel. Teknik pengambilan sampel secara acak sederhana ini menggunakan angka acak (*random number*).

4.2 Subjek Penelitian

Subjek penelitian adalah tikus putih (*Ratus novvergicus*) strain wistar jantan model diabetes mellitus tipe 2 dengan induksi diet tinggi lemak dan streptozotocin.

4.2.1 Kriteria Inklusi dan Eksklusi

Kriteria inklusi dan eksklusi ditentukan agar karakteristik sampel tidak menyimpang jauh dari populasi. Penentuan kriteria inklusi dan eksklusi ini juga dilakukan agar anggota populasi memenuhi syarat untuk dijadikan sampel. Berikut adalah kriteria inklusi dan eksklusi yang ditentukan:

4.2.1.1 Kriteria Inklusi

Tikus yang digunakan sebagai subjek penelitian harus memiliki ciri-ciri:

- Tikus jenis Wistar (*Ratus novergicus*)
- Jenis kelamin jantan
- Umur 75-90 hari
- Berat badan 200-300 gram
- Tikus aktif dan mau makan

4.2.1.2 Kriteria Eksklusi

Tikus yang digunakan sebagai subjek penelitian tidak boleh memiliki ciri-ciri:

- Tikus dengan perubahan kondisi, seperti sakit yang ditunjukkan kurang aktif, perubahan nafsu makan dan minum
- Tikus dengan cacat fisik
- Tikus mati

4.2.2 Sampel

Sampel tikus sebanyak 30 ekor diletakkan dalam satu wadah besar. Kemudian dilakukan pembagian kelompok dengan menggunakan teknik *simple random sampling*. Sampel dibagi menjadi 6 kelompok dan masing-masing kelompok terdiri atas 5 ekor tikus yang ditempatkan dalam wadah kecil. Pembagian kelompok ialah sebagai berikut:

Kelompok I : tikus tanpa induksi diet tinggi lemak dan streptozotocin dan tidak diberikan ekstrak etanol binahong sebagai kontrol negatif.

Kelompok II : tikus induksi diet tinggi lemak dan streptozotocin dosis 35mg/kgbb tanpa diberikan ekstrak etanol binahong sebagai kontrol positif.

Kelompok III : tikus induksi diet tinggi lemak dan streptozotocin dosis 35mg/kgbb dan diberikan ekstrak etanol binahong dosis 17,5mg/kgbb setiap hari selama 2 minggu.

Kelompok IV : tikus induksi diet tinggi lemak dan streptozotocin dosis 35mg/kgbb dan diberikan ekstrak etanol binahong dosis 35mg/kgbb setiap hari selama 2 minggu.

Kelompok V : tikus induksi diet tinggi lemak dan streptozotocin dosis 35mg/kgbb dan diberikan ekstrak etanol binahong dosis 70mg/kgbb setiap hari selama 2 minggu.

Kelompok VI : tikus induksi diet tinggi lemak dan streptozotocin dosis 35mg/kgbb dan diberikan Glimepiride dosis 0,216 mg/200 g tikus setiap hari selama 2 minggu.

4.2.3 Estimasi Jumlah Sampel Penelitian

Penelitian menggunakan tiga macam perlakuan dengan dua kelompok sebagai kontrol, jumlah hewan coba untuk masing-masing perlakuan dapat dihitung dengan rumus Federer (Federer, 1991):

$$(n - 1)(t - 1) \geq 15$$

Keterangan :

- n = jumlah sampel tiap kelompok
- t = jumlah kelompok
- 15 = nilai deviasi

Dari rumus tersebut, berikut penghitungan jumlah sampel penelitian

$$\{(n - 1)(t - 1)\} \geq 15$$

$$(n - 1) 5 \geq 15$$

$$5n - 5 \geq 15$$

$$5n \geq 20$$

$$n = 4$$

Berdasarkan hasil perhitungan rumus tersebut, diperoleh perhitungan jumlah sampel dalam penelitian ialah 4 ekor tikus. Setiap kelompok perlakuan ditambahkan 1 ekor tikus, dikarenakan pada penelitian sebelumnya yang dilakukan oleh Pranata (2010), tikus yang digunakan sebagai sampel mati sebanyak 2 ekor dari 25 tikus yang mendapat induksi diet tinggi lemak selama 5 minggu dan streptozotocin 35 mg/kgBB. Penelitian Susilowati (2011), yang menguji efek ekstrak daun Pare (*Momordica charantia*) terhadap jumlah sel beta pankreas tikus (*Rattus novergicus*) wistar DM tipe 2 dengan *High Fat Diet* dan STZ, juga menunjukkan 2 ekor tikus mati pada kelompok perlakuan 4 dan 5 dari 5 kelompok perlakuan (25 ekor tikus). Oleh karena itu dibutuhkan 30 ekor tikus yang dibagi menjadi enam kelompok perlakuan sehingga masing-masing kelompok terdiri dari 5 ekor tikus. Penambahan 1 ekor tikus di setiap kelompok perlakuan ini untuk menghindari terjadinya *loss of sample*.

4.3 Variabel Penelitian

Variabel bebas yang terdapat pada penelitian ini adalah ekstrak daun binahong yang diberikan dalam dosis 17,5 mg/kgBB, 35 mg/kgBB, 70 mg/kgBB yang diberikan setiap hari selama dua minggu dengan sonde. Variabel terikat pada penelitian ini adalah kerusakan pulau Langerhans pankreas, jumlah sel beta pankreas, dan berat pankreas pada tikus kontrol.

4.4 Lokasi dan Waktu Penelitian

Waktu penelitian akan dilakukan pada bulan Maret hingga Mei 2014. Lokasi dari penelitian yang akan dilakukan akan tercantum pada tabel berikut:

Tabel 4.1 Lokasi Penelitian

Perlakuan	Lokasi
- Pembuatan ekstrak daun binahong - Uji Kualitatif senyawa binahong	Laboratorium Farmakognosi dan Fitokimia Prodi Farmasi FKUB
- Pemeliharaan hewan coba - Penginduksian diabetes mellitus - Pengambilan dan penimbangan pankreas	Laboratorium Faal FKUB
- Injeksi streptozotocin	Laboratorium Farmakologi FKUB
- Pembuatan preparat sampel - Pemeriksaan histologi	Laboratorium Patologi Anatomi FKUB

4.5 Bahan dan Alat Penelitian

Bahan-bahan dan alat digunakan untuk penelitian ini, antara lain:

4.5.1 Bahan Penelitian

Bahan-bahan yang digunakan dalam penelitian ini tertulis pada tabel berikut:

Tabel 4.2 Bahan-bahan Penelitian

Perlakuan	Bahan
Pakan normal (25 gram/ekor/hari)	PARS 53,87% (pakan ternak yang mengandung 63,8% karbohidrat, 5% lemak, 19% protein), tepung terigu 26,94%, dan air 19,18%.
Diet tinggi lemak (25 gram/ekor/hari)	PARS 50%, tepung terigu 25%, kolesterol 1 %, asam cholat 0,1%, minyak babi 2,5%, dan air 21,4%.
Pembuatan ekstrak daun binahong	400 gram serbuk kering daun binahong dan 6 liter etanol 70%.
Uji kualitatif senyawa binahong	Ekstrak daun binahong Untuk uji alkaloid: larutan HCl, reagen Wagner

	Untuk uji flavonoid: methanol, larutan H ₂ SO ₄ Untuk uji saponin: air
Induksi streptozotocin	312 mg streptozotocin, buffer sitrat pH 4,5
Tes toleransi glukosa	7,2 gram glukosa dan 14,4 ml aquades destilata
Pembuatan suspensi glimepiride	2 mg glimepiride, 11 ml <i>water for injection</i> , CMC 50 mg
Perlakuan glimepiride	Tablet Glimepiride 2 mg
Pembuatan preparat pankreas	Larutan formalin 10 %, paraffin, larutan syol, alkohol, ca utama Harris Hematoksilen, amonia air, enelan, air

4.5.2 Alat Penelitian

Alat-alat disesuaikan dengan tahap penelitian yang dilakukan. Pada umumnya, alat-alat yang digunakan sesuai standart peralatan laboratorium. Berikut alat-alat yang digunakan selama proses penelitian:

Tabel 4.3 Peralatan Penelitian

Tahap Penelitian	Alat
Pemeliharaan hewan coba	Kandang + tutup anyaman kawat, botol air, rak tempat kandang, sekam, timbangan merk <i>Sartorius melter</i> (ketelitian 0,1 kg)
Induksi diabetes mellitus	Disposable spuit 1 ml, disposable spuit 3 ml, labu ukur 50 ml, neraca analitik, pipet tetes, pipet ukur, pipet volume, beaker glass, aluminium foil, tabung eppendorf, alat inhalasi, pH meter, vial kosong steril, <i>glucose check test</i>
Pembuatan ekstrak binahong	Timbangan digital, kertas timbang, sendok penyusut, dua buah toples, batang pengaduk, corong, stirer, gelas ukur, tissue, kain flanel, kertas saring, cawan porselen, rotari evaporator dan oven
Uji Fitokimia ekstrak Binahong	Tabung reaksi, pipet tetes, tissue, plat porselin, pembakar spiritus
Penimbangan berat badan tikus	Timbangan digital

Pembuatan suspensi glimepiride	Timbangan digital, batang pengaduk, <i>beaker glass</i>
Pemberian ekstrak daun binahong (<i>Anredera cordifolia</i>) pada tikus	Cawan porselen, pengaduk, sonde lambung tikus.
Pembedahan tikus	Pisau bedah, gunting bedah, papan bedah, pinset, pot organ dan label
Penimbangan pankreas	Timbangan digital
Pemeriksaan histopatologi pankreas	Object Glass, Mikrotom, <i>heater</i> , mikroskop

4.6 Definisi Operasional

- Ekstrak daun Binahong dalam penelitian ini diperoleh dari Materia Medika Batu, Malang.
- Hewan coba pada penelitian ini adalah tikus putih (*Rattus norvegicus*) strain wistar berusia 75-90 minggu dengan berat badan antara 200-250 gram, karena hewan coba ini dapat mensimulasikan kondisi diabetes melitus tipe 2 setelah dilakukan diet tinggi lemak dan induksi streptozotocin 35mg/kgbb.
- Diet tinggi lemak adalah pakan tinggi kolesterol yang dimodifikasi dengan formulasi tertentu untuk menghasilkan keadaan obesitas pada hewan coba tikus yang terdiri atas konsentrat PARS 50%, tepung terigu 25%, kolesterol 1%, asam cholat 0,1%, minyak babi 2,5%, dan air sebesar 21,4%.
- Profil pankreas yang diukur adalah kerusakan pulau Langerhans pankreas secara histologi yang terlihat dari bentuk pulauanya seperti pada Gambar 2.2, berat pankreas dan jumlah sel β pankreas.

4.7 Prosedur Penelitian dan Pengumpulan Data

4.7.1 Persiapan Kandang

- Menyiapkan rak besi sebagai tempat kandang tikus.
- Menyiapkan kandang dari kotak plastik dengan tutup terbuat dari kawat dan di dalamnya diberi sekam.
- Menyiapkan tempat minum tikus.

4.7.2 Persiapan Hewan Coba

- Seleksi hewan yang digunakan sebagai model sesuai dengan kriteria yang telah ditetapkan yaitu tikus putih strain wistar.
- Tikus yang telah diseleksi, diadaptasi dengan cara tikus dimasukkan dalam kandang yang sudah disiapkan dengan diberi pakan normal dan minum selama 1 minggu.
- Tiga kelompok tikus terdiri dari kelompok I dan kelompok II sebagai kontrol, sedangkan kelompok III, IV, V, dan VI mendapatkan intervensi.

4.7.3 Penimbangan Berat Badan Tikus

Penimbangan berat badan tikus menggunakan timbangan digital. Sebelum dilakukan penimbangan terhadap tikus, timbangan dinyalakan dahulu, dan skala diposisikan pada angka nol, kemudian wadah tikus diletakkan pada timbangan dan dikalibrasi. Setelah timbangan menunjukkan angka nol, maka tikus dimasukkan dalam wadah dan dibaca angka yang terdapat pada layar dengan satuan gram (g).

4.7.4 Pembuatan Pakan Normal

Diet normal dibuat dari campuran PARS 53,87 % (pakan ternak yang mengandung 63,8 % karbohidrat, 5 % lemak, 19 % protein), tepung terigu 26,94 %, dan air sebesar 19,18 % (Pranata, 2010).

Bahan makanan:

- Jumlah makanan rata-rata 25 gr/hari untuk setiap tikus.
- 25 g makanan mengandung konsentrat PARS 13,46 g/hari dan tepung terigu 6,73 g/hari.

4.7.5 Pembuatan Diet Tinggi Lemak

Diet tinggi lemak terbuat dari campuran PARS 50 %, tepung terigu 25 %, kolesterol 1 %, asam cholat 0,1 %, minyak babi 2,5 %, dan air sebesar 21,4 %. Induksi ini diberikan selama 5 minggu secara ad libitum (Pranata, 2010).

Bahan makanan:

- Jumlah makanan rata-rata 25 gr/hari untuk setiap tikus.
- 25 g makanan mengandung konsentrat PARS 12,5 g/hari, tepung terigu 6,25 g/hari, kolesterol 0,25 g/hari, asam cholat 0,025 g/hari, dan minyak babi 0,625 g/hari.

4.7.6 Pembuatan Larutan Streptozotocin

- a. Streptozotocin (STZ) 312 mg dilarutkan dalam aquabidest steril (sediaan larutan STZ 11mg/0,5ml)
- b. Dilakukan pengecekan pH larutan menggunakan kertas pH; jika pH larutan 4,5 maka larutan dapat langsung disimpan, namun jika pH lebih dari 4,5 digunakan asam sitrat 0,1M hingga mencapai pH 4,5

- c. Larutan STZ disimpan pada suhu 4°C sebelum diinjeksikan.

4.7.7 Induksi Larutan STZ pada Tikus Wistar

- a. Berat badan tikus ditimbang untuk penentuan dosis STZ yang diperlukan
- b. Larutan STZ 35 mg/kgBB diinjeksikan secara intraperitoneal (IP) sekali (Srinivasan *et al.*, 2005) setelah 5 minggu pemberian diet tinggi lemak.
- c. Tikus dipegang dengan erat, diposisikan dengan bagian abdomen menghadap ke arah atas dan kepala sedikit menghadap ke bawah.
- d. Pada bagian atas abdomen tikus disemprotkan ethanol 70%, kulit dicubit hingga terasa bagian ototnya.
- e. Spuit dimasukkan pada bagian abdomen dan dicoba digerakkan, apabila terasa berat maka sudah masuk pada daerah intraperitoneal.
- f. Segera STZ diinjeksi secara perlahan, selanjutnya abdomen tikus disemprot dengan etanol 70 % kembali.
- g. Setelah induksi STZ ditunggu selama 2 hari, dilakukan pengukuran kadar glukosa darah.

4.7.8 Pemberian Induksi Glukosa

- a. Tikus dipuasakan selama 12 jam (H0) setelah mendapat induksi diet tinggi lemak selama 5 minggu dan injeksi STZ selama 2 hari.
- b. Induksi glukosa diberikan secara sonde dengan dosis 1 g/kgbb tikus (Siegel *et al.*, 1980).
 - Cara pembuatan larutan glukosa 20% untuk tes toleransi glukosa (untuk 30 tikus dengan berat @220gram):

- Menyiapkan glukosa sebesar 6,6 gram.
- Glukosa dilarutkan dalam *water for injection* (WFI) sebesar 33 ml dan divortex hingga homogen.

4.7.9 Pemeriksaan Glukosa Darah Tikus

- a. Tikus dipegang dengan serbet.
 - b. Ujung ekor diberi alkohol dan ditusuk jarum.
 - c. Ekor diurut ke distal sehingga darah keluar melalui ujung luka.
 - d. Darah ditempelkan pada stik yang ditempelkan pada alat ukur digital, kemudian dilihat hasilnya.
- I. Pemeriksaan glukosa darah puasa (GDP) dilakukan sebelum diberikan terapi hari pertama (H0), hari ketujuh (H7), dan hari ke-15 (H15). Pemeriksaan glukosa darah puasa pada H0 dilakukan untuk memastikan tikus telah dalam kondisi DM dengan kadar glukosa $>200\text{mg/dL}$. Pemeriksaan selanjutnya dilakukan untuk mengetahui progresivitas dari terapi yang diberikan.
 - II. Pemeriksaan profil glukosa darah pada H1, H7, dan H14
 - Pemeriksaan profil glukosa pada hari pertama bertujuan untuk mengetahui toleransi glukosa pada tikus dan mengetahui efek dari ekstrak binahong setelah pemberian terhadap kadar glukosa darah tiap 2 jam selama 10 jam.
 - Tikus dipuasakan selama 12 jam pada hari sebelumnya (mulai malam hari).
 - Setelah puasa 12 jam dilakukan pengukuran GDP lalu diberikan induksi glukosa oral (semua kelompok), setelah 30

menit dilakukan pengecekan glukosa darah kembali. Selanjutnya diberikan terapi ekstrak binahong (kelompok III, IV, dan V), dan glimepiride (kelompok IV) dengan sonde.

- Pengukuran glukosa darah dilakukan setiap 2 jam setelah pemberian terapi dalam rentang waktu 10 jam.

4.7.10 Pemberian Ekstrak Binahong

4.7.10.1 Proses Pembuatan Ekstrak Etanol Binahong

Flavonoid memiliki aktivitas sebagai antioksidan yang sangat berkaitan dengan perbaikan kerusakan organ sehingga pemberian ekstrak ini diharapkan juga akan memperbaiki fungsi pankreas sehingga pankreas dapat memproduksi insulin dengan baik dan kadar glukosa darah turun (Yang *et al.*, 2010). Flavonoid merupakan senyawa polar maka pada umumnya flavonoid larut dalam pelarut polar seperti metanol, butanol, etanol dan air. Etanol memiliki kepolaran yang paling besar dalam menarik senyawa fenolik dan flavonoid (Agustiningsih *et al.*, 2010). LD₅₀ etanol adalah 6.200 mg/kgBB (Tesoro Corporation, 2012) dan LD₅₀ metanol adalah 5630 mg/kgBB (Bursztyn, 2013) sehingga toksisitas etanol lebih rendah bila dibandingkan dengan metanol. Selain itu, flavonoid terutama berupa senyawa yang larut dalam air dan senyawa aktifnya dapat diekstraksi dengan etanol 70% (Harbone, 1987). Jadi, tingkat toksisitas dan kelarutan inilah yang menjadi dasar mengapa dipilih pelarut etanol 70%.

Metode ekstraksi yang digunakan adalah maserasi karena metode ini tidak menggunakan panas yang dikhawatirkan dapat merusak senyawa aktif dan bahan yang diekstrak bukanlah bahan kayu sehingga memang dalam ekstraksi daun binahong ini tidak diperlukan panas. Selain itu, peralatan yang digunakan juga sederhana, praktis, dan memerlukan pelarut yang lebih sedikit dibanding

kan perkolasi (Harbone, 1996; Kristanti, 2008). Langkah-langkah maserasi yang dilakukan dalam penelitian ini mengacu pada Astuti *et al.* (2011), yakni:

- a. Serbuk kering daun binahong ditimbang 400 gram dengan menggunakan timbangan digital.
- b. Serbuk dimasukan dalam toples 1, ditambahkan 2 liter etanol 70%.
- c. Campuran distirer selama 2x30 menit dengan kecepatan 500 rpm (dimatikan tiap 30 menit).
- d. Toples 1 ditutup dan didiamkan 24 jam
- e. Setelah 1 x 24 jam toples 1 dibuka, maserat disaring menggunakan kain flanel dan hasil maserasi ditampung dalam toples 2.
- f. Ampas hasil maserasi dimasukkan kembali ke toples 1 dan ditambahkan 2 liter etanol 70 % sambil diaduk menggunakan batang pengaduk hingga merata, lalu distirer selama 2x30 menit (proses remaserasi pertama).
- g. Toples ditutup kembali dan didiamnkan selama 1 x 24 jam.
- h. Setelah 1 x 24 jam, maserat kembali disaring menggunakan kain flanel, dan hasil penyaringan dimasukkan ke dalam toples 2 (dicampur dengan hasil penyaringan pertama).
- i. Prosedur 6 sampai 8 diulangi (remaserasi kedua).
- j. Setelah didapatkan ekstrak etanol daun binahong berwarna hitam, kemudian ekstrak di rotary evaporator dengan suhu 40°C dengan kecepatan 70 rpm hingga didapatkan ekstrak kental
- k. Ekstrak kental dikeringkan hingga menjadi serbuk dengan metode *Freeze-drying* selama ± 24 jam
- l. Ekstrak yang telah menjadi serbuk dimasukkan dalam wadah tertutup rapat dan disimpan dalam lemari es.

4.7.11 Uji Kualitatif Senyawa dalam Ekstrak Etanol Binahong

Uji alkaloid dengan melarutkan 0,5 gram zat yang akan diuji dalam HCl. Kemudian disaring, filtratnya diambil dan ditambahkan reagen Wagner, endapan coklat akan terbentuk (Pederson, 2006).

Uji saponin dengan cara mencampurkan 0,5 gram sampel dengan air secukupnya dan dipanaskan selama 5 menit. Larutan tersebut didinginkan kemudian dikocok dan timbul busa selama ± 10 menit.

Uji flavonoid dilakukan dengan cara menambahkan 0,5 gram sampel dengan metanol sampai terendam lalu dipanaskan. Filtrat ditambahkan dengan 5 tetes H_2SO_4 terbentuknya warna merah karena penambahan H_2SO_4 menunjukkan adanya senyawa flavonoid (Kristina *et al.*, 2009).

4.7.12 Pembuatan Larutan Ekstrak Daun Binahong

Serbuk ekstrak ditimbang 250 mg lalu dilarutkan dalam 25 ml *water for injection* (WFI), Kemudian divortex hingga homogen sehingga didapatkan larutan stok dengan konsentrasi 1% (untuk kelompok PC). Kemudian Dilakukan pengenceran dari larutan stok hingga didapatkan konsentrasi 0,5% (untuk kelompok PB) dan 0,25% untuk kelompok PA).

4.7.13 Pembuatan Suspensi Glimepiride

50 mg CMC dilarutkan terlebih dahulu dalam 1ml *water for injection* (WFI) sampai mengembang seperti gel. Kemudian ditambahkan 10 ml WFI lagi dan diaduk sampai homogen. Tablet glimepiride 2 mg digerus hingga halus kemudian dilarutkna dalam larutan CMC hingga homogen (Ratimanjari, 2011).

4.7.14 Pemberian Ekstrak Binahong dan Glimepiride ke Tikus yang telah Diinduksi

Ekstrak daun binahong diberikan pada kelompok III, IV, dan V selama dua minggu. Pemberian ekstrak binahong dilakukan dengan menggunakan sonde setiap hari selama dua minggu. Pemberian ekstrak daun binahong dan glimepiride diberikan 30 menit setelah pemberian pakan.

4.7.15 Pembedahan

Setelah dua minggu perlakuan, tikus dimatikan dengan inhalasi kloroform sesuai prosedur Laboratorium Patologi-Fisiologi FKUB. Tikus yang telah dalam kondisi tidak sadar selanjutnya dilakukan insisi pada daerah dada dan perut lalu dilakukan pengambilan darah jantung sebanyak 10 ml (untuk penelitian kadar serum insulin dan lipid). Kemudian diambil pankreasnya dan disimpan dalam freezer.

4.7.16 Penimbangan Pankreas

Penderita diabetes akan mengalami perubahan morfologi pada sel β , baik dalam ukuran maupun jumlahnya sehingga mengakibatkan penurunan masa pankreas (Guz *et al.*, 2001; Butler *et al.*, 2001). Untuk mengetahui kenaikan jumlah perbaikan sel pankreas, Kenaikan ini ditandai dengan rasio berat dari pankreas dengan berat badan tikus, maka dilakukan penimbangan langsung dengan menggunakan timbangan digital.

4.7.17 Pembuatan Preparat Histopatologi Pankreas

Pembuatan preparat histopatologi dilakukan dengan metode paraffin. Fiksasi dilakukan dengan merendam jaringan pankreas tikus dalam formalin 10% selama sehari semalam (24 jam) kemudian dilanjutkan dengan tahap pemotongan

jaringan dengan ketebalan 2-3 mm. Potongan jaringan dimasukkan dalam kaset dan diberi label sesuai dengan label jaringan. Kemudian jaringan dalam kaset dimasukkan dalam larutan formalin 10 % yang kemudian dimasukkan dalam alat *Tissue Tex Prosesor 90 menit*. Selanjutnya dilakukan pengeblokan dengan parafin. Setelah parafin membeku, maka dipotong dengan microtome 3-5 mikron dan ditaruh dalam oven selama 30 menit dengan suhu 70-80°C, kemudian dimasukkan ke dalam larutan sylol selama 2x20 menit. Setelah diletakkan dalam sylol, sayatan dipindah ke dalam alkohol 4x3 menit, lalu dimasukkan dalam air mengalir selama 15 menit. Kemudian dilakukan proses pewarnaan *Hematoxylin-Eosin* (HE) lalu dilanjutkan dengan mounting dengan entelan dan *deckglass*. Slide dibiarkan kering pada suhu ruangan lalu diamati pada mikroskop untuk melihat histologi pankreas.

4.7.18 Pengumpulan Data

Data yang dikumpulkan selama penelitian diantaranya:

4.7.17.1 Penimbangan Berat Badan Tikus

Berat badan masing-masing tikus diukur sebelum pemeliharaan. Penimbangan kemudian dilanjutkan saat pemberian diet tinggi lemak setiap 1 minggu selama 5 minggu. Penimbangan dilakukan lagi sebelum injeksi STZ untuk penentuan dosis STZ dan setelah injeksi setiap 2 hari sekali untuk penentuan dosis ekstrak daun binahong dan glimepiride.

Tabel 4.4 Penimbangan Berat Badan Tikus

Waktu Kelompok	Fase Adaptasi (1 minggu)	Diet Tinggi Lemak (5 minggu)	Induksi STZ	Fase Terapi (2 minggu)
I	1 kali (awal penelitian)	Seminggu sekali	Sebelum injeksi	Setiap 2 hari
II				
III				
IV				
V				
VI				

4.7.17.2 Pengukuran Kadar Glukosa Darah

Tabel 4.5 Pengukuran Kadar Glukosa Darah

Waktu Kelompok	Fase Adaptasi (Minggu ke-1)	Induksi DM 2 (Minggu ke-2 hingga ke-7)	Terapi (Minggu ke-8 dan ke-9)
I	sebelum pemberian diet tinggi lemak	sebelum dilakukan injeksi stz dan dua hari setelah injeksi stz	GDP dan 6 kali setiap pengamatan profil glukosa darah pada H1, H7, H14, dan GDP sebelum dimatikan.
II			
III			
IV			
V			
IV			

Pengukuran kadar glukosa darah dilakukan sebelum induksi diabetes mellitus tipe 2 dan selama induksi diabetes mellitus tipe 2 setelah pemberian diet tinggi lemak selama 5 minggu (sebelum penginjeksian STZ) untuk memastikan

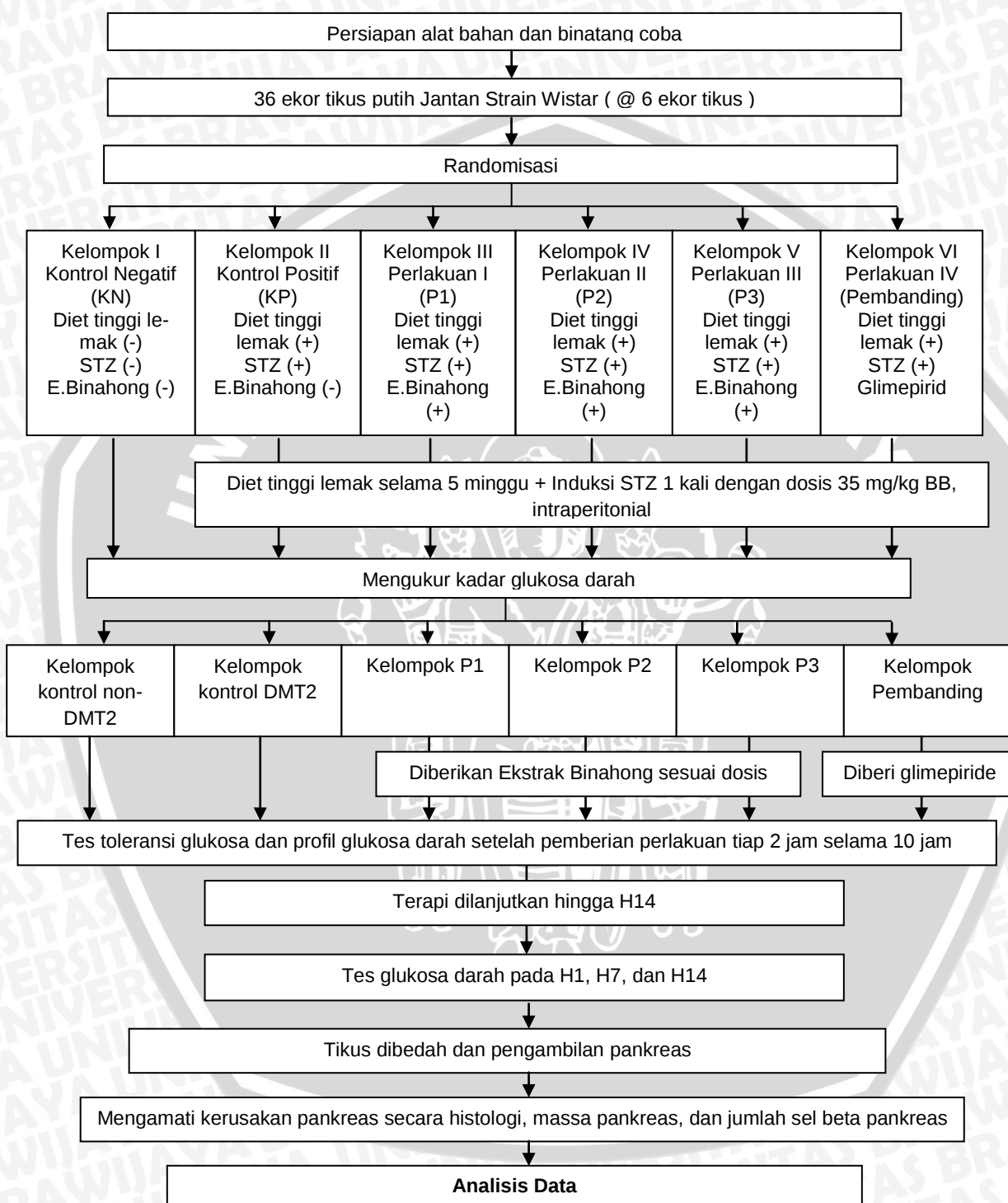
bahwa tikus tidak dalam kondisi hipoglikemia ataupun hiperglikemia. Pemeriksaan kadar glukosa darah selanjutnya dilakukan kembali 2 hari setelah penginjeksian STZ untuk mengetahui tikus telah dalam kondisi diabetes atau tidak. Pemeriksaan kadar glukosa darah puasa dilakukan saat pemberian terapi hari pertama (H1), hari ketujuh (H7), dan hari ke-14 (H14), 30 menit setelah induksi glukosa oral, dan tiap 2 jam selama 10 jam yang bertujuan untuk mengetahui toleransi glukosa pada tikus dan profil penurunan glukosa darah setelah pemberian ekstrak daun binahong. Pemeriksaan kadar glukosa darah selanjutnya dilakukan sebelum tikus dimatikan.

4.7.17.3 Pemeriksaan Profil Pankreas

Pemeriksaan profil pankreas diukur setelah perlakuan 2 minggu dengan metode yang dilakukan oleh Farabi *et al.* (2010).



4.8 Alur Penelitian



Gambar 4.1 Alur Penelitian

4.9 Pengolahan dan Analisis Data

Analisis statistik dengan *one way* ANOVA dengan menggunakan SPSS 20. One Way Anova digunakan untuk menguji hipotesis komparatif lebih dari dua sampel secara serempak bila setiap sampel terdiri atas satu kategori (Sugiyono, 2006). One Way Anova digunakan untuk menguji apakah rata-rata dari dua sampel berbeda secara signifikan atau tidak yaitu diet normal, diet tinggi lemak dan induksi STZ dengan pemberian ekstrak binahong pada dosis I, II, dan III. Variable bebas yaitu pemberian ekstrak daun binahong per oral dan variable tergantung yaitu berat, dan jumlah sel beta pankreas pada tikus kontrol kemudian dicari median dan standard deviasi (SD) dengan tingkat kepercayaan 95% ($\alpha=0,05$) dimana apabila diperoleh $p > 0,05$ artinya tidak ada perbedaan yang nyata, sebaliknya bila $p < 0,05$ menunjukkan ada perbedaan yang bermakna. Pengujian One Way ANOVA tidak dapat dilakukan jika dalam uji normalitas dan homogenitas data tidak mempunyai sebaran normal dan homogen, sehingga dapat dilakukan uji nonparametrik dengan uji *Kruskal-Wallis*. Uji *Kruskal-Wallis* dikatakan signifikan apabila nilai $p < 0,05$.

BAB 5

HASIL PENELITIAN DAN ANALISIS DATA

5.1 Hasil Ekstraksi Daun Binahong

Ekstrak kental yang didapat sebanyak 67,4 gram. Kemudian ekstrak kental yang sudah didapat dikeringkan dengan menggunakan metode *freeze-drying* selama 24 jam dan didapat serbuk ekstrak kering 37,69 gram. Prosentase penyusutan bobot ekstrak kental menjadi serbuk ekstrak kering adalah sebesar 44,1%.

5.2 Hasil Uji Fitokimia

Karakteristik serbuk kering ekstrak yang didapat adalah berupa padatan seperti serbuk yang bersifat higroskopis, berwarna hijau tua, rasa pahit, dan berbau khas binahong. Kemudian setelah dilakukan uji organoleptik, dilakukan uji fitokimia secara kualitatif. Hasil uji fitokimia dapat dilihat pada Tabel 5.1.

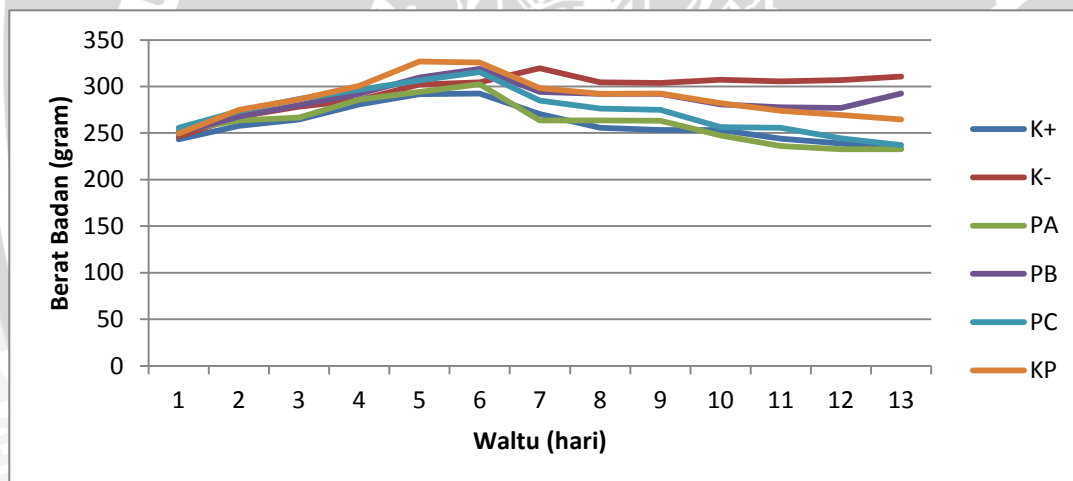
Tabel 5.1 Hasil Uji Fitokimia Ekstrak Daun Binahong

Zat yang Diuji	Metode Uji / Pereaksi	Hasil
Saponin	Uji Busa	Positif
Alkaloid	Wagner	Positif
Flavonoid	H ₂ SO ₄	Positif

Hasil yang positif menunjukkan bahwa ekstrak daun binahong mengandung saponin, alkaloid, dan flavonoid.

5.3 Sisa Pakan Tikus

Pada data berat badan tikus selama induksi diet tinggi lemak yang dapat dilihat pada Lampiran 2, maka terlihat bahwa terjadi peningkatan berat badan tikus. Peningkatan berat badan tikus ini sebanding dengan sisa pakan tikus yang ada. Pada data sisa pakan tikus (Lampiran 13) dapat dilihat bahwa rata-rata diet tinggi lemak hampir habis dikonsumsi oleh semua tikus sehingga dapat diduga bahwa induksi diet tinggi lemak pada penelitian ini berhasil meningkatkan berat badan masing-masing tikus dengan tujuan untuk memunculkan kondisi obesitas yang dapat memicu terjadinya resistensi insulin seperti pada pasien diabetes melitus tipe 2.

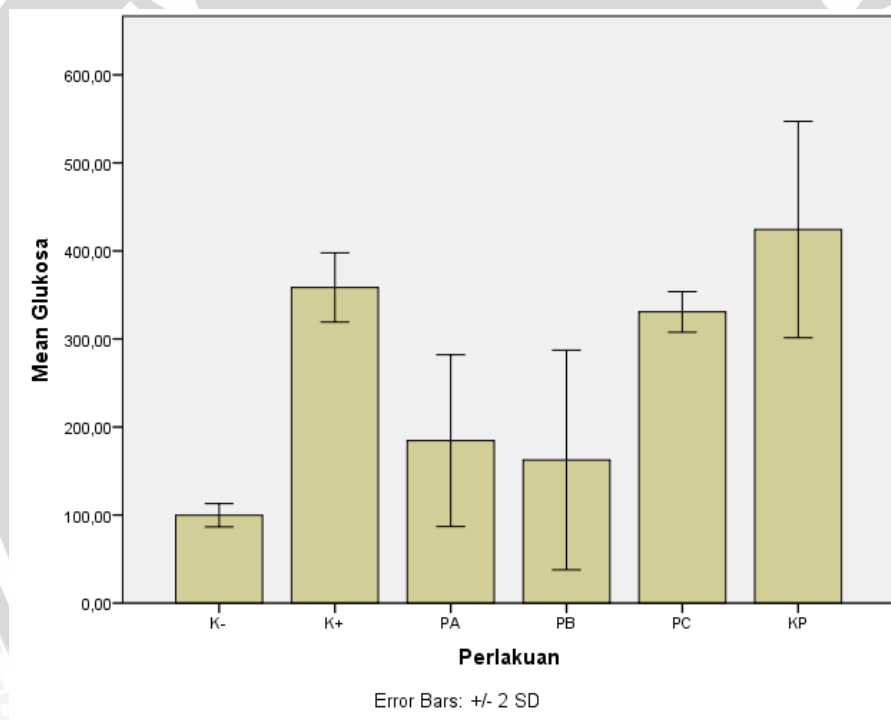


Gambar 5.1 Berat Badan Tikus

Titik 1-6 adalah berat badan sebelum diet tinggi lemak dihentikan dan terlihat bahwa mulai titik ke-1 berat tikus terus meningkat akibat pemberian diet tinggi lemak.

5.4 Hasil Pengukuran Glukosa Darah

Seluruh analisis data dalam penelitian ini menggunakan *Kruskal-Wallis* karena terjadi *loss of sample* sebanyak 4 sampel pada kelompok PA. Selain itu, data yang didapat juga tidak mempunyai sebaran data yang normal dan homogen. Pengujian One Way ANOVA tidak dapat dilakukan jika dalam uji normalitas dan homogenitas data tidak mempunyai sebaran normal dan homogen, sehingga dapat dilakukan uji nonparametrik dengan uji *Kruskal-Wallis*. Uji *Kruskal-Wallis* dikatakan signifikan apabila nilai $p < 0,05$.



Gambar 5.2 Kadar Glukosa pada Hari ke-15

Data kadar glukosa darah pada akhir perlakuan yang dianalisis statistik menggunakan *Kruskal-Wallis* memiliki nilai signifikansi $P=0,001$ antar perlakuan. Kemudian dilakukan analisis menggunakan *Mann-Whitney* antar kelompok perlakuan dengan hasil yang dapat dilihat pada Tabel 5.2.

Tabel 5.2 Signifikansi *Mann-Whitney* Antar Kelompok Perlakuan pada Kadar Glukosa Darah

Kelompok yang diuji	Signifikansi
K+ dengan K-	0,014 *
K+ dengan PA	0,064
K+ dengan PB	0,021*
K+ dengan PC	0,043*
K+ dengan KP	0,05
K- dengan PA	0,053
K- dengan PB	0,065
K- dengan PC	0,14*
K- dengan KP	0,009*
PA dengan PB	0,643
PA dengan PC	0,064
PB dengan PC	0,021*
PA dengan KP	0,053
PB dengan KP	0,014*
PC dengan KP	0,014*

*= berbeda signifikan

Kemudian data penurunan glukosa darah pada pertengahan (hari ke-7) dan akhir perlakuan (hari ke-15) diukur. Uji menggunakan *Kruskal-Wallis* antar kelompok perlakuan pada penurunan glukosa darah menunjukkan perbedaan dengan $p=0,011$. Berdasarkan uji *Mann-Whitney* yang dilakukan terhadap beberapa kelompok, perbedaan yang bermakna terlihat antara PB dengan KP ($p=0,027$; $p<0,05$). Antara PC dengan KP tidak diperoleh perbedaan yang bermakna

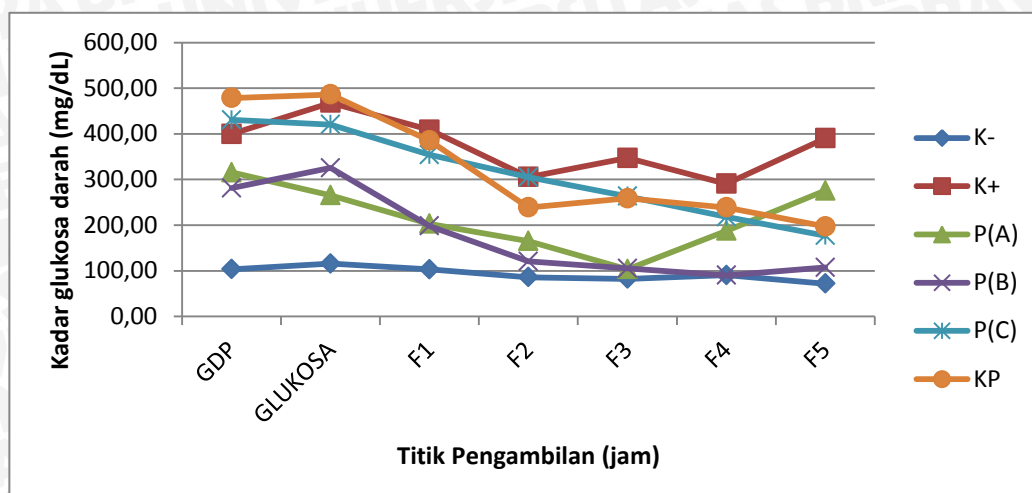
($p=0,05$) meskipun antara PC dengan PB juga tidak dapat dikatakan berbeda ($p=0,309$). Tanda negatif kelompok K+ pada penurunan hari ke-7 menunjukkan bahwa kadar glukosa darah justru meningkat. Uji korrelasi *Spearman-rho* antara dosis ekstrak daun binahong dengan kadar glukosa darah pada akhir perlakuan menunjukkan korelasi 0,740 dengan signifikansi 0,014.

Tabel 5.3 Penurunan Glukosa Darah pada Hari ke-7 dan Hari ke-15 (rerata $\pm$ SD)

Kelompok	Penurunan H7	Penurunan H15
K-	7,2 $\pm$ 25,054	9,4 $\pm$ 14,96
K+	-55,75 $\pm$ 142,02	51,75 $\pm$ 43,638
PA	29,667 $\pm$ 154,669	160,5 $\pm$ 142,129
PB	44,5 $\pm$ 169,274	214 $\pm$ 116,753
PC	4 $\pm$ 85,153	162,667 $\pm$ 49,238
KP	29,2 $\pm$ 129,363	26,4 $\pm$ 86,025

5.5 Profil Penurunan Glukosa Darah

Gambar 5.3 menunjukkan perjalanan kadar glukosa darah mulai dari sebelum pemberian glukosa (glukosa darah puasa) hingga 10 jam setelah terapi. Kadar glukosa diukur dengan menggunakan *EasyTouch*[®] setiap 2 jam selama 10 jam terapi yang dimulai dari 2 jam setelah pemberian ekstrak daun binahong yang diberikan dua jam setelah pemberian glukosa (F1).



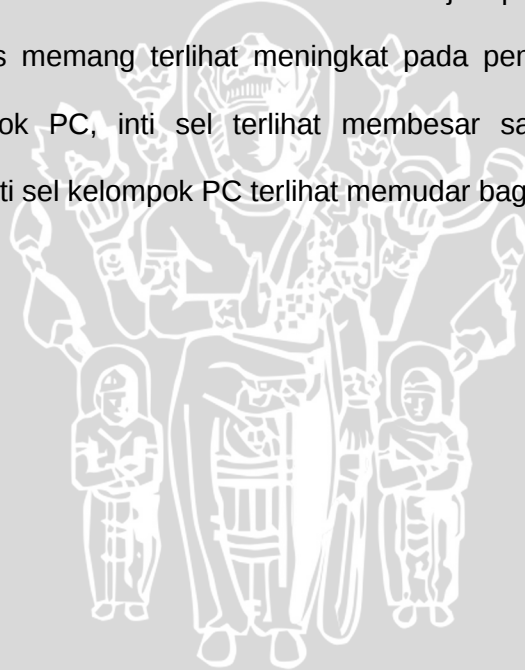
Gambar 5.3 Glukosa Darah Puasa dan Farmakokinetik

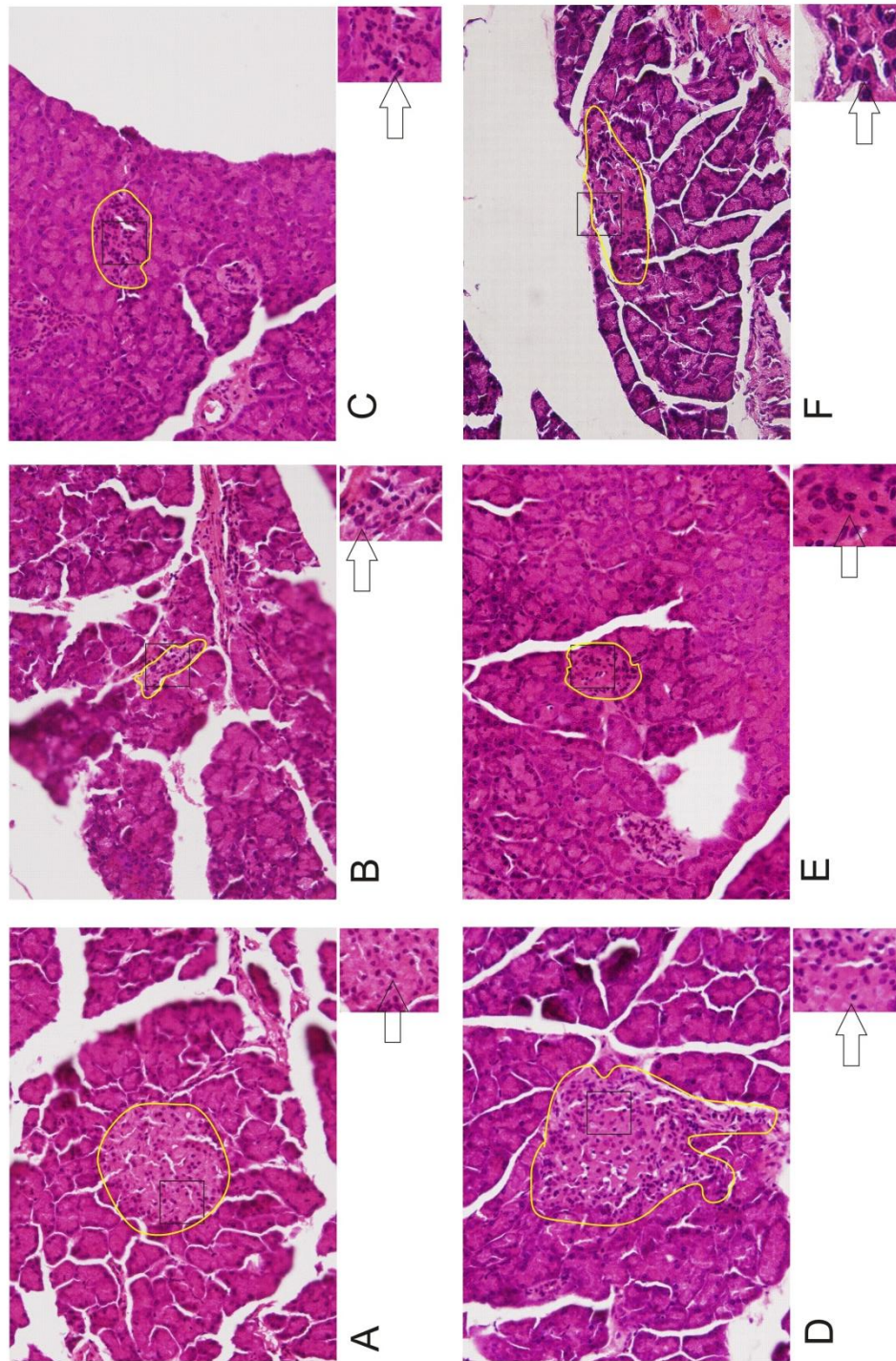
Pada kelompok kontrol positif diabetes, kadar glukosa darah pada awalnya (F1) turun tetapi, kembali naik di titik F2 dan terus mengalami naik-turun secara bergantian pada titik berikutnya. Perjalanan kadar glukosa darah pada kelompok tikus diabetes yang diberi terapi ekstrak daun binahong dosis 35 mg/kgBB (PB) hampir sama dengan kelompok tikus diabetes yang diberi terapi ekstrak daun binahong dosis 70 mg/kgBB (PC) jika dilihat pada grafik, bahkan PC memiliki penurunan yang lebih teratur dan stabil jika dibanding PB karena pada titik F2 (4 jam setelah pemberian) kadar glukosa darah mengalami penurunan yang cukup curam. Kelompok PA juga memiliki penurunan yang teratur tetapi, pada titik F4, kadar glukosa darah kembali naik. Kelompok tikus diabetes yang diberi terapi glimepiride juga menunjukkan penurunan yang hampir sama dengan PC tetapi, pada titik F3 (6 jam setelah pemberian) kadar glukosa darah mengalami sedikit peningkatan yang kemudian kembali menurun pada titik-titik berikutnya.

5.6 Profil Pankreas

5.6.1 Hasil Histologi Pankreas dengan Pewarnaan HE

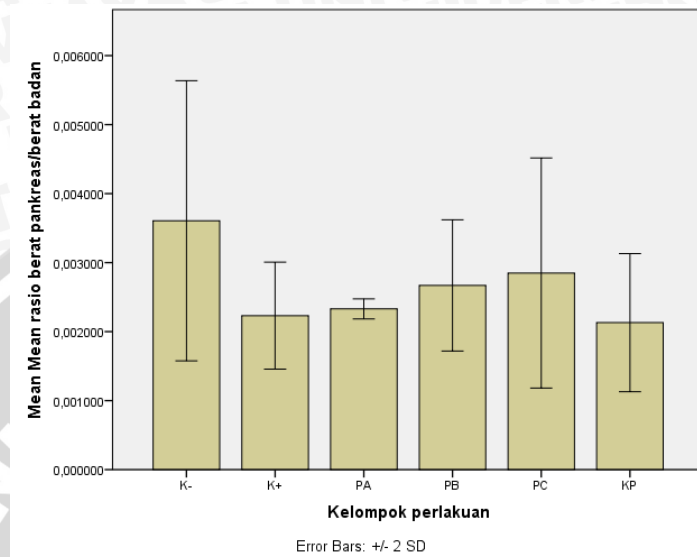
Pengamatan sel beta pankreas dilakukan pada mikroskop cahaya *Olympus* dengan perbesaran 400x yang kemudian difoto dengan kamera digital. Berdasarkan hasil dari pengamatan di bawah mikroskop, pada keadaan normal, pulau Langerhans berbentuk seperti pulau lingkaran atau lonjong tetapi, pada kontrol diabetes, pulau Langerhans berubah bentuk menjadi tidak beraturan. Bentuk inti sel beta pankreas pada kontrol negatif (normal) berbentuk hitam dan lonjong tetapi pada kontrol diabetes inti sel berubah menjadi pipih dan tidak utuh. Inti sel beta pankreas memang terlihat meningkat pada pemberian binahong, namun pada kelompok PC, inti sel terlihat membesar sama seperti pada kelompok KP, tetapi inti sel kelompok PC terlihat memudar bagian tengahnya.





Gambar 5.4 Histologi Sel Beta Pankreas dalam Pulau Langerhans dengan Pewarnaan Hematoxylin-Eosin (HE). (A) kontrol positif (tikus normal), (B) kontrol negatif (tikus normal), (C) PA (terapi binahong 17,5 mg/kgBB/hari), (D) PB (terapi binahong 35 mg/kgBB/hari), (E) PC (terapi Glibenclamide 70 mg/kgBB/hari), (F) KP (terapi Glibenclamide 70 mg/kgBB/hari) (tanda garis kuning)

5.6.2 Berat Pankreas



Gambar 5.5 Rasio Berat Pankreas dengan Berat Badan Tikus

Berat pankreas diukur dengan menggunakan rasio antara berat pankreas itu sendiri dengan berat badan tikus terakhir sebelum pembedahan. Rasio yang dapat dilihat pada grafik. Analisis statistik menggunakan *Kruskal-Wallis* menunjukkan bahwa rasio berat pankreas yang didapat tidak berbeda secara signifikan antar perlakuan dengan signifikansi $p=0,061$. Bila masing-masing kelompok yang mendapat terapi ekstrak daun binahong dibandingkan dengan kontrol diabetes dan kontrol negatif, maka hasilnya adalah sebagai berikut:

Tabel 5.4 Signifikansi *Mann-Whitney* Antar Kelompok Perlakuan pada Rasio

Berat Pankreas dengan Berat Badan Tikus

Kelompok yang diuji	Signifikansi
K+ dengan K-	0,014*
K+ dengan PA	1
K+ dengan PB	0,248
K+ dengan PC	0,386
K+ dengan KP	0,806
K- dengan PA	0,053
K- dengan PB	0,086
K- dengan PC	0,327
K- dengan KP	0,009*
PB dengan KP	0,142

* = berbeda signifikan

Berdasarkan hasil yang terlihat pada Tabel 5.4, maka memang hampir semuanya tidak ada perbedaan bermakna yang bisa dilihat kecuali antara kelompok K- dengan KP. Namun, ketiga kelompok yang mendapat terapi ekstrak daun binahong memiliki nilai signifikansi yang semakin besar saat dibandingkan dengan kelompok kontrol diabetes.

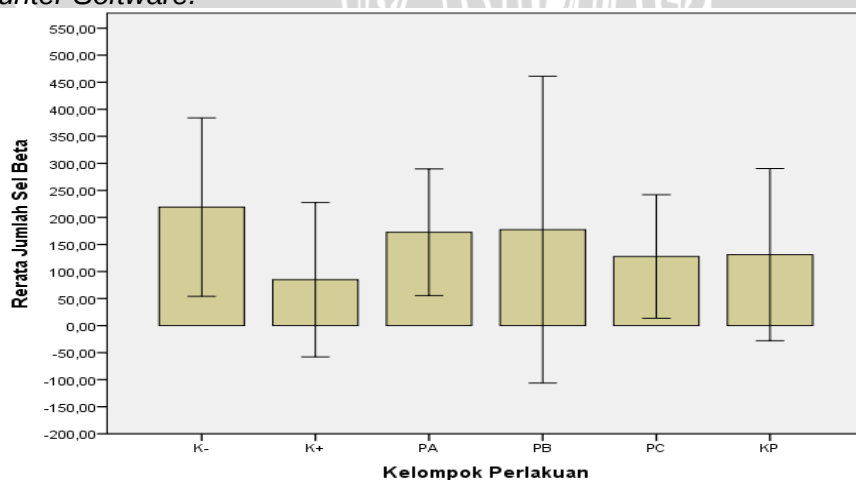
Tabel 5.5 Rerata Rasio Berat Pankreas dengan Berat Badan Tikus (Rerata $\pm$ SD)

Kelompok	Rerata rasio berat pankreas dengan berat badan tikus
K-	$3,606 \times 10^{-3} \pm 0,001014896$
K+	$2,259 \times 10^{-3} \pm 0,000396117$
PA	$2,33 \times 10^{-3} \pm 0,000072832$
PB	$2,67 \times 10^{-3} \pm 0,000475089$
PC	$2,85 \times 10^{-3} \pm 0,000833438$
KP	$2,154 \times 10^{-3} \pm 0,000484664$

Namun pada Tabel 5.5 terlihat bahwa berat pankreas tikus yang mendapat perlakuan mengalami peningkatan berat dibandingkan kelompok kontrol diabetes.

5.6.3 Jumlah Rerata Sel Beta Pankreas

Perhitungan sel dilakukan sebanyak 5 lapang pandang menggunakan *Cell Counter Software*.



Gambar 5.6 Rerata Jumlah Sel Beta Pankreas

Analisis statistik menggunakan *Kruskal-Wallis* tidak menunjukkan perbedaan yang signifikan ($p=0,273$; $p<0,05$) antar perlakuan pada rerata jumlah sel beta pankreas.

Tabel 5.6 Signifikansi *Mann-Whitney* Antar Kelompok Perlakuan pada Jumlah

Sel Beta	
Kelompok yang diuji	Signifikansi
K+ dengan PA	0,165
K+ dengan PB	0,248
K+ dengan PC	0,248
K+ dengan KP	0,327
K- dengan PA	0,439
K- dengan PB	0,462
K- dengan PC	0,086
K- dengan KP	0,117
PB dengan KP	0,462

Berdasarkan Tabel 5.6, hampir semua tidak memiliki perbedaan yang bermakna. Namun, terlihat bahwa jika K- dibandingkan dengan PB, maka diperoleh signifikansi yang paling besar. Uji korelasi *Spearman-rho* menunjukkan perbedaan dosis ekstrak daun binahong memiliki korelasi yang lemah ($-0,234$) dengan rata-rata jumlah sel beta pankreas dengan signifikansi $p=0,516$. Perbedaan berat pankreas dengan jumlah sel beta pankreas juga memiliki korelasi yang lemah ($0,429$) dengan signifikansi $p=0,037$.

Tabel 5.7 Rerata Jumlah Sel Beta Pankreas (Rerata $\pm$ SD)

Kelompok	Rerata Jumlah Sel Beta Pankreas
K-	219,12 $\pm$ 82,50195
K+	84,95 $\pm$ 71,34561
PA	172,6 $\pm$ 58,54844
PB	177,4 $\pm$ 141,84170
PC	127,85 $\pm$ 57,14342
KP	131,2 $\pm$ 79,57097

Namun pada Tabel 5.7 terlihat bahwa jumlah sel beta pankreas tikus yang mendapat perlakuan mengalami peningkatan dibandingkan kelompok kontrol diabetes



BAB 6

PEMBAHASAN

Penelitian ini menggunakan tikus model diabetes melitus tipe 2 yang diinduksi dengan *High Fat Diet (HFD)* dan Streptozotocin (STZ). Induksi HFD diberikan selama 5 minggu secara *ad libitum* sesuai dengan Pranata (2010) lalu kemudian diinjeksi STZ dengan dosis rendah 35 mg/kgBB secara intraperitoneal satu kali sesuai dengan Srinivasan *et al.* (2005). HFD dihentikan saat pemberian terapi karena disesuaikan dengan kondisi pasien sebenarnya yang pada umumnya dianjurkan untuk mulai merubah gaya hidup dan membatasi diet tinggi lemak saat menerima terapi diabetes. HFD terbukti dapat menyebabkan resistensi insulin yang ditandai dengan meningkatnya jumlah insulin serum karena HFD mengganggu kerja insulin dalam menstimulasi ambilan glukosa di otot (Shridar, 2008). Pemberian HFD STZ dosis rendah tersebut dapat menyebabkan gangguan pada sekresi insulin yang pada akhirnya dapat menimbulkan kelelahan sel beta pankreas. Jadi, kombinasi pemberian HFD dan STZ dosis rendah dapat menyebabkan keadaan resistensi insulin dan disfunksinya sel beta pankreas seperti yang terjadi pada keadaan diabetes melitus tipe 2 (Zhang, 2008).

6.1 Ekstraksi Daun Binahong

Proses ekstraksi yang dilakukan mengacu pada Astuti *et al.* (2011). Serbuk daun Binahong (*Anredera cordifolia*) dalam penelitian ini diperoleh dari Materia Medika Batu. Proses ekstraksi dilakukan dengan metode maserasi dengan remaserasi sebanyak 2 kali (setiap maserasi dilakukan selama 1x24 jam) yang

dilakukan di Laboratorium Farmakognosi dan Fitokimia Prodi Farmasi FKUB. Pelarut yang digunakan adalah etanol 70% dengan perbandingan 1:5. Serbuk daun binahong yang diekstraksi adalah 400 gram sehingga pelarut yang digunakan adalah 2 liter. Maserat yang didapat kemudian di uapkan dengan *rotary evaporator* sehingga didapatkan ekstrak kental sebanyak 67,4 gram. Kemudian ekstrak kental yang sudah didapat dikeringkan dengan menggunakan metode *freeze-drying* yang dilakukan di *Tropical Disease Center* Universitas Airlangga Surabaya. Prinsip kerja freeze drying meliputi pembekuan larutan, menggranulasikan larutan yang beku tersebut, mengkondisikannya pada vacum ultra-high dengan pemanasan yang sedang sehingga mengakibatkan air pada bahan pangan tersebut akan menyublim dan akan menghasilkan produk padat (*solid product*) (Ridwansyah,2003). Proses *freeze-drying* dilakukan selama 24 jam dan didapat serbuk ekstrak kering 37,69 gram. Prosentase penyusutan bobot ekstrak kental menjadi serbuk ekstrak kering adalah sebesar 44,1%.

6.2 Uji Fitokimia

Uji fitokimia menunjukkan bahwa ekstrak daun binahong positif mengandung flavonoid. Flavonoid ini memiliki aktivitas sebagai antioksidan dan sebagai yang sangat berkaitan dengan perbaikan kerusakan organ (Abdel-Raheem *et al.*, 2009) sehingga pemberian ekstrak ini diduga juga akan memperbaiki fungsi pankreas sehingga pankreas dapat memproduksi insulin dengan baik dan kadar glukosa darah turun.

6.3 Glukosa Darah

Analisis statistik menggunakan *Kruskal-Wallis* menunjukkan perbedaan yang bermakna antar perlakuan pada kadar glukosa darah tikus pada akhir perlakuan

($p=0,001$; $p<0,05$). Analisis statistik menggunakan *Mann-Whitney* juga menunjukkan perbedaan yang bermakna ($p<0,05$) dari kadar glukosa darah pada hari akhir perlakuan antara PB dan PC dengan kelompok kontrol positif diabetes melitus tipe 2, ini menunjukkan terapi daun binahong pada dosis 35 dan 70 mg/kgBB mampu menurunkan kadar glukosa darah tikus. Perbedaan yang bermakna tidak ditemukan antara K- dengan PB tetapi, perbedaan yang bermakna terlihat antara PC dengan K-, KP dengan K- dan PB dengan KP. Jadi, dapat disimpulkan bahwa kadar glukosa darah dari PC dan KP masih berbeda dengan kontrol negatif dan PB tidak berbeda dengan kontrol negatif (kadar glukosa normal), namun tidak berbeda bukan berarti menunjukkan kadar glukosa darah yang sama, mengingat kadar glukosa awal dari masing-masing tikus yang berbeda sehingga yang dapat dikatakan tidak berbeda adalah penurunan kadar glukosa darahnya. Jika dilihat dari penurunannya, PB ($214 \pm 116,753$) dengan PC ($162,667 \pm 49,238$) tidak memiliki perbedaan yang bermakna. Jadi, dosis 35mg/kgBB/hari dan 70 mg/kgBB/hari memiliki efektifitas yang tidak berbeda dalam menurunkan kadar glukosa darah. Perbedaan yang bermakna diperoleh antara PB dengan KP sehingga diduga pada dosis 35 mg/kgBB binahong diduga memiliki penurunan yang lebih baik dibanding Glimepiride. Selanjutnya hubungan antara dosis dengan kadar glukosa darah tikus dianalisis dengan uji korelasi *Spearman-rho*, didapatkan korelasi *Spearman-rho* 0,740 dengan signifikansi 0,014. Nilai ini menunjukkan terdapat hubungan yang erat dan berbanding lurus antara dosis ekstrak daun binahong dengan glukosa darah tikus, yaitu semakin besar dosis ekstrak daun binahong maka justru semakin tinggi kadar glukosa darah tikus (semakin menjauhi target). Berdasarkan korelasi tersebut, kelompok PA seharusnya memiliki kadar glukosa paling rendah

sehingga memiliki efektifitas yang lebih tinggi dan dapat mencapai target terapi tetapi dari data perhitungan survival (Indrawati, 2014), terlihat bahwa PA memiliki tingkat ketahanan hidup hanya 0,4. PB diduga sebagai dosis yang paling efektif karena meskipun penurunannya tidak berbeda signifikan dengan PC, tetapi hampir dapat mencapai kadar glukosa darah seperti kontrol negatif dan memiliki tingkat ketahanan hidup 0,8 yang lebih tinggi daripada PA.

6.4 Profil Penurunan Glukosa Darah

Kadar glukosa darah kelompok kontrol positif diabetes naik-turun diduga karena adanya mekanisme homeostasis dari insulin yang dapat bekerja untuk jangka panjang maupun jangka pendek. Kadar glukosa darah kelompok PA, PB, PC, dan KP mengalami penurunan pada 2 jam pertama (F1), ini menunjukkan baik terapi glimepiride maupun ekstrak daun binahong memiliki onset ≤ 2 jam. Onset glimepiride ini sesuai dengan yang dikatakan oleh Abletshauser *et al.* (2005). Kadar glukosa darah PC yang mengalami penurunan cukup curam dikhawatirkan akan menyebabkan kondisi hipoglikemia yang biasanya pada manusia memiliki tanda dan gejala seperti berdebar-debar, gemetar, gelisah, dan kesadaran menurun. Hipoglikemia ini bisa berakibat fatal jika tidak ditangani (Rudianto, 2011). Kenaikan kadar glukosa darah pada pemberian dosis ekstrak daun binahong 17,5 mg/kg BB/hari pada titik F3 (6 jam setelah terapi) diduga karena masa kerja binahong sudah habis.

6.5 Profil Pankreas

6.5.1 Histologi Pankreas

Berdasarkan pengamatan secara histologi, terlihat bahwa kondisi pankreas pada tikus normal berbeda dengan tikus diabetes, pada tikus diabetes terjadi

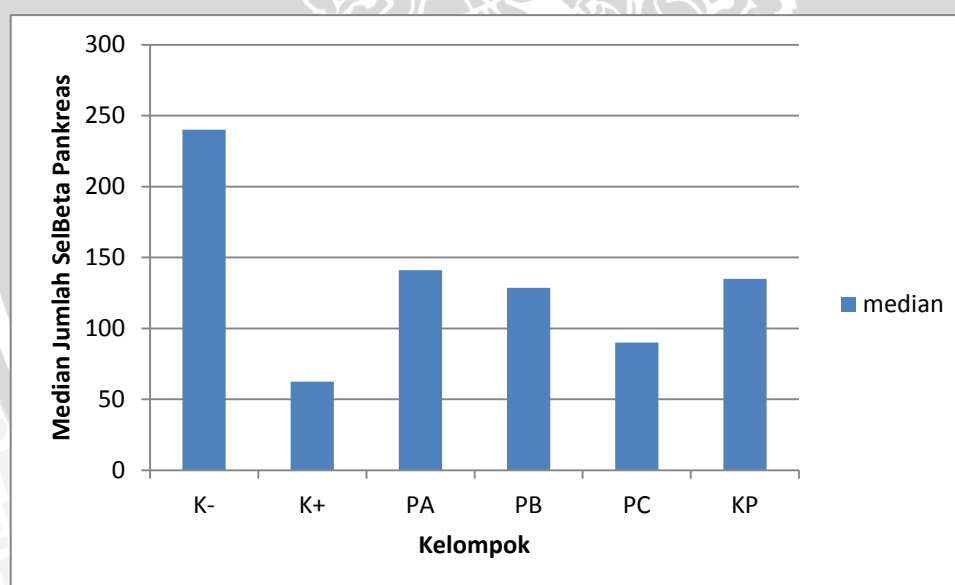
kerusakan pulau Langerhans sel beta yang terlihat pada morfologinya. Perubahan bentuk pulau Langerhans diduga karena sel beta mengalami nekrosis. Nekrosis ini menunjukkan terjadinya destruksi dan penurunan jumlah sel beta (Al Farabi *et al.*, 2010). Perbaikan pulau Langerhans dan peningkatan jumlah sel beta terlihat seiring dengan meningkatnya dosis ekstrak daun binahong yang dapat dilihat dari morfologinya. Pada glimepiride memang terlihat inti sel beta yang juga meningkat tetapi bentuk sel beta pankreas tidak sama seperti keadaan semula.

6.5.2 Berat Pankreas

Analisis menggunakan *Kruskal-Wallis* tidak menunjukkan perbedaan yang bermakna antar perlakuan pada masa pankreas tikus ($p=0,051$; $p<0,05$). Perbedaan bermakna ($p<0,05$) terlihat dari berat pankreas antara kontrol diabetes melitus tipe 2 dengan kontrol negatif (normal) sehingga dapat dipastikan bahwa berat pankreas tikus DM tipe 2 lebih rendah daripada berat pankreas tikus normal. Pada penelitian ini, pemberian STZ dimaksudkan untuk menimbulkan kerusakan sel beta pankreas pada tikus karena menurut Butler *et al.* (2001), pada penderita diabetes terjadi perubahan morfologi pada sel beta pankreas baik dalam ukuran maupun jumlahnya dan hal inilah yang mengakibatkan penurunan berat pankreas (Al Farabi *et al.*, 2010). Perbedaan yang bermakna tidak ditemukan antara PA, PB, dan PC dengan kontrol positif maupun dengan kontrol negatif. Namun, dari nilai signifikansi yang didapat, PA, PB, dan PC lebih cenderung mendekati (tidak berbeda) kontrol DM. Selain itu, dari perhitungan mean rasio berat pankreas/ berat badan tikus, PA, PB dan PC memang lebih mendekati kontrol positif meskipun sebenarnya ada sedikit peningkatan berat pankreas sehingga dapat dikatakan bahwa terdapat peningkatan massa

pankreas yang kurang bermakna pada pemberian terapi ekstrak daun binahong pada dosis 35 maupun 70 mg/kgBB/hari dan memiliki kondisi pankreas yang cenderung tidak berbeda dengan pankreas pada kondisi diabetes. Pada dosis 17,5 mg/kg/hari belum dapat disimpulkan karena jumlah sampel yang tidak memenuhi syarat minimal sampel dalam penelitian ini. Pada pemberian glimepiride (KP), berat pankreas justru secara signifikan berbeda dengan kontrol negatif sehingga dapat dilihat bahwa terapi glimepiride memiliki efek peningkatan berat pankreas yang lebih rendah atau bahkan tidak ada efek bila dibanding terapi daun binahong pada dosis 35 mg/kgBB/hari meskipun tidak berbeda secara signifikan.

6.5.3 Jumlah Sel Beta Pankreas



Gambar 6.1 Median Jumlah Sel Beta Pankreas

Sel islet langerhans pankreas terdiri dari sel alpha, sel beta, dan sel delta (5%) (Al Farabi *et al.*, 2010). Gambar 6.1 menunjukkan median dari jumlah sel beta pankreas, median ini digunakan karena sebaran data yang terlalu besar

sehingga jika data diolah menggunakan rerata maka akan dihasilkan standar deviasi yang besar. Analisis *Kruskal-Wallis* tidak menunjukkan perbedaan yang bermakna antar perlakuan pada rerata jumlah sel beta pankreas. Perbedaan yang bermakna tidak ditemukan antara PA, PB, PC dengan kontrol positif maupun negatif, seperti yang terlihat dari analisis statistik antar perlakuan pada massa pankreas. Namun, pada jumlah sel beta pankreas, kelompok PA dan PB lebih cenderung mendekati kondisi normal (kontrol negatif) dan berdasarkan perhitungan mean jumlah sel beta pankreas, PA dan PB jumlah sel yang lebih tinggi dibanding kontrol diabetes sehingga dapat dikatakan bahwa pada dosis 35 mg/kgBB/hari terdapat peningkatan jumlah sel beta pankreas meskipun tidak bermakna dan memiliki kondisi pankreas yang cenderung mendekati pankreas pada kondisi normal. Pada PA belum dapat ditarik suatu kesimpulan karena jumlah sampel yang tidak memenuhi syarat minimum jumlah sampel dalam penelitian ini. Bila dibandingkan dengan KP, jumlah sel beta pankreas kelompok PB juga lebih tinggi sehingga dapat dikatakan bahwa pemberian ekstrak daun binahong dosis 35 mg/kgBB/hari memiliki efek peningkatan jumlah sel beta pankreas yang sedikit lebih baik dibanding glimepiride meskipun tidak berbeda secara signifikan.

Uji korelasi *Spearman-rho* antara dosis dengan jumlah sel beta dalam pulau Langerhans menunjukkan bahwa dosis ekstrak daun binahong tidak memiliki hubungan dengan jumlah sel beta pankreas. Uji korelasi *Spearman-rho* juga tidak menunjukkan hubungan yang kuat antara jumlah sel beta pankreas dengan berat pankreas, hubungan yang tidak kuat ini diduga karena jumlah sel beta bisa meningkat melalui transdifferensiasi dari sel alfa yang ada di pankreas sehingga berat pankreas mungkin saja tidak terlalu terpengaruh oleh jumlah sel beta

karena yang terjadi hanyalah perbedaan proporsi antara sel beta dan sel alfa dalam pankreas (Thorel *et al.*, 2010).

Hasil penelitian ini tidak dapat dibandingkan dengan penelitian yang dilakukan oleh Sukandar (2011) karena pada penelitian ini tidak dilakukan pewarnaan imunohistokimia sehingga peningkatan sel beta pankreas memang terjadi tetapi belum dapat dipastikan apakah semuanya berfungsi baik dalam produksi insulin. Perbedaan hasil dengan hipotesis disebabkan oleh banyak faktor seperti, penelitian Sukandar (2011) menggunakan pelarut yang dapat menyebabkan kandungan yang berbeda dalam ekstrak sehingga memiliki efek yang berbeda juga, metode induksi yang digunakan juga berbeda sehingga ada perbedaan tingkat kerusakan sel beta pankreas, dan dosis daun binahong yang digunakan berbeda sehingga menyebabkan efek terapi mungkin berbeda.

Pada DM tpe 2 terjadi resistensi insulin yang menyebabkan keadaan hiper insulinemia, jika tidak mendapat terapi maka sel beta pankreas akan mulai kelelahan dan mengalami kerusakan. Berdasarkan pengukuran yang dilakukan oleh Bachtiar (2014), kadar insulin serum pada kelompok PC paling rendah daripada kelompok PA dan PB dengan asumsi bahwa insulin rendah karena terpakai untuk menurunkan glukosa darah, namun kadar glukosa darah PC ternyata justru paling tinggi dan perhitungan HOMA-IR yang juga dilakukan oleh Bachtiar (2014) menunjukkan PC memiliki resistensi insulin yang paling tinggi. Kadar insulin dalam serum yang rendah ini mungkin dikarenakan jumlah sel beta pankreas pada PC yang memang berdasarkan perhitungan paling rendah dibandingkan kelompok PA dan PB. Bila dibandingkan dengan PB, seharusnya kadar insulin PA lebih rendah dari PB karena jumlah sel beta PA lebih rendah namun kadar insulin yang tinggi ini diduga karena tingkat resistensi PA yang

lebih tinggi dari PB sehingga pankreas pada PA bekerja lebih keras untuk memproduksi insulin entah dengan menambah jumlah sel beta atau meningkatkan sekresi insulin. Namun, sebelumnya sudah dijelaskan bahwa jumlah sel beta PA lebih rendah dari PB maka diduga ekstrak daun binahong pada dosis 17,5 mg/kg BB/hari memiliki mekanisme antidiabet dengan meningkatkan kerja sel beta pankreas dalam mensekresi insulin seperti sulfonilurea yang terdapat dalam Simon & Zieve (2013).

Kadar insulin PB tidak setinggi seperti pada PA karena memang resistensi insulin PB paling rendah. Namun, bila dibandingkan dengan PC, kadar insulin PC lebih rendah meskipun resistensi PC lebih tinggi daripada PB. Kadar insulin PB ini mungkin meningkat karena terjadi peningkatan jumlah sel beta karena jumlah sel beta PB lebih tinggi bila dibandingkan dengan PC. Jadi, ekstrak daun binahong dosis 35 mg/kg bb/hari diduga memiliki mekanisme memperbaiki jumlah sel beta pankreas seperti mekanisme yang disebutkan dalam Al Farabi *et al.* (2010) yang diharapkan juga meningkatkan kadar insulin dalam darah karena belum tentu semua sel beta yang ada berfungsi baik dalam sekresi insulin. Pewarnaan imunohistokimia perlu dilakukan pada penelitian berikutnya untuk melakukan konfirmasi tentang fungsi sel beta pankreas.

BAB 7**PENUTUP****7.1 Kesimpulan**

- Ekstrak daun Binahong dapat menurunkan kadar glukosa darah tikus diabetes melitus tipe 2
- Ekstrak daun Binahong dapat meningkatkan jumlah sel beta pankreas tikus diabetes melitus tipe 2
- Ekstrak daun Binahong dapat meningkatkan berat organ pankreas tikus diabetes melitus tipe 2
- Ekstrak daun Binahong dapat memperbaiki kerusakan pulau Langerhans secara histologi tikus diabetes melitus tipe 2

7.2 Saran

Sebaiknya dilakukan penelitian selanjutnya dengan menggunakan pewarnaan imunohistokimia pada pankreas untuk mengetahui apakah semua sel beta yang ada berfungsi dengan baik dalam memproduksi insulin dan jika memang memungkinkan dapat digunakan jumlah sampel yang lebih banyak.

DAFTAR PUSTAKA

- Abdel-Raheem, I. T., A. A. Abdel-Ghany and G. A. Mohamed. 2009. Protective Effect of Quercetin Against Gentamicin-Induced Nephrotoxicity in Rats. *Biol. Pharm. Bull.*, 32: 61-67.
- Abletshauser. C., Patrick. B., Klaus-Henning. U, and Markolf. H. 2005. Effect of Nateglinide and Glimpepiride in Reducing Postprandial Hyperglycaemia in Patient with Type 2 Diabetes Mellitus. *The British Journal of Diabetes and Vascular Disease* 5 (2): 93-99.
- Agustiningsih, Achmad W., dan, Mindaningsih. 2010. Optimasi Cairan Penyari pada Pembuatan Ekstrak Daun Pandan Wangi (*Pandanus amaryllifous* Roxb) secara Maserasi terhadap Kadar Fenolik dan Flavonoid Total.
- Akbarzadeh, A., D. Norouzian, M.R. Mehrabi, Sh. Jamshidi , A. Farhangi , A. Allah Verdi, S.M.A. Mofidian and B. Lame Rad. 2007. Induction of Diabetes by Streptozotocin in Rats. *Indian Journal of Clinical Biochemistry* 22 (2) 60-64. Iran: Biochemistry Department of Alzahra University.
- American Diabetes Association. 2008. Diagnosis and Classification of Diabetes Mellitus. *Diabetes Care* Vol.31. Amerika: American Diabetes Association.
- Amilia, D.U. 2009. *Profil sel β Pulau Langerhans pada Tikus Diabetes Mellitus yang Diberi Virgin Coconut Oil (VCO)*. Bogor : Fakultas Kedokteran Hewan IPB.
- Arjadi, F., P. Susatyo. 2010. *Regenerasi Sel Pulau Langerhans Pada Tikus Putih (Rattus norvegicus) Diabetes yang Diberi Rebusan Daging Mahkota Dewa (Phaleria macrocarp (scheff.)Boerl.)*. Purwokerto: Medical Faculty of Jendral Soedirman University.
- Al Farabi, M. J., A. S. Nugraha, D. S. Zuhri, A. Alkarimah, dan D. Ikrimah. 2010. *STEMPOWERING (Stem Cell Empowering): Inovasi Pengembangan Terapi Auto-Regenerasi Berbasis Mobilisasi Hematopoietic Stem Cell Pada Tikus Model DM Menggunakan Ekstrak Jamur Tiram (Pleurotus Ostreatus)*. Malang: Universitas Brawijaya.
- Arora, S., S.K. Ojha and D. Vohora. 2009. Characterisation of Streptozotocin Induced Diabetes Mellitus in Swiss Albino Mice. *Global Journal of*

Pharmacology, 3 (2): 81-84. India: Department of Pharmacology, Faculty of Pharmacy, Jamia Hamdard.

Astuti S. M., Mimi S. A. M., Retno A. B. M. and A. Risch. 2011. Determination of Saponin Compound from Anredera cordifolia(Ten) Steenis Plant (Binahong) to Potential Treatment for Several Diseases. *Journal of Agricultural Science Vol. 3, No. 4*. Universiti Malaysia Pahang and Kuliyyah of Pharmacy International Islamic University Malaysia.

Bachtiar, W. 2014. *Efek Ekstrak Daun Binahong terhadap Kadar Serum Insulin pada Tikus Wistar (Rattus Novergicus) Model Diabetes Terinduksi Diet Tinggi Lemak dan Streptozotocin*. Malang: Program Studi Farmasi Fakultas Kedokteran Universitas Brawijaya.

BPOM RI. 2008. *Direktorat Obat Asli Indonesia*. Jakarta: DepKes RI

Bursztyn, P. 2013. *Safety Data Sheet*. Oakville : Megaloid Laboratories.

Butler AE, Janson J, Bonner-Weir S, Ritzel R, Rizza RA, Butler PC. 2001. *Cell deficit and increased -cell apoptosis in humans with type 2 diabetes*. *Diabetes* 32: 102-110.

Cayman chemical.
<https://www.caymanchem.com/app/template/Product.vm/catalog/13104/product/emolecules>. Diakses tanggal 16 Januari 2014.

Craig ME, Hattersley A, and Donaghue KC.2009. Definition, Epidemiology and Classification of Diabetes in Children and Adolescents. *Pediatric Diabetes* : 10 (Suppl. 12): 3–12. Australia : John Wiley & Sons.

Cramer, J. A. 2004. A Systematic Review of Adherence With Medications for Diabetes. *Diabetes Care* Vol. 27 p1218 –1224.

Dipiro, J.T., Robert L.T., Gary. C. Y., Gary R. M., Barbara G. W.,and L. Michael P. *Pharmacotherapy: A Pathophysiologic Approach 7th Ed*. America: The McGraw-Hill Companies, Inc.

Depkes RI. 1995. *Farmakope Indonesia Edisi IV*. Jakarta: Direktorat Jenderal Pengawasan Obat dan Makanan, Departemen Kesehatan Republik Indonesia.

Ekoe, J.M. , Paul. Z., and Rhys. W. 2001. *The Epidemiology of Diabetes Mellitus: An International Perspective*. USA : John Wiley & Sons, Ltd.

Fauci and Longo. 2008. *Harrisin's Principles of Internal Medicine 7th Ed*. USA: The McGraw-Hill Companies, Inc.

Federer, W. 1991. *Statistics and Society: Data Collection and Interpretation* 2nd Ed. New York: Marcel Dekker.

Gadja and Angela. 2008. High Fat Diets for Diet-Induced Obesity Models. *A Brief Review Of The Scientific Literature*. USA: Research Diets, Inc

Guz Y, Nasir I, Teitelman G. 2001. *Regeneration of pancreatic -cell from intra islet precursor cells in an experimental model of diabetes*. *Endocrin* 142:49564968.

Goldenberg, R. And Zubin. P. 2013. Defintion, Classification and Diagnosis of Diabetes, Prediabetes and Metabolic Syndrome. *Canadian Journal of Diabetes*. Canada : Transcontinental Printing

Harborne, J.B. 1987. *Metode Fitokimia*. Bandung: Penerbit ITB.

Harborne, J. B. 1996. *Metode Fitokimia: Penuntun Cara Modern Menganalisa Tumbuhan*. Terbitan kedua. Bandung: ITB.

Holt, R. I. G. 2004. Diagnosis, Epidemiology, and Pathogenesis of Diabetes Mellitus : An Update for Psychiatrists. *British Journal of Psychiatry* 184: 55-63. UK : The Royal College of Psychiatrists.

Indrawati, S. 2014. *Efek Ektrak Daun Binahong terhadap Kadar Glikogen Otot pada Tikus Wistar Model Diabetes Terinduksi Streptozotocin dan Diet Tinggi Lemak*. Malang: Program Studi Farmasi Fakultas Kedokteran Universitas Brawijaya.

Kanth, R. 2013. *Pancreatic Divisum*. <http://emedicine.medscape.com/article/185307-overview>. Diakses tanggal 15 Januari 2014.

Kardinan, A. 2009. Binahong (*Anredera cordifolia*) sebagai Obat. *Warta Penelitian dan Pengembangan Tanaman Industri* Vol. 15 (1).

Khardori, R. 2013. *Type 1 Diabetes Mellitus*. <http://emedicine.medscape.com/article/117739-overview#aw2aab6b2b2>. Diakses tanggal 14 Januari 2014.

Khardori, R. 2014. *Type 2 Diabetes Mellitus*. <http://emedicine.medscape.com/article/117853-overview#a0156>. Diakses tanggal 14 Januari 2014.

Kim J. J. Y., Hong Xiao, Yi Tan, Zheng-Zhong Wang, J. P. Seale, and Xianqin Qu. 2009. The Effects and Mechanism of Saponins of *Panax notoginseng* on Glucose Metabolism in 3T3-L1 Cells. *The American Journal of Chinese Medicine*, Vol. 37, No. 6, 1179–1189. America: World Scientific Publishing Company.

Kristanti, A. N. 2008. *Buku Ajar Fitokimia*. Surabaya: Airlangga University Press.

Kroon, L. A., Mitra A., and Betsy, A. C. 2009. *Diabetes Mellitus. Applied Therapeutics: The Clinical Use of Drugs 9th Ed*. USA: Lippincott Williams & Wilkins.

Lailani, P. K., Natalini N. K., dan Edy D. K. 2009. Analisis Fitokimia dan Penampilan Polapita Protein Tanaman Pegagan (*Centella asiatica*) Hasil Konservasi *In Vitro*. *Bul. Littro*. Vol. 20 (1): 11-20.

Lian, J., You-qing Xiang, Lei Guo, Weirong Hu, Wei Ji, and Bang-qiang Gong. 2007. The Use of High Fat/ Carbohydrate Diet-Fed and Streptozotocin-Treated Mice as a Suitable Animal Model of Type 2 Diabetes Mellitus. *Scand. J. Lab. Anim. Sci* vol. 34 (1). China: East China University and Shanghai Comman Pharma.

Mayo Clinic Staff. 2013. *Type 2 Diabetes*. <http://www.mayoclinic.org/diseases-conditions/type-2-diabetes/basics/risk-factors/con-20031902>. Diakses 14 Januari 2014.

McPhee, S. J. And William F. G. 2006. *Pathophysiology of Disease: An Introduction to Clinical Medicine 5th Ed*. USA: The McGraw-Hill Companies, Inc.

Olokoba, A. B., Olusegun A., Obateru, and L. B. Olokoba. 2012. Type 2 Diabetes Mellitus: A Review of Current Trends. *Oman Medical Journal* Vol. 27, No. 4: 269-273. Oman Medical Speciality Aboard.

Pasaribu, Fidayani, Panal S., dan Saiful B. 2012. Uji Ekstrak Etanol Kulit Buah Manggis (*Garcinia mangostana* L.) terhadap Penurunan Kadar Glukosa Darah. *Journal of Pharmaceutics and Pharmacology* Vol.1(1):1-8.

Pederson, O. 2006. *Pharmaceutical Chemical Analysis*. United States of America: Taylor & Francis Group, LLC.

Pranata, F. J. 2010. *Pengaruh Pemberian Ekstrak Daun Pare terhadap Kadar Insulin pada Tikus Putih Strain Wistar Model Diabetes Mellitus Tipe 2 dengan Hiperinsulinemia*. Tugas Akhir. Tidak diterbitkan. Malang: Fakultas Kedokteran Universitas Brawijaya.

Ratimanjari, D. A. 2011. *Pengaruh Pemberian Infusa Herba Sambiloto (Andrographis paniculata Nees) terhadap Glibenklamid dalam Menurunkan Kadar Glukosa Darah Tikus Putih Jantan yang Dibuak Diabetes*. Tugas Akhir. Tidak diterbitkan. Depok: Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Indonesia.

Reaven, G. M. 1988. Role of Insulin Resistance in Human Disease. *Diabetes*, 37,159 5-1607

Ridwansyah. 2003. *Pengolahan Kopi*. Fakultas Pertanian Universitas Sumatera Utara: USU Digital Library.

Rudianto, A. 2011. *Konsensus Pengendalian dan Pencegahan Diabetes Mellitus Tipe 2 di Indonesia*. Indonesia: PERKENI.

Shridar, M.G, Vinayagamoorthi R., Arul S. V., Bobby Z, and Selvaraj N. 2008. Bitter Gourd (*Momordica charantia*) Improves Insulin Sensitivity by Increasing Skeletal Muscle Insulin Stimulated IRS-1 Tyrosine Phosphorilation in High –Fat-Diet Fed Rats. *British Journal of Nutrition* vol 99 : 806-812

Siegel, E. G, E. R. Trimble, A. E. Renols, and, H. R. Berthoud. 1980. Importance of Preabsortive Insulin Release on Oral Glucose Tolerance: Studies in Pancreatic Islet Transplanted Rat. *Gut* vol. 21: 1002-1009

Srinivasan, K., B. Viswanad, Lydia A., C. L. Kaul, and P. Ramarao. Combination of High-Fat Diet-Fed and Low-Dose Streptozotocin-Treated Rat : A Model for Type 2 Diabetes and Pharmacological Screening. *Pharmacological Research*, 2005, 52 pages 313-320.

Simon, H. and David. Z. 2013. *Diabetes – type 2*. <http://umm.edu/health/medical/reports/articles/diabetes-type-2>. Diakses tanggal 15 Januari 2014.

Suarsana, N., Prioseryanto B.P., Bintang M., dan Wresdiyati T. 2008. Sintesis Glikogen Hati dan Otot pada Tikus Diabetes yang Diberi Ekstrak Tempe. *Jurnal Veteriner* vol.11 (3): 190-195

Sugiyono. 2007. *Statistika untuk Penelitian*. Bandung: Alfabeta.

Sukandar, E. Y., I. Fidrianny, and L. F. Adiwibowo. 2011. Efficacy of Ethanol Extract of *Anredera cordifolia* (Ten) Steenis Leaves on Improving Kidney Failure in Rats. *International Journal of Pharmacology* 7 (8) p850-855. Indonesia: Bandung Institute of Technology.

Sukandar, E.Y., Atun Q., dan Lady L. 2011. Efek Ekstrak Metanol Daun Binahong (*Anredera cordifolia* (TEN.) Steenis) terhadap Gula Darah pada Mencit Model Diabetes Melitus. *Jurnal Medika Planta - Vol. 1 No. 4*. Bandung: Sekolah Farmasi Institut Teknologi Bandung.

Susilowati, S. D. 2011. *Efek Ekstrak Momordica Charantia Terhadap Jumlah Sel Beta Pankreas Tikus (Rattus Novergicus) Wistar DM tipe 2 dengan HFD dan STZ*. Tugas Akhir, Fakultas Kedokteran, Universitas Brawijaya.

Szkudelski, T. 2001. The Mechanism of Alloxan and Streptozotocin Action in B cells of the Rat Pancreas. *Physiol. Res.* 50: 536-546

Tesoro Corporation. 2012. *Safety Data Sheet Ethanol*. San Antonio: Tesoro Refining & Marketing Co.

Thorel ,F., Nepote. V., Avril. I, Kohno. K., Desgraz. R., Chera. S., and Herrera. P. L. 2010. Conversion of Adult Pancreatic Alpha-Cells to Beta-Cells after Extreme Beta-Cell Loss. *Nature* 464 (7292): 1149-54.

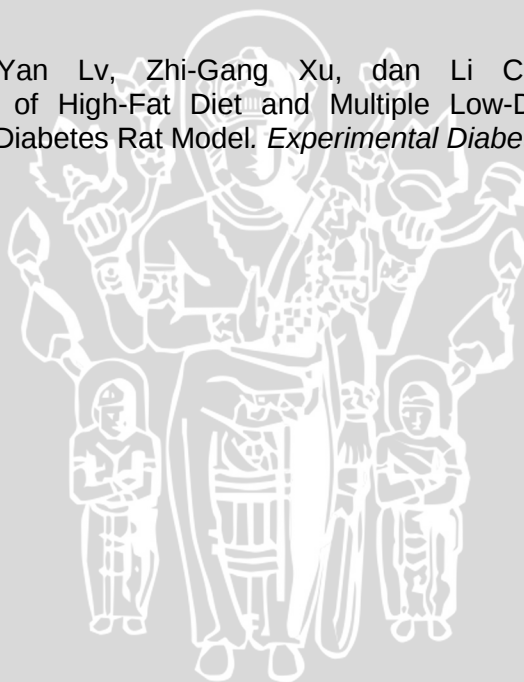
Tshikalange T.E, JJM. Meyer and AA.Husein. 2005. Antimicrobial activity, toxicity and the isolation of a bioactive compound from plants used to treat sexually transmitted diseases. *Journal of Ethno pharmacology*, 96, pp 515-519.

Uchida.S. 2003. *Production of Digital map of the Hazardous Condition of Soil Erosion for the Sloping Lands of West Java, Indonesia, using Geographic Information System (GIS)* JIRCAS, Indonesia.

UK Prospective Diabetes Study Group 1995. Overview of 6 years' therapy of type II diabetes: a progressive disease. *Diabetes*, 44,1249-1258.

Yang, R. Y., S. Lin and G. Kuo. 2008. Content and Distribution of Flavonoids among 91 Edible Plant Species. *Asia Pac. J. Clin. Nutr.*, 17: 275-279.

Zhang, Ming, Xiao-Yan Lv, Zhi-Gang Xu, dan Li Chen. 2008. The Characterization of High-Fat Diet and Multiple Low-Dose Streptozocin Induced Type-2 Diabetes Rat Model. *Experimental Diabetes Research*: 1-9.



LAMPIRAN

Lampiran 1

Analisis Statistik

I. Analisis Data Glukosa Darah Puasa

a. Uji Kruskal-Wallis

Ranks				Test Statistics ^{a,b}	
	Perlakuan	N	Mean Rank		Glukosa
Glukosa	K-	5	3,50	Chi-Square	21,111
	K+	4	17,75	df	5
	PA	2	9,00	Asymp. Sig.	,001
	PB	4	7,63		
	PC	4	13,75		
	KP	5	21,60		
	Total	24			

b. Uji Mann-Whitney

Ranks					Test Statistics ^a	
	Perlakuan	N	Mean Rank	Sum of Ranks		Glukosa
Glukosa	K-	5	3,00	15,00	Mann-Whitney U	,000
	K+	4	7,50	30,00	Wilcoxon W	15,000
	Total	9			Z	-2,449
					Asymp. Sig. (2-tailed)	,014
					Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	,016 ^b

Ranks					Test Statistics ^a	
	Perlakuan	N	Mean Rank	Sum of Ranks		Glukosa
Glukosa	K-	5	3,00	15,00	Mann-Whitney U	,000
	PA	2	6,50	13,00	Wilcoxon W	15,000
	Total	7			Z	-1,936
					Asymp. Sig. (2-tailed)	,053
					Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	,095 ^b

Ranks				
	Perlakuan	N	Mean Rank	Sum of Ranks
Glukosa	K-	5	3,50	17,50
	PB	4	6,88	27,50
	Total	9		

Test Statistics ^a	
	Glukosa
Mann-Whitney U	2,500
Wilcoxon W	17,500
Z	-1,845
Asymp. Sig. (2-tailed)	,065
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	,063 ^b

Ranks				
	Perlakuan	N	Mean Rank	Sum of Ranks
Glukosa	K-	5	3,00	15,00
	PC	4	7,50	30,00
	Total	9		

Test Statistics ^a	
	Glukosa
Mann-Whitney U	,000
Wilcoxon W	15,000
Z	-2,449
Asymp. Sig. (2-tailed)	,014
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	,016 ^b

Ranks				
	Perlakuan	N	Mean Rank	Sum of Ranks
Glukosa	K-	5	3,00	15,00
	KP	5	8,00	40,00
	Total	10		

Test Statistics ^a	
	Glukosa
Mann-Whitney U	,000
Wilcoxon W	15,000
Z	-2,611
Asymp. Sig. (2-tailed)	,009
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	,008 ^b

Ranks				
	Perlakuan	N	Mean Rank	Sum of Ranks
Glukosa	K+	4	4,50	18,00
	PA	2	1,50	3,00
	Total	6		

Test Statistics ^a	
	Glukosa
Mann-Whitney U	,000
Wilcoxon W	3,000
Z	-1,852
Asymp. Sig. (2-tailed)	,064
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	,133 ^b

Ranks

	Perlakuan	N	Mean Rank	Sum of Ranks
	K+	4	6,50	26,00
Glukosa	PB	4	2,50	10,00
	Total	8		

Test Statistics^a

	Glukosa
Mann-Whitney U	,000
Wilcoxon W	10,000
Z	-2,309
Asymp. Sig. (2-tailed)	,021
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	,029 ^b

Ranks

	Perlakuan	N	Mean Rank	Sum of Ranks
	K+	4	6,25	25,00
Glukosa	PC	4	2,75	11,00
	Total	8		

Test Statistics^a

	Glukosa
Mann-Whitney U	1,000
Wilcoxon W	11,000
Z	-2,021
Asymp. Sig. (2-tailed)	,043
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	,057 ^b

Ranks

	Perlakuan	N	Mean Rank	Sum of Ranks
	K+	4	3,00	12,00
Glukosa	KP	5	6,60	33,00
	Total	9		

Test Statistics^a

	Glukosa
Mann-Whitney U	2,000
Wilcoxon W	12,000
Z	-1,960
Asymp. Sig. (2-tailed)	,050
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	,063 ^b

Ranks

	Perlakuan	N	Mean Rank	Sum of Ranks
	PA	2	4,00	8,00
Glukosa	PB	4	3,25	13,00
	Total	6		

Test Statistics^a

	Glukosa
Mann-Whitney U	3,000
Wilcoxon W	13,000
Z	-,463
Asymp. Sig. (2-tailed)	,643
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	,800 ^b

Ranks

	Perlakuan	N	Mean Rank	Sum of Ranks
Glukosa	PA	2	1,50	3,00
	PC	4	4,50	18,00
	Total	6		

Test Statistics^a

	Glukosa
Mann-Whitney U	,000
Wilcoxon W	3,000
Z	-1,852
Asymp. Sig. (2-tailed)	,064
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	,133 ^b

Ranks

	Perlakuan	N	Mean Rank	Sum of Ranks
Glukosa	PB	4	2,50	10,00
	PC	4	6,50	26,00
	Total	8		

Test Statistics^a

	Glukosa
Mann-Whitney U	,000
Wilcoxon W	10,000
Z	-2,309
Asymp. Sig. (2-tailed)	,021
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	,029 ^b

Ranks

	Perlakuan	N	Mean Rank	Sum of Ranks
Glukosa	PA	2	1,50	3,00
	KP	5	5,00	25,00
	Total	7		

Test Statistics^a

	Glukosa
Mann-Whitney U	,000
Wilcoxon W	3,000
Z	-1,936
Asymp. Sig. (2-tailed)	,053
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	,095 ^b

Ranks

	Perlakuan	N	Mean Rank	Sum of Ranks
Glukosa	PB	4	2,50	10,00
	KP	5	7,00	35,00
	Total	9		

Test Statistics^a

	Glukosa
Mann-Whitney U	,000
Wilcoxon W	10,000
Z	-2,449
Asymp. Sig. (2-tailed)	,014
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	,016 ^b

Ranks				
	Perlakuan	N	Mean Rank	Sum of Ranks
Glukosa	PC	4	2,50	10,00
	KP	5	7,00	35,00
	Total	9		

Test Statistics ^a	
	Glukosa
Mann-Whitney U	,000
Wilcoxon W	10,000
Z	-2,449
Asymp. Sig. (2-tailed)	,014
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	,016 ^b

c. Uji Mann-Whitney Penurunan Glukosa Darah

Ranks				
	Kelompok Perlakuan	N	Mean Rank	Sum of Ranks
Penurunan GDP (mg/dL)	Pb	4	5,38	21,50
	Pc	4	3,63	14,50
	Total	8		

Test Statistics ^a	
	Penurunan GDP (mg/dL)
Mann-Whitney U	4,500
Wilcoxon W	14,500
Z	-1,016
Asymp. Sig. (2-tailed)	,309
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	,343 ^b

Ranks				
	Kelompok Perlakuan	N	Mean Rank	Sum of Ranks
Penurunan GDP (mg/dL)	Pb	4	7,25	29,00
	Kp	5	3,20	16,00
	Total	9		

Test Statistics ^a	
	Penurunan GDP (mg/dL)
Mann-Whitney U	1,000
Wilcoxon W	16,000
Z	-2,205
Asymp. Sig. (2-tailed)	,027
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	,032 ^b

Ranks					Test Statistics ^a	
	Kelompok Perlakuan	N	Mean Rank	Sum of Ranks		Penurunan GDP (mg/dL)
Penurunan GDP (mg/dL)	Pc	4	7,00	28,00	Mann-Whitney U	2,000
	Kp	5	3,40	17,00	Wilcoxon W	17,000
	Total	9			Z	-1,960
					Asymp. Sig. (2-tailed)	,050
					Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	,063 ^b

- d. Uji Spearman-rho dosis ekstrak daun binahong dengan kadar glukosa darah

Correlations			
		Perlakuan	Glukosa
Spearman's rho	Correlation Coefficient	1,000	,822**
	Perlakuan Sig. (2-tailed)	.	,007
	N	9	9
	Correlation Coefficient	,822**	1,000
	Glukosa Sig. (2-tailed)	,007	.
		N	9
			10

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

I. Rasio Berat Pankreas/Berat Badan Tikus

- a. Uji Kruskal-Wallis

Test Statistics ^{a,b}	
	Rasio berat
Chi-Square	10,560
Df	5
Asymp. Sig.	,061

- d.
e.
f.
g.
h.

b. Uji Mann-Whitney

Ranks				
	Kelompok Perlakuan	N	Mean Rank	Sum of Ranks
Rasio_ber rat	K-	5	7,00	35,00
	K+	4	2,50	10,00
	Total	9		

Test Statistics ^a	
	Rasio_ber at
Mann-Whitney U	,000
Wilcoxon W	10,000
Z	-2,449
Asymp. Sig. (2-tailed)	,014
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	,016 ^b

Ranks				
	Kelompok Perlakuan	N	Mean Rank	Sum of Ranks
Rasio_ber at	K-	5	5,00	25,00
	PA	2	1,50	3,00
	Total	7		

Test Statistics ^a	
	Rasio_ber at
Mann-Whitney U	,000
Wilcoxon W	3,000
Z	-1,936
Asymp. Sig. (2-tailed)	,053
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	,095 ^b

Ranks				
	Kelompok Perlakuan	N	Mean Rank	Sum of Ranks
Rasio_ber at	K-	5	6,40	32,00
	PB	4	3,25	13,00
	Total	9		

Test Statistics ^a	
	Rasio_ber at
Mann-Whitney U	3,000
Wilcoxon W	13,000
Z	-1,715
Asymp. Sig. (2-tailed)	,086
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	,111 ^b

Ranks				
	Kelompok Perlakuan	N	Mean Rank	Sum of Ranks
Rasio_ber at	K-	5	5,80	29,00
	PC	4	4,00	16,00
	Total	9		

Test Statistics ^a	
	Rasio_ber at
Mann-Whitney U	6,000
Wilcoxon W	16,000
Z	-,980
Asymp. Sig. (2-tailed)	,327
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	,413 ^b

Ranks				
	Kelompok Perlakuan	N	Mean Rank	Sum of Ranks
Rasio_ber at	K-	5	8,00	40,00
	KP	5	3,00	15,00
	Total	10		

Test Statistics ^a	
	Rasio_ber at
Mann-Whitney U	,000
Wilcoxon W	15,000
Z	-2,611
Asymp. Sig. (2-tailed)	,009
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	,008 ^b

Ranks				
	Kelompok Perlakuan	N	Mean Rank	Sum of Ranks
Rasio_ber at	K+	4	3,50	14,00
	PA	2	3,50	7,00
	Total	6		

Test Statistics ^a	
	Rasio_ber at
Mann-Whitney U	4,000
Wilcoxon W	7,000
Z	,000
Asymp. Sig. (2-tailed)	1,000
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	1,000 ^b

Ranks				
	Kelompok Perlakuan	N	Mean Rank	Sum of Ranks
Rasio_ber at	K+	4	3,50	14,00
	PB	4	5,50	22,00
	Total	8		

Test Statistics ^a	
	Rasio_ber at
Mann-Whitney U	4,000
Wilcoxon W	14,000
Z	-1,155
Asymp. Sig. (2-tailed)	,248
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	,343 ^b

Ranks				
	Kelompok Perlakuan	N	Mean Rank	Sum of Ranks
Rasio_ber at	K+	4	3,75	15,00
	PC	4	5,25	21,00
	Total	8		

Test Statistics ^a	
	Rasio_ber at
Mann-Whitney U	5,000
Wilcoxon W	15,000
Z	-,866
Asymp. Sig. (2-tailed)	,386
Exact Sig. [2*(1- tailed Sig.)]	,486 ^b

Ranks				
	Kelompok Perlakuan	N	Mean Rank	Sum of Ranks
Rasio_ber at	K+	4	5,25	21,00
	KP	5	4,80	24,00
	Total	9		

Test Statistics ^a	
	Rasio_ber at
Mann-Whitney U	9,000
Wilcoxon W	24,000
Z	-,245
Asymp. Sig. (2- tailed)	,806
Exact Sig. [2*(1- tailed Sig.)]	,905 ^b

Test Statistics^a

Ranks				
	Kelompok Perlakuan	N	Mean Rank	Sum of Ranks
Rasio_be rat	PB	4	6,50	26,00
	KP	5	3,80	19,00
	Total	9		

	Rasio_be rat
Mann-Whitney U	4,000
Wilcoxon W	19,000
Z	-1,470
Asymp. Sig. (2- tailed)	,142
Exact Sig. [2*(1- tailed Sig.)]	,190 ^b

II. Rata-Rata Jumlah Sel Beta Pankreas

a. Uji Kruskal-Wallis

Test Statistics ^{a,b}	
	Rerata Jumlah Sel Beta Pankreas
Chi-Square	6,360
Df	5
Asymp. Sig.	,273

b. Uji Mann-Whitney

Ranks				
	Kelompok Perlakuan	N	Mean Rank	Sum of Ranks
Rerata Jumlah Sel Beta Pankreas	K-	5	6,60	33,00
	K+	4	3,00	12,00
	Total	9		

Test Statistics ^a	
	Rerata Jumlah Sel Beta Pankreas
Mann-Whitney U	2,000
Wilcoxon W	12,000
Z	-1,960
Asymp. Sig. (2-tailed)	,050
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	,063 ^b

Ranks

	Kelompok Perlakuan	N	Mean Rank	Sum of Ranks
Rerata Jumlah	K-	5	4,40	22,00
Sel Beta	PA	2	3,00	6,00
Pankreas	Total	7		

Test Statistics^a

	Rerata Jumlah Sel Beta Pankreas
Mann-Whitney U	3,000
Wilcoxon W	6,000
Z	-,775
Asymp. Sig. (2-tailed)	,439
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	,571 ^b

Ranks

	Kelompok Perlakuan	N	Mean Rank	Sum of Ranks
Rerata Jumlah	K-	5	5,60	28,00
Sel Beta	PB	4	4,25	17,00
Pankreas	Total	9		

Test Statistics^a

	Rerata Jumlah Sel Beta Pankreas
Mann-Whitney U	7,000
Wilcoxon W	17,000
Z	-,735
Asymp. Sig. (2-tailed)	,462
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	,556 ^b

Ranks

	Kelompok Perlakuan	N	Mean Rank	Sum of Ranks
Rerata Jumlah	K-	5	6,40	32,00
Sel Beta	PC	4	3,25	13,00
Pankreas	Total	9		

Test Statistics^a

	Rerata Jumlah Sel Beta Pankreas
Mann-Whitney U	3,000
Wilcoxon W	13,000
Z	-1,715
Asymp. Sig. (2-tailed)	,086
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	,111 ^b

Ranks

	Kelompok Perlakuan	N	Mean Rank	Sum of Ranks
Rerata Jumlah	K-	5	7,00	35,00
Sel Beta	KP	5	4,00	20,00
Pankreas	Total	10		

Test Statistics^a

	Rerata Jumlah Sel Beta Pankreas
Mann-Whitney U	5,000
Wilcoxon W	20,000
Z	-1,567
Asymp. Sig. (2-tailed)	,117
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	,151 ^b

Ranks				
	Kelompok Perlakuan	N	Mean Rank	Sum of Ranks
Rerata Jumlah	K+	4	2,75	11,00
Sel Beta	PA	2	5,00	10,00
Pankreas	Total	6		

Test Statistics ^a	
	Rerata Jumlah Sel Beta Pankreas
Mann-Whitney U	1,000
Wilcoxon W	11,000
Z	-1,389
Asymp. Sig. (2-tailed)	,165
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	,267 ^b

Ranks				
	Kelompok Perlakuan	N	Mean Rank	Sum of Ranks
Rerata Jumlah	K+	4	3,50	14,00
Sel Beta	PB	4	5,50	22,00
Pankreas	Total	8		

Test Statistics ^a	
	Rerata Jumlah Sel Beta Pankreas
Mann-Whitney U	4,000
Wilcoxon W	14,000
Z	-1,155
Asymp. Sig. (2-tailed)	,248
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	,343 ^b

Ranks				
	Kelompok Perlakuan	N	Mean Rank	Sum of Ranks
Rerata Jumlah	K+	4	3,50	14,00
Sel Beta	PC	4	5,50	22,00
Pankreas	Total	8		

Test Statistics ^a	
	Rerata Jumlah Sel Beta Pankreas
Mann-Whitney U	4,000
Wilcoxon W	14,000
Z	-1,155
Asymp. Sig. (2-tailed)	,248
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	,343 ^b

Ranks				
	Kelompok Perlakuan	N	Mean Rank	Sum of Ranks
Rerata Jumlah Sel Beta Pankreas	K+	4	4,00	16,00
	KP	5	5,80	29,00
	Total	9		

Test Statistics ^a	
	Rerata Jumlah Sel Beta Pankreas
Mann-Whitney U	6,000
Wilcoxon W	16,000
Z	-,980
Asymp. Sig. (2-tailed)	,327
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	,413 ^b

Ranks				
	Kelompok Perlakuan	N	Mean Rank	Sum of Ranks
Rerata Jumlah Sel Beta Pankreas	PB	4	5,75	23,00
	KP	5	4,40	22,00
	Total	9		

Test Statistics ^a	
	Rerata Jumlah Sel Beta Pankreas
Mann-Whitney U	7,000
Wilcoxon W	22,000
Z	-,735
Asymp. Sig. (2-tailed)	,462
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	,556 ^b

c. Uji Spearman-rho dosis ekstrak daun binahong dengan rata-rata jumlah sel beta pankreas

Correlations		
	Rerata Jumlah Sel Beta Pankreas	Kelompok Perlakuan
Spearman's rho	Correlation Coefficient	1,000
	Sig. (2-tailed)	-,234
	N	,516
		10
	Correlation Coefficient	10
	Sig. (2-tailed)	1,000
		,516
	N	,234
		10

d. Uji Spearman-rho Jumlah sel beta pankreas dengan berat pankreas

Correlations			
		Rerata Jumlah Sel Beta Pankreas	Rasio_berat
Spearman's rho	Rerata Jumlah Sel Beta Pankreas	Correlation Coefficient	1,000
		Sig. (2-tailed)	,429 [*]
		N	,037
			24
	Rasio_berat	Correlation Coefficient	,429 [*]
		Sig. (2-tailed)	1,000
		N	,037
			24

*. Correlation is significant at the 0.05 level (2-tailed).



Lampiran 2

Berat Badan Tikus Sebelum Terapi (Induksi HFD)

Minggu Kel	Berat Badan (gram)					
	1	2	3	4	5	6
K+						
1	265	274	282.5	299.66	312.78	307
2	243	267	283.5	296.16	312.5	312
3	235.4	251	251.5	267.28	274.47	278
4	247.4	264	257	279.71	288.1	301.5
5	225.7	233	248.5	261.7	271.36	264.5
K-						
1	238	293	305	320.65	267.97	268
2	266	245	256	246.49	333.68	344.5
3	250	283	291.5	301.4	326.2	322
4	252.08	288	301	311.28	316.1	318.5
5	225.5	229	238	248.22	266.75	269
PA						
1	253.5	254	258.5	265.4	271.51	278
2	257	251	248	279.62	289.87	299.5
3	235.6	284	298.5	314.4	327.43	323
4	270.79	272	280	298.59	289.99	308
5	243.85	256	249	271.91	292.33	304
PB						
1	262.81	288	308	311.86	333.59	337.5
2	236.66	242	252.5	274.3	293.5	304.5
3	255.46	262	272	285.15	303.75	308.5
4	246.32	273	286.5	294.64	311.27	313.5
5	249	273	281.3	293.9	306.21	330
PC						
1	252.5	263	274	284.62	295.12	296.5
2	242.6	263	277	278.7	291.36	293.5
3	255	276	288.5	299.56	316.81	325.5
5	271.9	284	293	301.18	290.33	320.5
6	256.67	282	300	319.37	339.35	341
KP						
1	242	272	278.5	280.36	302.26	303.5
2	243	286	300.5	328.95	349.3	356.5
3	248.7	268	280.5	306.49	340.12	340.5
4	251	273	283	282.62	315.21	294.5
5	262	276	289	305.03	326.75	333.5

Berat Badan Tikus Selama Terapi

Hari Kel	Berat Badan (gram)						
	2	4	6	8	10	12	14
K+							
1	266.5	258.5	264	264	249.8	234.5	230
2	307.5	284.5	279.5	279.5	251.96	253.5	251
3	261.5	242	247.5	247.5	231.54	226	216.5
4	275	265.5	267.5	267.5	242.05	241.5	234.5
5	242.5	228	208	208			
K-							
1	270.5	263	261	261	263.2	258	265
2	347	352	352	350.3	350	353	358
3	382	324.5	324.5	320.19	311	315	315
4	321	312.5	312.5	329.14	323	328	330
5	277	269.5	269.5	274.7	279.5	281	285
PA							
1	232.05	230.5	229.5	229.5	195.9	184.5	189
2							
3	281.5	275.5	275.5				
4	255.5						
5	285	284.5	284.5	265.1	276.5	281	276.5
PB							
1	324	310.5	310.5	293.6	289.5	291	288
2	295	306.5	306.5	292.6	295.5	304.5	298.2
3	281	254.5	254.5	248.05	238	217	
4	303	297.5	297.5	288.7	287	295.5	291.5
5	267.5						
PC							
1	245.5	224.5	218	218	206.2	197.5	197
2	275.5	267	267	245.18	243.5		
3	283	277.5	277.5	253.4	258	237.5	221.5
5	293	293.5	293.5	268.7	265.5	259.5	251
6	328	318.5	318.5	296.8	304.5	283	279
KP							
1	280.5	282.5	282.5	272.3	271.5	257	265.5
2	327	319	319	285.7	289	278	263.5
3	296.5	292.5	292.5	285.57	278	277.5	270
4	261.5	265	267	267	261.6	258.5	250
5	326.5	301.5	300.5	300.5	268.7	275.5	274.5

Lampiran 3

Data Survival Tikus

Hari Kelompok	Survival														
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15
K-															
1	√	√	√	√	√	√	√	√	√	√	√	√	√	√	√
2	√	√	√	√	√	√	√	√	√	√	√	√	√	√	√
3	√	√	√	√	√	√	√	√	√	√	√	√	√	√	√
4	√	√	√	√	√	√	√	√	√	√	√	√	√	√	√
5	√	√	√	√	√	√	√	√	√	√	√	√	√	√	√
K+															
1	√	√	√	√	√	√	√	√	√	√	√	√	√	√	√
2	√	√	√	√	√	√	√	√	√	√	√	√	√	√	√
3	√	√	√	√	√	√	√	√	√	√	√	√	√	√	√
4	√	√	√	√	√	√	√	√	√	√	√	√	√	√	√
5	√	√	√	√	√	√	-	-	-	-	-	-	-	-	-
PA															
1	√	√	√	√	√	√	√	√	√	√	√	√	√	√	√
2	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
3	√	√	√	√	√	√	√	√	-	-	-	-	-	-	-
4	√	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
5	√	√	√	√	√	√	√	√	√	√	√	√	√	√	√
PB															
1	√	√	√	√	√	√	√	√	√	√	√	√	√	√	√
2	√	√	√	√	√	√	√	√	√	√	√	√	√	√	√
3	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
4	√	√	√	√	√	√	√	√	√	√	√	√	√	√	√
5	√	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
PC															
1	√	√	√	√	√	√	√	√	√	√	√	√	√	√	√
2	√	√	√	√	√	√	√	√	√	√	-	-	-	-	-
3	√	√	√	√	√	√	√	√	√	√	√	√	√	√	√
4	√	√	√	√	√	√	√	√	√	√	√	√	√	√	√
5	√	√	√	√	√	√	√	√	√	√	√	√	√	√	√
KP															
1	√	√	√	√	√	√	√	√	√	√	√	√	√	√	√
2	√	√	√	√	√	√	√	√	√	√	√	√	√	√	√
3	√	√	√	√	√	√	√	√	√	√	√	√	√	√	√
4	√	√	√	√	√	√	√	√	√	√	√	√	√	√	√
5	√	√	√	√	√	√	√	√	√	√	√	√	√	√	√

Lampiran 4

Dokumentasi Kegiatan



Tikus sebelum dikondisikan



Tikus setelah dikondisikan



Penimbangan bahan pakan



Pembuatan pakan tikus



Pakan tikus



Pembersihan kandang



Kandang setelah dibersihkan



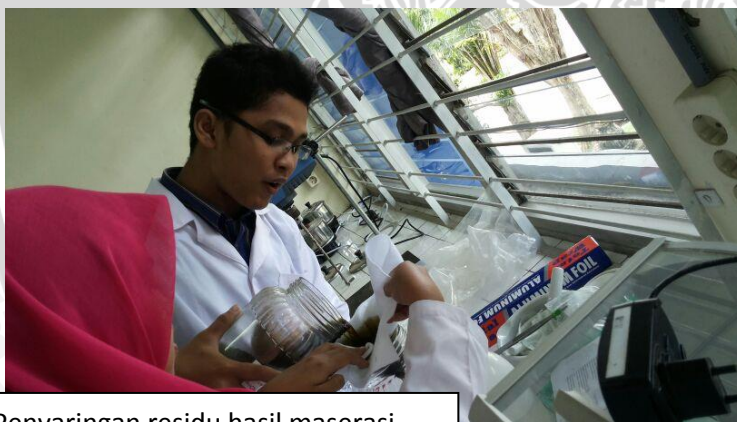
Penimbangan berat badan tikus



Penimbangan serbuk daun binahong



Pengadukan dengan stirer



Penyaringan residu hasil maserasi



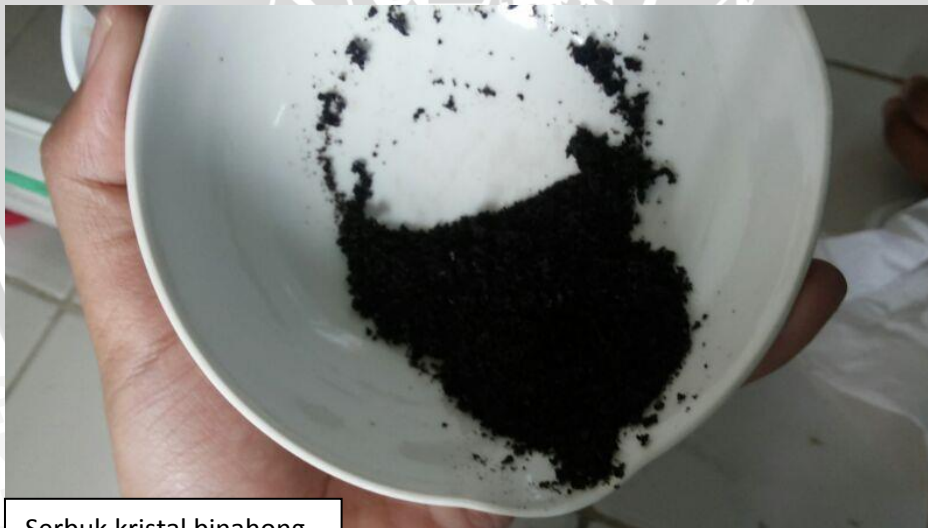
Rotary evaporator



Ekstrak kental



Alat Freeze Drying



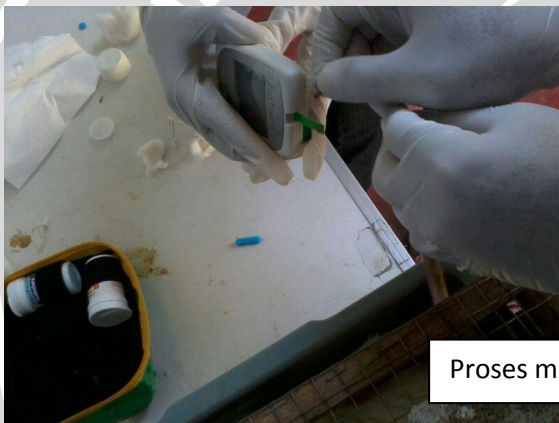
Serbuk kristal binahong



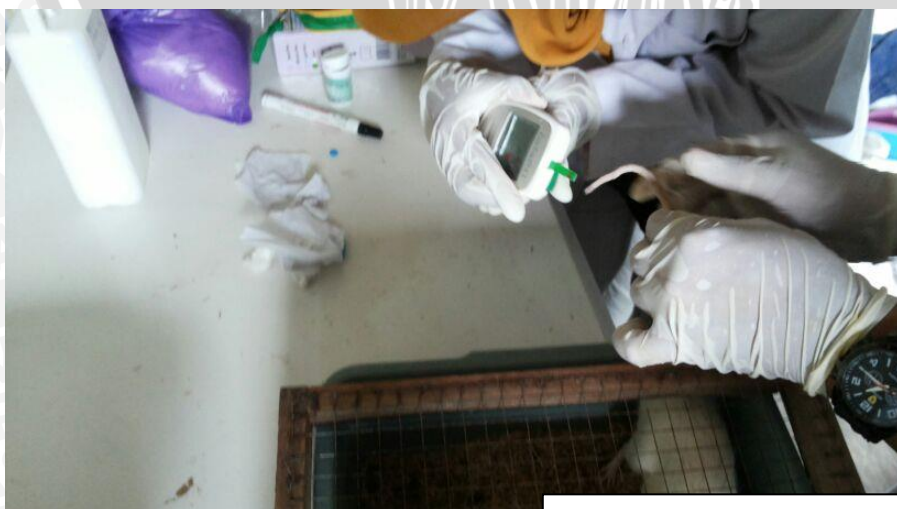
Alat cek glukosa darah *Easy Touch*®



Persiapan cek kadar glukosa darah



Proses memasukkan darah dalam stick



Proses cek kadar glukosa darah



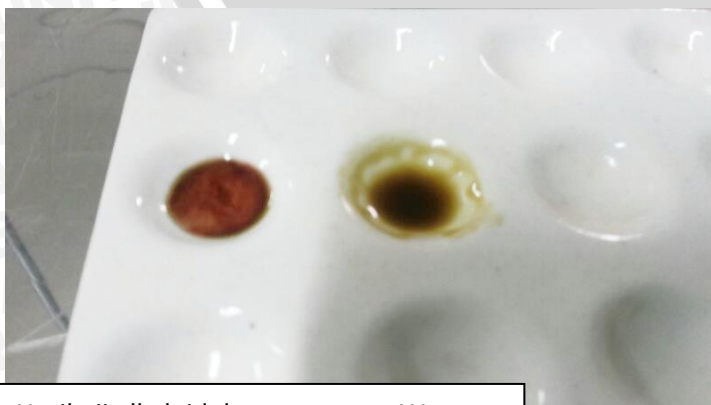
Hasil uji saponin



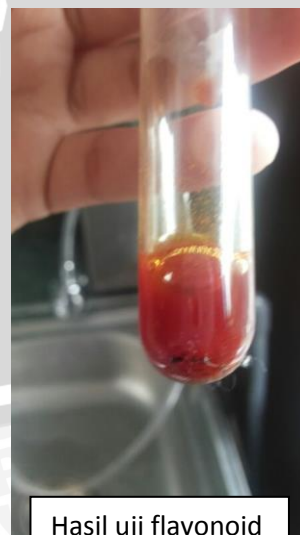
Proses pemanasan ekstrak untuk uji alkaloid



Hasil uji alkaloid dengan reagen Dragendorff



Hasil uji alkaloid dengan reagen Wagner



Hasil uji flavonoid



Asam sitrat



Streptozotocin



Larutan Streptozotocin untuk induksi



Kertas pH



Sprit injeksi Streptozotocin



Injeksi Streptozotocin



Persiapan pembuatan larutan treatment



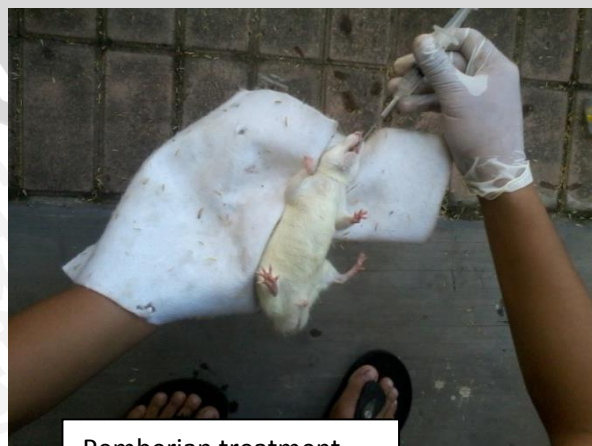
Penimbangan bahan



Penggerusan tablet glimepiride



Larutan treatment



Pemberian treatment



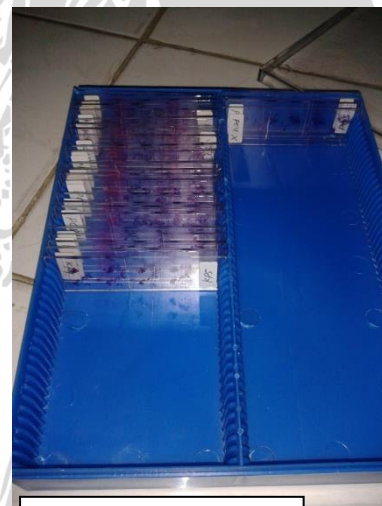
Anasthesi tikus



Pembedahan tikus



Pankreas tikus



Preparat pankreas

Lampiran 5

Dosis Glukosa

Pada saat pengukuran kadar gula darah untuk mengetahui profilnya selama 10 jam, dibutuhkan glukosa sebelum diberikan terapi pada hewan coba. glukosa yang dibutuhkan dalam penelitian ini ialah sebesar 0,2 gram dalam 1 ml. Dosis glukosa yang dibutuhkan pada penelitian pada hari pertama(H1), hari ketujuh (H7), dan hari ke-14 (H14) ialah sebagai berikut:

Kelompok	Hari Pertama		Hari Ketujuh		Hari ke-14	
	Dosis (mg)	Volume (ml)	Dosis (mg)	Volume (ml)	Dosis (mg)	Volume (ml)
K-1	0.2705	1.3525	0.264	1.32	0.23	1.15
K-2	0.3505	1.7525	0.2795	1.3975	0.251	1.255
K-3	0.3275	1.6375	0.2475	1.2375	0.2165	1.0825
K-4	0.3265	1.6325	0.2675	1.3375	0.2345	1.1725
K-5	0.282	1.41	0.208	1.04		
K+1	0.2665	1.3325	0.261	1.305	0.265	1.325
K+2	0.3075	1.5375	0.352	1.76	0.353	1.765
K+3	0.2615	1.3075	0.3245	1.6225	0.315	1.575
K+4	0.275	1.375	0.3125	1.5625	0.328	1.64
K+5	0.2425	1.2125	0.2695	1.3475	0.281	1.405
PA 1	0.23205	1.16025	0.2295	1.1475	0.189	0.945
PA 2	0.2842	1.421				
PA 3	0.308	1.54	0.2755	1.3775		
PA 4	0.2955	1.4775				
PA 5	0.3015	1.5075	0.2845	1.4225	0.281	1.405
PB 1	0.3304	1.652	0.3105	1.5525	0.291	1.455
PB 2	0.3065	1.5325	0.3065	1.5325	0.3045	1.5225
PB 3	0.297	1.485	0.2545	1.2725	0.217	1.085
PB 4	0.313	1.565	0.2975	1.4875	0.2955	1.4775
PB 5	0.2995	1.4975				
PC 1	0.2455	1.2275	0.218	1.09	0.197	0.985
PC 2	0.2895	1.4475	0.267	1.335		
PC 3	0.3055	1.5275	0.2775	1.3875	0.2375	1.1875
PC 4	0.3035	1.5175	0.2935	1.4675	0.2595	1.2975
PC 5	0.3432	1.716	0.3185	1.5925	0.283	1.415
KP 1	0.2965	1.4825	0.2825	1.4125	0.257	1.285
KP 2	0.334	1.67	0.319	1.595	0.278	1.39
KP 3	0.322	1.61	0.2925	1.4625	0.2775	1.3875
KP 4	0.2615	1.3075	0.267	1.335	0.25	1.25
KP 5	0.3265	1.6325	0.3005	1.5025	0.2745	1.3725

Lampiran 6

Hasil Pengukuran Glukosa Darah Acak dan Puasa

Kelompok Tikus	GDA	GDP		
		H0	H7	H15
K -				
1	116	115	90	95
2	113	114	124	110
3	127	114	112	100
4	100	116	76	93
5	Luka	87	108	101
K+				
1	102	390	458	348
2	143	436	496	374
3	133	375	596	376
4	133	440	314	336
5	100	-	-	-
PA				
1	150	480	300	219
2	128	-	-	-
3	125	472	601	-
4	94	377	-	-
5	117	210	172	150
PB				
1	136	581	434	227
2	163	190	120	119
3	156	399	601	204
4	30	336	173	100
5	114	413	-	-
PC				
1	107	451	380	346
2	76	419	552	-
3	156	426	449	320
4	141	520	480	333
5	133	519	454	324
6	98	-	-	-
KP				
1	102	249	117	335
2	117	546	354	401
3	59	457	540	405
4	117	480	475	440
5	127	501	601	520
6	101	-	-	-

Lampiran 7

Hasil Perhitungan Dosis Streptozotocin (STZ)

Sediaan larutan STZ 11 mg/0,5 ml

Perhitungan Bobot STZ = $BB(\text{gram}) / 1000 \times \text{dosis STZ (35 mg)}$

Perhitungan Volume injeksi = $\text{bobot STZ} / 11 \times 0,5 \text{ ml}$

Tikus	Berat Badan (gram)	Bobot STZ (mg)	Volume injeksi (ml)
K+			
1	307	10,74	0,488
2	325	11,375	0,517
3	288,5	10,0975	0,459
4	303,5	10,6225	0,483
5	266,5	9,3275	0,424
PA			
1	278	9,73	0,442
2	309,5	10,8325	0,492
3	330	11,55	0,525
4	314	10,99	0,4995
5	315,5	11,0425	0,502
PB			
1	346,5	12,1275	0,551
2	310	10,85	0,493
3	318,5	11,1475	0,507
4	318	11,13	0,506
5	327,5	11,4625	0,521
PC			
1	296,5	10,38	0,472
2	299,5	11,4825	0,477
3	326,5	11,4275	0,519
4	323,5	11,3225	0,515
5	360	12,6	0,573
KP			
1	303,5	10,62	0,483
2	306,5	10,7275	0,488
3	363,5	12,7225	0,578
4	345,5	10,0925	0,55
5	345,5	10,0925	0,55

Lampiran 8



KEMENTERIAN PENDIDIKAN DAN KEBUDAYAAN
THE MINISTRY OF EDUCATION AND CULTURE
FAKULTAS KEDOKTERAN UNIVERSITAS BRAWIJAYA
FACULTY OF MEDICINE UNIVERSITY OF BRAWIJAYA
KOMISI ETIK PENELITIAN KESEHATAN
HEALTH RESEARCH ETHICS COMMITTEE
Jalan Veteran Malang – 65145
Telp./ Fax. (62) 341 - 553930

KETERANGAN KELAIKAN ETIK
("ETHICAL CLEARANCE")

No. 181 / EC / KEPK – S1 – FARM / 03 / 2014

KOMISI ETIK PENELITIAN KESEHATAN FAKULTAS KEDOKTERAN UNIVERSITAS BRAWIJAYA, SETELAH MEMPELAJARI DENGAN SEKSAMA RANCANGAN PENELITIAN YANG DIUSULKAN, DENGAN INI MENYATAKAN BAHWA PENELITIAN DENGAN

JUDUL : Efek Pemberian Ekstrak Daun Binahong (*Anredera cordifolia*) Terhadap Profil Sel Beta Pankreas pada Tikus Putih (*Rattus norvegicus*) Strain Wistar Model Diabetes Mellitus Tipe 2

PENELITI UTAMA : Aderiel Anes Koeswanto

UNIT / LEMBAGA : S1 Farmasi – Fakultas Kedokteran – Universitas Brawijaya Malang

TEMPAT PENELITIAN : Laboratorium Fisiologi Fakultas Kedokteran Universitas Brawijaya Malang

DINYATAKAN LAIK ETIK.

Malang, 10 MAR 2014

An. Ketua,
Koordinator Divisi I



Prof. Dr. dr. Teguh W. Sardjono, DTM&H, MSc, SpPark
NIP.19520410 198002 1 001

Catatan :

Keterangan Laik Etik Ini Berlaku 1 (Satu) Tahun Sejak Tanggal Dikeluarkan
Pada Akhir Penelitian, Laporan Pelaksanaan Penelitian Harus Diserahkan Kepada KEPK-FKUB
Dalam Bentuk Soft Copy. Jika Ada Perubahan Protokol Dan / Atau Perpanjangan Penelitian, Harus
Mengajukan Kembali Permohonan Kajian Etik Penelitian (Amandemen Protokol)

Lampiran 9

I. Pembuatan Ekstrak Daun Binahong

a. Maserasi

Serbuk kering daun binahong

- ditimbang 400 gram dengan menggunakan timbangan digital
- dimasukkan dalam toples 1
- ditambahkan 2 liter etanol 70%
- distirer selama 1 jam dengan kecepatan 450 rpm (dimatikan tiap 30 menit)
- Toples 1 kemudian ditutup dan didiamkan selama 24 jam.
- Setelah 1 x 24 jam toples 1 dibuka, maserat disaring menggunakan kain flanel
- hasil maserasi ditampung dalam toples 2
- Ampas hasil maserasi dimasukkan kembali ke toples 1
- ditambahkan 2 liter etanol 70% sambil diaduk menggunakan batang pengaduk hingga merata (proses remaserasi pertama)
- Toples 1 ditutup kembali dan didiamkan selama 1 x 24 jam
- Setelah 1 x 24 jam, maserat kembali disaring menggunakan kain flanel
- hasil penyaringan dimasukkan ke dalam toples 2 (dicampur dengan hasil penyaringan pertama)
- Ampas hasil maserasi kembali dimasukkan kembali ke toples 1
- ditambahkan 2 liter etanol 70% sambil diaduk menggunakan batang pengaduk hingga merata (proses remaserasi kedua)
- Toples 1 ditutup kembali dan didiamkan selama 1 x 24 jam
- Setelah 1 x 24 jam, maserat kembali disaring menggunakan kain flanel
- hasil penyaringan dimasukkan ke dalam toples 2 (dicampur dengan hasil penyaringan sebelumnya)
- Ampas hasil maserasi diletakkan di wafah terpisah lalu dibuang

Ekstrak etanol daun binahong

b. Perolehan Ekstrak Kental Daun Binahong

Ekstrak etanol daun binahong

- dimasukkan dalam wadah khusus untuk evaporasi
- dipekatkan menggunakan *rotary evaporator* dengan suhu 50° C dan kecepatan 120 rpm selama 1 jam

67,4 gram ekstrak kental daun binahong

c. Perolehan Ekstrak Kering Daun Binahong

Ekstrak kental daun binahong

- dimasukkan dalam wadah khusus untuk proses pengeringan
- dikeringkan menggunakan metode *freeze-drying*
- ditunggu selama ± 24 jam

37,69 gram ekstrak kering daun binahong

II. Uji Kualitatif Ekstrak Daun Binahong

a. Uji Saponin

Ekstrak kering daun binahong

- ditimbang 0.5 gram dan dimasukkan tabung reaksi
- ditambahkan air secukupnya
- dipanaskan selama 5 menit
- didinginkan
- dikocok hingga timbul busa ± 10 menit
- timbul busa pada permukaannya

Saponin dalam ekstrak kering daun binahong

b. Uji Flavonoid

Ekstrak kering daun binahong

- ditimbang 0.5 gram dan dimasukkan tabung reaksi
- ditambahkan methanol hingga terendam
- dipanaskan sebentar
- diambil filtratnya
- ditambahkan 5 tetes H_2SO_4
- Terdapat endapan merah pada dasar tabung reaksi

Flavonoid dalam ekstrak kering daun binahong

c. Uji Alkaloid

Ekstrak kering daun binahong

- ditimbang 0.5 gram dan dimasukkan tabung reaksi
- dilarutkan dalam 5 ml air
- ditambahkan HCl
- ditambahkan 1 ml reagen Wagner (iodin dalam kalium iodida)
- terdapat endapan coklat pada dasar tabung reaksi

Alkaloid dalam ekstrak kering daun binahong

Lampiran 10

I. Penentuan Dosis Ekstrak Binahong

Berdasarkan penelitian Sukandar et al., (2013) dosis ekstrak daun binahong yang berikan pada mencit model diabetes mellitus dengan induksi aloksan yaitu sebesar 50 mg/kgBB. Dalam penelitian ini dilakukan konversi dosis pada mencit ke tikus berdasarkan tabel konversi perhitungan dosis untuk berbagai jenis (spesies) hewan uji (Laurence dan Bacharach, 1964). Berikut adalah perhitungannya :

Berat rerata hewan coba (tikus) yang digunakan dalam penelitian dianggap = 200 gram, maka

1. Dosis binahong

Dosis binahong = 50 mg/kgBB pada mencit

Konversi dosis mencit ke tikus 200 gram = 7,0

Dosis mencit 20 gram = $20 \text{ gram} / 1000 \text{ gram} \times 50 \text{ mg/kgBB} = 1 \text{ mg/200gramBB}$

Dosis tikus 200 gram = $1 \text{ mg} \times 7,0 = 7 \text{ mg/200gramBB}$

Dosis per kg/BB = 35 mg/kgBB pada tikus

2. Dosis dipecah mengikuti deret ukur yaitu menjadi 17,5 mg/kgBB, 35 mg/kgBB, 70 mg/kgBB atau dosis 200 gram 3.5 mg/200gramBB, 7 mg/200gramBB, 14 mg/200gramBB

Tabel 8.1 Konversi Perhitungan Dosis
(Laurence & Bacharach, 1964)

	Mencit 20 g	Tikus 200 g	Marmut 400 g	Kelinci 1,5kg	Kucing 2kg	Kera 4kg	Anjing 12kg	Manusia 70kg
Mencit 20 g	1,0	0,7	13,25	27,8	29,7	64,1	124,2	387,9
Tikus 200 g	0,14	1,0	1,74	3,9	4,2	9,2	17,8	56,0
Marmut 400 g	0,08	0,57	1,0	2,25	2,4	5,2	10,2	31,5
Kelinci 1,5kg	0,04	0,25	0,44	1,0	1,08	2,4	4,5	14,2
Kucing 2kg	0,03	0,23	0,41	0,92	1,0	2,2	4,1	13,0
Kera 4kg	0,016	0,12	0,19	0,42	0,45	1,0	1,9	6,1
Anjing 12kg	0,008	0,06	0,10	0,22	0,24	0,52	1,0	3,1
Manusia 70kg	0,0026	0,018	0,031	0,07	0,076	0,16	0,32	1,0

II. Perhitungan Dosis Glimepiride

Dosis glimepiride yang diberikan pada manusia sebesar 1-2mg perhari untuk dosis awal, dan 1-4 mg per hari untuk dosis manitenance. Berdasarkan Majalah Kefarmasian tentang Analisa Glimepiride pada Plasma Tikus, diberikan dosis glimepiride sebesar :

Dosis yang akan digunakan adalah 4 mg pada manusia.

$$\begin{aligned}\text{Untuk dosis tikus/200g} &= \text{dosis manusia} \times \text{faktor konversi} \times \text{faktor} \\ &\quad \text{farmakokinetik} \\ &= 2 \text{ mg} \times 0.018 \times 6 \\ &= 0,216 \text{ mg/200 g tikus}\end{aligned}$$

UNIVERSITAS BRAWIJAYA



Dosis Terapi Binahong dan Glimepiride

Perlakuan	Hari 1		Hari 2		Hari 3		Hari 4		Hari 5	
	Dosis (mg)	Volume (ml)	Dosis (mg)	Volume (ml)	Dosis (mg)	Volume (ml)	Dosis (mg)	Volume (ml)	Dosis (mg)	Volume (ml)
PA 1	4,56	1,82	4,56	1,82	4,03	1,61	4,03	1,61	4,02	1,61
PA 2	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
PA 3	5,39	2,16	5,39	2,16	4,93	1,97	4,93	1,97	4,82	1,93
PA 4	5,17	2,07	5,17	2,07	-	-	-	-	-	-
PA 5	5,28	2,11	5,28	2,11	4,99	2,00	4,99	2,00	4,98	1,99
PB 1	11,56	2,31	11,56	2,31	11,34	2,27	11,34	2,27	10,87	2,17
PB 2	10,73	2,15	10,73	2,15	10,33	2,07	10,33	2,07	10,73	2,15
PB 3	10,40	2,08	10,40	2,08	9,84	1,97	9,84	1,97	8,91	1,78
PB 4	10,96	2,19	10,96	2,19	10,61	2,12	10,61	2,12	10,41	2,08
PB 5	10,48	2,10	-	-	-	-	-	-	-	-
PC 1	19,25	1,93	19,25	1,93	15,72	1,57	15,72	1,57	15,26	1,53
PC 2	20,27	2,03	20,27	2,03	19,29	1,93	19,29	1,93	18,69	1,87
PC 3	21,39	2,14	21,39	2,14	19,81	1,98	19,81	1,98	19,43	1,94
PC 4	21,25	2,12	21,25	2,12	20,51	2,05	20,51	2,05	20,55	2,05
PC 5	24,02	2,40	24,02	2,40	22,96	2,30	22,96	2,30	22,30	2,23
KP 1	0,32	1,60	0,32	1,60	0,30	1,51	0,30	1,51	0,31	1,53
KP 2	0,36	1,80	0,36	1,80	0,35	1,77	0,35	1,77	0,34	1,72
KP 3	0,35	1,74	0,35	1,74	0,32	1,60	0,32	1,60	0,32	1,58
KP 4	0,31	1,56	0,31	1,56	0,29	1,43	0,29	1,43	0,29	1,44
KP 5	0,35	1,76	0,35	1,76	0,33	1,63	0,33	1,63	0,32	1,62

Perlakuan	Hari 6		Hari 7		Hari 8		Hari 9		Hari 10	
	Dosis (mg)	Volume (ml)	Dosis (mg)	Volume (ml)	Dosis (mg)	Volume (ml)	Dosis (mg)	Volume (ml)	Dosis (mg)	Volume (ml)
PA 1	4,02	1,61	4,02	1,61	4,02	1,61	4,03	1,61	4,02	1,61
PA 2	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
PA 3	4,82	1,93	4,82	1,93	-	-	-	-	-	-
PA 4	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
PA 5	4,98	1,99	4,98	1,99	4,98	1,99	4,99	2,00	4,98	1,99
PB 1	10,87	2,17	10,87	2,17	10,87	2,17	11,34	2,27	10,87	2,17
PB 2	10,73	2,15	10,73	2,15	10,73	2,15	10,33	2,07	10,73	2,15
PB 3	8,91	1,78	8,91	1,78	8,91	1,78	9,84	1,97	8,91	1,78
PB 4	10,41	2,08	10,41	2,08	10,41	2,08	10,61	2,12	10,41	2,08
PB 5	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
PC 1	15,26	1,53	15,26	1,53	15,26	1,53	15,72	1,57	15,26	1,53
PC 2	18,69	1,87	18,69	1,87	18,69	1,87	19,29	1,93	18,69	1,87
PC 3	19,43	1,94	19,43	1,94	19,43	1,94	19,81	1,98	19,43	1,94
PC 4	20,55	2,05	20,55	2,05	20,55	2,05	20,51	2,05	20,55	2,05
PC 5	22,30	2,23	22,30	2,23	22,30	2,23	22,96	2,30	22,30	2,23
KP 1	0,31	1,53	0,61	1,68	0,61	1,68	0,30	1,51	0,31	1,53
KP 2	0,34	1,72	0,69	1,89	0,69	1,89	0,35	1,77	0,34	1,72
KP 3	0,32	1,58	0,63	1,74	0,63	1,74	0,32	1,60	0,32	1,58
KP 4	0,29	1,44	0,58	1,59	0,58	1,59	0,29	1,43	0,29	1,44
KP 5	0,32	1,62	0,65	1,78	0,65	1,78	0,33	1,63	0,32	1,62

Perlakuan	Hari 11		Hari 12		Hari 13		Hari 14		Hari 15	
	Dosis (mg)	Volume (ml)	Dosis (mg)	Volume (ml)	Dosis (mg)	Volume (ml)	Dosis (mg)	Volume (ml)	Dosis (mg)	Volume (ml)
PA 1	3,23	1,29	3,23	1,29	3,31	1,32	3,31	1,32	3,31	1,32
PA 2	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
PA 3	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
PA 4	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
PA 5	4,84	1,94	4,84	1,94	4,92	1,97	4,92	1,97	4,92	1,97
PB 1	10,13	2,03	10,13	2,03	10,19	2,04	10,19	2,04	10,19	2,04
PB 2	10,34	2,07	10,34	2,07	10,66	2,13	10,66	2,13	10,66	2,13
PB 3	8,33	1,67	8,33	1,67	7,60	1,52	7,60	1,52	7,60	1,52
PB 4	10,05	2,01	10,05	2,01	10,34	2,07	10,34	2,07	10,34	2,07
PB 5	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
PC 1	13,83	1,38	13,83	1,38	13,79	1,38	13,79	1,38	13,79	1,38
PC 2	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
PC 3	18,06	1,81	18,06	1,81	16,63	1,66	16,63	1,66	16,63	1,66
PC 4	18,59	1,86	18,59	1,86	18,17	1,82	18,17	1,82	18,17	1,82
PC 5	21,32	2,13	21,32	2,13	19,81	1,98	19,81	1,98	19,81	1,98
KP 1	0,59	1,61	0,59	1,61	0,56	1,53	0,56	1,53	0,56	1,53
KP 2	0,62	1,72	0,62	1,72	0,60	1,65	0,60	1,65	0,60	1,65
KP 3	0,60	1,65	0,60	1,65	0,60	1,65	0,60	1,65	0,60	1,65
KP 4	0,56	1,54	0,56	1,54	0,54	1,49	0,54	1,49	0,54	1,49
KP 5	0,60	1,64	0,60	1,64	0,59	1,63	0,59	1,63	0,59	1,63

Keterangan :

- Konsentrasi larutan binahong perlakuan PA 2,5mg/ml
- Konsentrasi larutan binahong perlakuan PB 5mg/ml
- Konsentrasi larutan binahong perlakuan PC 10mg/ml
- Konsentrasi larutan glimepiride 2mg/10ml (hari 1 sampai hari 6)
- Konsentrasi suspensi glimepiride 4mg/11ml (hari 7 sampai 15)



Lampiran 11**PERNYATAAN KEASLIAN TULISAN**

Saya yang bertanda tangan di bawah ini:

Nama : Aderiel Anes Koeswanto
NIM : 105070500111041
Program Studi : Program Studi Farmasi
Fakultas Kedokteran Universitas Brawijaya

Menyatakan dengan sebenarnya bahwa Tugas Akhir yang saya tulis ini benar-benar hasil karya saya sendiri, bukan merupakan pengambil-alihan tulisan atau pikiran orang lain yang saya aku sebagai tulisan atau pikiran saya sendiri. Apabila di kemudian hari dapat dibuktikan bahwa Tugas Akhir ini adalah hasil jiplakan, maka saya bersedia menerima sanksi atas perbuatan tersebut.

Malang, 7 Juli 2014

Yang membuat pernyataan,

Aderiel Anes Koeswanto

105070500111041

Lampiran 12

Proses Pengerjaan Preparat Histo Patologi

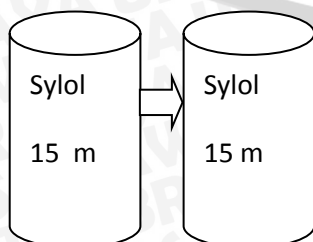
I. Proses pemotongan karingan berupa makross

1. Gross hasil bedah dimasukan ke larutan formalin 10 (fiksasi) semalam
2. Jaringan dipilih yang terbaik sesuai dengan yang akan di teliti
3. Jaringan di potong kurang lebih ketebalan 2-3 mili meter
4. Di masukan kekaset dan di beri kode sesuai dengan kode gross peneliti
5. Dimasukan ke larutan formalin 10 % sebelum di proses/ dimasukan ke alat Tissue Tex Prosesor
6. Di proses menggunakan alat/mesin Tissue Tex Prosesor selama 90 Menit
7. Alarm bunyi tanda selesai.

II. Proses pengeblokan dan pemotongan jaringan

1. Jaringan di angkat dari mesin Tissue Tex Prosesor
2. Jaringan di blok dengan paraffin sesuai kode jaringan
3. Jaringan di potong dengan alat microtome ketebalan 3-5 mikron

III. Proses deparafinisasi



Setelah di sayat atau di potong dengan ketebalan 3-5 mikron , di taruh dalam oven selama 30 Menit dengan suhu panas 70-80 drajat ,

kemudian di masukan ke dalam 2 tabung larutan sylol masing-masing 20 menit, setelah itu di masukan ke 4 tabung alkohol masing-masing tempat 3 menit (Hidrasi), dan yang terakhir dimasukan air mengalir selama 15 menit

IV. Proses pewarnaan (HE)

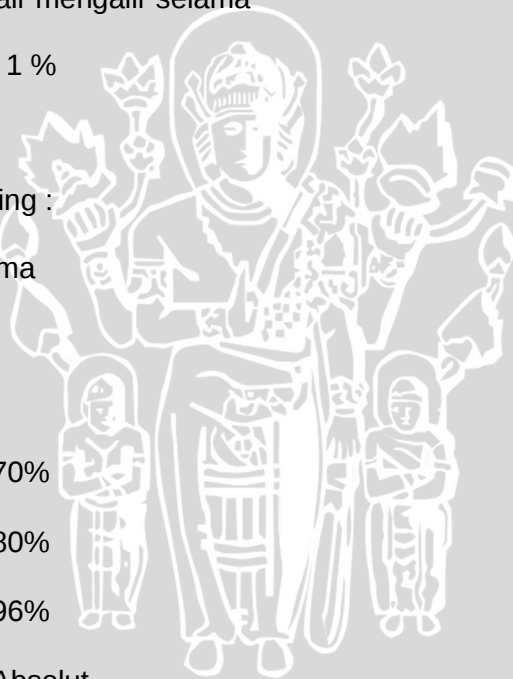
- | | |
|---|-------------|
| 1. Cat utama Harris Hematoksilin selama | 10-15 menit |
| 2. Cuci dengan air mengalir selama | 15 menit |
| 3. Alkohol asam 1 % | 2-5 celup |
| 4. Amonia air | 3-5 celup |
| 5. Cat pembanding : | |
| - Eosin 1% selama | 10-15 menit |

V. Dehidrasi

- | | |
|-------------------|---------|
| • Alkohol 70% | 3 menit |
| • Alkohol 80% | 3 menit |
| • Alkohol 96% | 3 menit |
| • Alkohol Absolut | 3 menit |

VI. Penjernihan (Clearring) :

- | | |
|---------|----------|
| • Xylol | 60 menit |
| • Xylol | 60 menit |



VII. Mounting dengan entelan dan deckglass.

- Biarkan slide kering pada suhu ruangan
- Setelah slide kering siap untuk diamati



Lampiran 13

Randomisasi Tikus ke dalam masing-masing Kelompok

Tikus	Kelompok	Random number
1	Kelompok IV	0,003835
2	Kelompok IV	0,047896
3	Kelompok III	0,053364
4	Kelompok V	0,089809
5	Kelompok III	0,100785
6	Kelompok V	0,104278
7	Kelompok II	0,113083
8	Kelompok III	0,123457
9	Kelompok V	0,136413
10	Kelompok V	0,167632
11	Kelompok I	0,197398
12	Kelompok I	0,242916
13	Kelompok II	0,250638
14	Kelompok I	0,260649
15	Kelompok II	0,352837
16	Kelompok V	0,379218
17	Kelompok VI	0,389843
18	Kelompok III	0,390797
19	Kelompok II	0,419947
20	Kelompok IV	0,437177
21	Kelompok I	0,628004
22	Kelompok III	0,633486
23	Kelompok VI	0,741593
24	Kelompok VI	0,770275
25	Kelompok IV	0,771778
26	Kelompok I	0,805099
27	Kelompok VI	0,834938
28	Kelompok IV	0,875477
29	Kelompok II	0,901396
30	Kelompok VI	0,971505

Lampiran 14

I. Rasio Berat Pankreas dengan Berat Badan Tikus

Kelompok		Berat pankreas	Berat badan	Rasio	Mean rasio
K-	1	0,77	265	0,002906	0,00360578
	2	0,99	358	0,002765	
	3	1,64	315	0,005206	
	4	1,04	330	0,003152	
	5	1,14	285	0,004	
K+	1	0,42	230	0,001826	0,00225845
	2	0,62	250	0,00248	
	3	0,43	211	0,002038	
	4	0,62	230,5	0,00269	
PA	1	0,45	189	0,002381	0,00232972
	5	0,63	276,5	0,002278	
PB	1	0,58	288	0,002014	0,00266941
	2	0,8	298,2	0,002683	
	3	0,68	217	0,003134	
	4	0,83	291,5	0,002847	
PC	1	0,69	197	0,003503	0,00284905
	3	0,8	221,5	0,003612	
	4	0,49	251	0,001952	
	0	0,65	279	0,00233	
KP	1	0,61	265,5	0,002298	0,00215436
	2	0,38	263,5	0,001442	
	3	0,64	270	0,00237	
	4	0,68	250	0,00272	
	5	0,5	257,5	0,001942	

II. Rata-Rata Jumlah Sel Beta Pankreas

Kelompok		Lapang pandang ke-					Rata-rata jumlah sel beta pankreas
		1	2	3	4	5	
K-	1	163	85	123	128	106	121
	2	166	133	145	208	153	161
	3	218	244	221	280	269	246,4
	4	455	205	114	463	435	334,4

	5	283	342	105	240	194	232,8
K+	1	193	214	131	213	178	185,8
	2	22	59	40	48	50	43,8
	3	18	27	37	27	24	26,6
	4	59	120	89	77	73	83,6
PA	1	155	197	101	103	100	131,2
	5	179	263	153	314	161	214
PB	1	38	39	50	40	79	49,2
	2	525	488	140	164	452	353,8
	3	74	78	48	104	81	77
	4	354	342	179	123	150	229,6
PC	1	250	157	364	100	119	198
	3	102	21	114	72	31	68
	4	196	274	93	108	67	147,6
	5	68	70	138	170	43	97,8
KP	1	57	264	307	170	301	219,8
	2	39	29	35	39	19	32,2
	3	135	74	248	153	60	134
	4	221	203	252	205	103	196,8
	5	60	62	132	64	48	73,2

Lampiran 15

123



UPT MATERIA MEDICA
Jalan Lahor No.87 Telp. (0341) 593396 Batu (65313)
KOTA BATU

Nomor : 074 / 044 / 101.8 / 2014
Sifat : Biasa
Perihal : Determinasi Tanaman Binahong

Memenuhi permohonan saudara :

Nama :	ADERIEL ANES K	(105070500111041)
	WAHYU BACHTIAR	(105070500111042)
	SRI INDRAWATI	(105070501111002)
	SITI ROCHIMA	(105070501111005)
	YASINTA KKG	(105070500111020)
	DEVY ROSITASARI	(105070507111002)
Fakultas :	Program Studi Farmasi Fakultas Kedokteran Universitas Brawijaya Malang	

- Perihal determinasi tanaman Binahong

Kingdom	: Plantae
Sub Kingdom	: Tracheobionta (berpembuluh)
Super Divisi	: Spermatophyta
Divisi	: Magnoliophyta
Sub divisi	: Angiospermae
Kelas	: Dicotyledonae
Sub kelas	: Hamamelidae
Bangsa	: Caryophyllales
Suku	: Basellaceae
Marga	: Anredera
Jenis	: <i>Anredera cordifolia</i> (Ternore) Steen
Sinonim	: <i>Boussingaultia gracilis</i> Miers, <i>Boussingaultia cordifolia</i> , <i>Boussingaultia baselloides</i>

Kunci determinasi : 1b-2b-3b-4b-6b-7b-9a-41b-42b-43b-54b-59b-61b-62b-63a-64b
- Morfologi : Habitus : tumbuhan menjalar, panjang lebih dari 6 m. Batang : lunak, silindris, membelit, warna merah, permukaan halus, kadang membentuk semacam umbi yang melekat di ketiak daun, bentuk tak beraturan tekstur kasar. Daun tunggal tangkai pendek, berseling, warna hijau, bentuk jantung, panjang 5-10 cm, lebar 3-7 cm, helaian daun tipis lemas, ujung runcing, pangkal bertekuk, tepi rata, permukaan licin. Bunga majemuk bentuk tandan, bertangkai panjang muncul di ketiak daun mahkota warna krem, keputihan, berjumlah lima tidak berlekatan, panjang helai mahkota 0.5-1 cm bau harum. Akar bentuk rimpang berdaging lunak.
- Nama Simplesia : *Anrederae Folium* / Daun Binahong.
- Kandungan kimia: Daun mengandung alkaloid, asam askorbat, asam oleanolik, saponin triterpenoid, flavonoid, polifenol, nitrit oksida dan minyak atsiri serta protein yang diberi nama ancardin. Umbinya mengandung alkaloid dan antrakuinon.
- Penggunaan : Penelitian
- Daftar Pustaka :
 - Anonim, *Taksonomi Koleksi Tanaman Obat Kebun Tanaman Obat Citeureup*, 2008, Badan Pengawas Obat dan Makanan RI Direktorat Obat Asli Indonesia, Jakarta.
 - Anonim, <http://www.tanamanobat.com/Binahong>. Diakses tanggal 9 Januari 2009
 - Steenis, CGGJ Van Dr, *FLORA*, 2008, Pradnya Paramita, Jakarta.
 - Syamsuhidayat, Sri sugati, Hutapea, Johny Ria.1991, *Inventaris Tanaman Obat Indonesia I*, Departemen Kesehatan Republik Indonesia : Badan Penelitian Dan Pengembangan Kesehatan

Batu, 19 FEBRUARI 2014
Kepala UPT Materia Medica Batu



Dr. Husein RM. Apt. MKes.
NIP.196211021991031003

Lampiran 16

RATTUS FARM

MENYEDIKAN : TIKUS PUTIH JENIS MENCIT , JENIS RATTUS NOVERGICUS /
GALUR WISTAR UNTUK PRAKTEK LABORATORIUM DAN MAKANAN REPTIL
SEGALA UKURAN
HUBUNGI 081945993048 / 089618731389
ALAMAT : KECAMATAN DAU KABUPATEN MALANG
JAWA TIMUR

KETERANGAN

YANG BERTANDA TANGAN DI BAWAH INI :

NAMA PETERNAK : PURNOMO

ALAMAT : DAU, KABUPATEN MALANG, JAWA TIMUR

MENERANGKAN DENGAN SEBENAR BENARNYA BAHWA , TELAH MENJUAL TIKUS PUTIH.

JENIS / SPESIES : RATTUS NOVERGICUS

UMUR : 3 BULAN

BERAT : 200 – 250 GRAM

JENIS KELAMIN : JANTAN

STATUS KESEHATAN : SEMPURNA (TIDAK ADA KELAINAN FISIK)

DEMIKIANLAH KETERANGAN DARI SAYA SELAKU PETERNAK.

MALANG, 12 MARET 2014

HORMAT SAYA



(PURNOMO)

Lampiran 17

Sisa Pakan Tikus

Tikus		17/03	18/03	19/03	20/03	21/03	22/03	23/03
K(+)	1	6,68	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	7,59
	2	0,00	9,55	0,00	0,00	3,41	0,00	0,00
	3	0,00	0,00	1,67	0,00	0,00	0,00	4,92
	4	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
	5	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
K(-)	1	4,04	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
	2	0,00	0,00	2,52	0,00	0,00	0,00	0,00
	3	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
	4	0,00	3,03	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
	5	15,54	3,64	4,47	0,00	0,00	0,00	0,00
P(A)	1	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	3,77
	2	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
	3	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
	4	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
	5	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	3,93
P(B)	1	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
	2	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
	3	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
	4	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
	5	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
P(C)	1	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	8,91
	2	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
	3	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
	4	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
	5	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
K(P)	1	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
	2	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
	3	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
	4	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
	5	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00

Tikus		24/03	25/03	26/03	27/03	28/03	29/03	30/03
K(+)	1	0,00	2,73	2,00	3,17	1,70	0,00	0,00
	2	0,00	2,63	3,00	4,69	3,50	0,00	0,00
	3	0,00	2,03	0,00	0,28	0,00	0,00	0,00
	4	1,99	9,44	3,00	0,71	7,40	2,84	0,00
	5	0,00	4,97	1,00	2,52	0,00	2,66	0,00
K(-)	1	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
	2	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	2,03
	3	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
	4	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
	5	0,00	0,00	2,00	1,98	0,00	0,00	0,00
P(A)	1	0,00	1,88	2,00	1,54	0,20	1,92	0,00
	2	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
	3	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
	4	0,00	0,00	0,60	0,00	0,00	0,00	0,00
	5	0,00	0,00	1,00	0,28	0,00	0,00	0,00
P(B)	1	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
	2	0,00	0,00	0,00	0,24	0,00	0,00	0,00
	3	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
	4	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
	5	0,00	3,56	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
P(C)	1	0,00	0,00	0,00	3,54	3,80	0,00	3,88
	2	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
	3	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
	4	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
	5	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
K(P)	1	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
	2	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
	3	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
	4	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
	5	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00

Tikus		31/03	01/04	02/04	03/04	04/04	05/04	06/04
K(+)	1	0,58	2,00	0,00	0,00	0,00	1,98	0,00
	2	0,00	0,00	0,00	0,00	1,80	0,00	0,00
	3	0,16	0,00	0,83	0,00	0,00	0,00	0,94
	4	10,31	0,00	0,70	0,00	0,00	0,00	0,00
	5	0,00	0,00	0,00	0,00	1,89	2,50	0,00
K(-)	1	1,30	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
	2	6,62	0,00	0,81	0,00	0,00	0,00	0,00
	3	1,80	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
	4	0,00	0,00	5,16	0,00	0,00	0,00	0,00
	5	0,14	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
P(A)	1	0,80	2,05	0,86	0,00	0,00	0,00	0,74
	2	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
	3	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
	4	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
	5	2,52	0,00	0,46	0,25	0,00	0,00	0,00
P(B)	1	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
	2	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
	3	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
	4	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
	5	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
P(C)	1	6,06	0,00	4,71	0,00	0,00	0,00	0,00
	2	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
	3	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
	4	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
	5	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
K(P)	1	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
	2	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
	3	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
	4	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
	5	0,23	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00

Tikus		07/04	08/04	09/04	10/04	11/04	12/04	13/04
K(+)	1	2,25	0,88	0,30	5,51	2,85	0,00	2,95
	2	2,86	0,00	0,00	0,00	7,02	0,73	1,19
	3	1,30	2,03	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
	4	0,00	2,14	0,00	4,06	6,09	7,16	2,21
	5	4,92	0,00	1,24	9,03	1,94	0,00	0,96
K(-)	1	1,60	0,00	0,30	0,00	0,00	0,00	0,00
	2	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
	3	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
	4	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
	5	0,58	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
P(A)	1	2,19	0,65	0,55	2,60	0,00	0,00	0,00
	2	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
	3	0,00	0,00	0,00	2,66	0,00	0,00	3,88
	4	0,00	2,26	1,51	0,00	0,00	0,00	0,00
	5	1,46	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
P(B)	1	0,00	0,00	0,00	0,21	0,00	0,00	0,00
	2	0,14	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
	3	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
	4	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
	5	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
P(C)	1	0,00	0,00	0,00	3,76	2,76	0,00	11,54
	2	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
	3	0,00	0,00	0,00	0,00	1,91	0,00	0,00
	4	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
	5	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
K(P)	1	0,00	0,00	3,40	0,00	0,00	0,00	0,82
	2	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
	3	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
	4	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
	5	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00

Tikus		14/04	15/04	16/04	17/04	18/04	19/04	20/04
K(+)	1	0,00	0,00	9,75	0,00	3,47	0,00	0,00
	2	0,00	0,00	0,46	0,00	1,50	0,00	0,00
	3	0,00	1,28	3,08	4,19	0,00	0,00	0,00
	4	0,00	6,98	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
	5	7,00	5,82	4,16	0,00	1,44	0,00	0,00
K(-)	1	2,10	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
	2	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
	3	0,00	1,64	0,91	0,00	5,21	0,00	0,00
	4	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
	5	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
P(A)	1	0,00	0,00	8,24	0,00	0,00	0,00	0,00
	2	0,00	0,47	0,00	0,00	0,00	0,00	4,07
	3	3,10	0,55	11,62	3,76	1,64	0,00	0,00
	4	0,00	0,00	1,64	0,00	0,00	0,00	0,00
	5	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
P(B)	1	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
	2	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
	3	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
	4	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
	5	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
P(C)	1	1,40	0,00	7,64	0,00	0,00	8,92	0,00
	2	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
	3	0,50	0,00	0,67	0,00	0,00	0,00	0,00
	4	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
	5	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
K(P)	1	0,00	1,45	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
	2	0,00	0,00	5,15	0,00	0,00	0,00	0,00
	3	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
	4	0,00	17,60	22,75	6,94	0,00	0,00	0,00
	5	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00

Tikus		21/04	22/04	23/04	24/04	25/04	26/04	27/04
K(+)	1	0,00	0,00	0,00	0,00	7,45	0,00	0,00
	2	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
	3	0,00	0,00	2,40	0,00	0,00	0,00	0,00
	4	0,00	0,00	1,60	0,00	0,00	0,00	0,00
	5	0,00	0,00	2,40	0,00	8,02	0,00	0,00
K(-)	1	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
	2	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
	3	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
	4	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
	5	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
P(A)	1	0,00	0,00	0,00	0,00	12,00	0,00	0,00
	2	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	-
	3	7,87	3,58	3,70	0,00	0,00	0,00	0,00
	4	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
	5	0,00	0,00	0,00	0,00	4,02	0,00	0,00
P(B)	1	0,00	0,00	0,00	20,60	8,39	0,00	0,00
	2	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
	3	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
	4	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
	5	0,00	0,00	0,00	0,00	2,49	0,00	0,00
P(C)	1	0,00	10,76	0,00	0,00	9,47	0,00	0,00
	2	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
	3	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
	4	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
	5	0,00	0,00	2,10	0,00	0,00	0,00	0,00
K(P)	1	0,00	0,00	0,30	0,00	0,00	0,00	0,00
	2	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
	3	0,00	0,00	0,00	0,00	2,77	0,00	0,00
	4	0,00	0,00	0,00	0,00	4,97	0,00	0,00
	5	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00

Tikus		28/04	29/04	30/04	01/05	02/05	03/05	04/05
K(+)	1	0,00	0,00	0,00	1,52	0,00	0,00	0,00
	2	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
	3	0,52	4,80	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
	4	6,77	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
	5	22,06	22,10	0,00	0,00	-	-	-
K(-)	1	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
	2	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
	3	1,02	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
	4	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
	5	2,94	0,00	0,00	0,31	0,00	0,00	0,00
P(A)	1	2,65	0,00	0,00	0,00	0,00	2,82	0,00
	2	-	-	-	-	-	-	-
	3	18,38	0,00	0,00	7,03	0,00	0,00	-
	4	0,00	-	-	-	-	-	-
	5	14,45	5,30	0,00	1,90	0,00	0,00	0,00
P(B)	1	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
	2	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
	3	0,00	21,00	0,00	0,57	0,00	0,00	0,00
	4	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
	5	-	-	-	-	-	-	-
P(C)	1	18,82	0,00	0,00	1,42	0,00	12,90	0,00
	2	18,84	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
	3	17,71	6,70	0,00	0,97	0,00	10,90	0,00
	4	16,88	3,30	0,00	3,73	0,00	0,00	0,00
	5	17,49	6,20	0,00	0,58	0,00	8,44	0,00
K(P)	1	2,62	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
	2	5,56	0,00	0,00	4,90	0,00	0,00	0,00
	3	4,26	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
	4	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
	5	8,31	4,74	0,00	3,31	0,00	0,00	0,00

Tikus		05/05	06/05	07/05	08/05	09/05	10/05	11/05
K(+)	1	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
	2	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
	3	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
	4	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
	5	-	-	-	-	-	-	-
K(-)	1	2,26	2,63	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
	2	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
	3	3,99	0,00	0,00	0,00	0,60	0,00	0,00
	4	0,00	3,67	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
	5	0,00	0,00	0,49	0,00	0,00	2,81	0,00
P(A)	1	0,00	1,57	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
	2	-	-	-	-	-	-	-
	3	-	-	-	-	-	-	-
	4	-	-	-	-	-	-	-
	5	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	1,62	0,00
P(B)	1	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
	2	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
	3	0,00	0,00	0,00	0,00	0,90	0,00	0,00
	4	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
	5	-	-	-	-	-	-	-
P(C)	1	4,20	8,36	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
	2	0,00	0,00	-	-	-	-	-
	3	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
	4	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
	5	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
K(P)	1	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
	2	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
	3	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
	4	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
	5	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00