

**PENGARUH EKSTRAK FLOROTANIN *Sargassum* sp TERHADAP  
HISTOPATOLOGI HATI TIKUS DIABETES MELITUS**

**SKRIPSI  
PROGRAM STUDI TEKNOLOGI HASIL PERIKANAN  
JURUSAN MANAJEMEN SUMBERDAYA PERAIRAN**

**Oleh:  
PANGESTUTY YENI ANGGRAINI  
NIM. 125080300111012**



**FAKULTAS PERIKANAN DAN ILMU KELAUTAN  
UNIVERSITAS BRAWIJAYA  
MALANG  
2017**

**PENGARUH EKSTRAK FLOROTANIN *Sargassum* sp TERHADAP  
HISTOPATOLOGI HATI TIKUS DIABETES MELITUS**

**SKRIPSI  
PROGRAM STUDI TEKNOLOGI HASIL PERIKANAN  
JURUSAN MANAJEMEN SUMBERDAYA PERAIRAN**

**Sebagai Salah Satu Syarat untuk Meraih Gelar Sarjana Perikanan  
di Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan  
Universitas Brawijaya**

Oleh:  
**PANGESTUTY YENI ANGGRAINI**  
NIM. 12508030011012



**FAKULTAS PERIKANAN DAN ILMU KELAUTAN  
UNIVERSITAS BRAWIJAYA  
MALANG  
2017**

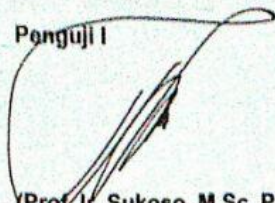
SKRIPSI

PENGARUH EKSTRAK FLOROTANIN *Sargassum* sp TERHADAP  
HISTOPATOLOGI HATI TIKUS DIABETES MELITUS

Oleh :  
PANGESTUTY YENI ANGGRAINI  
NIM. 125080300111012

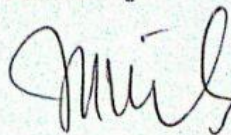
telah dipertahankan didepan penguji  
pada tanggal 23 Desember 2016  
dan dinyatakan telah memenuhi syarat

Penguji I



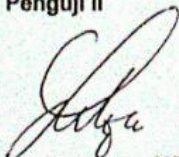
(Prof. Ir. Sukoso, M.Sc, Ph.D)  
NIP. 19640919 198903 1 002  
Tanggal: 23 JAN 2017

Menyetujui  
Pembimbing I



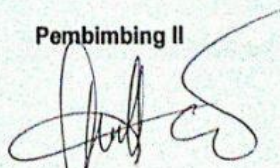
(Dr. Ir. Muhamad Firdaus, MP)  
NIP. 19680919 200501 1 001  
Tanggal: 23 JAN 2017

Penguji II



(Dr. Ir. Yahya, MP)  
NIP. 19630706 198003 1005  
Tanggal: 23 JAN 2017


Pembimbing II



(Dr. Ir. Anies Chamidah, MP)  
NIP. 19640912 199002 2 001  
Tanggal: 23 JAN 2017



Mengetahui  
Ketua Jurusan



(Dr. Ir. Arning Wilujeng Ekawati, MS)  
NIP. 19620805 198503 2 001  
Tanggal: 23 JAN 2017

## PERNYATAAN ORISINALITAS

Dengan ini saya menyatakan bahwa dalam skripsi yang saya tulis ini benar-benar merupakan hasil karya saya sendiri, dan sepanjang pengetahuan saya juga tidak terdapat karya atau pendapat yang pernah ditulis atau diterbitkan oleh orang lain kecuali yang tertulis dalam naskah ini dan disebutkan dalam daftar pustaka.

Apabila kemudian hari terbukti atau dapat dibuktikan skripsi ini hasil penjiplakan (plagiasi), maka saya bersedia menerima sanksi atas perbuatan tersebut, sesuai hukum yang berlaku di Indonesia.

Malang, Januari 2017

Pangestuty Yeni Anggraini

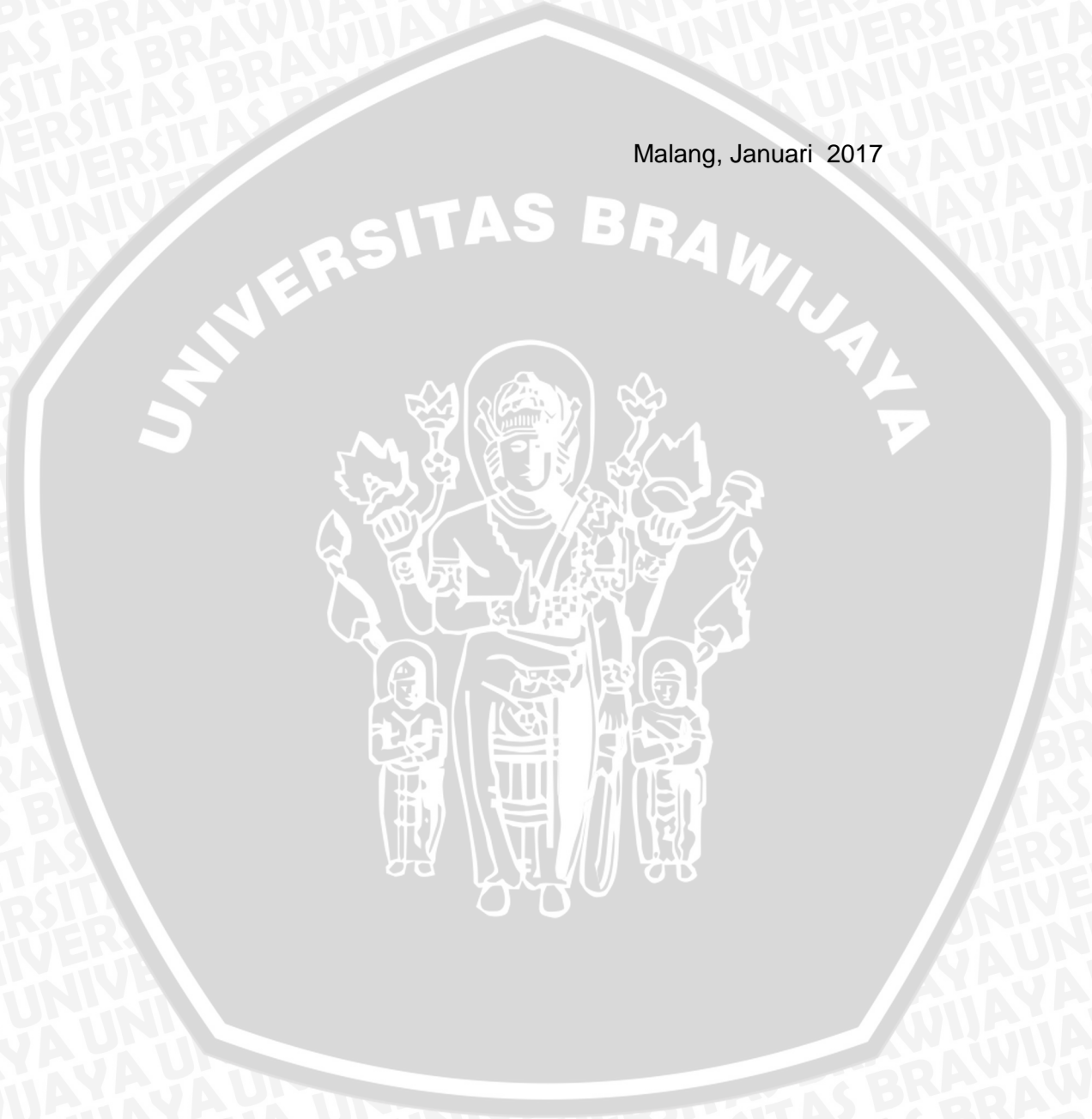
## UCAPAN TERIMAKASIH

Pelaksanaan penulisan laporan yang berjudul “Pengaruh Ekstrak Florotanin *Sargassum* sp Terhadap Histopatologi Hati Tikus Diabetes Melitus” ini dapat dilaksanakan dengan baik atas keterlibatan pihak-pihak yang telah dengan tulus ikhlas memberikan bimbingan dan bantuan. Untuk itu, melalui kesempatan ini penulis menyampaikan terima kasih kepada:

1. Allah SWT atas segala rahmat dan karunia-Nya yang telah diberikan, sehingga skripsi ini dapat terselesaikan dengan baik.
2. Kedua orang tua saya ibu dan bapak atas motivasi, kasih sayang, dan doanya. Beserta adik dan seluruh kerabat keluarga.
3. Bapak Dr. Ir. Muhamad Firdaus, MP dan Ibu Dr. Ir Anies Chamida MP. selaku dosen pembimbing penelitian saya, yang selalu membimbing dan mengarahkan dalam berjalannya penelitian dan laporan skripsi ini.
4. Musrifah selaku pembina Ngaji yang selalu memberikan nasehat untuk tetap bisa menjalankan dua manah yaitu menuntut ilmu didunia juga menuntut ilmu untuk akhirat.
5. Teman-teman satu bimbingan, sehingga penelitian dan laporan skripsi ini dapat terselesaikan dengan baik. Beserta teman-teman Teknologi Hasil Perikanan dari semester satu hingga saat ini.
6. Teman-teman satu kontrakan Fastabiqul Khairat yang selalu membantu dan mendukung dalam kesulitan hingga Alhamdulillah skripsi terselsaikan.
7. Teman-teman dari Muslimah Hizbut Tahrir (MHTI) yang selalu mendukung dan membantu dalam kesulitan.
8. Teman-Teman Lingkar Intelektual Muslimah Brawijaya (LIMB) yang selalu motivasi dalam menyelesaikan skripsi ini.

9. Teman-teman Forum Intelektual Muslimah Perikan (FISHERI) yang memberikan dukungan dan semangat.
10. Semua pihak yang tidak bisa disebutkan satu persatu yang telah membantu sehingga penelitian ini berjalan dengan lancar.

Malang, Januari 2017



PANGESTUTY YENI ANGGRAINI. 125080300111012. **Pengaruh Ekstrak Florotanin *Sargassum* sp terhadap Histopatologi Hati Tikus Diabetes Melitus.** SKRIPSI. Dosen Pembimbing I : Dr. Ir. Muhamad Firdaus, MP Dosen Pembimbing II : Dr. Ir. Anies Chamidah, MP

---

## RINGKASAN

*Sargassum* sp merupakan salah satu jenis rumput laut coklat sebagai sumber polifenol di bidang perikanan dan kelautan. Polifenol merupakan senyawa bioaktif alami yang memiliki ciri adanya cincin aromatik dan satu gugus hidroksil sehingga dapat bertindak sebagai penangkal radikal bebas dalam tubuh. Polifenol memiliki kemampuan sebagai antioksidan, antivirus, antialergi, antikanker dan antihperglikemik. Diabetes mellitus merupakan salah satu penyakit yang disebabkan gangguan metabolik dan memiliki karakteristik hiperglikemik atau kadar glukosa tinggi diatas kadar normal. Tingginya kadar glukosa dapat menyebabkan penumpukan radikal bebas dalam tubuh dan menjadi manivestasi terjadinya kerusakan sel pada organ. Hati merupakan organ yang rentan terhadap gangguan metabolik, toksis, mikroba, dan radikal bebas. Pencegahan hiperglikemik dan radikal bebas pada penderita diabetes melitus dapat dilakukan pemberian polifenol. Tujuan dari penelitian ini adalah mengetahui kemampuan polifenol pada *Sargassum* sp sebagai antihperglikemik dan mencegah kerusakan sel histopatologi hati

Prosedur pembuatan ekstrak yaitu *Sargassum* sp dikeringkan, ditepungkan, dimaserasi dengan pelarut metanol p.a, disaring, dipekatkan, disemprot gas N<sub>2</sub>, dan dikering bekukan. Kadar florotanin ditentukan dengan menggunakan metode *Folin-Ciocalteu*. Kadar florotanin ekstrak ditentukan dengan spektrofotometer dengan menggunakan floroglusinol sebagai standar.

Pengujian dalam penelitian ini dilakukan pada tikus (*Rattus norvegicus*) dengan berat badan ± 200 g. Tikus diabetes melitus didapat dengan menginduksi *streptozotocin* dosis 40 mg/kg BB dalam larutan penyangga sitrat pH 4,5. Tikus dengan kadar glukosa darah > 200 mg/dL pada hari ketujuh setelah penginduksian digunakan dalam penelitian. Perlakuan dalam uji ini meliputi normal, normal + gliklazid 30 mg/kg BB yang dilarutkan dalam minyak wijen, diabetes melitus, diabetes melitus + gliklazid 30 mg/kg BB yang dilarutkan dalam minyak wijen, diabetes melitus + ekstrak 200 mg/kg BB yang dilarutkan dalam minyak wijen, diabetes melitus + ekstrak 400 mg/kg BB yang dilarutkan dalam minyak wijen, dan diabetes melitus + ekstrak 600 mg/kg BB yang dilarutkan dalam minyak wijen. Pengamatan kadar glukosa darah dilakukan pada hari ke-45. Pada hari ke-46 tikus coba dibedah untuk pengujian histpatologi hati.

Hasil menunjukkan bahwa yield ekstrak *Sargassum* sp sebesar 0,31%. Kadar florotanin ekstrak *Sargassum* sp sebesar 0,00067496 mg/mg sampel. Kadar florotanin yang terserap pada tikus coba perlakuan E (dosis 200 mg/kg BB) yaitu 98,84%, pada perlakuan F (dosis 400 mg/kg BB) sebesar 99,66%, dan pada perlakuan G (dosis 600 mg/kg BB) yaitu 99,75%.

Hasil pengamatan kadar glukosa darah pada akhir masa penelitian menunjukkan bahwa florotanin ekstrak *Sargassum* sp dosis 600 mg/kgBB belum mampu menurunkan kadar glukosa darah dan histopatologi hati tikus coba mencapai kondisi normal.

Kata kunci: diabetes melitus, florotanin, histopatologi, *Sargassum* sp





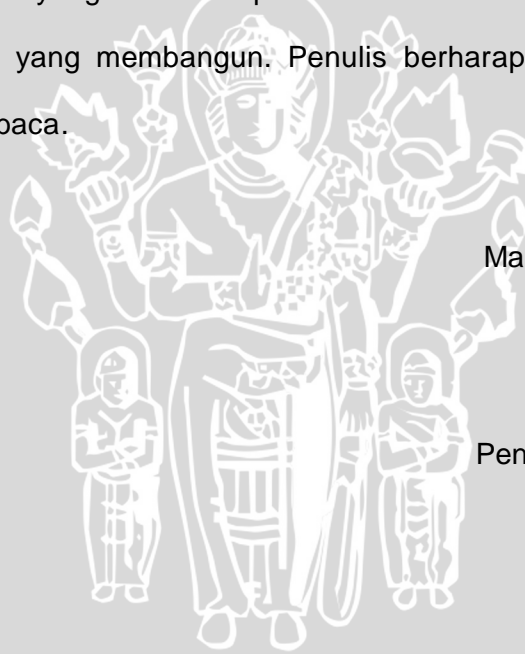
## KATA PENGANTAR

Puji syukur kehadirat Allah SWT, karena atas rahmat-Nya penulis dapat menyelesaikan skripsi dengan judul “Pengaruh Ekstrak Florotanin *Sargassum* sp terhadap Histopatologi Hati Tikus Diabetes Melitus” dengan baik. Di dalam tulisan ini disajikan pokok-pokok bahasan yang meliputi pendahuluan, tinjauan pustaka, metode penelitian, hasil dan pembahasan serta kesimpulan dan saran.

Sangat disadari bahwa dalam tulisan ini masih terdapat kekurangan karena keterbatasan yang dimiliki penulis. Oleh karena itu penulis mengharapkan saran yang membangun. Penulis berharap tulisan ini dapat bermanfaat bagi pembaca.

Malang, Januari 2017

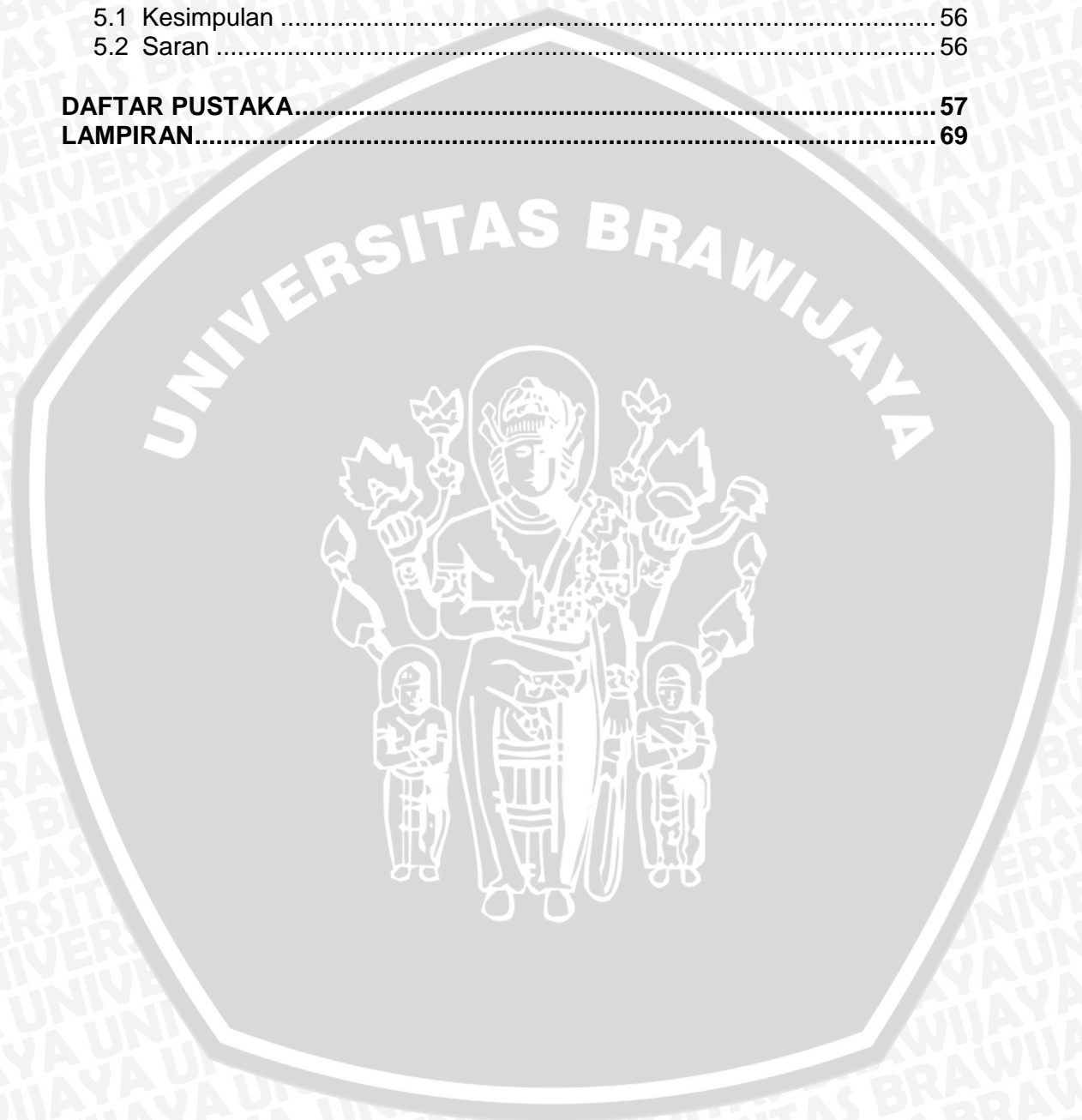
Penulis



DAFTAR ISI

HALAMAN JUDUL.....	i
LEMBAR PENGESAHAN .....	ii
PERNYATAAN ORISINALITAS.....	iii
UCAPAN TERIMAKASIH.....	iv
RINGKASAN.....	vi
KATA PENGANTAR .....	viii
DAFTAR ISI .....	ix
DAFTAR GAMBAR.....	xi
DAFTAR TABEL.....	xii
DAFTAR LAMPIRAN .....	xiv
<b>1. PENDAHULUAN .....</b>	<b>1</b>
1.1 Latar Belakang .....	1
1.2 Rumusan Masalah .....	4
1.3 Tujuan Penelitian.....	4
1.4 Manfaat .....	4
1.5 Hipotesis .....	5
1.6 Tempat dan Waktu .....	5
<b>2. TINJAUAN PUSTAKA.....</b>	<b>6</b>
2.1 <i>Sargassum sp</i> .....	6
2.2 Polifenol .....	9
2.3 Diabetes Melitus.....	11
2.3.1 Klasifikasi .....	12
2.3.2 <i>Streptozotocin</i> (STZ) .....	<b>Error! Bookmark not defined.</b>
2.3.3 Obat Hipoglikemik Oral .....	16
2.3.4 Minyak Wijen.....	17
2.3 Perubahan Jaringan Hati Akibat Hiperglikemik.....	18
<b>3. METODE PENELITIAN.....</b>	<b>23</b>
3.4 Alat dan Bahan.....	23
3.5 Metode Penelitian.....	23
3.6 Rancangan Penelitian .....	24
3.4 Prosedur Penelitian .....	26
3.4.1 Ekstrak Florotanin <i>Sargassum sp</i> .....	26
3.4.2 Pemodelan tikus coba pada berbagai perlakuan .....	27
3.4.3 <i>Treatment</i> pada Berbagai Kelompok Tikus Coba .....	30
3.5 Prosedur Analisis .....	31
3.5.1 Pengujian Kandungan Florotanin Ekstrak <i>Sargassum sp</i> dan Feses Tikus Coba.....	31
3.5.2 Pengujian Histopatologi Hati .....	33
3.5.3 Pengukuran Kadar Glukosa .....	<b>Error! Bookmark not defined.</b>
3.5.4 Metode De Garmo.....	37
<b>4. HASIL DAN PEMBAHASAN .....</b>	<b>39</b>
4.1 Yield.....	39

4.2 Penyerapan Florotanin .....	39
4.3 Glukosa Darah .....	40
4.4 Histopatologi Hati .....	46
4.5 Korelasi Kadar Glukosa Darah dan Histopatologi Hati.....	51
4.6 Analisis DeGarmo .....	54
<b>5. KESIMPULAN DAN SARAN .....</b>	<b>56</b>
5.1 Kesimpulan .....	56
5.2 Saran .....	56
<b>DAFTAR PUSTAKA.....</b>	<b>57</b>
<b>LAMPIRAN.....</b>	<b>69</b>



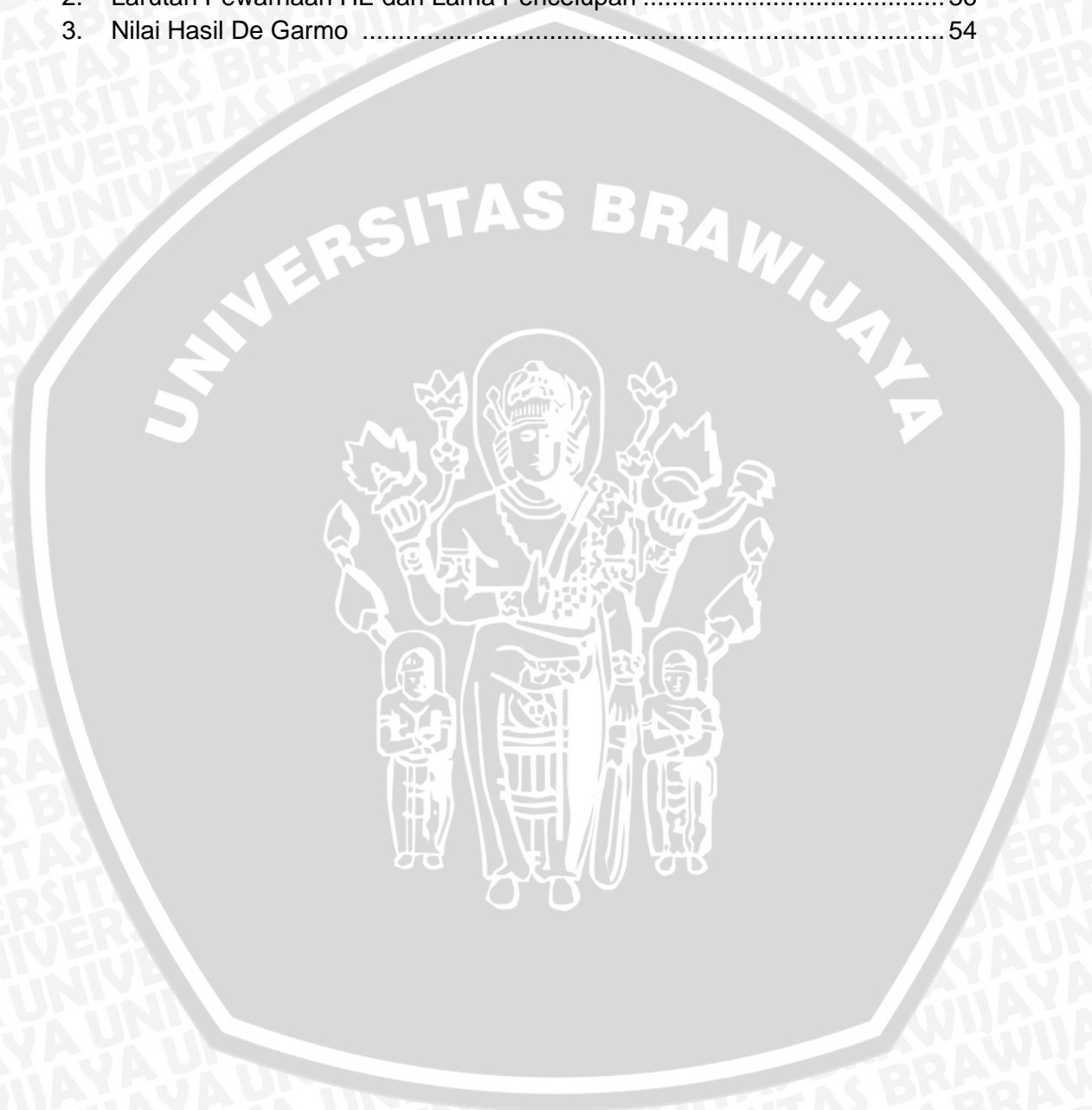
## DAFTAR GAMBAR

Gambar	Halaman
1. Rumput laut <i>Sargassum sp</i> .....	7
2. Struktur floroglusinol dan florotanin.....	10
3. Struktur STZ .....	<b>Error! Bookmark not defined.</b>
4. Mekanisme kerusakan sel akibat DM.....	20
5. Histopatologi hati normal.....	21
6. Histopatologi hati DM.....	21
7. Pembuatan ekstrak rumput laut cokelat ( <i>Sargassum sp</i> ).....	26
8. Pemodelan tikus coba pada berbagai perlakuan.....	29
9. <i>Treatment</i> pada Berbagai Kelompok Tikus Coba.....	31
10. Persentase penyerapan florotanin pada tikus coba.....	40
11. Kadar glukosa darah tikus berbagai perlakuan .....	40
12. Fotomikrograf hati tikus semua perlakuan.....	46
13. Skor histopatologi hati tikus semua perlakuan.....	<b>Error! Bookmark not defined.</b>
14. Grafik hubungan antara kadar glukosa darah tikus dan nekrosis .....	52
15. Grafik hubungan antara kadar glukosa darah tikus dan piknosis.....	52
16. Grafik hubungan antara kadar glukosa darah tikus dan kariolisis.....	53



## DAFTAR TABEL

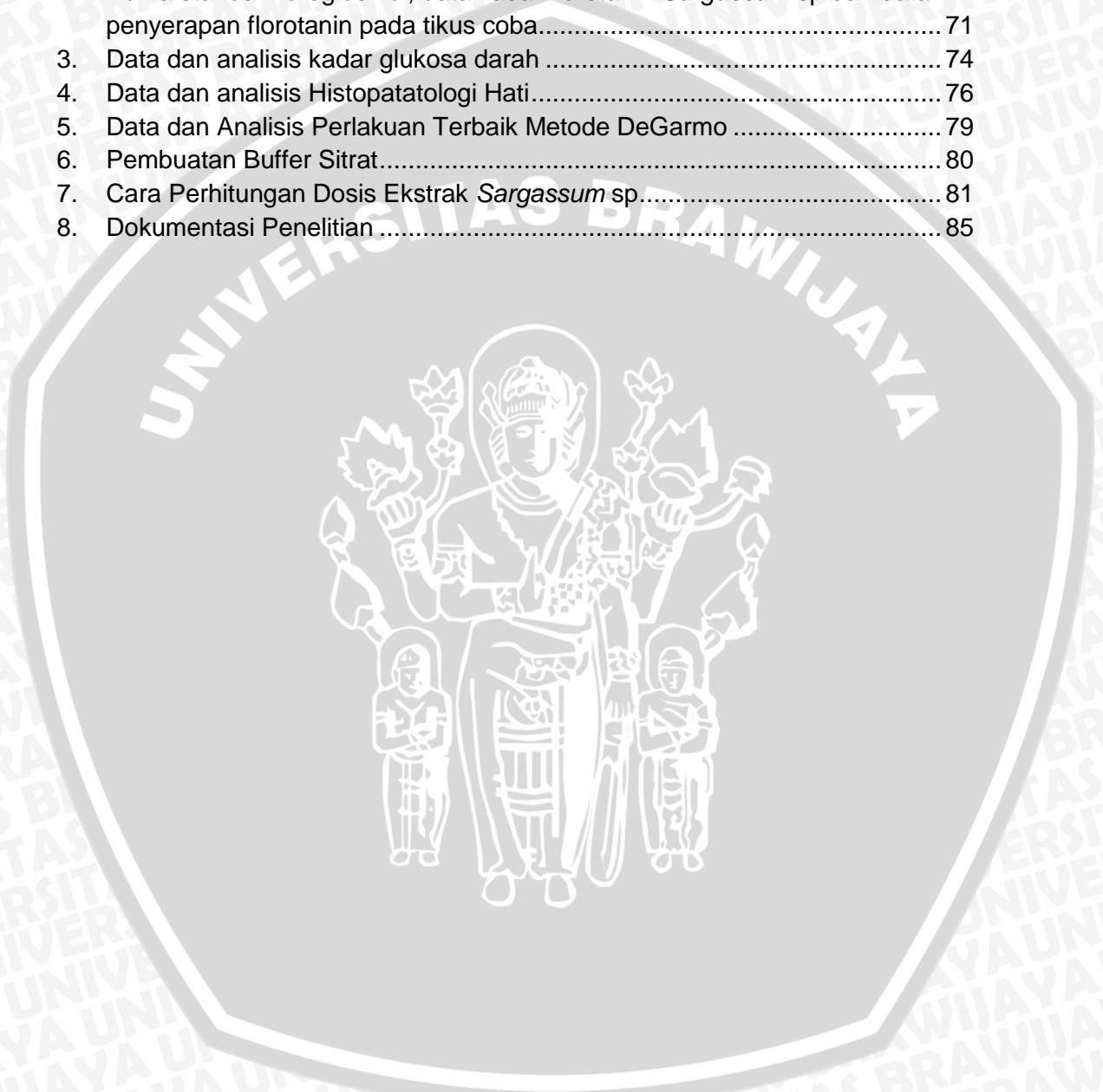
Tabel	Halaman
1. Desain Rancangan Penelitian.....	25
2. Larutan Pewarnaan HE dan Lama Pencelupan .....	36
3. Nilai Hasil De Garmo .....	54





## DAFTAR LAMPIRAN

Lampiran	Halaman
1. Keterangan kelaikan etik penelitian.....	70
2. Kurva standar floroglusinol, data kadar florotanin <i>Sargassum</i> sp dan data penyerapan florotanin pada tikus coba.....	71
3. Data dan analisis kadar glukosa darah .....	74
4. Data dan analisis Histopatologi Hati.....	76
5. Data dan Analisis Perlakuan Terbaik Metode DeGarmo .....	79
6. Pembuatan Buffer Sitrat.....	80
7. Cara Perhitungan Dosis Ekstrak <i>Sargassum</i> sp.....	81
8. Dokumentasi Penelitian .....	85



## 1. PENDAHULUAN

### 1.1 Latar Belakang

*Sargassum* sp merupakan salah satu jenis rumput laut yang termasuk dalam kelompok rumput laut coklat (*Phaeophyta*) (Kadi, 2014). *Sargassum* sp adalah salah satu tanaman sumber polifenol di bidang perikanan dan kelautan (Firdaus, 2011). *Sargassum* sp atau rumput laut coklat memiliki fungsi kesehatan, dapat dimanfaatkan sebagai bahan pangan fungsional, serta dapat memberikan pengaruh positif terhadap kesehatan tubuh (Arie *et al.*, 2013). Keuntungan produk *Sargassum* sp juga berpotensi untuk digunakan sebagai obat kanker, alergi, diabetes, stres oksidatif, inflamasi, obesitas, hipersensitif dan penyakit degeneratif lainnya yaitu karena adanya kandungan senyawa bioaktif polifenol (Mohamed *et al.*, 2012).

Polifenol merupakan senyawa bioaktif yang memiliki ciri-ciri adanya cincin aromatik dengan satu gugus hidroksil, sehingga polifenol memiliki sifat polar dan mampu bertindak sebagai penangkal radikal bebas (Baihakki *et al.*, 2014). Polifenol memiliki kemampuan sebagai antioksidan, antialergi, antivirus, antimikroba, antikanker, apoptosis, dan sebagai penurun hiperglikemik juga penangkal radikal bebas (Ridwan *et al.*, 2012). Komponen fenolik mampu menghambat oksidasi lipid dengan menyumbangkan atom hidrogen kepada radikal bebas (Septiana dan Asnani, 2012). Polifenol sangat stabil sehingga dapat dijadikan pilihan sebagai antioksidan (Thomas dan Kim, 2012). Polifenol yang terkandung dalam *Sargassum* sp salah satunya adalah golongan florotanin. Florotanin pada rumput laut coklat yang merupakan polimer dari floroglusinol (1,3,5-trihydroxybenzene) (Casas *et al.*, 2016). Polimer tersebut ditemukan dalam ganggang coklat dan dibentuk oleh polimerisasi dari floroglusinol (Suleria *et al.*, 2016). Florotanin diketahui memiliki kemampuan sebagai inhibitor  $\alpha$



glukosidase dan menurunkan kadar glukosa darah pada model tikus diabetes (Maeda, 2013). Florotanin juga mempunyai sifat mampu melindungi sel dari kerusakan akibat radikal bebas (Wijesekara *et al.*, 2012).

Diabetes melitus merupakan salah satu penyakit yang disebabkan gangguan metabolik dan memiliki karakteristik hiperglikemik atau kadar glukosa tinggi diatas kadar normal (Jeon *et al.*, 2013). Pada kondisi DM terjadi abnormalitas metabolisme karbohidrat, lemak, dan protein (Soegondo, 2011). Abnormalitas metabolisme dapat menyebabkan manifestasi gangguan antara lain : poliurea (peningkatan pengeluaran urine), polidipsia (peningkatan rasa haus), polifagia (peningkatan rasa lapar), penurunan berat badan, kenaikan kadar glukosa darah, hingga kerusakan sel jaringan organ (Ekawati, 2012).

Penyakit diabetes melitus dapat dibedakan menjadi 2 macam, yaitu DM tipe 1 (DM-1) dan DM tipe 2 (DM-2) (Ridwan *et al.*, 2012). DM Tipe 1 terjadi akibat kondisi tubuh tidak mampu memproduksi insulin karena kerusakan sel  $\beta$  pankreas sehingga diperlukan insulin dari luar tubuh (Anonymous, 2009). DM tipe 2 terjadi akibat kondisi resistensi dalam tubuh dan relatifisiensi insulin dalam tubuh yang dapat diketahui sejak awal ataupun setelah usia 40 tahun (Prasad *et al.*, 2016)

Hiperglikemik dapat menyebabkan terjadinya produksi radikal bebas yang berlebihan atau ROS (*Reactive Oxygen Species*) dan akan memicu terjadinya stress oksidatif, hal ini terjadi karena radikal bebas dalam tubuh lebih banyak daripada antioksidan yang terdapat di dalam tubuh (Apriani *et al.*, 2011). Stres oksidatif terbentuk akibat tubuh tidak mampu lagi mengendalikan kadar glukosa yang berlebih (Soviana *et al.*, 2014). Penumpukan radikal bebas dalam tubuh juga menyebabkan terjadinya kerusakan sel dalam tubuh. Salah satu kerusakan sel akibat manifestasi DM adalah kerusakan sel jaringan hati atau dikenal istilah lain patologi hati (Erwin *et al.*, 2013).

Hati adalah organ yang sangat penting dalam tubuh yaitu sebagai pengatur kadar glukosa dalam darah dan bertanggung jawab atas biotransformasi zat-zat berbahaya menjadi zat-zat tidak berbahaya atau detoksikasi (Adji dan Karyono, 2010). Dari sudut pandang patologi hati merupakan organ yang rentan terhadap gangguan metabolik, toksin, mikroba dan sirkulasi sehingga akan menyebabkan kerusakan sel (Robbins *et al.*, 2002). Sehingga jika adanya zat toksin yang berlebih di dalam tubuh akan menyebabkan kerusakan sel.

Kerusakan sel jaringan hati akibat DM ditandai dengan adanya perlemakan hepatosit dan inflamasi (peradangan) (Kendran *et al.*, 2013). Kerusakan sel yang terjadi mengindikasikan adanya akumulasi radikal bebas dalam tubuh (Herawati, 2014). Kerusakan sel dapat dikelompokkan menjadi hepatosis piknosis (inti menyusut), hepatosis karioreksis (inti pecah dan menyebar), hepatosis kariolisis (inti pecah dan tidak dapat diwarnai), dan hepatosis nekrosis (inti sel menghilang). Histopatologi merupakan analisa yang berperan penting dalam pertimbangan diagnosis terjadinya kerusakan, yaitu melalui pengamatan struktur jaringan atau pada sel (Endah, 2015)

Radikal bebas dalam tubuh penderita DM dapat diredam oleh obat kimia salah satunya adalah obat hipoglikemik, ataupun senyawa bioaktif alami yaitu polifenol (Dewi *et al.*, 2013). Kerja polifenol sebagai antihiperlipidemik yaitu dapat menurunkan penyerapan karbohidrat pada usus, pengaturan enzim yang berperan pada metabolisme glukosa, perbaikan kerja insulin, serta perangsang sekresi insulin. Mekanisme polifenol menurunkan kadar glukosa yaitu dengan menghambat aktivitas enzim  $\alpha$ -amilase dan  $\alpha$ -glucosidase (Bahadoran *et al.*, 2013).

Saat ini pengobatan dengan memanfaatkan bahan-bahan alami atau *back to nature* lebih diminati masyarakat. Oleh karena itu, pada penelitian ini akan dikaji pemanfaatan rumput laut coklat (*Sargassum sp*) sebagai alternatif hipoglikemik dan penangkal radikal bebas. Parameter yang akan diteliti pada penelitian ini antara lain kadar glukosa dan histopatologi hati

### 1.2 Rumusan Masalah

1. Bagaimana pengaruh pemberian ekstrak florotanin *Sargassum sp* terhadap kadar glukosa darah tikus DM?
2. Bagaimana pengaruh pemberian ekstrak florotanin *Sargassum sp* terhadap tikus DM?

### 1.3 Tujuan Penelitian

1. Mengetahui pengaruh ekstrak florotanin *Sargassum sp* terhadap kadar glukosa darah tikus DM.
3. Mengetahui pengaruh ekstrak florotanin *Sargassum sp* terhadap histopatologi hati tikus DM.

### 1.4 Manfaat

1. Mengangkat potensi *Sargassum sp* dalam bidang farmasi.
2. Memberikan informasi pemanfaatan *Sargassum sp* sebagai agen hipoglikemik
3. Memberikan Informasi tentang potensi ekstrak *Sargassum sp* dapat berperan sebagai pencegah komplikasi diabetes melitus secara makrovaskuler maupun mikrovaskuler

### 1.5 Hipotesis

Ekstrak florotanin *Sargassum* sp berpengaruh terhadap kadar glukosa darah dan histopatologi hati tikus DM.

### 1.6 Tempat dan Waktu

Penelitian ini dilakukan di Laboratorium Biosains Universitas Brawijaya, Laboratorium Keamanan Hasil Perikanan dan Laboratorium Perekayasaan Hasil Perikanan Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan Universitas Brawijaya, Laboratorium Patologi dan Anatomi dan Laboratorium FAAL Fakultas Kedokteran Universitas Brawijaya Malang, dan Laboratorium Tropical Disease Center Universitas Airlangga Surabaya pada bulan Januari hingga Juni 2016.



## 2. TINJAUAN PUSTAKA

### 2.1 *Sargassum* sp

Rumput laut atau seaweed merupakan tanaman tingkat rendah yang tidak memiliki perbedaan susuna kerangka dan hanya berbentuk *thallus*. Berdasarkan pigmen yang dikandung rumput laut dibagi menjadi empat kelas, yaitu Cynophyceae, Rhodophyceae, Phaeophyceae, dan Chlorophyceae (Suparmi 2009). Rumput laut menghasilkan senyawa koloid yang disebut fikokoloid yakni agar, alginat dan karaginan (Yudhi, 2012). Komponen bioaktif dari rumput laut mempunyai beberapa manfaat dalam aktivitas biologi diantaranya sebagai antioksidan, antikoagulan, antihipertensi, antibakteri dan antitumor (Senthil *et al.*, 2012).

Rumput laut coklat mempunyai ukuran yang lebih besar dibandingkan rumput laut hijau dan rumput laut merah (Marianingsih *et al.*, 2013). *Phaeophyta* (alga coklat) adalah alga yang memiliki anggota cukup banyak, yaitu sekitar 1.500 spesies (Firmansyah, 2013). Rumput laut coklat memiliki pigmen antofil dan fucoxanthin. Dinding rumput laut coklat terdiri dari selulosa dan asam alinat. Terdapat banyak metabolit bioaktif telah diisolasi dari rumput laut coklat dengan aktivitas farmakologi (Gamal, 2012)

*Sargassum* sp merupakan salah satu jenis rumput laut yang termasuk dalam kelompok rumput laut coklat (*Phaeophyta*) (Kadi, 2014). *Sargassum* tumbuh di daerah perairan jernih yang memiliki substrat dasar batu karang, karang mati, batuan vulkanik, juga tumbuh di daerah yang memiliki ombak besar dan arus deras (Pratama *et al.*, 2015). *Sargassum* sp umumnya berbentuk talus yang umumnya silindris atau gepeng, panjang talus mencapai 7 meter, percabangannya rimbun seperti pohon di darat. Bentuk daunnya melebar, lonjong atau menyerupai pedang. *Sargassum* sp mempunyai gelembung udara yang disebut *bladder* yang umumnya soliter. Gelembung udara ini berguna untuk

menopang cabang-cabang talus terapung ke arah permukaan air untuk mendapatkan intensitas cahaya matahari (Asfar, 2015). Gambar *Sargassum* sp dapat dilihat pada Gambar 1:



**Gambar 1.** *Sargassum* sp

Sistem reproduksi *Sargassum* sp ada dua macam, yaitu seksual (generatif) dan aseksual (vegetatif) (Tjitrosoepomo, 2001). Reproduksi generatif melalui organ jantan (atheridia) dan organ betina (oogenia). Kedua organ tersebut terletak dalam satu lubang yaitu di atas sel stipe yang tertanam pada dasar konseptakel. Reproduksi vegetatif dilakukan melalui fragmentasi yaitu potongan batang berkembang melakukan pertumbuhannya (Firdaus, 2011). Pertumbuhan *Sargassum* sp dapat membentuk padang rumput laut coklat yang cukup luas, terutama pada pantai dengan dasar karang mati (Septiana dan Asnani, 2012). Klasifikasi *Sargassum* sp adalah sebagai berikut:

Kerajaan	: <i>Protista</i>
Divisi	: <i>Phaeophyta</i>
Kelas	: <i>Phaeophyceae</i>
Ordo	: <i>Fucales</i>
Famili	: <i>Sargassaceae</i>
Genus	: <i>Sargassum</i>
Spesies	: <i>Sargassum</i> sp

Pigmen fotosintetik dari rumput laut coklat yaitu klorofil a dan c, beta karoten, fukosantin dan violasantin (Nawaly *et al.*, 2013), persediaan makanan (hasil fotosintesis) berupa laminaran (beta, 1-3 ikatan glukosa), pada bagian dalam dinding selnya terdapat asam alginat dan alginat, mengandung pirenoid dan tilakoid (lembaran fotosintesis) (Putranti, 2013). *Sargassum* sp memiliki kandungan berupa protein, lemak, karbohidrat, alginat, vitamin, mineral, dan iodin (Aulannia'am *et al.*, 2011). *Sargassum* sp juga mengandung fukoidan dan komponen fenolik. Jenis komponen fenolik yang banyak dijumpai pada *Sargassum* sp adalah florotanin. Komponen fenolik dapat menghambat oksidasi lipid dengan menyumbangkan atom hidrogen kepada radikal bebas (Firdaus, 2013).

*Sargassum* sp mengandung fukoidan dan komponen fenolik. Jenis komponen fenolik yang banyak dijumpai pada *Sargassum* sp adalah florotanin. Komponen fenolik dapat menghambat oksidasi lipid dengan menyumbangkan atom hidrogen kepada radikal bebas (Asfar, 2015). Kandungan florotanin dalam rumput laut coklat berkisar antara 0,74% sampai 5,06% Samee *et al.*, (2009). Bioaktif yang terkandung dalam ekstrak metanol *S. echinocarpum* antara lain tanin, polifenol, saponin, glikosida, dan steroid (Firdaus *et al.*, 2012).

Fungsi kesehatan dari rumput laut coklat sebagai pangan fungsional dapat memberikan keuntungan (Apostolidis dan Lee, 2012). Rumput laut ini dapat menambah nilai gizi serta memberikan pengaruh positif terhadap kesehatan tubuh (Arie *et al.*, 2013). Keuntungan produk rumput laut juga berpotensi untuk digunakan sebagai obat kanker, alergi, diabetes, stres oksidatif, inflamasi, obesitas, hipersensitif dan penyakit degeneratif lainnya (Mohamed *et al.*, 2012). Produksi dari bahan laut alami ini kaya akan sumber kimia yang dapat digunakan sebagai agen terapi yang sangat bernilai (Kim *et al.*, 2012).

## 2.2 Polifenol

Polifenol merupakan senyawa fenol yang memiliki gugus hidroksil (-OH) dan senyawa ini merupakan antioksidan pemberi elektron (elektron donor) atau reduktan (Kikukazi dan Nagatami, 1993). Polifenol termasuk dalam bagian dari metabolisme sekunder dari tumbuhan. Polifenol mempunyai molekul dan biasanya mudah larut dalam pelarut polar (Scalbert, 1991). Polifenol sangat stabil dapat dijadikan pilihan sebagai antioksidan (Thomas dan Kim, 2012).

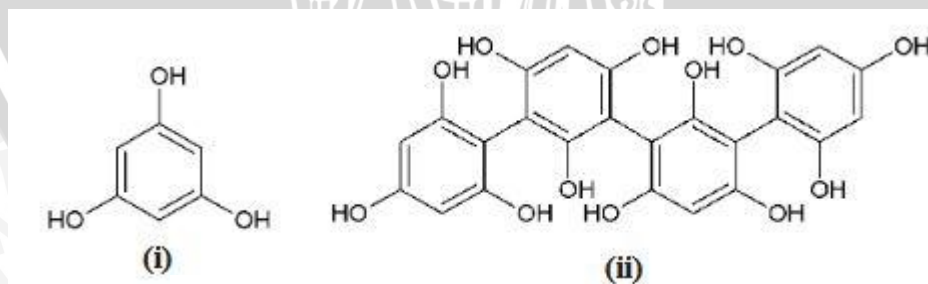
Polifenol memiliki kemampuan sebagai antioksidan, antialergi, antivirus, antimikroba, apoptosis, penurunan hiperglikemik dan penangkal radikal bebas. Kerja polifenol sebagai antihiperglikemik yaitu dapat menurunkan penyerapan karbohidrat pada usus, pengaturan enzim yang berperan pada metabolisme glukosa, perbaikan fungsi sel beta dan kerja insulin serta perangsang sekresi insulin (Bahadoran *et al.*, 2013). Manfaat polifenol (florotanin) sebagai antioksidan alami yaitu menghambat proses oksidasi yang menyebabkan radikal bebas (Wong, 1987). Polifenol rumput laut coklat diketahui memiliki kemampuan penangkal radikal bebas karena adanya gugus hidroksil yang menempel pada cincin aromatis dan berperan dalam kemampuan pereduksi senyawa radikal bebas (Zemestani *et al.*, 2015).

Polifenol mampu mengurangi stres oksidatif dengan cara mencegah terjadinya reaksi berantai pengubahan superoksida menjadi hidrogen superoksida dengan mendonorkan atom hidrogen dari kelompok aromatik hidroksil (-OH) polifenol untuk mengikat radikal bebas (Prameswari dan Simon, 2014). Selain itu polifenol juga memiliki kemampuan untuk mengkelat logam terutama besi dan tembaga, sehingga dapat menghambat pembentukan radikal bebas yang dikatalis oleh logam (Firdaus, 2011).



Pemberian polifenol pada mencit DM mampu meningkatkan toleransi glukosa oral, dan menurunkan kadar glukosa darah mencit walaupun tidak sampai batas normal. Ada indikasi bahwa polifenol dapat menghambat kerusakan sel  $\beta$  pankreas akibat stres oksidatif yang dihasilkan oleh hiperglikemik kronis (Ridwan *et al.*, 2012). Polifenol juga mengurangi respon glikemik pada penderita DM (Coe *et al.*, 2013). Polifenol mempunyai sifat melindungi sel dari kerusakan (Suleria *et al.*, 2016).

Senyawa polifenol merupakan salah satu senyawa bioaktif yang ditemukan pada rumput laut *Sargassum* sp dan mampu bertindak sebagai *scavenger* (penangkap) radikal bebas. Kerja dari senyawa polifenol yaitu dengan menyumbangkan atom hidroksilnya kepada radikal bebas. Polifenol memiliki ciri yaitu memiliki cincin aromatik dengan satu gugus hidroksil atau lebih hidroksil (OH). Adanya gugus hidroksil pada senyawa ini sehingga polifenol cenderung bersifat polar (Baihakki *et al.*, 2014). Pada rumput laut coklat diketahui terdapat senyawa florotanin yang merupakan polimer dari phloglucinol (1,3,5-trihydroxybenzene) (Casas *et al.*, 2016). Jumlah florotanin yang banyak juga diidentifikasi di *Sargassum* sp termasuk floreton, fuhanol, fusifloreto (Liu *et al.*, 2012). Struktur polifenol dapat dilihat pada Gambar 2



**Gambar 2.** Rumus Floroglucinol dan Florotanin (Wijesekara *et al.*, 2012)

Polifenol dapat digunakan pengganti obat hipoglikemik oral, untuk penderita DM (Suleria *et al.*, 2016). Pemberian polifenol dapat menurunkan

tingkat cekaman oksidatif sehingga mampu mencegah terjadinya stres oksidatif yang memicu DM (Prameswari dan Widjanarko, 2014). Mekanisme polifenol mencegah stres oksidatif yaitu dengan meningkatkan massa sel beta pankreas dan menjaga kandungan insulin didalamnya, menurunkan stres oksidatif sehingga mencegah kerusakan sel (Erwin *et al.*, 2013).

Salah satu polifenol yang terkandung dalam *Sargassum* sp adalah florotanin yang dapat menghambat kerja enzim  $\alpha$ -glukosidase dalam luteolin, enzim glukosidase merupakan enzim yang juga digunakan untuk mengetahui potensi suatu tumbuhan sebagai antidiabetes secara *in vitro* dengan cara menghambat dan mampu bertindak sebagai *scavenger* (penangkap) radikal bebas (Sang, 2000). Senyawa florotanin yang terkandung pada rumput laut coklat memiliki kemampuan sebagai penangkal radikal bebas sehingga dapat menurunkan kadar glukosa yang berlebih dalam tubuh (Uktosedja *et al.*, 2013). Pada pengamatan tikus DM yang mengalami kerusakan sel, dan diberikan perlakuan pemberian perbaikan oleh polifenol, menunjukkan terjadi regenerasi sel pada pulau langerhans yang ditandai dengan adanya sel yang berkoloni dan terjadi perbaikan jumlah sel normal. Kemampuan *Sargassum* sp sebagai antihiperlipidemik yaitu dengan menekan pembentukan ROS, sehingga sel rusak mengalami regenerasi (Shofia *et al.*, 2013). Dosis pemberian senyawa bioaktif florotanin yang dapat diberikan kepada tikus DM yaitu sekitar 600 mg/kgBB (Prameswari dan Simon, 2011). Mekanisme polifenol menurunkan kadar glukosa pada penderita DM dengan menghambat aktivitas enzim  $\alpha$ -amilase dan  $\alpha$ -glukosidase (Firdaus, 2015).

### 2.3 Diabetes Melitus

*International Diabetes Federation* (IDF) merilis pada tahun 2013, terdapat kurang lebih sekitar 382 juta orang di dunia yang menderita penyakit diabetes mellitus (DM). Pada tahun 2035 diperkirakan kasus penderita DM akan

meningkat hingga mencapai sekitar 592 juta orang (Anonymous, 2014). Di Indonesia kasus penderita DM tiap tahun mengalami peningkatan (Pasaribu, 2012). Pada tahun 2015 tercatat jumlah penderita terbanyak adalah perempuan sebesar 70,76% dengan rata-rata usia dibawah 45 tahun (Rosdiana *et al.*, 2015).

Diabetes melitus merupakan salah satu jenis gangguan metabolik yang memiliki karakteristik hiperglikemik atau kadar glukosa tinggi diatas kadar glukosa normal (Jeon *et al.*, 2013). Insulin merupakan hormon yang menanggapi berbagai rangsangan seperti *sulphonylureas*, arginin, dan yang utama mengatur glukosa darah dalam tubuh (Ullah *et al.*, 2015). Gangguan produksi insulin ini akhirnya akan menimbulkan gangguan pada sebagian besar organ tubuh, yang diindikasikan dengan peningkatan kadar glukosa darah yang lebih tinggi dari pada kondisi normal atau sering disebut dengan hiperglikemia (Dewi *et al.*, 2013).

Pada kondisi DM terjadi dalam tubuh terjadi abnormalitas metabolisme karbohidrat, lemak, dan protein sehingga metabolisme dalam tubuh tidak berfungsi maksimal (Soegondo *et al.*, 2011). Abnormalitas metabolisme dapat menyebabkan manifestasi gangguan antara lain : poliurea (peningkatan pengeluaran urine), polidipsia (peningkatan rasa haus), polifagia (peningkatan rasa lapar), penurunan berat badan, kenaikan kadar glukosa darah, hingga kerusakan sel organ (Ekawati, 2012). Gangguan DM disebabkan beberapa faktor antara lain faktor genetik, infeksi oleh kuman, faktor nutrisi, zat diabetogenik, dan radikal bebas (Katzung, 2012).

### 2.3.1 Klasifikasi

Penyakit diabetes melitus dapat dibedakan menjadi 2 macam, yaitu DM tipe 1 (DM-1) dan DM tipe 2 (DM-2) (Ridwan *et al.*, 2012). DM Tipe 1 terjadi akibat kondisi tubuh tidak mampu memproduksi insulin, sehingga diperlukan insulin dari luar tubuh (Anonymous, 2009). DM tipe 2 terjadi akibat kondisi resistensi dalam tubuh dan relatifisiensi insulin dalam tubuh yang dapat diketahui

sejak awal ataupun setelah usia 40 tahun (Prasad *et al.*, 2016). DM Tipe lain terjadi akibat efek genetik fungsi sel beta pankreas, penyakit metabolik, infeksi virus, dan kelainan genetik (Anonymous, 2014). DM gestasional adalah DM yang terjadi selama masa kehamilan (Ndraha, 2014).

Diabetes melitus tipe 1 merupakan kelainan sistemik yang diakibatkan oleh metabolisme glukosa yang ditandai oleh hiperglikemia kronik. Hal ini diakibatkan kerusakan sel- $\beta$  pankreas baik oleh proses autoimun sehingga produksi insulin berkurang bahkan berhenti (Masharani *et al.*, 2004). Gejala spesifik DM tipe 1 ialah hiperglikemia dan penurunan berat badan. Selain itu juga ditemukan gejala klinis seperti poliuria, polidipsia, dan polifagia (Erwin *et al.*, 2013). Secara patofisiologi DM Tipe 1 terjadi lambat dan membutuhkan waktu yang bertahun-tahun, biasanya terjadi sejak masa anak-anak atau masa awal remaja (Nugraha *et al.*, 2014)

DM tipe 2 adalah gangguan metabolik yang ditandai oleh kenaikan gula darah akibat penurunan sekresi insulin oleh sel beta pankreas dan atau gangguan fungsi insulin (resistensi insulin). Karena insulin tetap dihasilkan oleh sel-sel beta pankreas, maka diabetes melitus tipe 2 dianggap sebagai *non insulin dependent diabetes mellitus* (Fatimah, 2015). Hampir 90% kasus DM ialah DM tipe 2 dan terjadi pada orang pada usia 30 tahun ke atas, sering juga terjadi pada usia antara 50-60 tahun. Ciri gangguan metabolik pada penyandang DM tipe 2 antara lain kegemukan, resistensi insulin, hiperglikemia puasa, abnormalitas lipid, dan hipertensi (Guyton dan Hall, 2006). Secara patofisiologi, DM tipe 2 disebabkan karena dua hal yaitu (1) penurunan respon jaringan perifer terhadap insulin, peristiwa tersebut dinamakan resistensi insulin, dan (2) Penurunan kemampuan sel  $\beta$  pankreas untuk mensekresi insulin sebagai respon terhadap beban glukosa (Unger dan Foster, 1992).

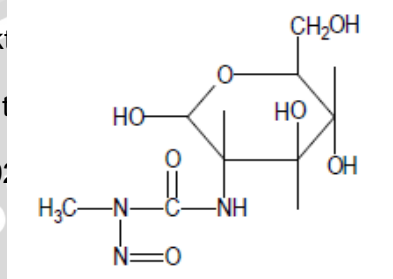
### 2.3.2 Streptozotocin (STZ)

*Streptozotocin* (STZ) merupakan salah satu senyawa kimi diabetogenik kelompok nitrosoureas toksik yang memiliki kemampuan merusak sel  $\beta$  pankreas melalui alkilasi DNA (asam- deoksiribonukleotida) (Apriani *et al.*, 2011). STZ dapat meningkatkan oksigen reaktif yang apabila diinduksi ke dalam tubuh tikus model dapat menyebabkan peningkatan ROS (*Reactive Oxygen Species*). Peningkatan ROS pada sel beta pankreas dapat mengakibatkan kerusakan sel beta pankreas yang menyebabkan penghambatan sintesis insulin serta sekresi insulin sehingga hal ini dapat menyebabkan DM (Karunia *et al.*, 2014). Sifat STZ yang memiliki kemampuan merusak sel  $\beta$  dapat menyebabkan penderita terkena diabetes tipe 1 (Amma, 2009).

Streptozotosin (STZ) atau 2-deoksi-2-[3-(metil-3-nitrosoureido)-*D*-gluko piranose] diperoleh dari *Streptomyces achromogenes* dapat digunakan untuk menginduksi baik DM tipe 1 maupun tipe 2 pada hewan uji (Szkudelski, 2001). STZ juga merupakan senyawa kimia yang berupa toksik yang termasuk dalam kelompok nitrosoureas. Alkilasi tersebut berujung pada kekurangan nikotinamida adenin dinukleotida (NAD<sup>+</sup>, suatu koenzim yang berperan dalam proses oksidasi-reduksi) dan aktivasi enzim poly (ADP-ribose) synthetase sehingga berakibat pada overstimuli ATP (adenosin trifosfat / energi kimia sel). Terjadinya overstimuli ATP tersebut sebagai upaya dalam memperbaiki DNA yang rusak. Mekanisme tersebut berakibat pada matinya sel  $\beta$ , sehingga biosintesis dan sekresi insulin terhambat (Ghozali, 2013).

Dosis yang digunakan untuk menginduksi DM tipe 1 melalui intraperitoneal adalah 40-60 mg/kg sehingga menyebabkan tikus menderita DM tipe 1 dalam 2 – 4 hari (Zubaidah dan Widiyana, 2016). Penyuntikan STZ pada hewan uji tikus dewasa sebanyak 35 – 65mg/kg BB mampu menginduksi tikus model DM tipe 2 (Katsuma *et al.*, 1992). Induksi STZ ini dapat membuat

pankreas membesar dan pada akhirnya dapat menyebabkan degenerasi pada Pulau Langerhans sel  $\beta$  pankreas. Preparasi diabetogenik STZ dilakukan dengan melarutkan STZ kedalam larutan *buffer sitrat* pH 4,5. Penggunaan buffer bertujuan untuk mempertahankan pH (Ganda *et al.*, 1976). STZ mampu memiliki selektivitas terhadap sel beta pankreas dikarenakan afinitasnya terhadap GLUT 2, meskipun lemah. Hal ini dibuktikan bahwa sel  $\beta$  pankreas yang terpapar STZ. (Unger dan Foster, 1993).



in yang menunjukkan bahwa sel  $\beta$  pankreas yang terpapar STZ. (Unger dan Foster, 1993).

Gambar 3.

**Gambar 3.** Struktur kimia *streptozotocin* (Nugroho, 2006)

STZ dapat menembus sel  $\beta$  langerhans melalui proses transporer glukosa GLUT2. Aksi STZ intraseluler menghasikan perubahan DNA sel  $\beta$  pankreas. Alkalisasi DNA oleh STZ melalui gugus nitrosourea mengakibatkan kerusakan pada sel  $\beta$  pankreas. STZ merupakan donor NO (*nitric oxide*) yang mempunyai kontribusi terhadap kerusakan sel tersebut melalui peningkatan aktivitas guanilil siklase dan pembentukan cGMP. NO dihasilkan sewaktu STZ mengalami metabolisme dalam sel (Akpan *et al.*, 1987). STZ juga menyebabkan pelepasan radikal bebas yang memicu stress oksidatif intraseluler. STZ secara selektif cenderung masuk dan terakumulasi dalam sel  $\beta$  pankreas, yang diperantarai oleh ikatan transpoter glukosa 2 (GLUT2) di membran plasma (Elazu *et al.*, 2015). Organ-organ yang mengekspresikan GLUT2 akan mengalami kerusakan akibat induksi STZ. Kerusakan sel  $\beta$  pankreas terjadi dalam waktu 2-4 hari setelah

pemberian STZ, yang ditandai dengan pembengkakan dan pada degenerasi sel  $\beta$  pankreas di dalam tubuh (Zulkaranin, 2013).

### 2.3.3 Obat Hipoglikemik Oral (OHO)

Pengobatan pada penderita DM dapat dilakukan dengan mencegah terjadinya hiperglikemia yang berlebih, memelihara agar tidak terjadi kelebihan berat badan berupa pengaturan pola makan, menjaga agar kolesterol dalam darah penderita tetap pada batas normal, dan mencegah kerusakan pembuluh darah (Santoso, 2003). Penggunaan OHO merupakan salah satu cara penanganan pengobatan yang diberikan kepada para penderita DM. Berdasarkan cara kerjanya, OHO dibagi menjadi 4 golongan yaitu; sulfonilurea, glinid, penambahan sensitivitas terhadap insulin, penghambatan glukoneogenesis, penghambatan glukoneogenesis alfa (Rachmawati, 2009).

Cara kerja OHO golongan sulfonilurea yakni menstimulasi pelepasan insulin yang tersimpan, menurunkan ambang insulin, serta meningkatkan sekresi insulin sebagai akibat rangsangan glukosa. Untuk menghindari resiko hipoglikemia berkepanjangan seperti gangguan faal ginjal dan hati, kurang nutrisi, serta penyakit kardiovaskular, tidak dianjurkan penggunaan sulfonilurea jangka panjang (Wulandari, 2012). Sulfonilurea terikat dengan permukaan reseptor pada membran sel  $\beta$  dan menghambat "ATP-Sensitive Potassium Channel" sehingga mencegah keluarnya kalium dan terjadilah depolarisasi membran sel yang merangsang insulin (Henrichs, 1988).

Sulfonilurea terbagi menjadi 2 golongan atau generasi senyawa. Golongan pertama diantaranya tolbutamida, asetoheksamida, tolazamida, dan klorpropamida. Golongan kedua mencakup, glibenklamida (gliburida), glipizida, gliklazid dan glimepirida. Obat-obat generasi kedua lebih kuat dibandingkan senyawa sebelumnya (Zulkarnain, 2013). OHO dari kelas sulfoniluria dengan

kandungan glikazid mempunyai efek hipoglikemik sedang sehingga tidak begitu sering menyebabkan hipoglikemik. Obat ini juga mempunyai fungsi sebagai anti agregasi trombosit. Glikazid dapat diberikan pada penderita dengan gangguan fungsi hati dan ginjal yang ringan (Anonymous, 2005). Mekanisme kerja gliklazid yakni dengan merangsang sel-sel  $\beta$  pankreas untuk melepaskan insulin, bermanfaat juga untuk mencegah penumpukan lemak di arteri. Turunan sulfonilurea ini juga meningkatkan pemanfaatan glukosa perifer, menurunkan glukoneogenesis hepatic, dan dapat meningkatkan jumlah dan sensitivitas reseptor insulin (Sarkar *et al.*, 2011).

#### 2.3.4 Minyak Wijen

Wijen merupakan tanaman minyak nabati, bijinya dapat digunakan untuk aneka industri dan minyak makan. Wijen (*Sesamum indicum*) salah satu komoditas sumber minyak nabati. Minyak wijen mengandung banyak asam lemak tak jenuh, terutama asam oleat dan asam linoleat. Selain itu, minyak wijen juga mengandung banyak vitamin E dan komponen fungsional lainnya yang berguna bagi kesehatan (Handayani *et al.*, 2004). Minyak wijen memiliki beberapa kelebihan yakni bersifat stabil dan terdapat beberapa antioksidan alami yang berupa *sesamin*, *episesamin* dan lignan lainnya (Fatmawati *et al.*, 2012). Akan tetapi minyak wijen dalam bentuk *roasted* lebih bersifat stabil dibandingkan bentuk lainnya. Hal ini disebabkan adanya proses *roasting sesamol* dirubah menjadi *sesamol*, sehingga memiliki kandungan lignan yang lebih banyak (Nakai *et al.*, 2003).

Biji wijen mengandung *phytic acid* dan tanin (Mukhopadhyay, 2001). Tanin sebagai astringen berperan dalam melindungi jaringan dari kerusakan (Wahyudi, 2005). Minyak biji wijen kaya akan asam lemak tak jenuh, khususnya asam oleat dan asam linoleat, 8-10% asam lemak jenuh, dan sama



sekali tidak mengandung asam linolenat. Minyak biji wijen juga kaya akan vitamin E (Schuster, 1992).

Penggunaan minyak wijen biasanya digunakan pada penelitian hewan coba bertujuan untuk meningkatkan kelarutan zat aktif dan untuk membuat pelepasan gliklazid maupun ekstrak di tubuh berjalan perlahan. Minyak yang digunakan harus berbentuk cair. Minyak wijen dipilih karena minyak wijen merupakan minyak yang paling stabil dibandingkan minyak tumbuhan lain (Diamita, 2009).

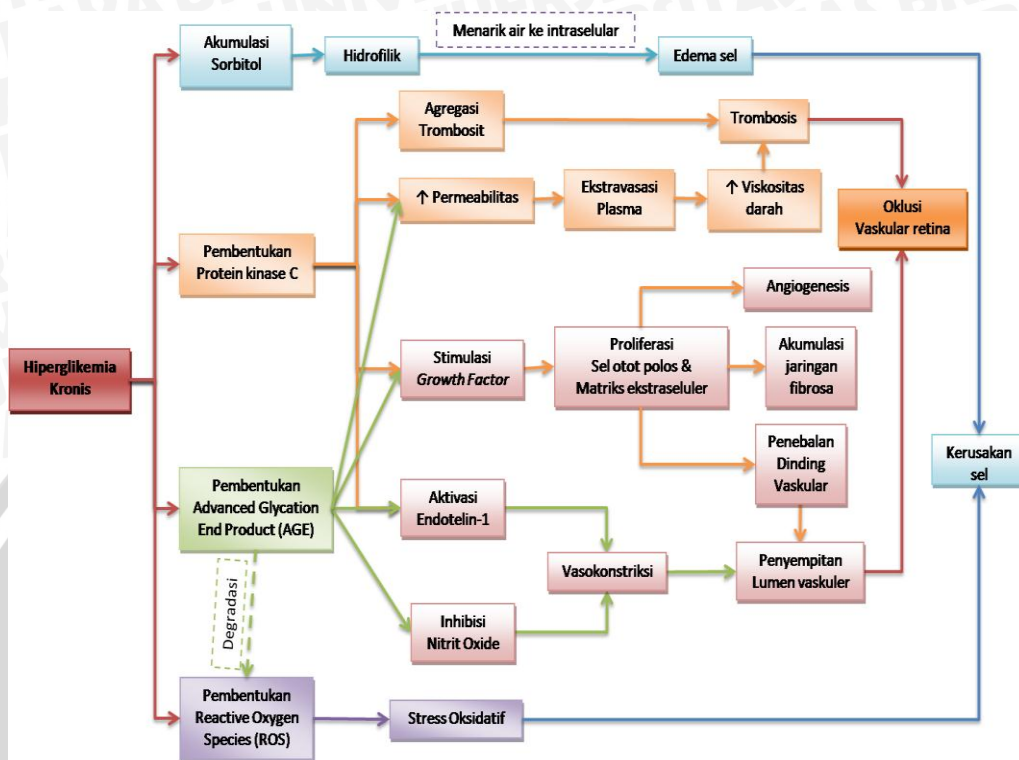
Minyak wijen selain memiliki fungsi sebagai pelarut zat aktif, minyak wijen juga dapat menurunkan trigliserida karena memiliki kandungan asam lemak tak jenuh yang berupa linoleat. Selain itu minyak wijen sebagai pelarut yang sifatnya stabil juga memiliki kandungan antioksidan alami yang berupa seamin, episeamin, dan lignin lainnya (Winarno, 1994). Kandungan senyawa alami minyak wijen dapat membantu menurunkan stress oksidatif dan mencegah kerusakan sel (Setyawati, 2012).

#### **2.4 Perubahan Jaringan Hati Akibat Hiperglikemik**

Hati merupakan kelenjar terbesar didalam tubuh, berat hati mencapai 1,5 kg atau lebih, konsistensinya lunak dan terletak dibawah diafragma dalam rongga abdomen atas (Lesson *et al.*, 1990). Struktur hati terbungkus oleh sebuah kapsul fibroelastik yang disebut kapsul Glisson dan secara makroskopik dipisahkan menjadi lobus kiri dan lobus kanan. Lobulus terdiri dari sel-sel hati (hepatosit ) yang dianggap sebagai fungsional hati. Sel-sel hati ini dapat melakukan pembelahan sel dan mudah diproduksi kembali saat dibutuhkan untuk mengganti jaringan yang rusak (Corwin, 2009). Fungsi utama hati dalam tubuh adalah sebagai pengatur kadar glukosa dalam darah dan bertanggung jawab atas biotransformasi zat-zat berbahaya menjadi zat-zat tidak berbahaya atau detoksikasi (Adji dan Karyono, 2010).

Dari sudut pandang patologi hati merupakan organ yang rentan terhadap gangguan metabolik, toksin, mikroba dan sirkulasi. Degenerasi atau kerusakan akibat gangguan toksin dapat menyebabkan hepatosit membengkak. Adanya zat yang menumpuk di hepatosit salah satunya adalah lemak dapat menyebabkan terjadinya steatosis (Robbins *et al.*, 2002). Apabila bahan-bahan yang mengandung toksin dan racun, hati akan bekerja sangat keras untuk menetralkannya. Cara kerja ini menyebabkan hati mudah terkena racun, sehingga hati mudah rusak. Kerusakan hati dapat meliputi kerusakan struktur jaringan maupun gangguan fungsi hati (Susanto, 2006). Pada tikus pemberian diabetogenik 40,50,60 mg/Kg BB selama 5 hari terbukti menyebabkan kerusakan jaringan sel berupa piknosis, kariolisis, hingga nekrosis (Zubaidah dan Widiyana, 2016).

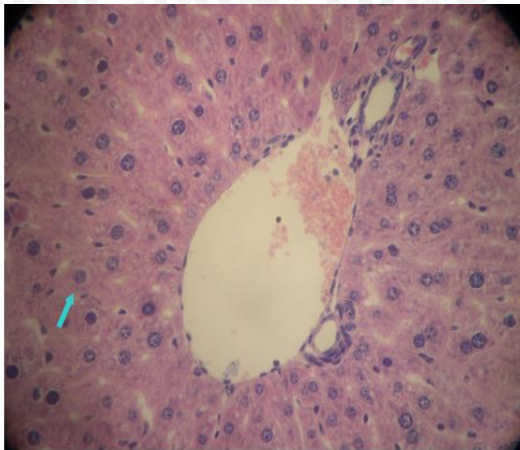
Penyebab kerusakan pada hati dapat terjadi akibat beberapa hal diantaranya faktor genetik, infeksi oleh kuman, factor nutrisi, zat diabetogenik dan radikal bebas (stress oksidatif) (Aulia, 2013). Induksi zat diabetogenik (streptozotocin) sel dengan alkilasi menyebabkan nikotinamida adenin dinukleotida (NAD<sup>+</sup>, suatu koenzim yang berperan dalam proses oksidasi-reduksi) dan aktivasi enzim poly (ADP-ribose) synthetase berkurang, sehingga berdampak pada overstimuli ATP (adenosin trifosfat / energi kimia sel). Terjadinya overstimuli ATP tersebut sebagai upaya dalam memperbaiki DNA yang rusak. Penyebab kerusakan sel juga disebabkan adanya penumpukan toksin dalam tubuh. Mekanisme kerusakan sel akibat hiperglikemik dapat dilihat pada gambar :



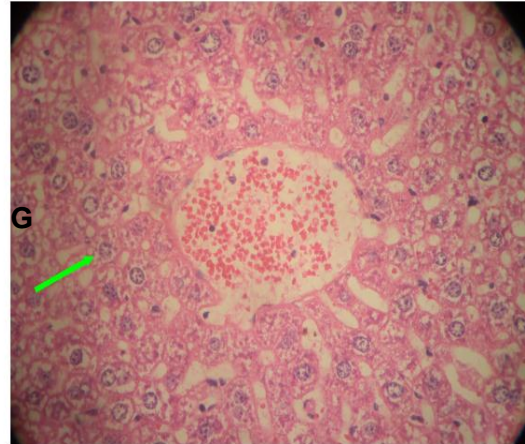
**Gambar 4.** Skema Kerusakan Sel yang Diakibatkan oleh DM (Labonte, 2013)

Gambar 4 menjelaskan kondisi hiperglikemik dapat menyebabkan gula pereduksi akan meningkat melalui proses glikolisis sehingga terjadi penumpukan produksi radikal bebas yang berlebih atau ROS (*Reactive Oxygen Species*) dalam tubuh. (Rosdiana *et al.*, 2015). ROS akan memicu terjadinya kerusakan sel akibat penumpukan gula darah (Apriani, 2011). Mekanisme kerusakan sel akibat adanya ketidakseimbangan antara produksi radikal bebas yaitu senyawa oksigen reaktif dengan kemampuan antioksidan akan menimbulkan stres oksidatif (Kendran *et al.*, 2013). Selain itu adanya peningkatan sorbitol pada kondisi hiperglikemik akan memperlambat jalannya sorbitol sehingga menumpuk dalam sel dan menyebabkan peningkatan tekanan osmotik dan terjadilah kerusakan sel (Suhartono, 2005). Salah satu kerusakan sel akibat manifestasi DM adalah

kerusakan sel hati (patologi hati) (Lailatul, 2015). Gambar perbedaan jaringan hati tikus normal dengan jaringan hati tikus diabetes dapat dilihat pada Gambar 5 dan Gambar 6



**Gambar 5.** Histologi hati tikus normal (400x) (Endah,2015)



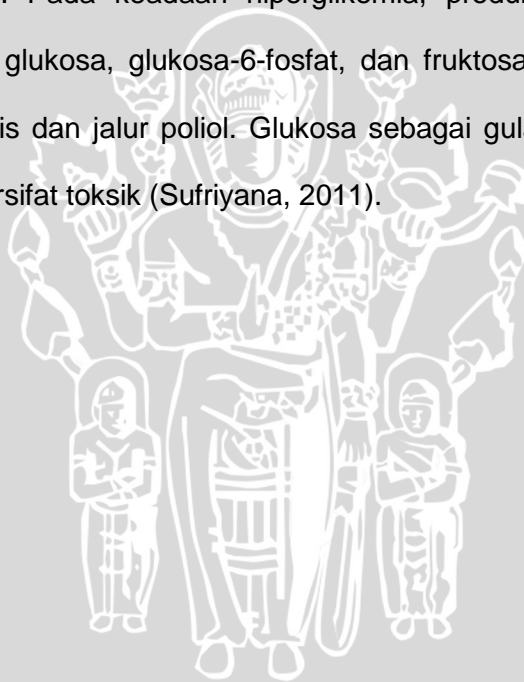
**Gambar 6.** Histologi hati tikus DM (400x) (Endah,2015)

Gambar 5 adalah gambar histologi tikus kondisi normal yang tidak terjadi nekrosis dan terlihat inti sel sangat padat serta tidak terdapat sel-sel yang mengalami perlemakan (Prameswari dan Widjarnarko 2014). Gambar 6 adalah gambar histopatologi hati tikus diabetes melitus ditemukan adanya degenerasi lemak pada hampir seluruh bagian terutama pada bagian dekat vena sentralis, adanya sel yang nekrosis dan sinusoid terlihat tidak beraturan. Inti sel hati terlihat berada di tepi karena terdesak oleh adanya lemak yang memenuhi bagian sitoplasma (Herawati, 2009). Hal serupa juga dinyatakan Lailatul (2015) histopatologi hati tikus DM menunjukkan adanya kerusakan jaringan hati antara lain perlemakan, fibrosis, hingga nekrosis.

Kerusakan sel dapat dikelompokkan menjadi hepatosis piknosis (inti menyusut), hepatosit kariolisis (inti pecah dan menyebar), hepatosit kariolisis dan hepatosit nekrosis (inti sel menghilang) (Endah, 2015). Berbagai macam

kerusakan sel pada pankreas menyebabkan terjadi kematian sel yang disebut dengan nekrosis ( Shofia *et al.*, 2013). Kerusakan lain pada sel berupa piknosis yaitu inti sel mengerut lebih kecil dari sel normal (Rizal *et al.*, 2014). Kariolisis termasuk kerusakan sel yang ditandai menyebarnya inti sel (Alamudi *et al.*, 2013).

ROS yang tinggi akan menghasilkan keadaan stres oksidatif. Stres oksidatif akan mengakibatkan kerusakan mitokondria. Keadaan ini dapat memperparah kondisi pasien DM dengan berkurang atau tidak adanya suplai insulin yang cukup untuk memetabolisme glukosa yang masuk ke dalam tubuh (Annisa *et al.*, 2014). Pada keadaan hiperglikemia, produksi berbagai gula pereduksi antara lain glukosa, glukosa-6-fosfat, dan fruktosa, akan meningkat melalui proses glikolisis dan jalur poliol. Glukosa sebagai gula pereduksi dapat menjadi agen yang bersifat toksik (Sufriyana, 2011).



### 3. METODE PENELITIAN

#### 3.1 Alat dan Bahan

Peralatan yang digunakan dalam penelitian ini adalah *glass ware*, bola hisap, pipet serologis, sendok bahan, spatula, rak tabung reaksi, mortar alu, sonde lambung, *dish mill*, *rotary evaporator*, *freeze dryer*, timbangan digital, spektrofotometer, glukometer, *rotary microtome*, dan mikroskop cahaya.

Bahan yang digunakan dalam penelitian ini adalah rumput laut cokelat (*Sargassum* sp), metanol p.a, kertas saring, gas N<sub>2</sub>, etanol 85%, floroglusinol, reagen *Folin-Ciocalteu*, akuades, Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub> 20%, Obat Hipoglikemik Oral (OHO) Gliklazid, minyak wijen, streptozotocin, pakan BR1, selenium, air, sekam, alkohol, obat luka iodine, *buffer sitrat* pH 4,5, NaFis 0,9%, formalin 10%, alkohol, xilol, paraffin, dan Mayer's hematoxylin.

#### 3.2 Metode Penelitian

Metode yang digunakan dalam penelitian ini adalah metode eksperimen. Metode eksperimen merupakan bagian dari metode kuantitatif dan memiliki ciri khas tersendiri terutama dengan adanya kelompok kontrol. Dalam bidang sains, penelitian-penelitian dapat menggunakan desain eksperimen karena variabel-variabel dapat dipilih dan variabel-variabel lain yang dapat mempengaruhi proses eksperimen itu dapat dikontrol secara ketat (Fataruba, 2010).

Eksperimen adalah suatu cara untuk mencari hubungan sebab akibat (hubungan kausal) antara dua faktor yang sengaja ditimbulkan oleh peneliti dengan mengeliminasi faktor-faktor lain yang mengganggu (Arikunto, 2002).

Percobaan eksperimen bertujuan untuk menyelidiki ada tidaknya hubungan sebab akibat serta berapa besar hubungan tersebut dengan cara memberikan perlakuan tertentu pada beberapa kelompok eksperimen dan menyelidiki kontrol untuk pembandingan (Natzir, 1988).

### 3.3 Rancangan Penelitian

Ada dua macam variabel dalam penelitian, yaitu variabel bebas dan variabel terikat. Variabel bebas adalah variabel yang diselidiki pengaruhnya, sedangkan variabel terikat adalah variabel yang diperkirakan akan timbul sebagai pengaruh dari variabel bebas (Surakhmad, 1994).

Variabel bebas dalam penelitian ini adalah dosis ekstrak rumput laut coklat *Sargassum* sp, sedangkan sebagai variabel terikat penelitian ini adalah kadar glukosa darah pada hari ke-45 dan histopatologi hati tikus. Hasil ekstraksi *Sargassum* sp diuji kandungan florotaninnya.

Rancangan penelitian yang digunakan untuk parameter kadar glukosa darah digunakan rancangan penelitian RAL (Rancangan Acak Lengkap) karena hanya memiliki 1 faktor yaitu perlakuan yang berbeda pada tikus uji. Dalam penelitian ini digunakan lima kelompok ulangan ( $n=5$ ) untuk tiap perlakuan.

Perlakuan yang digunakan dalam penelitian ini adalah sebagai berikut :

- A = Tikus normal (kontrol negatif) + 0,3 mL minyak wijen
- B = Tikus normal (kontrol negatif) + gliklazid 30 mg/kgBB yang dilarutkan dalam minyak wijen
- C = Tikus diabetes (kontrol positif) + 0,3 mL minyak wijen
- D = Tikus diabetes (kontrol positif) + gliklazid 30 mg/kgBB yang dilarutkan dalam minyak wijen
- E = Tikus diabetes + ekstrak 200 mg/kgBB yang dilarutkan dalam minyak wijen
- F = Tikus diabetes + ekstrak 400 mg/kgBB yang dilarutkan dalam minyak wijen
- G = Tikus diabetes + ekstrak 600 mg/kgBB yang dilarutkan dalam minyak wijen

Metode analisis yang digunakan adalah sidik ragam yang mengikuti model sebagai berikut :

$$Y_{ij} = \mu + \tau_i + \epsilon_{ij}$$

Dimana:

$Y_{ij}$  = Perlakuan ke-i ulangan ke-j

$\mu$  = Rataan umum

$t_i$  = Pengaruh perlakuan ke-i

$e_{ij}$  = Galat percobaan perlakuan ke-i ulangan ke-j

Apabila hasil analisis keragaman (sidik ragam) menunjukkan adanya pengaruh yang nyata/sangat nyata maka dilanjutkan dengan analisa BNJ 5% menggunakan program SPSS 16.00.

**Tabel 1.** Desain Rancangan Penelitian RAL

PERLAKUAN (J)	ULANGAN					JUMLAH (TA)	RERATA (yA)
	1	2	3	4	5		
A	Ai1	Ai2	Ai3	Ai4	Ai5	TA1	yA1
B	Bi1	Bi2	Bi3	Bi4	Bi5	TA2	yA2
C	Ci1	Ci2	Ci3	Ci4	Ci5	TA3	yA3
D	Di1	Di2	Di3	Di4	Di5	TA4	yA4
E	Ei1	Ei2	Ei3	Ei4	Ei5	TA5	yA5
F	Fi1	Fi2	Fi3	Fi4	Fi5	TA6	yA6
G	Gi1	Gi2	Gi3	Gi4	Gi5	TA7	yA7
Jumlah (TU)	Ti1	Ti2	Ti3	Ti4	Ti5	Tij	yij

Keterangan :

A = Tikus normal (kontrol negatif) + 0,3 mL minyak wijen

B = Tikus normal (kontrol negatif) + gliklazid 30 mg/kgBB yang dilarutkan dalam minyak wijen

C = Tikus diabetes (kontrol positif) + 0,3 mL minyak wijen

D = Tikus diabetes (kontrol positif) + gliklazid 30 mg/kgBB yang dilarutkan dalam minyak wijen

E = Tikus diabetes + ekstrak 200 mg/kgBB yang dilarutkan dalam minyak wijen

F = Tikus diabetes + ekstrak 400 mg/kgBB yang dilarutkan dalam minyak wijen

G = Tikus diabetes + ekstrak 600 mg/kgBB yang dilarutkan dalam minyak wijen

Rancangan penelitian yang digunakan pada uji histopatologi hati yaitu analisis non parametrik Kruskal Wallis. Penggunaan rancangan tersebut dikarenakan data histopatologi hati dalam bentuk ordinal. Pengaruh dalam perlakuan signifikan ketika  $P < 0,05$

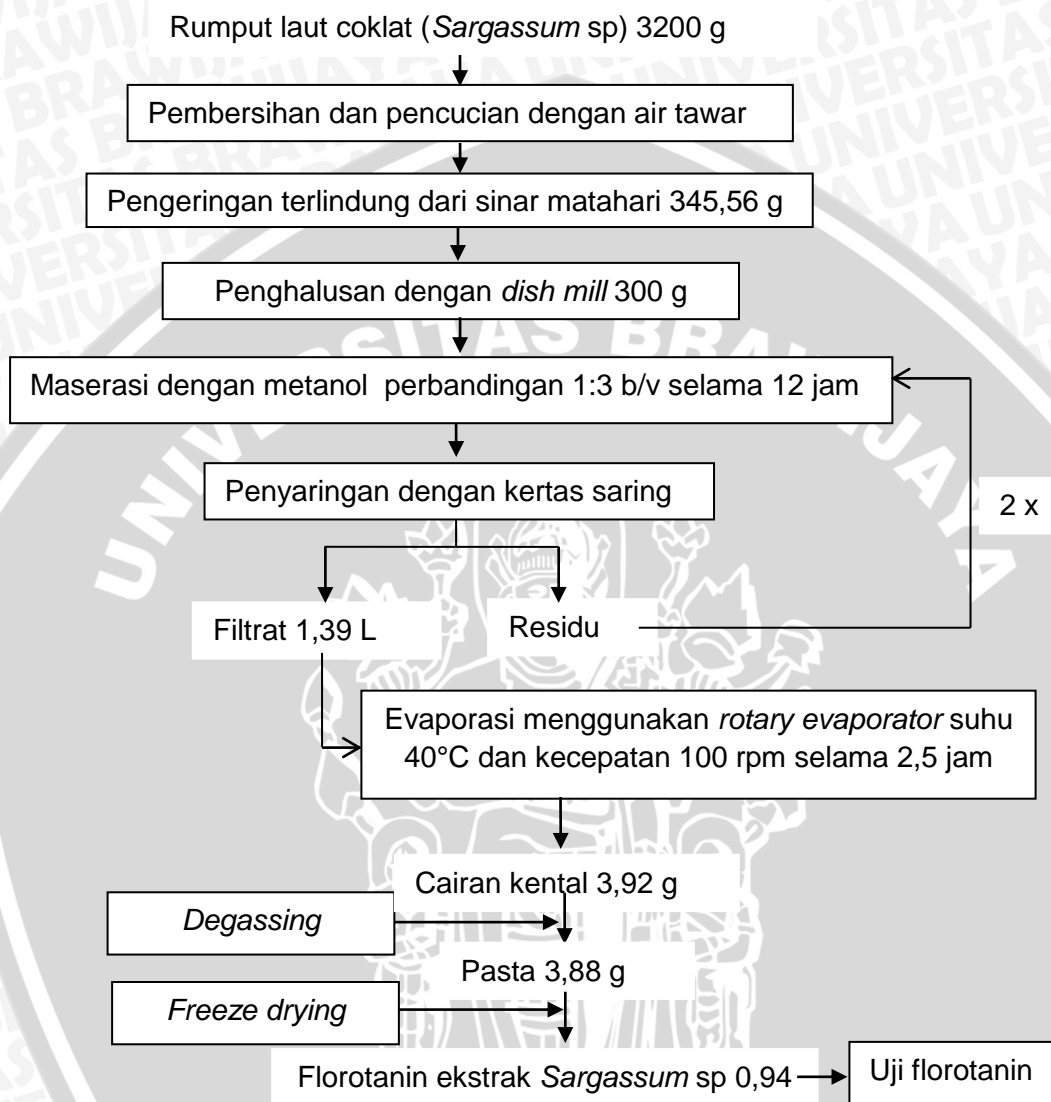


### 3.4 Prosedur Penelitian

#### 3.4.1 Ekstrak Florotanin *Sargassum* sp

Florotanin ekstrak *Sargassum* sp yang diawali dengan pengambilan sampel *Sargassum* sp di perairan pulau Talango, Madura. *Sargassum* sp yang diambil dari perairan segera dibersihkan dari kotoran-kotoran yang menempel dengan menggunakan air tawar yang mengalir untuk menghilangkan garam-garam yang masih menempel pada *Sargassum* sp. Sampel yang digunakan berupa rumput laut utuh dan tidak dipisahkan antar bagiannya. Rumput laut yang telah dicuci dikeringkan, pengeringan yang dilakukan tidak terkena sinar matahari secara langsung selanjutnya dihaluskan dengan menggunakan *dish mill*.

Metode ekstraksi bahan aktif yang digunakan dalam penelitian ini berdasarkan modifikasi metode Firdaus *et al.*, (2010) yaitu simplisia *Sargassum* sp dimaserasi menggunakan metanol dengan perbandingan 1:3 (b/v). Maserasi dilakukan selama 12 jam untuk pemisahan senyawa bioaktif yang terdapat dalam rumput laut coklat, kemudian dilakukan penyaringan untuk memisahkan antara filtrat dan residu. Residu yang didapatkan di remaserasi kembali dengan metanol dengan perbandingan 1:3 (b/v). Filtrat yang didapatkan dipekatkan dengan menggunakan *rotary evaporator* suhu 40<sup>0</sup> C kecepatan 100 rpm selama 2,5 jam. Sisa metanol yang masih terdapat dalam ekstrak diuapkan dengan *degassing*, hingga menjadi lebih pekat serta bau dan kandungan metanol berkurang. Tahapan terakhir dilakukan pengeringan menggunakan *freeze dryer* hingga menjadi lebih kering dan memastikan metanol yang digunakan telah hilang. Ekstrak *Sargassum* sp diuji florotanin untuk mengetahui banyaknya florotanin. Ekstrak florotanin *Sargassum* sp dapat dilihat pada Gambar 7



**Gambar 7 .** Prosedur ekstrak florotanin *Sargassum sp* (Firdaus *et al.*, 2010)

### 3.4.2 Prosedur Penelitian dan Pengujian

Pemodelan tikus coba yakni tikus wistar jantan berat badan  $200 \pm 5$  g sebanyak 35 ekor diawali dengan menempatkan tikus coba dalam *individual cage* dengan masa aklimatisasi 7 hari. Aklimatisasi bertujuan untuk mengkondisikan semua tikus coba sebelum diberikan perlakuan (Miftahul, 2015).

Tikus coba setiap hari diberi pakan sebanyak 10% dari berat badan dan diberi minum secara *ad libitum*. Tikus coba dibagi kedalam 7 kelompok perlakuan (A, B, C, D, E, F, dan G), pada tiap perlakuannya digunakan 5 ekor tikus coba.

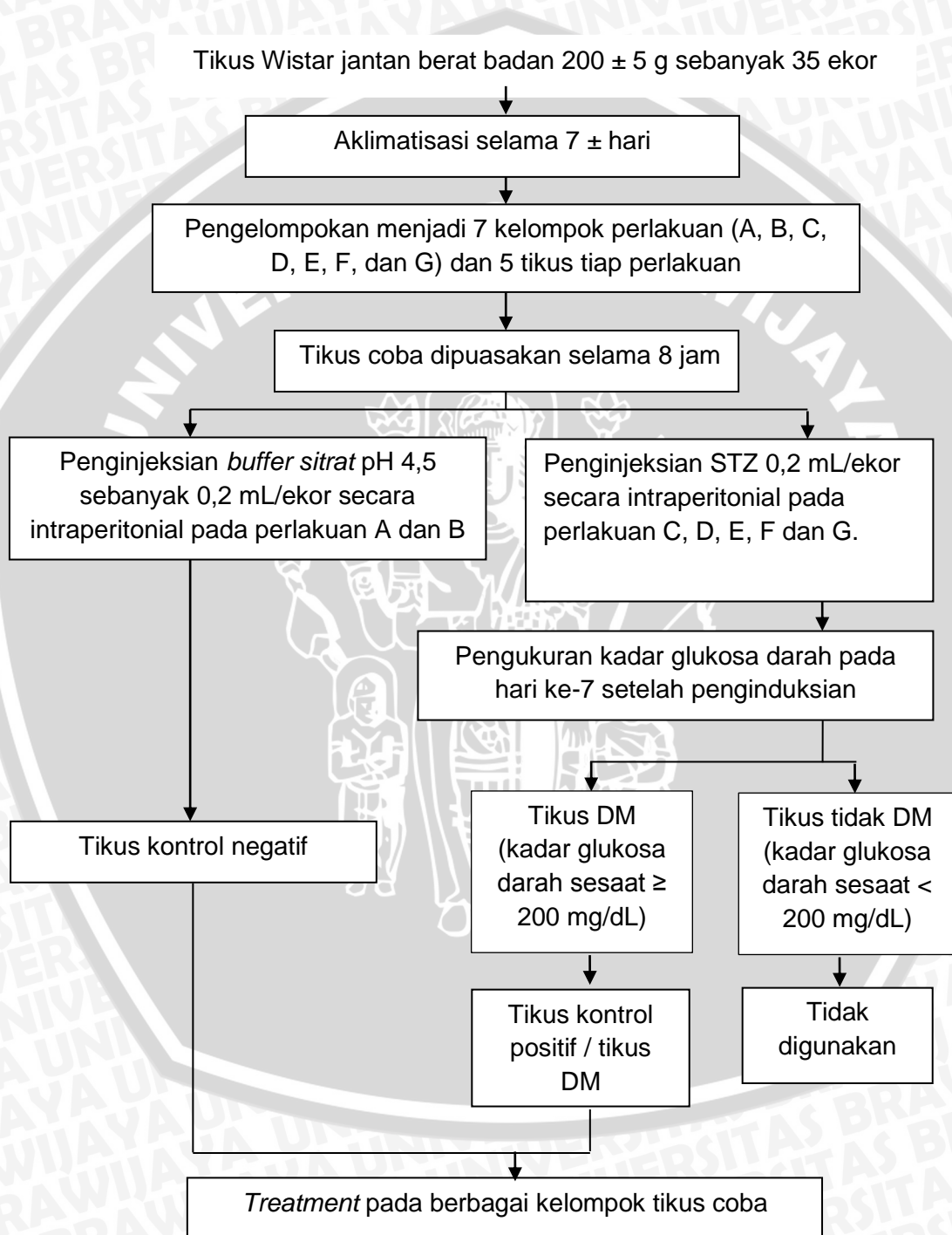
Kelompok perlakuan ini meliputi:

- A = kontrol negatif + 0,3 mL minyak wijen
- B = kontrol negatif + gliklazid 30 mg/kg BB yang dilarutkan dalam minyak wijen
- C = kontrol positif + 0,3 mL minyak wijen
- D = kontrol positif + gliklazid 30 mg/kg BB yang dilarutkan dalam minyak wijen
- E = kontrol positif + ekstrak 200 mg/kg BB yang dilarutkan dalam minyak wijen
- F = kontrol positif + ekstrak 400 mg/kg BB yang dilarutkan dalam minyak wijen
- G = kontrol positif + ekstrak 600 mg/kg BB yang dilarutkan dalam minyak wijen

Preparasi pengiduksian dilakukan dengan memuasakan selama 8 jam.

Tikus coba dipuasakan selama 8 jam bertujuan agar STZ dapat bereaksi maksimal dalam tubuh. Tikus coba diinjeksi menggunakan *buffer sitrat* pH 4,5 sebanyak 0,2 mL/ekor pada perlakuan A,B dan STZ 40 mg/kgBB pada perlakuan C, D, E, F dan G di daerah intraperitoneal atau dibawah rongga perut. Pembuatan STZ dilakukan dengan melarutkan STZ kedalam larutan *buffer sitrat* pH 4,5 mengacu pada penelitian Erwin *et al.*, (2013). Penggunaan *buffer sitrat* pH 4,5 bertujuan untuk mempertahankan pH. *Buffer sitrat* pH 4,5 terbuat dari campuran 26,75 mL larutan asam sitrat dan 23,25 mL larutan natrium sitrat yang dilarutkan dalam 50 mL akuades. Dosis yang diberikan untuk DM tipe 1 adalah 40-60 mg/kgBB secara intravena, sedangkan dosis intraperitoneal adalah lebih dari 40 mg/kgBB (Szkudelski, 2001). Tikus coba yang diinjeksi *buffer sitrat* pH 4,5 menghasilkan tikus coba model kontrol negatif. Tikus coba hasil dari penginjeksian STZ dilakukan pengukuran glukosa darah setelah 7 hari penginjeksian. Tikus coba yang memiliki kadar glukosa darah sesaat  $\geq 200$  mg/dL merupakan tikus coba diabetes melitus, sedangkan tikus coba yang memiliki kadar glukosa darah  $< 200$  mg/dL tidak digunakan. Tikus coba yang telah dilakukan pemodelan ini dilakukan *treatment* sesuai dengan kelompok

perlakuan tikus coba. Pemodelan tikus coba pada berbagai perlakuan dapat dilihat pada Gambar 8.

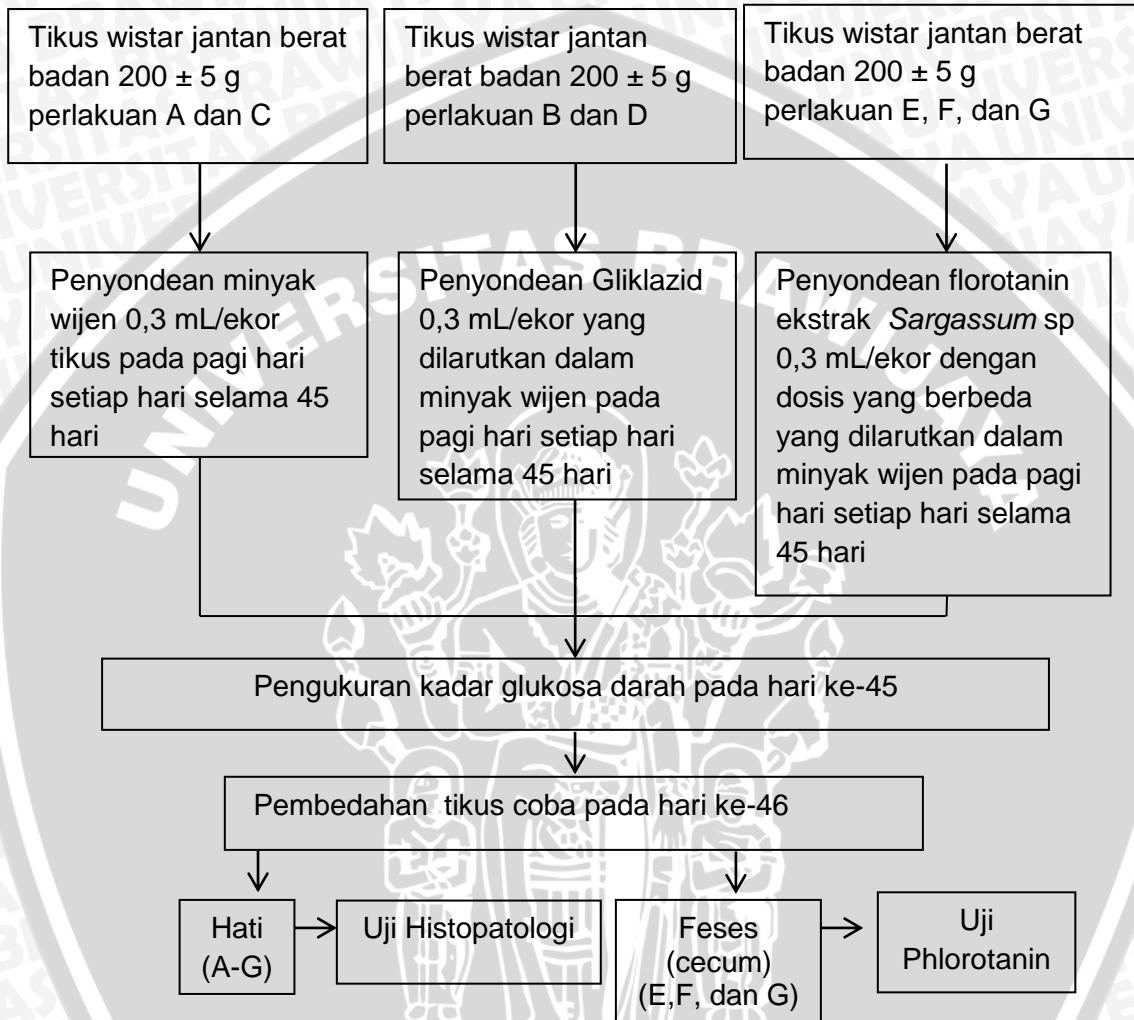


**Gambar 8.** Pemodelan tikus coba pada berbagai perlakuan (Firdaus *et al.*, 2012)

### 3.4.3 *Treatment* pada Berbagai Kelompok Tikus Coba

*Treatment* pada berbagai perlakuan tikus coba dilakukan pada perlakuan A dan C yang disonde dengan minyak wijen sebanyak 0,3 mL/ekor. Penggunaan minyak bertujuan untuk meningkatkan kelarutan zak aktif dan untuk membuat pelepasan gliklazid maupun ekstrak di tubuh berjalan perlahan. Minyak yang digunakan harus berbentuk cair. Minyak wijen dipilih karena minyak wijen merupakan minyak yang paling stabil dibandingkan minyak tumbuhan lain (Diamita, 2009). Perlakuan B dan D diberi dengan gliklazid dosis 30 mg/kg BB yang sebelumnya telah dilarutkan dalam minyak wijen diberikan selama 45 hari. Mekanisme kerja gliklazid adalah merangsang sekresi insulin pada sel  $\beta$  pankreas dan gliklazid memiliki senyawa bioaktif yang dapat menangkap radikal bebas (Qiang *et al.*, 1998). Perlakuan E, F, dan G diberi ekstrak *Sargassum* sp dengan dosis berturut-turut 200, 400, dan 600 mg/kg BB yang telah dilarutkan dalam minyak wijen dan diberikan selama 45 hari.

Pengukuran kadar glukosa darah pada hari ke-45 menggunakan *Glucodr*, bertujuan untuk mengetahui pengaruh *treatment* pada glukosa darah tikus coba. Pada hari ke-46 dilakukan pembedahan tikus coba untuk mengambil bagian hati untuk dibuat menjadi preparat yang kemudian diuji histopatologi. Pada saat pembedahan juga dilakukan pengambilan feses pada sekum yang kemudian diuji persentase serapan florotanin pada perlakuan E, F dan G. Skema *treatment* pada berbagai kelompok tikus coba dapat dilihat pada Gambar 9.



**Gambar 9.** Treatment pada Berbagai Kelompok Tikus Coba (Firdaus et al., 2012)

### 3.5 Prosedur Analisis

#### 3.5.1 Pengujian Kandungan Florotanin Ekstrak *Sargassum* sp dan Feses Tikus Coba (Koivikko, 2005)

Prinsip metode *Folin-Ciocalteu* adalah oksidasi gugus fenolik hidroksil. Pereaksi ini mengoksidasi fenolat mereduksi asam heteropoli menjadi suatu kompleks molibdenum-tungsten (Mo-W). Selama reaksi berlangsung, gugus

fenolik-hidroksil bereaksi dengan pereaksi *Folin-Ciocalteu*, membentuk kompleks fosfotungstat-fosfomolibdat berwarna biru. Warna biru yang terbentuk akan semakin pekat setara dengan konsentrasi ion fenolat yang terbentuk, artinya semakin besar konsentrasi senyawa fenolik maka semakin banyak ion fenolat yang akan mereduksi asam heteropoli sehingga warna biru yang dihasilkan semakin pekat (Koivikko, 2005).

- **Larutan standar floroglusinol**

Larutan stok floroglusinol dengan konsentrasi 100 ppm (mg/L), dibuat dengan melarutkan 0,01 g floroglusinol dalam labu ukur 100 mL dan ditambahkan dengan etanol 85% sampai tanda batas lalu dibuat serangkaian larutan standar dengan konsentrasi 0; 20; 40; 60; 80; dan 100 ppm. Larutan stok floroglusinol 100 ppm sebanyak 0; 2; 4; 6; 8; dan 10 mL, masing-masing dimasukkan dalam labu ukur 10 mL dan ditambahkan etanol 85% hingga tanda batas. Masing-masing konsentrasi diambil 0,05 mL dan dilarutkan dalam 4,95 mL H<sub>2</sub>O kemudian campuran tersebut diambil sebanyak 1 mL dan dimasukkan tabung reaksi, kemudian ditambahkan reagen *Folin-Ciocalteu* 50% sebanyak 1 mL dan 2 mL Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub> 20%, tunggu selama 3 menit dan kemudian diinkubasi pada ruang gelap selama 45 menit. Masing-masing konsentrasi larutan diukur serapannya pada panjang gelombang 730 nm. Hasil pembacaan serapan dibuat persamaan regresi kurva standar hubungan antara konsentrasi floroglusinol (ppm) dengan serapan.

- **Penentuan Kandungan Florotanin Ekstrak *Sargassum* sp dan Feses Tikus Coba**

Penentuan kandungan florotanin ekstrak *Sargassum* sp dan feses tikus coba dilakukan berdasarkan metode *Folin-Ciocalteu* (Koivikko, 2005). Sampel feses diambil dari *secum* tikus coba pada saat pembedahan hari ke-46. Sampel ekstrak dan feses masing-masing sebanyak 2 g ditimbang dan dilarutkan dengan

etanol p.a 85% (1:2), penggunaan etanol dikarenakan bahwa etanol memiliki gugus hidroksil yang memungkinkan membentuk ikatan hidrogen intramolekuler dengan gugus hidroksil yang ada pada senyawa polifenol dalam pelarut etanol (Padda, 2006). Tahap selanjutnya sampel diinkubasi ada ruang gelap selama 8 jam bertujuan agar senyawa polifenol tidak rusak, kemudian diambil 0,05 mL larutan yang telah tercampur dan ditambahkan 4,95 mL H<sub>2</sub>O. Tahap selanjutnya diambil 1 mL larutan tersebut dan dimasukkan dalam tabung reaksi. Ditambahkan 1 mL reagen *Folin-Ciocalteu* 50% dan 2 mL larutan Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub> 20%, tunggu selama 3 menit kemudian diinkubasi pada ruang gelap dan suhu ruang selama 45 menit. Disentrifugasi selama 5 menit pada 4000 rpm dan supernatan diambil dan dibaca serapannya pada spektrofotometer dengan panjang gelombang 730 nm. Konsentrasi polifenol dalam sampel dapat ditentukan dengan mengalurkan absorbansi sampel pada kurva standar. dengan mengalurkan absorbansi sampel pada kurva standar.

### 3.5.2 Pengujian Histopatologi Hati

Secara umum proses pengujian histopatologi organ ialah fiksasi, pembuatan preparat, pewarnaan, dan pengamatan pada mikroskop.

#### 1) Fiksasi

Fiksasi preparat histopatologi organ dapat dilakukan dengan pengangkatan organ, kemudian organ dicuci dengan larutan NaFis 0,9% berfungsi sebagai larutan penyeimbang, selanjutnya organ ditempatkan dalam larutan formalin 10%. Perendaman organ dalam formalin dipastikan semua bagian organ terendam dalam larutan tersebut. Tujuan larutan fiksatif formalin 10% yaitu menjadikan organ yang akan diteliti menjadi lebih lama dapat disimpannya dan proses autolisisnya sangat minimal selain itu bertujuan untuk menjaga kadar pH dan bertujuan mempertahankan osmolaritas sel (Sari, 2011).



## 2) Pembuatan preparat

### - Pemotongan jaringan organ

Organ yang telah dimasukkan dalam formalin 10% lalu ditiriskan selanjutnya dipotong menggunakan pisau *scalpel* dengan tebal 0,3 – 0,5 mm dan disusun dalam *tissue cassette*, kemudian dimasukkan dalam keranjang khusus.

### - Proses dehidrasi bertahap

Tujuan dehidrasi adalah mengeluarkan air dari jaringan agar dapat diblokir dengan paraffin. Keranjang yang berisi jaringan organ dimasukkan dalam alkohol bertingkat 70% , 80% , 90% , dan alkohol absolute. Tujuan penggunaan alkohol bertahap dari konsentrasi alkohol yang rendah ke konsentrasi alkohol yang tinggi agar dapat mengeluarkan air dari jaringan dan dapat diisi dengan paraffin.

### - Penjernihan (*clearing*)

Penjernihan adalah metode yang digunakan mengeluarkan alkohol dari jaringan dan menggantikannya dengan suatu larutan yang berikatan dengan parafin. Pada proses *clearing* ini sangat krusial karena apabila di jaringan masih tersisa alkohol walaupun sedikit, parafin tidak akan bisa masuk kedalam jaringan. Sehingga jaringan nantinya tidak akan sempurna dalam pembuatan blokir, pemotongan, dan pewarnaan. Proses *clearing* ini menggunakan bermacam-macam zat penjernih yaitu xylol atau xylene selama 2 x 30 menit. Tujuan untuk mengeluarkan air sehingga jaringan bening dan transparan (Henny, 2012). Xylol atau xylene kelebihanannya yaitu prosesnya cepat dan harganya tidak terlalu mahal. Kekurangannya yaitu jaringan yang dapat dipindahkan hanya dari alkohol absolut, dan jaringan yang dijernihkan dengan xylene tidak begitu jelas menjadi transparan, sehingga tidak diketahui proses ini berjalan sempurna atau tidak.

- Mencetak blok parafin (*embedding*)

Tujuan *embedding* untuk memasukkan parafin ke dalam bagian-bagian sel dengan baik dan memastikan xylol keluar seluruhnya (Sari, 2011). Jaringan dimasukkan dalam cetakan berbahan *stainless steel* sambil diatur dan sedikit ditekan lalu parafin cair yang bersuhu 60°C dituangkan ke dalam jaringan sampai seluruh jaringan terendam parafin dan dilakukan tiga kali. Parafin dibiarkan membeku di atas mesin pendingin. Blok parafin kemudian dilepas dari cetakan. Keuntungan menggunakan parafin adalah dengan titik lebur rendah sehingga jaringannya tidak mudah menjadi rapuh.

- Pembuatan *blocking*

Pembuatan *blocking* merupakan proses pembuatan preparat agar dapat dipotong menggunakan mikrotom. Proses ini menggunakan parafin sebagai alat menempelkan jaringannya agar mudah dipotong. Prosesnya yaitu dengan menyiapkan tempat blockingnya, dan menuangkan parafin dilanjutkan dengan memasukan organ ke dalam parafin yang sudah disediakan. Selanjutnya setelah blok parafin kering dan sudah beku dapat dikeluarkan dari tempat blocking dan dapat dilanjutkan ke proses *sectioning*.

- Memotong blok jaringan (*sectioning*)

*Sectioning* dilakukan dengan cara jaringan dan blok parafin dipotong menggunakan mikrotom setebal 4 mikron secara melintang. Irisan diletakkan di atas gelas objek yang telah diolesi ewith yang berfungsi sebagai bahan perekat, kemudian diinkubasi pada suhu 60°C untuk penguapan parafin.

- 3) Pewarnaan Hematoksilin Eosin (HE)

Preparat yang diwarnai dengan larutan hematoksilin yang bersifat basa berfungsi untuk mewarnai inti sel dan jaringan yang bersifat asam sehingga

berwarna biru keunguan . Larutan eosin yang bersifat asam berfungsi untuk mewarnai sitoplasma sehingga warna berubah menjadi merah. Proses urutan pencelupan organ secara berurutan ke dalam beberapa larutan dengan waktu yang ditentukan dilihat pada Tabel 2.

No.	Urutan Larutan Pewarnaan HE	Lama Pencelupan
1.	Xylol	3 menit
2.	Xylol	3 menit
3.	Etanol 90%	3 menit
4.	Etanol 80%	3 menit
5.	Bilas dengan air	1 menit
6.	Larutan hematoksilin	6-7 menit
7.	Bilas dengan air	1 menit
8.	Larutan pembiru	1 menit
9.	Air	1 menit
10.	Larutan eosin	1-5 menit
11.	Bilas dengan air	1 menit
12.	Etanol 80%	10 celupan
13.	Etanol 90%	10 celupan
14.	Etanol absolute	10 celupan
15.	Etanol absolute	1 menit
16.	Xylol	3 menit
17.	Xylol	3 menit
18.	Xylol	3 menit

Sumber : (Sari, 2011)

#### 4) Pengamatan pada mikroskop

Preparat diangkat satu persatu dari larutan xylol dalam keadaan basah, lalu diberi satu tetes cairan perekat (DPX) dan selanjutnya ditutup kaca penutup dan hasil pssewarnaan tersebut dapat dilihat di bawah mikroskop.

#### - Analisis Histopatologi

Preparat yang telah dibuat diamati dibawah mikroskop. Penghitungan sel dilakukan dengan lima lapang pandang. Lapang pandang yang diambil untuk mengamati perubahan yang terjadi. Seluruh lapang pandang diamati dan dijumlahkan sel. Kerusakan yang diamati berupa nekrosis, piknosis dan kariolisis. Langkah selanjutnya dilakukan pemberian skor. Berdasarkan (Bayrak *et al.*, 2008) skor pembacaan histopatologi yaitu 0 = normal, 1 = ringan, 2 = moderat

dan 3 = parah. Perubahan ringan apabila perubahannya  $<1/3$ , moderat bila perubahannya antara  $1/3-2/3$  dan parah apabila perubahannya  $>2/3$  pada setiap lapang pandangnya.

### 3.5.3 Pengukuran Kadar Glukosa Darah Tikus Coba (Suarsana *et al.*, 2010)

Kadar glukosa darah tikus coba ditentukan dengan metode *biosensor glukose oksidase*. Darah tikus coba diambil melalui ujung ekor tikus coba yang telah dibersihkan dengan alkohol 70%. Ujung ekor ditusuk dengan jarum kecil, kemudian diurut perlahan-lahan. Darah yang keluar disentuh pada strip glukometer. Kadar glukosa darah akan terbaca di layar *GlukoDr* setelah 11 detik. Kadar glukosa darah dinyatakan dalam mg/dL. Pengukuran kadar glukosa darah tikus coba dilakukan hari ke-45.

### 3.5.4 Metode De Garmo (Indeks Efektivitas) (Susrini, 2003)

Setelah dilakukan pengujian penyerapan florotanin, kadar glukosa darah, dan histopatologi hati dilakukan penentuan perlakuan terbaik dengan metode pengambilan keputusan yaitu metode Indeks Efektivitas De Garmo. Pengambilan keputusan dilakukan dengan mempertimbangkan tingkat kepentingan dari beberapa parameter uji dan dilakukan skoring.

Hasil skoring yang diperoleh tersebut ditabulasi dan dijumlahkan. Kemudian dirata-rata untuk mengetahui urutan masing-masing suatu variabel. Lalu dihitung bobot masing-masing variabel. Variabel dengan rata-rata tertinggi diberi bobot 1, sedangkan bobot variabel yang lain didapatkan dari hasil bagi antara rata-rata masing-masing variabel dengan rata-rata variabel urutan ke-1. Bobot normal dihitung dengan membagi bobot masing-masing variabel dengan jumlah bobot normal masing-masing. Nilai Efektivitas ( $N_e$ ) dihitung dengan rumus sebagai berikut:

$$N_e = \frac{\text{Nilai perlakuan} - \text{nilai terjelek}}{\text{Nilai Terbaik} - \text{nilai terjelek}}$$

Kemudian dihitung nilai hasil (Nh) dari semua variabel dengan mengalikan Ne dengan bobot normal masing-masing variabel. Selanjutnya, Nh dijumlahkan semua dan perlakuan dengan jumlah Nh tertinggi adalah perlakuan yang terbaik.



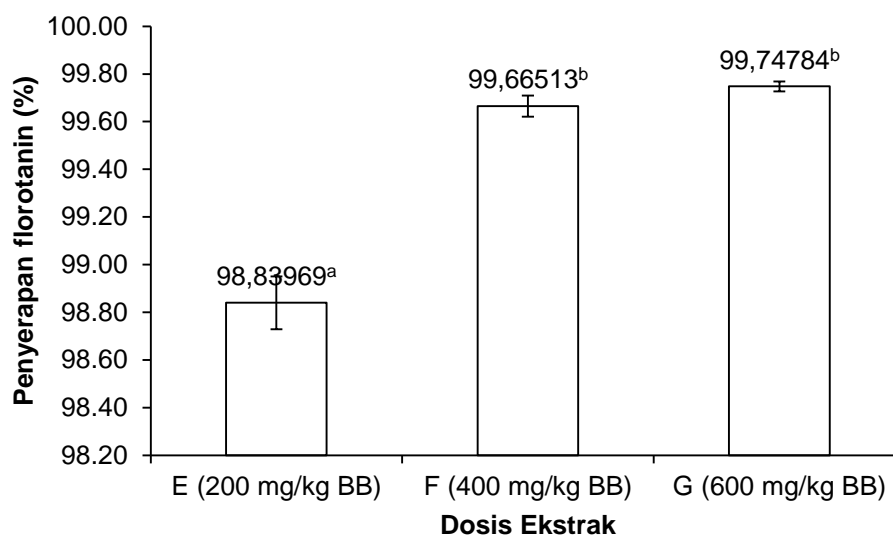
## 4. HASIL DAN PEMBAHASAN

### 4.1 Yield

Yield merupakan perbandingan antara ekstrak yang diperoleh dengan simplisia awal yang hasilnya dinyatakan dalam satuan persen (%) (Aziset *et al*, 2014). Tujuan penghitungan yield yaitu untuk mengetahui persentase hasil ekstrak dibandingkan dengan simplisia *Sargassum* sp. Pada penelitian ini diperoleh yield ekstrak sebesar 0,31 %. Mengacu pada penelitian Nawaly *et al*, (2014) menunjukkan bahwa nilai yield florotanin yang dihasilkan dari ekstraksi *Sargassum* sp sebanyak 1,77 % dan bisa dikatakan bahwa yield yang diperoleh pada penelitian ini sangat rendah. Hal ini mungkin disebabkan proses ekstraksi *Sargassum* sp kurang efektif sehingga banyak florotanin hasil ekstrak yang hilang selama proses berlangsung.

### 4.2 Penyerapan Florotanin

Florotanin merupakan polifenol yang terkandung dalam *Sargassum* sp. Pada penelitian ini dilakukan uji kuantitatif florotanin yang bertujuan untuk mengetahui kandungan florotanin pada ekstrak *Sargassum* sp. Data pengamatan dan analisis data kandungan florotanin ekstrak *Sargassum* sp dan penyerapan pada tubuh tikus coba dapat dilihat pada Lampiran 3. Hasil analisis data menunjukkan bahwa penyerapan florotanin antar perlakuan pada akhir masa penelitian berbeda nyata ( $P < 0,05$ ). Hasil menunjukkan bahwa kandungan florotanin pada ekstrak *Sargassum* sp sebesar 0,00067496 mg/mg sampel. Setelah diberikan kepada tikus coba sesuai dosis masing-masing diperoleh persentase penyerapan seperti yang terlihat pada Gambar 10.

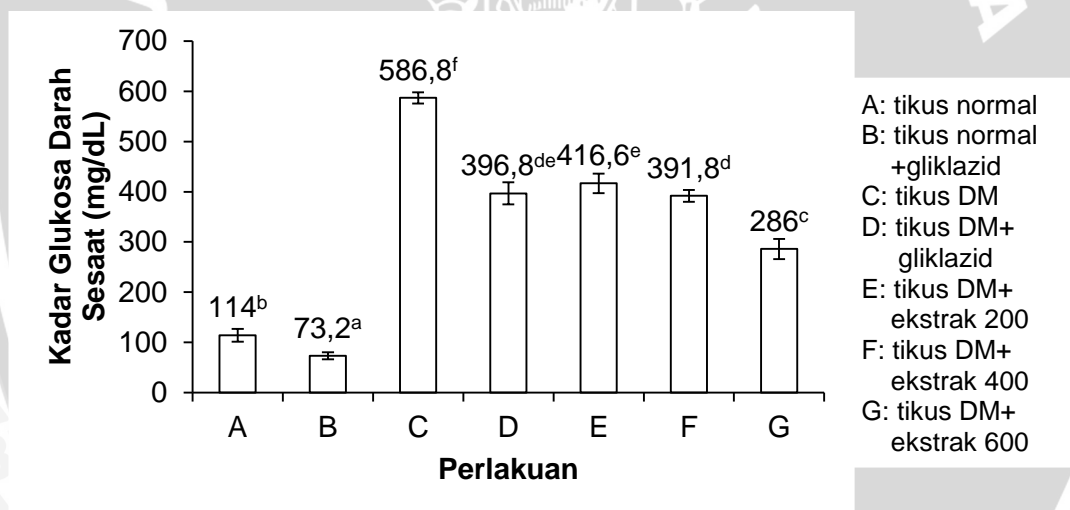


**Gambar 10.** Persentase penyerapan florotanin pada tikus coba

Gambar 10 menunjukkan bahwa persentase penyerapan florotanin semakin meningkat seiring peningkatan dosis ekstrak *Sargassum* sp yang diberikan. Persentase penyerapan florotanin pada perlakuan E (200 mg/kgBB) dengan F (400 mg/kgBB) dan G (600 mg/kgBB) berbeda sangat nyata. Hal ini menunjukkan bahwa pemberian dosis 400 mg/kg BB dan 600 mg/kg BB lebih tinggi penyerapan oleh tubuh daripada pemberian dosis 200 mg/kg BB. Persentase penyerapan florotanin pada perlakuan F (400 mg/kgBB) dan G (600 mg/kgBB) tidak berbeda nyata. Hal ini menunjukkan bahwa dosis ekstrak *Sargassum* sp yang mampu diserap tubuh tikus coba sampai pada dosis 400 mg/kgBB. Hou *et al* , (2011) dan Huang *et al* , (2014) menyatakan bahwa penyerapan florotanin semakin meningkat seiring peningkatan dosis florotanin yang diberikan. Liu *et al* , (2012) menyatakan konsentrasi yang diberikan antara 350-700 mg/kg mampu diserap oleh tubuh.

### 4.3 Glukosa Darah

Glukosa darah merupakan kadar atau kandungan glukosa darah di dalam sirkulasi darah dalam tubuh. Tujuan pengukuran glukosa darah ialah untuk mengetahui kadar glukosa darah dalam tubuh tikus pada akhir masa penelitian. Data pengamatan dan analisis data perubahan kadar glukosa darah tikus normal dan tikus diabetes melitus yang diberi florotanin dapat dilihat pada Lampiran 3. Hasil analisis data menunjukkan bahwa kadar glukosa darah tikus coba antar perlakuan pada akhir masa penelitian berbeda nyata ( $P < 0,05$ ). Perubahan kadar glukosa darah tikus normal dan tikus diabetes melitus yang diberi ekstrak *Sargassum* sp pada akhir masa penelitian dapat dilihat pada Gambar 11.



**Gambar 9.** Kadar glukosa darah tikus berbagai perlakuan

Gambar 11 menunjukkan pada perlakuan A (kontrol negatif) kadar glukosa darah tikus adalah 114 mg/dl . Hal ini menunjukkan bahwa tikus A tergolong tikus normal karena kadar glukosa darah dalam tubuh  $<200$  mg/dl. Pada perlakuan tikus B (kontrol negatif+gliklazid) kadar glukosa darah 73,2 mg/dl. Hal ini menunjukkan bahwa tikus perlakuan B mengalami hipoglikemik atau kadar glukosa darah yang rendah. Hal ini terjadi karena efek pemberian



gliklazid yang diberikan pada tikus normal. Pada perlakuan C (positif DM) kadar glukosa darah 586,8 mg/dl. Hal ini menunjukkan bahwa perlakuan tikus C mengalami hiperglikemik yaitu kadar glukosa darah tubuh >200 mg/dl. Hiperglikemik terjadi karena pemberian diabetogenik (STZ) dan menyebabkan gangguan insulin sehingga glukosa darah naik diatas normal. Perlakuan D (kontrol positif+gliklazid) kadar glukosa darah menurun menjadi 396 mg/dl. Hal ini menunjukkan bahwa gliklazid merupakan agen hipoglikemik yang dapat membantu penurunan kadar gula darah. Namun pada penelitian ini pemberian gliklazid dosis 30mg/kg berat badan belum mampu menurunkan kadar glukosa darah hingga kondisi normal. Umar *et al* (2014) menyatakan pemberian dosis gliklazid untuk menurunkan kadar glukosa hingga mendekati kadar glukosa darah normal yaitu menggunakan dosis 80mg/kg berat badan. Perlakuan E, F, dan G pemberian florotanin ekstrak *Sargassum* sp dosis (200; 400; dan 600 mg/kgBB) kadar glukosa darah adalah 416 mg/dl, 391 mg/dl, 286 mg/dl. Hal ini menunjukkan bahwa seiring bertambahnya dosis florotanin ekstrak *Sargassum* sp yang diberikan mampu menurunkan kadar glukosa darah tikus DM secara signifikan. Namun pada penelitian ini pemberian dosis florotanin ekstrak *Sargassum* sp hingga dosis 600 mg/kgBB belum mampu menurunkan kadar glukosa darah hingga kadar glukosa darah normal.

Gambar 11 menunjukkan kadar glukosa darah tikus pada perlakuan A (kontrol negatif) lebih tinggi dibandingkan perlakuan B (kontrol negatif+gliklazid). Hasil analisis menunjukkan kadar glukosa darah perlakuan A dan B berbeda nyata. Hal ini menunjukkan bahwa perlakuan B mengalami hipoglikemia akibat pemberian gliklazid. Firmansyah (2013), menyatakan bahwa pemberian gliklazid berkepanjangan dapat menyebabkan hipoglikemia. Gliklazid dapat mengurangi produksi glukosa darah tanpa mengubah reseptor insulin (Golay *et al.*, 1984).

Gambar 11 menunjukkan kadar glukosa darah tikus pada perlakuan B (kontrol negatif+gliklazid) lebih rendah dibandingkan perlakuan D (kontrol positif+gliklazid). Hasil analisis menunjukkan kadar glukosa darah perlakuan B dan D berbeda nyata. Hal ini dimungkinkan karena pada perlakuan B kondisi tubuh tikus normal, sehingga gliklazid lebih cepat terserap oleh tubuh dibandingkan dengan perlakuan D dimana tikus mengalami hiperglikemia akibat STZ. Rochmanullah (2015), menyatakan gliklazid bersifat mudah diserap di dalam saluran pencernaan dan memiliki waktu paruh pendek, sehingga dapat dieliminasi dengan cepat di sirkulasi darah.

Gambar 11 menunjukkan kadar glukosa darah pada perlakuan A (tikus normal) lebih rendah dari perlakuan C (tikus DM) dan memperlihatkan hasil yang sangat berbeda sangat nyata. Hal ini menunjukkan bahwa tikus DM mengalami hiperglikemia. Suarsana *et al*, (2011), Huang *et al*, (2015), dan Adam *et al*, (2016) menyatakan bahwa kadar glukosa tikus DM lebih tinggi dibanding tikus normal. Apriani *et al*, (2011) menyatakan bahwa hiperglikemia terjadi akibat defisiensi insulin atau terjadi penurunan produksi insulin dalam tubuh. Haligur *et al.*, (2012) menyatakan penurunan produksi insulin akibat kerusakan sel  $\beta$  langerhans yang diperantarai diabetogenik (STZ). Dengan adanya STZ maka terbentuk hiperglikemia pada tikus DM.

Gambar 11 menunjukkan kadar glukosa darah tikus pada perlakuan C (kontrol positif) lebih tinggi dibanding D (kontrol positif+gliklazid). Hasil analisis menunjukkan kadar glukosa darah perlakuan C dan D berbeda nyata. Hal ini menunjukkan bahwa gliklazid dapat menurunkan kadar glukosa darah atau antihiperglikemia. Namun pada penelitian ini pemberian gliklazid dosis 30mg/kg berat badan belum mampu menurunkan kadar glukosa darah hingga kondisi normal. Umar *et al* (2014) menyatakan pemberian dosis gliklazid untuk

menurunkan kadar glukosa hingga mendekati kadar glukosa darah normal yaitu menggunakan dosis 80mg/kg berat badan. Qiang *et al*, (1998), Naidoo *et al*, (2006), Prasath dan Subramanian (2013), menyatakan bahwa kadar glukosa darah kontrol positif+gliklazid lebih rendah dibanding kontrol positif. Anonymous (2010) menyatakan bahwa gliklazid dapat menstimulasi sel  $\beta$  pankreas untuk melepaskan insulin yang tersimpan dan menurunkan kadar glukosa darah dengan merangsang sekresi insulin, hanya efektif bila sel  $\beta$  pankreas masih dapat memproduksi. Dengan adanya gliklazid maka kadar glukosa darah kontrol positif+gliklazid menurun.

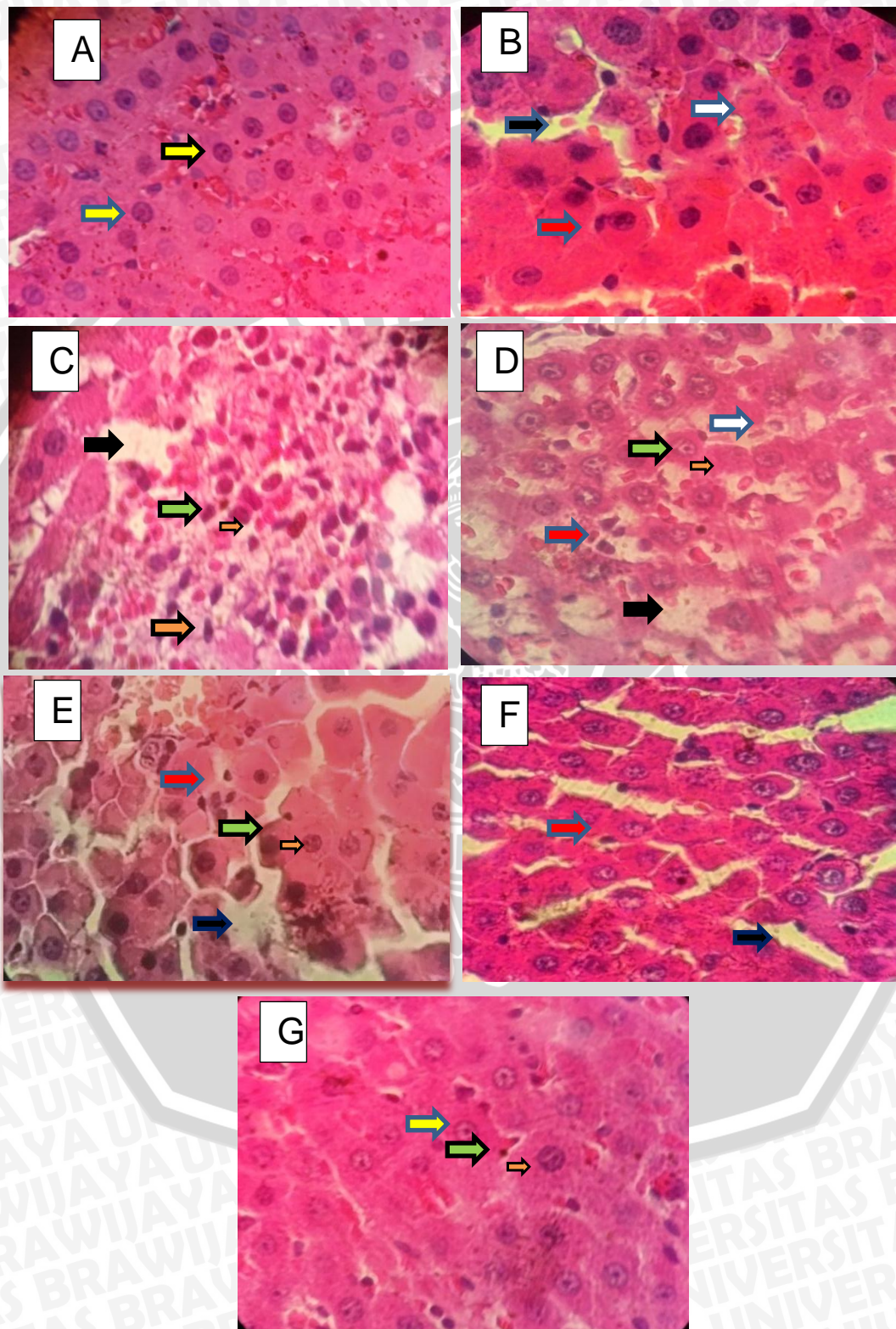
Gambar 11 menunjukkan kadar glukosa darah perlakuan A (tikus normal) lebih rendah dari perlakuan E (tikus DM+ekstrak 200 mg/kgBB), F (tikus DM+ekstrak 400 mg/kgBB), dan G (tikus DM+ekstrak 600 mg/kgBB) serta memperlihatkan hasil yang berbeda sangat nyata. Hal ini menunjukkan bahwa florotanin ekstrak *Sargassum* sp mampu menurunkan kadar glukosa darah tikus DM secara signifikan. Pada penelitian ini pemberian dosis florotanin ekstrak *Sargassum* hingga dosis 600 mg/kgBB selama 45 hari belum mampu menurunkan kadar glukosa darah hingga kadar glukosa darah normal. Herawati *et al*, (2012) menyatakan untuk menurunkan kadar glukosa darah mendekati normal membutuhkan dosis hingga 800 mg/kgBB. Firdaus *et al*, (2012) juga menyatakan pemberian florotanin yang aman untuk diberikan pada tikus DM yaitu sekitar 625-1250 mg/kgBB. Hal ini menunjukkan bahwa penurunan kadar glukosa darah meningkat seiring peningkatan dosis ekstrak *Sargassum* sp. Rengasamy *et al*, (2014) menyatakan bahwa florotanin memiliki kemampuan sebagai antihiperqlikemia karena kemampuan mengikat enzim  $\alpha$ -glukosidase dan  $\alpha$ -amilase dan (Shofia, 2013) menyatakan florotanin juga mampu menurunkan kadar glukosa darah dengan meningkatkan induksi pada sel  $\beta$  pankreas untuk mensintesis insulin.

Gambar 11 menunjukkan kadar glukosa darah perlakuan D (tikus DM+gliklazid) lebih rendah dari perlakuan E (tikus DM+ekstrak 200 mg/kgBB) dan lebih tinggi dari perlakuan F (tikus DM+ekstrak 400 mg/kgBB), dan G (tikus DM+ekstrak 600 mg/kgBB). Kadar glukosa darah tikus pada perlakuan D, E dan F berbeda tidak nyata. Hal ini menunjukkan bahwa *treatment* florotanin 200 mg/kgBB dan 400 mg/kgBB memiliki efektifitas yang sama sebagai agen antihiperqlikemia dengan pemberian gliklazid pada tikus DM. Kadar glukosa darah tikus pada perlakuan D dan G berbeda nyata, dimana kadar glukosa darah tikus perlakuan D lebih tinggi dibandingkan G. Hal ini menunjukkan bahwa florotanin ekstrak *Sargassum* sp 600 mg/kgBB lebih baik digunakan sebagai antihiperqlikemia dan antioksidan dibandingkan dengan gliklazid karena florotanin bersifat senyawa bioaktif alami. Pada penelitian ini pemberian florotanin ekstrak *Sargassum* sp hingga 600 mg/kgBB selama 45 hari belum mampu menurunkan hingga kadar glukosa darah tikus normal. Ada kemungkinan hal ini disebabkan waktu pemberian ekstrak florotanin sekitar 45 hari dan dosis yang diberikan belum efektif. Bahadoran *et al*, (2013) menyatakan bahwa polifenol polifenol mampu bertindak sebagai antihiperqlikemik yaitu dengan memperbaiki fungsi sel  $\beta$  *langerhans* dan kinerja insulin, serta perangsang sekresi insulin.

#### 4.4 Histopatologi Hati.

Histopatologi hati merupakan pengamatan patologi hati (kerusakan struktur jaringan hati ) yang meliputi kerusakan sel nekrosis, piknosis, dan karioisis disebabkan adanya penumpukan radikal bebas dalam tubuh. Data pengamatan dan analisis data perubahan kerusakan struktur jaringan sel hati tikus normal dan tikus diabetes melitus yang diberi florotanin ekstrak *Sargassum* sp dapat dilihat pada Lampiran 4. Skor pembacaan perubahan histopatologis hati yaitu: 0 = normal, 1 = ringan, 2 = moderat, dan 3 = parah (Sigala *et al.*, 2006).

Fotomikrograf dan skor histologis hati tikus pada setiap perlakuan dapat dilihat seperti gambar berikut



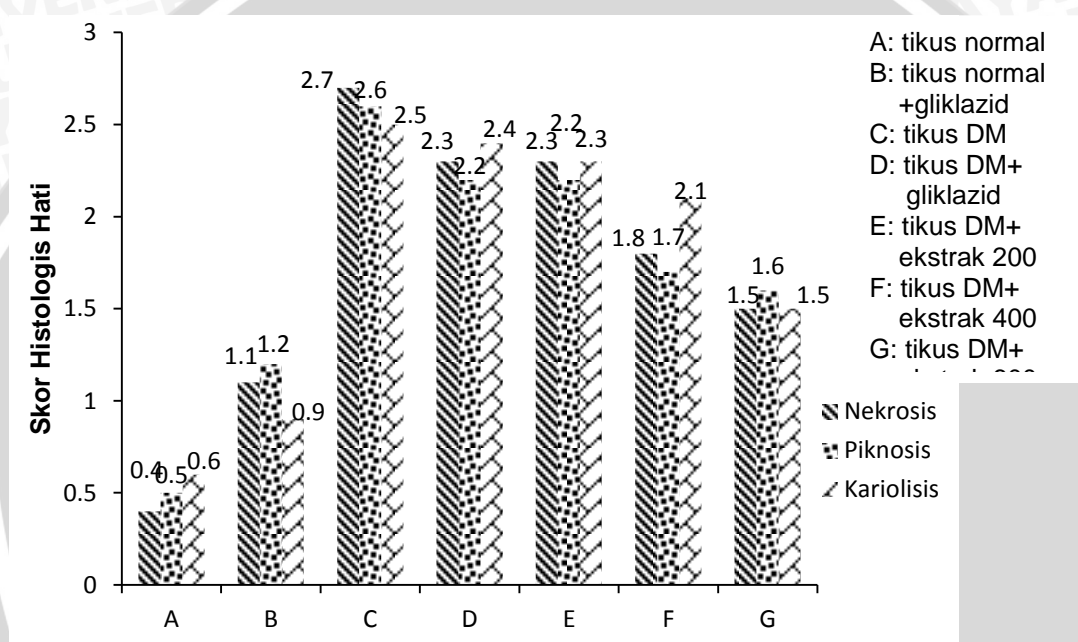
**Gambar 12.** Fotomikrograf Hati Tikus Normal dan Diabetes Melitus (A) tikus normal, (B) tikus normal+gliklazid, (C) tikus DM, (D) tikus DM+gliklazid, (E) tikus DM +200 ekstrak *Sargassum* (F), tikus DM +400 ekstrak *Sargassum* (G) tikus DM +600 ekstrak *Sargassum* (Pewarnaan HE Perbesaran 1000x)s

Keterangan :  
 → =Hati Normal,      → = Hati Nekrosis,      → =Hati Piknosis,  
 → = Hati Kariolisis.      → = Hati Perlemakan

normal, berwarna merah keunguan ceran dan tidak terjadi perlemakan. Hal ini menunjukkan bahwa perlakuan A kondisi normal. Perlakuan B (tikus normal +gliklazid) terjadi perlemakan dan terdapat kerusakan sel piknosis. Hal ini terjadi karena pemberian gliklazid pada tikus normal yang berkepanjangan dapat berefek pada kerusakan sel (Firmansyah, 2013). Piknosis terbentuk akibat gliklazid yang diberikan pada tikus normal dalam jangka waktu panjang menjadi toksin sehingga terjadi kerusakan sel. Sedangkan perlemakan hati disebabkan keberadaan toksin dan menyebabkan sel tidak mampu mengeluarkan trigleserida sehingga terjadi degenerasi lemak (Porth and Matfin, 2008). Pada perlakuan C (tikus DM) didominasi sel nekrosis dan perlemakan hati. Hal ini terjadi karena gangguan insulin yang disebabkan pemberian STZ sehingga terjadi penumpukan radikal bebas dalam tubuh, yang menyebabkan kerusakan sel dan perlemakan pada hati. Perlakuan D (tikus DM+gliklazid) secara visual kerusakan sel mulai berkurang tetapi perlemakan masih terkategori parah. Hal ini menunjukkan bahwa pemberian gliklazid mampu mengurangi kerusakan sel tetapi belum mampu mengurangi kerusakan sel hingga kondisi normal. Pada perlakuan E (tikus DM+ekstrak 200mg/kgBB) kerusakan sel nekrosis tidak mendominasi namun masih tampak adanya perlemakan. Pada perlakuan F (tikus DM+ekstrak 400mg/kgBB) masih terjadi perlemakan namun kerusakan sel tidak mendominasi. Perlakuan G (tikus DM+ekstrak 600mg/kgBB) perlemakan sudah tidak tampak namun masih ada kerusakan sel. Hal ini menunjukkan bahwa florotanin ekstrak *Sargassum* sp dengan dosis (200,400, dan 600 mg/kgBB)

yang diberikan pada tikus DM belum mampu mengobati tikus DM hingga kondisi normal.

Gambar skor histopatologi hati tikus untuk semua perlakuan dapat dilihat pada gambar 13 di bawah ini :



Gambar 13. Skor histologis sel normal tikus normal, tikus normal dengan penambahan Gliklazid, tikus diabetes melitus, tikus diabetes melitus dengan penambahan Gliklazid, dan tikus diabetes melitus yang diberi florotanin ekstrak *Sargassum* sp.

Gambar 13 menunjukkan pada perlakuan A (kontrol negatif) kerusakan sel nekrosis, piknosis, dan kariolisis memiliki skor rata-rata = 0 yang artinya tergolong dalam kondisi normal. Pada perlakuan B (kontrol negatif+gliklazid) kerusakan sel nekrosis, piknosis, dan kariolisis memiliki skor rata-rata = 1 yang artinya tergolong sel kerusakan ringan. Hal ini terjadi karena efek pemberian gliklazid yang diberikan pada tikus normal secara berkepanjangan dapat

menimbulkan kerusakan sel. Pada perlakuan C (positif DM) kerusakan sel nekrosis, piknosis, dan kariolisis memiliki skor rata-rata = 3 yang artinya tergolong kerusakan sel parah. Hal ini dikarenakan jumlah kerusakan sel  $> 1/3$  jumlah keseluruhan yang diakibatkan oleh pemberian diabetogenik (STZ). Perlakuan D (kontrol positif+gliklazid) kerusakan sel nekrosis, piknosis, dan kariolisis memiliki skor rata-rata = 2 yang artinya tergolong sel kerusakan moderat. Hal ini dikarenakan jumlah kerusakan sel  $1/3-2/3$  dari jumlah keseluruhan sel. Perlakuan E dan F dan G pemberian florotanin ekstrak *Sargassum* sp dosis (200, 400 dan 600 mg/kgBB) kerusakan sel nekrosis, piknosis, dan kariolisis memiliki skor rata-rata = 2 yang artinya tergolong sel kerusakan moderat karena jumlah kerusakan sel  $1/3-2/3$  jumlah kerusakan, namun pada penelitian ini terjadi penurunan kerusakan yang signifikan seiring bertambahnya dosis florotanin yang diberikan pada tikus DM. Hal ini menunjukkan pemberian dosis florotanin ekstrak *Sargassum* sp hingga dosis 600 mg/kgBB belum mampu mengurangi kerusakan sel hingga kondisi normal.

Gambar 13 menunjukkan rerata skor histologis hati tikus pada perlakuan A (kontrol negatif) lebih rendah dibandingkan perlakuan B (kontrol negatif+gliklazid). Rerata skor histologis perlakuan A = 0 yang artinya tergolong kondisi normal sedangkan rerata skor histologis perlakuan B = 1 yang artinya mengalami kerusakan sel ringan. Hal ini menunjukkan bahwa perlakuan B mengalami kerusakan sel akibat pemberian gliklazid. Firmansyah (2013), menyatakan bahwa pemberian gliklazid berkepanjangan dapat menyebabkan kerusakan sel pada tikus normal.

Gambar 13 menunjukkan rerata skor histologis hati tikus pada perlakuan A (kontrol negatif) lebih rendah dibandingkan perlakuan C (positif DM). Rerata skor histologis perlakuan A = 0 yang artinya tergolong kondisi normal sedangkan



rerata skor histologis perlakuan C = 3 yang artinya mengalami kerusakan sel parah. Hal ini menunjukkan kerusakan sel nekrosis, piknosis, dan kariolisis terjadi akibat akumulasi radikal bebas dalam tubuh yang disebabkan kondisi hiperglikemik. Hal ini sesuai yang dinyatakan (Endah, 2015), (Herawati, 2014), dan (Mardiah, 2015) manifestasi DM dapat menimbulkan terjadinya berbagai kerusakan sel yang mengindikasikan adanya akumulasi radikal bebas dalam tubuh). Jadi dapat dikatakan bahwa ketika radikal bebas dalam tubuh meningkat, maka akan berpengaruh pada kenaikan kerusakan sel.

Gambar 13 menunjukkan rerata skor histologis hati tikus pada perlakuan C (positif DM) lebih tinggi dibandingkan perlakuan D (kontrol positif+gliklazid). Rerata skor histologis perlakuan C = 3 yang artinya mengalami kerusakan sel parah sedangkan rerata skor histologis perlakuan D = 2 yang artinya mengalami kerusakan sel moderat. Hal ini menunjukkan bahwa gliklazid merupakan agen hipoglikemik yang dapat mengurangi kerusakan sel. Namun pada penelitian ini pemberian gliklazid dosis 30mg/kg berat badan belum mampu menurunkan kadar glukosa darah hingga kondisi normal. Umar *et al* (2014) menyatakan pemberian dosis gliklazid untuk mengurangi kerusakan sel hingga kondisi normal yaitu menggunakan dosis 80mg/kg berat badan. Sarker *et al*, (2011) menyatakan bahwa Obat Hipoglikemik Oral (OHO) golongan sulfonilurea yang termasuk gliklazid, bekerja dengan menstimulasi sel beta pankreas untuk melepaskan insulin yang tersimpan sehingga dapat menurunkan kadar glukosa darah. Firdaus (2013) mengemukakan bahwa ketika kadar glukosa darah menurun akan berpengaruh pada penurunan kerusakan jaringan sel.

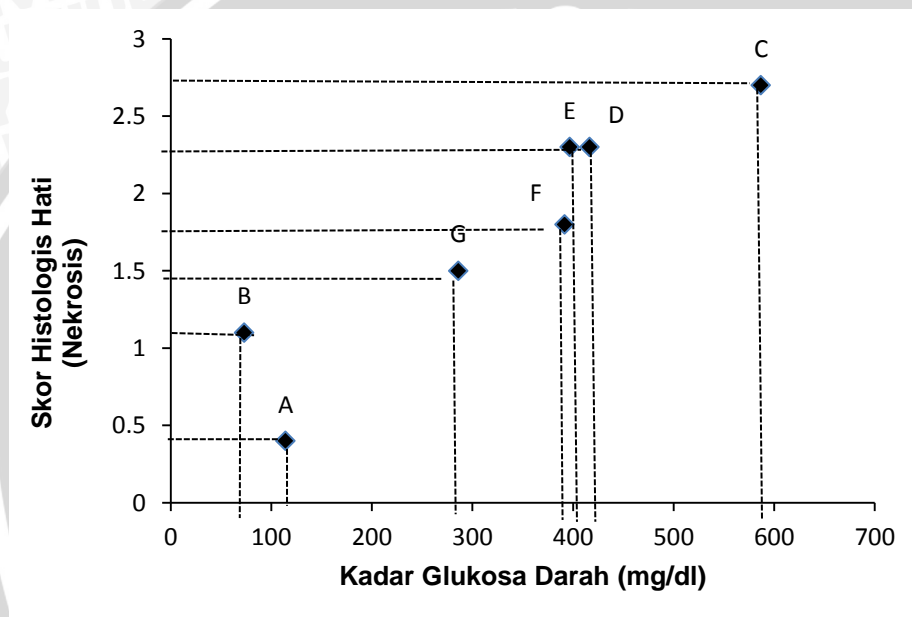
Gambar 13 menunjukkan rerata skor histologis hati tikus pada perlakuan C (positif DM) lebih tinggi dibandingkan perlakuan E, F, dan G (positif DM +florotanis dosis 200,400,600 mg/kgBB). Rerata skor histologis perlakuan C = 3 yang artinya mengalami kerusakan sel parah sedangkan rerata skor histologis

perlakuan E, F, dan G = 2 yang artinya mengalami kerusakan sel moderat. Hal ini menunjukkan bahwa florotanin ekstrak *Sargassum* sp mampu mengurangi kerusakan sel hati tikus DM. Namun pada penelitian ini pemberian dosis florotanin ekstrak *Sargassum* sp dosis (200; 400; dan 600 mg/kgBB) belum mampu mengurangi kerusakan sel hingga kondisi normal. Herawati *et al*, (2012) menyatakan untuk perbaikan gambaran histopatologi mendekati normal membutuhkan dosis hingga 800 mg/kgBB. Hal ini menunjukkan bahwa perbaikan jaringan sel hati meningkat seiring peningkatan dosis ekstrak *Sargassum* sp. Leikert *et al*, (2016) menyatakan bahwa semakin tinggi dosis ekstrak yang mengandung polifenol semakin meningkat pula jumlah perbaikan sel.

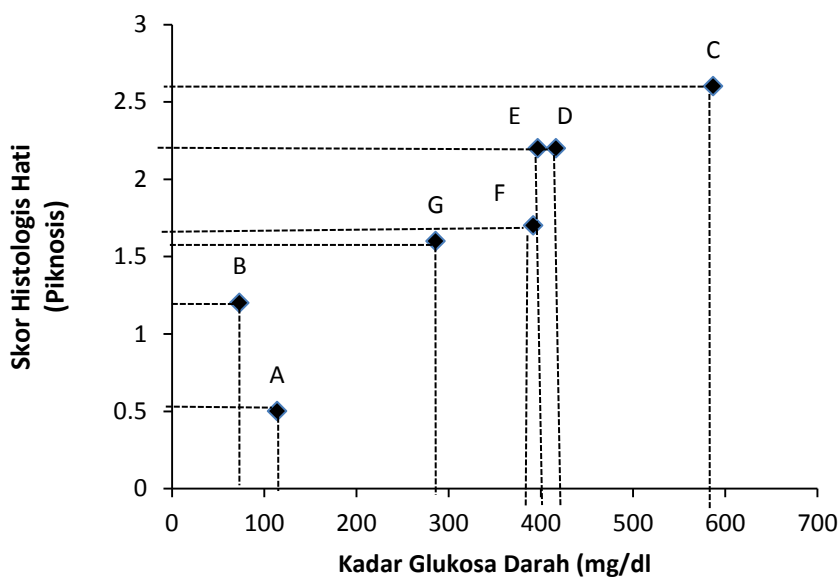
Gambar 13 menunjukkan rerata skor histologis tikus perlakuan D (tikus DM+gliklazid) lebih tinggi dibandingkan dengan perlakuan E (tikus DM+ekstrak 200 mg/kg BB), perlakuan F (tikus DM+ekstrak 400 mg/kg BB), dan G (tikus DM+ekstrak 600 mg/kg BB). Skor histologis rerata dari perlakuan D, E,F dan G = 2 yang artinya tergolong mengalami kerusakan sel moderat dan pada perlakuan E,F dan G pemberian florotanin dosis 200,400, dan 600 mg/kg BB terjadi penurunan kerusakan secara signifikan. Hal ini menunjukkan pemberian dosis gliklazid 30mg/kgBB dan florotanin *Sargassum* sp dosis 200,400, dan 600 mg/kg BB dapat mengurangi kerusakan sel pada kondisi moderat dan belum mampu mengurangi kerusakan sel hingga kondisi normal. Pencegahan DM dengan pemberian florotanin lebih baik digunakan karena sifatnya sebagai senyawa biaktif alami yang tidak memiliki efek samping. Ada kemungkinan bahwa pemberian dosis hingga 600 mg/kgBB belum mampu memperbaiki gambaran histopatologi hingga kondisi normal yaitu disebabkan waktu pemberian ekstrak florotanin sekitar 45 hari dan dosis yang diberikan belum efektif. Firdaus *et al*, (2010) mengemukakan bahwa pemberian ekstrak *Sargassum echinocarpum* dapat memperbaiki perubahan histopatologi hati.

#### 4.5 Korelasi Kadar Glukosa Darah dan Histopatologi Hati

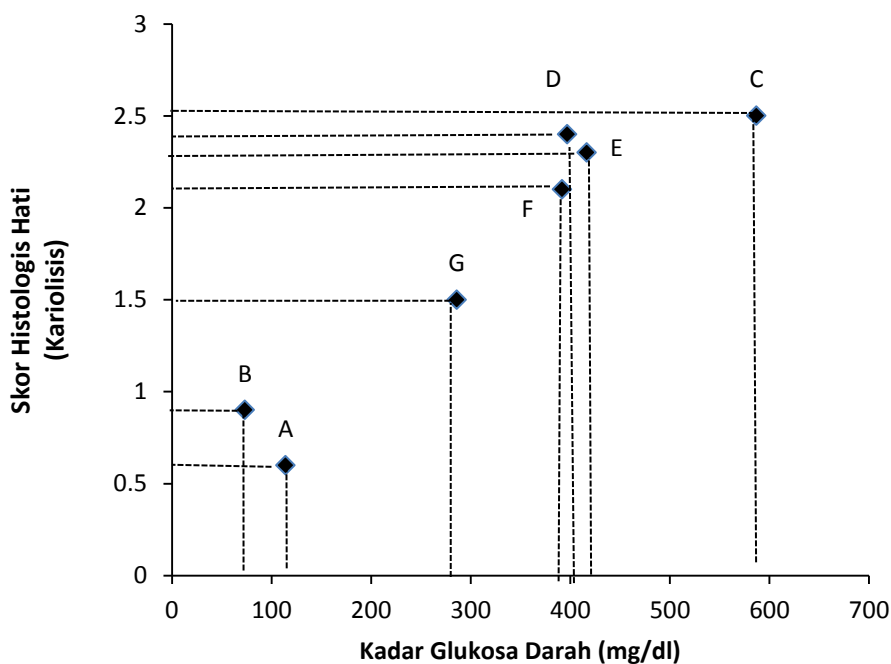
Histopatologi hati merupakan pengamatan kerusakan patologi hati (kerusakan struktur jaringan hati ) yang meliputi kerusakan sel nekrosis, piknosis, dan karioisis disebabkan adanya penumpukan radikal bebas dalam tubuh. Kondisi hiperglikemia dapat mempengaruhi histopatologi hati tikus (Endah, 2015). Hubungan antara kadar glukosa darah tikus coba pada akhir masa penelitian dengan histopatologi hati tikus dapat dilihat pada Gambar 14, 15, dan 16



**Gambar 14.** Korelasi Kadar Glukosa Darah dengan Skor Histopatologi (Nekrosis)



**Gambar 15.** Korelasi Kadar Glukosa Darah dengan Skor Histopatologi (Piknosis)



**Gambar 16.** Korelasi Kadar Glukosa Darah dengan Skor Histopatologi (Kariolisis)

Gambar 14, 15, dan 16 menunjukkan bahwa kadar glukosa memiliki korelasi dengan kerusakan pada histopatologi hati. Kadar glukosa darah

berpengaruh terhadap nekrosis, piknosis dan kariolisis pada histopatologi hati. Korelasi diatas terlihat bahwa semakin tinggi kadar glukosa darah semakin meningkat kerusakan sel baik, nekrosis, piknosis, dan kariolisis. Peningkatan glukosa darah disebabkan adanya kerusakan pada sel beta pankreas (Elazu *et al.*, 2015). Hiperglikemik dapat menyebabkan terjadinya produksi radikal bebas yang berlebihan atau ROS (*Reactive Oxygen Species*) dan akan memicu terjadinya stress oksidatif, hal ini terjadi karena radikal bebas dalam tubuh lebih banyak daripada antioksidan yang terdapat di dalam tubuh (Apriani, 2011). Stres oksidatif terbentuk akibat tubuh tidak mampu lagi mengendalikan kadar glukosa yang berlebih (Soviana *et al.*, 2014). Penumpukan radikal bebas dalam tubuh juga menyebabkan terjadinya kerusakan sel dalam tubuh.

#### 4.6 Analisis De Garmo

Analisis De Garmo adalah analisis yang digunakan untuk mengetahui perlakuan terbaik yang dilakukan dengan pengambilan keputusan dan mempertimbangkan tingkat kepentingan dari beberapa parameter uji dan dilakukan skoring. Pertimbangan parameter meliputi penyerapan florotanin, kadar glukosa darah, dan histopatologi hati. Penentuan perlakuan terbaik dilakukan untuk mengetahui dosis terbaik dari parameter uji. Data dan hasil analisis dapat dilihat pada Lampiran 6. Hasil menunjukkan setelah diberikan perlakuan florotanin ekstrak *Sargassum* sp kepada tikus coba DM diperoleh perlakuan terbaik yaitu pemberian dosis 600 mg/kgBB yang dapat dilihat pada Table 2.

Tabel 2. Data Nilai Hasil (NH) pada Analisis DeGarmo

Parameter	Perlakuan						
	A	B	C	D	E	F	G

Kadar glukosa darah	0,461	0,5	0	0,185	0,17	0,19	0,12
Histopatologi Hati	0,375	0,3	0	0,153	0,218	0,277	0,315
Penyerapan florotanin	0	0	0	0	0	0,091	0,173
Jumlah	0,836*	0,800	0	0,338	0,388	0,558	0,608*

\*) Nilai hasil tertinggi antar perlakuan dosis ekstrak *Sargassum* sp.

Tabel 2 menunjukkan bahwa perlakuan G (600 mg/kgBB) merupakan dosis ekstrak *Sargassum* sp nilai terbaik dibandingkan perlakuan E (200 mg/kgBB) dan F (400 mg/kgBB). Hal ini dapat dilihat dari total nilai hasil yang diperoleh perlakuan G lebih tinggi dibandingkan dengan perlakuan E dan F. Namun pada penelitian ini pemberian dosis 600 mg/kgBB belum mampu merunkan kadar glukosa darah tikus DM hingga kondisi normal. Herawati *et al*, (2012) menyatakan untuk perbaikan gambaran histopatologi mendekati normal membutuhkan dosis hingga 800 mg/kgBB. Ada kemungkinan pada penelitian ini pemberian dosis hingga 600 mg/kgBB belum mampu memperbaiki kadar glukosa darah dan gambaran histopatologi hingga kondisi normal disebabkan waktu pemberian ekstrak florotanin sekitar 45 hari dan dosis yang diberikan belum efektif.

# UNIVERSITAS BRAWIJAYA



## 5. KESIMPULAN DAN SARAN

### 5.1 Kesimpulan

Ekstrak florotanin *Sargassum* sp dosis 600 mg/kgBB mampu menurunkan kadar glukosa darah secara signifikan namun belum mampu menurunkan kadar glukosa darah dan histopatologi hati tikus coba mencapai kondisi normal.

### 5.2 Saran

Perlu dilakukan penelitian lanjutan pemberian ekstrak metanol *Sargassum* sp untuk pengujian histopatologi hati tikus diabetes melitus. dengan variabel

kerusakan yang berbeda, dosis yang lebih banyak dan waktu penelitian yang lebih lama.





## DAFTAR PUSTAKA

- Adam, S.H. 2016. Protective Effect of Aqueous Seed Extract of *Vitis Vinifera* Against Oxidative Stress, Inflammation dan Apoptosis in The Pancreas of Adult Male Rats with Diabetes Mellitus. *Biomedicine and Pharmacotherapy* 18 : 439–452
- Adji S, and Karyono SK. 2010. Prevention of Endothelial Dysfunction in Streptozotocin-Induced Diabetic Rats by *Sargassum echinocarpum* Extract. *Journal of Medical Indonesia*.19 : 32-35.
- Aisyah, T. S., dan Ari, A. 2013. Aktivitas Antioksidan Ekstrak Rumput Laut *Sargassum duplicatum*. *Jurnal Teknologi Pertanian*. 14 : 79-86.
- Akpan JO, Wright PH, dan Dulin WE. 1987. A Comparison of The Effects of Streptozotocin, N-methylnitrosourea and Alloxan on Isolated Islets of Langerhans. *Diabetes & Metabolism*. 3: 122-128.
- Alamudi, B., Maria, M.S.B dan Titik, T. 2013. Pengaruh Infiltrasi Nanogold Terhadap Kualitas Jaringan dan kuantitas Merkuri pada Otak Mencit (*Mus musculus*) setelah Terpapar Merkuri. *Unesa Journal of Chemistry*. 2 : 55-68.
- Amma, N. 2009. Streptozotocin Transpot And Cytotoxicity, Specific Enhancement in GLUT2-Expressing Cells. *Journal of Diabetes*. 43 ;1326-1333.
- Annisa, F., Viryawan, C., dan Santoso, F. 2014. Hipoksia Berpeluang Mencegah Kerusakan Sel  $\beta$  Pankreas pada Pasien Diabetes Melitus Tipe 2: Tinjauan Biologi Molekular. Fakultas Kedokteran. Universitas Indonesia. Jakarta.
- Anonymous. 2009. Pengelolaan Diabetes Melitus Tipe 1. Konsensus Nasional. Jakarta 1: 2-104.
- \_\_\_\_\_. 2010. Antidiabetika Oral. InfoPOM. Jakarta.
- \_\_\_\_\_. 2011. Diagnosis and Classification of Diabetes Mellitus. *Diabetes Care* . 34 : 62-69.
- \_\_\_\_\_. 2014. Situasi dan analisis diabetes. InfoDATIN Kementerian Kesehatan RI. Jakarta
- Apostolidis E dan Lee CM. 2012. Brown Seaweed-Derived Phenolic Phytochemicals and Their Biological Activities for Functional Food Ingredients with Focus on *Ascophyllum nodosum*. Handbook of Marine Macroalgae: Biotechnology and Applied Phycology. 2 : 284-299.
- Apriani N, Suhartono E, dan Akbar IZ. 2011. Korelasi Kadar Glukosa Darah dengan Kadar *Advanced Oxidation Protein Product* (AOPP) Tulang pada Tikus Model Hiperglikemia. *Journal of Medical Indonesia*. 11: 48-55.

- Arie M, Widodo FM, Tri WA. 2013. Kajian Rumput Laut *Sargassum* sp dalam Formulasi Minuman Berserat. *Jurnal Pengolahan dan Bioteknologi Hasil Perikanan*. 2 :23-31.
- Arikunto. 2002. *Prosedur Penelitian Suatu Pendekatan Praktek*. Jakarta: Rineka Cipta
- Asnani, A. 2012. Kajian Sifat Fisikokimia Ekstrak Rumput Laut Coklat *Sargassum duplicatum* Menggunakan Berbagai Pelarut dan Metode Ekstraksi, *Agrointek*. Universitas Trunojoyo, Madura.6 ;22-28.
- Asfar , NW. 2015. Uji Toksisitas Akut Alga Coklat (*Sargassum* sp) Terhadap Mencit (*Mus musculus*). Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Hasanuddin Makassar. Makssar.
- Aulanni'am, Saptono dan Herwati. 2013. Terapi Perasan Buah Labu Siam (*Sechium edule*) terhadap Aktivitas Protease dan Gambaran Histopatologi Kolon Tikus (*Rattus norvegicus*) IBD (*Inflammatory Bowel Disease*) Hasil Induksi Indometasin. Program kedokteran hewan universitas brawijaya.
- Aulia, M. 2013. Efek Antioksidan Ekstrak Etanol Daun Jambu Biji (*Psidium guajava* ) Pada Kelinci Yang Dibebani Glukosa. Fakultas Farmasi, Universitas Muhammadiyah Surakarta, Surakarta.
- Azis, T., Febrizky S., dan Mario A. 2014. Pengaruh Jenis Pelarut terhadap Persen *Yieldkaloid* dari Daun Salam India (*Murraya koeniggi*). *Jurnal Teknik Kimia* Vol. 20 Hal :1-6
- Bahadoran, Z., Parvin, M dan Fereidoun A. 2013. Dietary Polyphenols as Potential Nutraceuticals in Management of Diabetes: a review. *Journal of Diabetes & Metabolic Disorders*. 12: 43-48
- Baihakki., Feliatra dan Thamrin, W. 2014. Extraction of Polyphenol from *Sargassum* sp and its Entrapment in The Nanochitosan. Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan. Universitas Riau. Riau.
- Bierman, H., Chan TK., Yeung, R.T dan Chan, V. 1985. The Efficacy of Gliclazide Compared to Glibenclamide. *Journal of Medica*. 577 : 7-25.
- Casas, M.P., Victor, R.H., Patricia, P.L., Enma, C., Maria, T.L., Daniela, R., Eduarda, F dan Herminia, D. 2016. In Vitro Bioactive properties in Phlorotannins Recovered From Hydrothermal Treatment of *Sargassum muticum*. *Separation and Purification Technology*. 167 : 117-126.
- Coe SA, Miriam C, Mar A dan Lisa R. 2013. The Polyphenol-Rich Baobab Fruit (*Adansonia digitata* L.) Reduces Starch Digestion and Glycemic Response in Humans. *Journal of Nutrition*. 33:888-896.
- Corwin, E.J. 2009. *Buku Saku Patofisiologi*. Penerbit Buku Kedokteran EGC Jakarta.
- Dewi, D.R, Aulanni'am, dan Anna R. 2013. Studi Pemberian Ekstrak Rumput Laut Coklat (*Sargassum prismaticum*) Terhadap Kadar Mda Dan

Histologi Jaringan Pankreas pada Tikus *Rattus Norvegicus* Diabetes Melitus Tipe 1 Hasil Induksi Mid-Stz (*Multiple Low Dose* - Streptozotocin). *Kimia Student Journal*. 2 : 34-40

Diamita, A.A. 2009. Pengaruh Pemberian Minyak Wijen (*Sesamun indicum linn*) Dengan Cold Press Bertingkat Terhadap Kerusakan Histologis Lambung Mencit (*Mus musculus*) Yang Diinduksi Aspirin. Fakultas Kedokteran. Universitas Sebelas Maret, Semarang.

Dwinani, E. 2014. Antioksidan Alami dan Radikal Bebas: Potensi dan Aplikasinya dalam Kesehatan. Penerbit Kanisius. Yogyakarta

Ekawati, E.R. 2012. Hubungan Kadar Glukosa Darah terhadap Hypertriglyceridemia pada Penderita Diabetes Melitus. Prosiding Seminar Nasional Kimia Unesa.

Elazu, W.J., S. Ferber, J.H. Johnson, dan C.B. Newgard. 2015. Strepzotocin transport and cytotoxicity. Specific enhancement in GLUT2-expressing cells. *Journal of Diabetes*.43 :1326-1333.

Endah D. 2015. Efek Pemberian Sargassum sp Terhadap Histopatologi Hati dan Ginjal Tikus Hiperglikemik. *Jurnal Teknologi Hasil Pertanian Padjajaran*. 3 : 12-17

Erwin., Etriwati., Tri Wahyu, P. dan Sitarina, W. 2013. Ekspresi Insulin Pada Pankreas Mencit (*Mus musculus*) Diinduksi Dengan *Streptozotocin* Berulang. *Jurnal Kedokteran Hewan*. Fakultas Kedokteran Hewan. Universitas syiah Kuala, Banda Aceh. Vol 7 Hal : 23-32

Fataruba, Hariyun. 2010. Penelitian Kuantitatif dan Kualitatif. IPB Bogor

Fatimah RN. 2015. Diabetes Melitus Tipe 2: Review. *Journal Majority*. 4: 93-101

Fatmawati, K., Halim, S., dan Kartika S. 2012. Efek Proteksi Kombinasi Minyak Wijen pada Tikus Hiperglikemik. *Jurnal Hasil Pertanian*. Vol: 1 Hal: 14

Firdaus, M., Astawan, M., Muchtadi, D., Wresdiyati, T., Waspadji S, dan Karyono SK. 2010. Prevention of endothelial dysfunction in streptozotocin-induced diabetic rats by *Sargassum echinocarpum* extract. *Journal of Medical Indonesia*. 19 : 32-35

Firdaus, M. 2011. Phlorotanin : Struktur, Isolasi, dan Bioaktivitasnya. Malang: UB Press

Firdaus, M., Astawan, M., Muchtadi, D., Wresdiyati, T., Waspadji, S., Karyono, S.S. 2012. Toksisitas Akut Ekstrak Metanol Rumpun Laut Cokelat *Sargasum echinocarpum*. *Jurnal Pengolahan Hasil Perikanan Indonesia*. 15: 148 – 155

Firdaus, M. 2013. Indeks Aktivitas Antioksidan Ekstrak Rumpun Laut Coklat (*Sargassum aquifolium*). *Journal of Medical Indonesia*. 16 : 43-47.

Firmansyah, D.W. 2013. Diabetes Mellitus. Harrison's Principles of Internal Medicine. 14<sup>th</sup> Edition. New York: McGraw-Hill Companies, 2060-2080.

- Fitton, H. 2005. Marine *Algae* and Health: A Review of The Scientific and Historical Literature.
- Gamal, A.A.E. 2012. Biological Importance of Marine *Algae*. Handbook of Marine Macroalgae: Biotechnology and Applied Phycology.
- Ganda OP, Rossi AA, Like AA. 1976. Studies on streptozotocin diabetes. *Journal of Diabetes*. 25: 595-603.
- Ganong, W. F. 1996. Buku Ajar Fisiologi Kedokteran. 17<sup>th</sup> Edition. Penerbit Buku Kedokteran EGC. Jakarta
- Golay, A., Broquet, C., Chabot, V., Studer, S. dan Felber, JP.1984. Effets Métaboliques Du Gliclazide Chez Le Diabétique De Type II. Étude Par Calorimétrie Indirect. *Journal of Medical Wochenschr*. 114 : 61-264.
- Ghozali. 2013. Pengaruh Diet Tempe Terhadap Kesembuhan Luka Pada Tikus Diabetes Yang Diinduksi *Streptozotocin* (Stz). Fakultas Pertanian Institut Pertanian Bogor. Bogor. *Journal of Toxicol Pathology*. 17 : 357-362.
- Guyton AC, Hall JE. 2006. Textbook of medical physiology. *Journal Elsevier Inc: Pennsylvania*. 3 : 199-886.
- Hadiyanti, S., Harmayetty, dan Widyawati , I.Y. 2013. Kadar Glukosa Darah Mencit Diabetes Mellitus Paska Pemberian Model Latihan Isometrik. Fakultas Keperawatan. Universitas Airlangga. Surabaya.
- Handayani, T., Sutarno, dan Setyawan A. 2004. Analisis Komposisi Nutrisi RumpunLaut *Sargassum crassifolium*. *Journal Biofarmasi*.2 : 45-50
- Hardoko., Titri, S., Eveline., Mario, Y dan Stela, O. 2014. An In Vitro of Antidiabetic Activity of *Sargassum duplicatum* and *Turbinaria decurens* seaweed. *International Journal of Pharmaceutical Science Invention*. 3 : 62-69.
- Haligur, M., Topsakal S., dan Ozmen O. 2012. Early Degenerative Effects of DiabetesMellitus on Pancreas, Liver, and Kidney in Rats: An Immunohistochemical Study.*Experimental Diabetes Research*. 12 : 1-5
- Henrichs, H.R. 1988. Sulfonylurea/Insulin Combination in Diabetes Melitus Following Secondary Failure to Tablets in Insulin/ Sulfonylurea Combination Therapy in Type 2 Diabetes. Munchen.
- Herawati, A. 2009. Kandungan Fenol Total Ekstrak Mengkudu. Universitas Indonesia. Depok
- Hou, S. 2011. The Hypoglycemic Activity of *Lithocarpus polystachyus* Rehd. Leaves in The Experimental Hyperglycemic Rats. *Journal of Ethnopharmacology*. 13 :142– 149
- Huang, M. C., K. Smitha, dan K. Ramadasan, 2015. Anti-diabetic activity of green tea polyphenols and their role in reducing oxidative stress in experimental diabetes. *Journal of Ethnopharmacol*. 83 : 109-116

- Jeon, Y.J. Eveline , Gelgel, K.T.P dan 2013. Impact of Diabetes on Oncological Outcome of Colorectal Cancer Patients: Colon vs. Rectal Cancer. *Journal of Medical*.8 : 1 – 8
- Kadi, A. 2014. Beberapa Catatan Kehadiran Marga *Sargassum* di Perairan Indonesia. *Jurnal Oseano*.4 : 19-29
- Kang, S.M., Heo, S.J. Kim, K.N., Lee S.H., Yang, H.M. 2013. Molecular docking studies of a phlorotannin, dieckol isolated from *Ecklonia cava* with tyrosinase inhibitory activity. *Biology medical chemistry*.20 : 311 – 316
- Karunia, BP., Winarso, D. dan Trisunuwati, P. 2014. The Effect of Curcuma Longa L Ethanol Extract as a Diabetes Mellitus 1 Therapy toward Triglyceride Level and Aorta Histopathology Description of Streptozotocin Induced Rat. Program Studi Kedokteran Hewan. Universitas Brawijaya
- Katsumata K, Katsumata K, Katsumata Y. 1992. Protective effect of diltiazem hydrochloride on the occurrence of alloxan- or streptozotocin-induced diabetes in rats. *Journal of Medical*. 24: 508-510.
- Katzung, B.G. 2012. Basic and Clinical Pharmacology. 3<sup>st</sup> Edition, New York. 5: 672-709
- Kendran A.A.S., Gelgel, K.T.P., Pertiwi, N.W.L., Anthara, M.S., Dharmayudha, A.A.G.O., dan Anggraeni, L.D. 2013. Toksisitas Ekstrak Daun Sirih Merah pada Tikus Putih Penderita Diabetes Melitus. *Jurnal Veteriner*.14 Hal : 527 – 533
- Kikuzaki H. dan Nakatami N. 1993. Antioxidant effect of some ginger constituents. *Journal of Food Science*. 58 : 1407-1410.
- Kim, S.N., Woojung, L., Gyu, U.B dan Yong, K.K. 2012. Anti-Diabetic and Hypolipidemic Effects of *Sargassum yezoense* in db/db Mice. *Biochemical and Biophysical Research Communications*. 424 : 675-680.
- Koivikko R, J Loponen, Honkanen, Jormalainen V. 2008. Contents of soluble, cell-wall-bound and exuded phlorotannins in the brown alga *Fucus vesiculosus*, with implications on their ecological function. *Journal of Chemical Ecology* .31: 195-212.
- Labonte, M.E., Patrick C., Andre J.T., Jean C.H., Valery L., dan Benoit L. 2013. Eicosapentaenoic and Docosahexaenoic Acid Supplementation and Inflammatory Gene Expression in The Duodenum of Obese Patients with Type 2 Diabetes. *Nutrition Journal*. 12 : 1-5.
- Leikert, JF., Rathel, TR., Wohlfart, P., Cheynier, V., Vollmar, AM. dan Dirsch, VM. 2016. Red Wine Polyphenols Enhance Endothelial Nitric Oxide Synthase Expression and Subsequent Nitric Oxide Release From Endothelial Cells. *Circulation*. 106 : 1614-1617.
- Lesson, C. R., Leeson, T.S., dan Paparo, A.A. 1990. *Textbook Of Histology*, 5<sup>th</sup> Ed. Buku Kedoktean EGC. Jakarta

- Liu, L., Michael, H., Stephen, M dan Symon, A.D. 2012. Towards Better Understanding of Medicinal Uses of The Brown Seaweed *Sargassum sp* in Traditional Chinese Medicine: A Phytochemical Pharmacological Review. *Journal of Ethnopharmacology*. 142 : 591-619
- Maeda, H. 2013. Anti-Obesity and Anti-Diabetic Activities of Algae. Woodhead Publishing Limited. Cambridge. UK
- Mardiah. 2015. Pengaruh Sari Rosela Ungu (*Hibiscus sabdariffa* Linn) terhadap Beberapa Penanda Diabetes Melitus pada Tikus Sprague dawley. Tesis. Sekolah Pascasarjana Institut Pertanian Bogor. Bogor.
- Marianingsih, P., Evi, A dan Teguh, S. 2013. Inventarisasi dan Identifikasi Makroalga di peraran Pulau Untung Jawa. Prosiding Semirata FMIPA, Universitas Lampung.
- Miftakhul, R. 2015. Hubungan Antara Efikasi Diri dan Dukungan Sosial dengan Manajemen Diri pada Penderita Diabetes Melitus Tipe 2 di Wilayah Kerja Puskesmas Naggalo Padang Tahun 2015. Universitas Andalas. Padang.
- Macakova, G. F., Suzuki M, Satsu H, Arai S, Hara Y, dan Suzuki K. 2014. Green Tea Polyphenols Inhibit the Sodium-Dependent Glucose Transporter of Intestinal Epithelial Cells by a Competitive Mechanism. *Journal of Agriculture Food Chemistry*. 48: 5618–5623.
- Mohamed, S., Siti, N.H dan Hafeedza, A.R. 2012. Seaweeds: A Sustainable Functional Food For Complementary and Alternative Therapy. *Journal Trends in Food Science and Technology*. 23 : 83-96.
- Motshakeri, M., Mahdi, E., Yong, M.G., Hemm, H.O., Mohd, H.B dan Suhaila, M. 2014. Effects of Brown Seaweed (*Sargassum polycystum*) Extracts on Kidney, Liver and Pancreas of type 2 Diabetic Rat Model. *Evidence Based Complementary and Alternative Medicine*. 5 : 1 – 11
- Mukhopadhyay, N. 2001. Effect of Fermentation on Apparent Total and Nutrient Digestibility of Sesame (*sesamum indicum*) Seed Meal in Rohu, Labeo Rohita (hamilton) Fingerlings. *Acta Ichthyol Piscat*. 3 : 19-28.
- Mulja, H.M dan Suharman. 1995. Analisis Instrumental. Airlangga University Press, Surabaya. 12 : 65-80
- Nagarchi K, Ahmed S, Sabus A, Sabeab SH. 2015. Effect of Streptozotocin on Glucose Levels in Albino Wistar Rats. *Journal of Pharmaceutics and Pharmacology*. 7 : 67-69
- Naidoo, P., Virendra R., dan Layla M. 2006. Effects of Gliclazide Dose Escalation on Postprandial Hyperglycemia in Type 2 Diabetes Mellitus: A Prospective, Open-Label, Case-Controlled, Dose-Escalation Study. *Current Therapeutic Research*. 67 : 2
- Naik, S.R dan Ganesh, R.K. 2013. Development and Discovery Avenue in Bioactive Natural Products for Glycemic Novel Therapeutics. *Studies in Natural Products Chemistry*. 39 : 56-65

- Nakai, D., Diana Safitri., dan Ahmad DF. 2003. Studi Metode dan Lama Pengeringan terhadap Ekstrak Minyak Wijen. *Jurnal Bioproses*. 2 : 14 – 16
- Ndraha, S. 2014. Diabetes Melitus Tipe 2 dan Tatalaksana Terkini. *Medicinus. Journal of Medical*. 7: 9 – 16
- Natzir, M. 1988. Metode Penelitian. Salemba Empat, Jakarta.
- Nawaly, H., Susanto, A. B., dan Uktolseja, J. L. A. 2013. Senyawa Bioaktif Dari Rumput Laut Sebagai Antioksidan. Seminar Nasional Pendidikan Biologi. Fakultas Keguruan dan Ilmu Pendidikan .Universitas Negeri Solo. Solo.
- Nugraha, Agung. M., Agustin, Wulan. S., Dewa, Ayu. S. 2014. Kadar LDL dan HDL Dalam Darah Model Tikus periodontitis (*Blood Level of LDL and HDL in Periodontitis Rat Model*). Fakultas Kedokteran Gigi, Universitas Jember. Jember.
- Nugroho, A.N. 2006. Hewan Percobaan Diabetes Melitus: Patologi dan Mekanisme Aksi Diabetogenik. Laboratorium Farmakologi dan Toksikologi. Fakultas Farmasi Universitas Gadjah Mada, Yogyakarta.
- Park, M.H., Young, H.N dan Ji-Sook, H. 2015. *Sargassum coreanum* Extract Alleviates Hyperglycemia and Improves Insulin Resistance in db/db Diabetic Mice. *Nutrition Research and Practice*.
- Pasaribu F, Sitorus P, Bahri S. 2012. Uji ekstrak etanol kulit buah manggis (*Garcinia mangostana*) terhadap penurunan kadar glukosa darah. *Journal of Pharmaceutics and Parmacology* 1: 1-8.
- Pertiwi NWL, Anthara MS, Dharmayuda AAGO, Anggraeni LD. 2013. Toksisitas ekstrak daun sirih merah pada tikus putih penderita diabetes melitus. *Jurnal Veteiner* 14 : 427-533.
- Pamungkas TA, Sunaryo, Ridlo A. Pengaruh Suhu Ekstraksi Terhadap Kualitas Natrium Alginat Rumput Laut *Sargassum* sp. *Journal of Marine Research* 2 : 105-118
- Pierro MN, Nzaro GM, Njagi JM. 2014. Diabetes mellitus – a devastating metabolic disorder. *Asian Journal of Biomedical and Pharmaceutical Science*. 4 : 1-7.
- Porth, N dan Martin .2008. Hewan Percobaan Diabetes Melitus : Patologi Dan Mekanisme Aksi Diabetogenik. *Biodiversitas*. 7 :378-382
- Prameswari, O. M., Widjanarko, S. B. 2014. Uji Efek Ekstrak Air Daun Pandan Wangi Terhadap Penurunan Kadar Glukosa Darah Dan Histopatologi Tikus Diabetes Mellitus. *Jurnal Pangan dan Agroindustri*. 2 : 16-27.
- Prameswari, O.M dan Simon, B.W. 2014. Uji Efek Ekstrak Air Daun Pandan Wangi Terhadap Penurunan Kadar Glukosa Darah dan Histopatologi Tikus Diabetes Melitus. *Jurnal Pangan dan Agroindustri* .2 :16-27.

- Prasath, G. and Subramanian, S. 2013. Fisetin, A Tetra Hydroxy Flavone Recuperates Antioxidant Status And Protects Hepatocellular Ultrastructure From Hyperglycemia Mediated Oxidative Stress In *Streptozotocin* Induced Experimental Diabetes In Rats. *Food and Chemical Toxicology*. 59 : 249–255.
- Prasad, S.N., Bharath, M.M.S dan Muralidhara. 2016. Neurorestorative Effects of Eugenol, a spice Bioactive : evidence in Cell Model and its Efficacy as an Intervention Molecule to Abrogate Brain Oxidative Dysfunction in The Streptozotocin Diabetic Rat. *Neurochemistry International*. 95 : 24-36
- Pratama, DM., Yuliawati, KM. dan Kodir, RA. 2015. Identifikasi senyawa antioksidan dalam rumput laut *Sargassum duplicatum* J.G. Agardh dari Pantai Ujung Genteng. *Prosiding Penelitian SpeSIA Unisba*. 2 : 429-434.
- Pratt, J., 1999. *Sargassum*, <http://www.mbari.org/staff/conn/botany/browns/jacque/default.htm>. 20 September 2011.
- Putranti, R. 2013. Skrining Fitokimia dan Aktivitas Antioksidan Ekstrak Rumput Laut *Sargassum duplicatum* dan *Turbinaria ornata* Dari Jepara. Tesis. Fakultas Perikanan Dan Ilmu Kelautan Universitas Diponegoro Semarang
- Qiang, X. 1998. Gliclazide Inhibits Diabetic Neuropathy Irrespective of Blood Glucose Levels in Streptozotocin-Induced Diabetic . *Journal of Biomedical and Pharmaceutical Science*. 47 : 977-981
- Rachmawati, A. 2009. Kandungan Fenol Total Ekstrak Mengkudu. Universitas Indonesia. Depok
- Ridwan, A., Raden, T. Astrian., dan Anggraini, B. 2012. Pengukuran Efek Antidiabetes Polifenol (*Polyphenol 60*) Berdasarkan Kadar Glukosa Darah dan Histopatologi Pankreas Mencit (*Mus musculus* L.) S.W. Jantan yang Dikondisikan Diabetes Melitus. *Jurnal Matematika & Sains. Sekolah Tinggi Ilmu dan Teknologi Hayati*. Institut Teknologi Bandung. Bandung.
- Rizal, S., Arif, R.S dan siti, A. 2014. Perbedaan Gambaran Histopatologi Otak Tikus Wistar Akibat Paparan Arus Listrik pada Media Air Tawar dan Air Laut. *Jurnal Media Medika Muda*. Fakultas Kedokteran. Universitas Diponegoro. Semarang.
- Robbins, HW., Jellinger, PS., Davidson, JA., Einhorn, D., Garber, AJ., Grunberger, G., Handelsman, Y., Lebovitz, H., Levy, P., Moghissi, ES. dan Schwartz, SS. 2002. Statement by an American Association of Clinical Endocrinologists/American College of Endocrinology Consensus Panel on Type 2 Diabetes Mellitus: An Algorithm for Glycemic Control. *Endocrine Practice* .15 :6-11.
- Rohimat, Ita W, Agus T. 2014. Aktivitas Antioksidan Ekstrak metanol Rumput Laut Coklat (*Turbinaria conoides* dan *Sargassum cristaefolium*) yang Dikoleksi dari Pantai Rancabuaya Garut Jawa Barat. *Journal of marine Research* 3 :304-313.



- Rohman MS. 2007. Pengaruh Pemberian Ekstrak Buah Mengkudu (*Morinda citrifolia* L.) Terhadap Aktivasi NF- $\kappa$ B dan Ekspresi protein (TNF- $\alpha$ , ICAM-1) pada kultur sel endotel (HUVECs) dipapar Ox-LDL. *Journal Experiment Life Science*. 1 :48 – 55
- Rosdiana, Anna; dan Rahmah, Nur Lailatul. 2013. Potensi Fraksi Etanol dan Etil Asetat Rumput Laut Coklat (*Sargassum duplicatum* Bory) Terhadap Penurunan Kadar Malondealdehid dan Perbaikan Gambaran Histologis Jejunum Usus Halus Tikus IBD (Inflammatory Bowel Disease). *Jurnal Ilmiah Kedokteran Hewan*. 4 :49 – 55
- Samee H, Li ZX, Lin H, Khalid J, dan Guo, YC. 2009. Antiallergic effects of ethanol extracts from brown seaweeds. *Journal of Zhejiang University Science B* 10 :147-153.
- Sang KJ. 2000 . Inhibition of Alpha glukocidase and Amylase by Luteolin, Flavonoid. *Journal Bioscience Biotechnol Biochem*. 64 : 2458-2461.
- Santoso, A. G.2003. Teknologi Bahan Alami. Bandung. *Journal ITB Press*. 21 : 38-39
- Sari, R.B.B. 2011. Pengaruh Ekstrak Binahong terhadap Histopatologi Pankreas Udang *Vannamei*. *Jurnal of Aquaculture Managemen and Technologi*. 2 : 26-33
- Sarkar, A., Tiwari, A., Bhasin, S.P., Mitra , M.2011. Pharmacological and pharmaceutical profile of glikazide. *Journal of Pharmacologi* .1: 11-19.
- Scalbert, A., 1991. Antimicrobial Properties of Tannins. *Phytochem*. 30 : 3875–3883.
- Scuster F. 1992. The Effects of Vitamin E on Gastric Ulcers and Gastric Mucosal Barrier in Stress Induced Rats. Tr. *Journal of Medical Sciences*. 3 : 19-21.
- Septiana, A.T., Asnani, A. 2012. Kajian Sifat Fisikokimia Ekstrak Rumput Laut Coklat *Sargassum duplicatum* Menggunakan Berbagai Pelarut dan Metode Ekstraksi, Agointek. Universitas Trunojoyo, Madura.
- Septiana, A.T., dan Asnani, A. 2013. Aktivitas Antioksidan Ekstrak Rumput Laut *Sargassum duplicatum*. *Jurnal Teknologi Pertanian* 14 : 79-86
- Senthil, SL., Kumar, TV., Geetharamani, D., dan Maruthupandi, T. 2012. Screening Of Seaweeds Collected From Southeast Coastal Area Of India For A-Amylase Inhibitory Activity, Antioxidant Activity And Biocompatibility. *International Journal of Pharmacy and Pharmaceutical Sciences*.5 : 240-244
- Shofia, V., Aulani'am dan Chanif, M. 2013. Study Pemberian Ekstrak Rumput Laut Coklat (*Sargassum prismaticum*) Terhadap Kadar Malondialdehid dan Gambaran Histologi jaringan Ginjal Pada Tikus (*rattus norvegicus*) Diabetes Melitus Tipe 1. *Kimia Student Journal*. 1 : 119-125.

- Soegondo, S. 2011. Penatalaksanaan diabetes melitus terpadu. Balai Penerbit FK UI. Jakarta
- Soviana, E., Rachmawati B., dan Suci N. 2014. Pengaruh Suplementasi *B-Carotene* terhadap Kadar Glukosa Darah dan Kadar Malondialdehida pada Tikus *Sprague dawley* yang Diinduksi *Streptozotocin*. *Jurnal Gizi Indonesia* 2 : 41-46
- Suarsana, I.N., Wresdiyati, T dan Suprayogi, A. 2010. Respon Stres Oksidatif dan Pemberian Iso flavon terhadap Aktivitas Enzim Superoksida Dismutase dan Peroksidasi Lipis pada Hati Tikus. *Journal of Medical* . 18: 45-54.
- Suarsana, I.N., Utama I., Agung I., dan Suartini A. 2011. Pengaruh Hiperglikemia dan Vitamin E pada Kadar Malonaldehida dan Enzim Antioksidan Intrasel Jaringan Pankreas Tikus. *Majalah Kesehatan Bandung*. 43 : 2
- Subramanian S. 2013. Fisetin, A Tetra Hydroxy Flavone Recuperates Antioxidant Status and Protects Hepatocellular Ultrastructure from Hyperglycemia Mediated Oxidative Stress in *Streptozotocin* Induced Experimental Diabetes in Rats. *Food and Chemical Toxicology* 59 : 249–255
- Sufriyana. 2011. Stres Oksidatif dan Peran Antioksidan pada Diabetes Melitus. Fakultas Kedokteran Universitas Lambung Mangkurat, Banjarbaru, Kalimantan Selatan. *Journal of Medical*. 5 :87-89
- Suleria, H.A.R., Fellow, R.H.D., Glenda, G., Paul, M dan Simone, A.O. 2016. Marine Bioactive Compound and Health Promoting Perspectives; Innovation Pathways for Drug Discovery. *Journal Trends in Food Science and Technology*. 50 : 23 – 32
- Suparmi Sahri, A. 2009. Mengenal potensi rumput laut: Kajian Pemanfaatan Sumber Daya Rumput Laut dari Aspek Industri dan Kesehatan. Sultan Agung. Makassar
- Surakhmad, Winarno. 1994. Pengantar Penelitian Ilmiah dan Dasar Metode Teknik, Transito. Bandung. syndrome. *Journal of American Metabolic*. 290 : 3000-3002.
- Susanto AB. 2006. Strategi Pengembangan Rumput Laut pada SMK dan Community College. Pros. Seminar Riptek Kelautan Nasional.
- Susrini. 2003. Pengantar Teknologi Pengolahan Susu. Fakultas Peternakan. Universitas Brawijaya
- Szkudelski T. 2001. The Mechanism of Alloxan and Streptozotocin Action in B Cells of the Pancreas. *Journal of Medical*.50 : 536-546.
- Thomas, N.V dan Kim, S.K. 2012. Health Beneficial Aspects of Phloroglucinol Derivatives from Marine Brown Algae. Handbook of Marine Macroalgae: Biotechnology and Applied Phycology.

- Tjitrosoepomo, G. 2001. Taksonomi tumbuhan: *Schizophyta, Thallophyta, Bryophyta dan Pteridophyta*. Gajah Mada University Press. Yogyakarta. 2 :12-17
- Uktolseja, J. L. A. 2013. Senyawa Bioaktif Dari Rumput Laut Sebagai Antioksidan. Seminar Nasional Pendidikan Biologi. Fakultas Keguruan dan Ilmu Pendidikan .Universitas Negeri Solo. Solo.
- Ullah, A., Khan A., dan Khan I. 2015. Diabetes mellitus and Oxidative Stress A Concise Review. *Saudi Pharmaceutical Journal* .2 :1-8
- Umar I., Jawi, dan Linawati N. 2014. Pencegahan Gangguan Fungsi Ginjal Karena Stres Oksidatif pada Tikus Diabetes dengan Ubi Jalar Ungu. *Jurnal Veteriner* .15 : 274-280
- Umami Z, Nurdiana, dan Nugroho FA. 2015. Efek Pemberian Susu Sapi Bubuk terhadap Kadar Serum HDL (*High Density Lipoprotein*) pada Tikus Putih (*Rattus norvegicus*) Galur Wistar Model Diabetes Melitus Tipe 2. *Jurnal Gizi Pangan*.10 : 1 – 8
- Unger RH dan Foster DW. 1992. Diabetes Mellitus, In Wilson, J.D. and Foster, D.W., *Endocrinology*. London: W.B Sanders Company. A Division of Harcourt Brace and Company: 3 : 1255-1317.
- Wahyudi, D. 2005. Kandungan Bioaktif Minyak Wijen. *Jurnal Teknologi Hasil Pertanian Universitas Padjajaran*. 1 : 34
- Wijesekara, I., Mahinda, S., Yong, X.L dan Se-Kwon, K. 2012. Functional Ingredients From Marine Algae as Potential Antioxidants in The Food Industry. *Handbook of Marine Macroalgae: Biotechnology and Applied Phycology*.
- Winarno. 1994. Pengantar Penelitian Ilmiah dan Dasar Metode Teknik, Transito. Bandung. syndrome. *Journal of American Metabolic* . 290 : 3000-3002.
- Wong, SHY. 1987. Lipoperoxides in Plasma as Measured of Liquid Chromatographe Separation of Malonedialdehyde-Thiobarbituric Acid Adduct. *Clinical chemistry*. 33 :214.
- Wulandari, F.A. 2012. Gliclazide Pharmacokinetics in The Eldery Excerpta Medica. *Journal of Medical*. 23 : 198-210.
- Yoon J.W. 2005. Autoimmune Destruction Of Pancreatic Beta Cell. *Annals New York Academy Of Sciences*. 4 : 200-211
- Yudhi, A. 2012. Efek Hipoglikemik Ekstrak daun Murbei (*Morus multicaulis*) Terhadap Kadar Glukosa Darah Tikus DM. Institut Teknologi Bogor. Bogor
- Zamestani M., Rafraf M., dan Jafarabadi M. 2015. Chamomile Tea Improves Glycemic Indices and Antioxidants Status in Patients with Type 2 Diabetes Mellitus. *Jurnal Nutrition*. 1: 1 – 12

Zubaidah, E. dan Widiyana, S. 2016. Perbandingan Cuka Salak dan Metformin terhadap Penurunan Kadar Glukosa Darah dan Histopatologi Tikus Diabetes Mellitus. *Jurnal pangan dan Agroindustri*. 4 : 89 – 99

Zulkarnain. 2013. Perubahan Kadar Glukosa Darah Puasa Pada Tikus Sprague Dawley Yang Diinduksi Streptozotocin Dosis Rendah. Fakultas Kedokteran. Universitas Syah Kuala, Banda Aceh.



## LAMPIRAN

### Lampiran 1 Keterangan kelaikan etik penelitian



**KOMISI ETIK PENELITIAN  
UNIVERSITAS BRAWIJAYA**

**KETERANGAN KELAIKAN ETIK  
"ETHICAL CLEARENCE"**

No: 510-KEP-UB

**KOMISI ETIK PENELITIAN (ANIMAL CARE AND USE COMMITTEE)  
UNIVERSITAS BRAWIJAYA  
TELAH MEMPELAJARI SECARA SEKSAMA RANCANGAN PENELITIAN YANG  
DIUSULKAN, MAKA DENGAN INI MENYATAKAN BAHWA:**

**PENELITIAN BERJUDUL :** EKSPLOKASI POLIFENOL RUMPUT LAUT COKLAT (*Sargasum sp*) SEBAGAI ANTIKOMPLIKASI MAKRO DAN MIKRO VASCULAR DIABETES MELITUS

**PENELITI :** MUHAMAD FIRDAUS

**UNIT/LEMBAGA/TEMPAT :** UNIVERSITAS BRAWIJAYA

**DINYATAKAN :** LAIK ETIK

Malang, 2 Februari 2016

Ketua Komisi Etik Penelitian

Universitas Brawijaya



Prof. Dr. drh. Aulanni'am, DES.

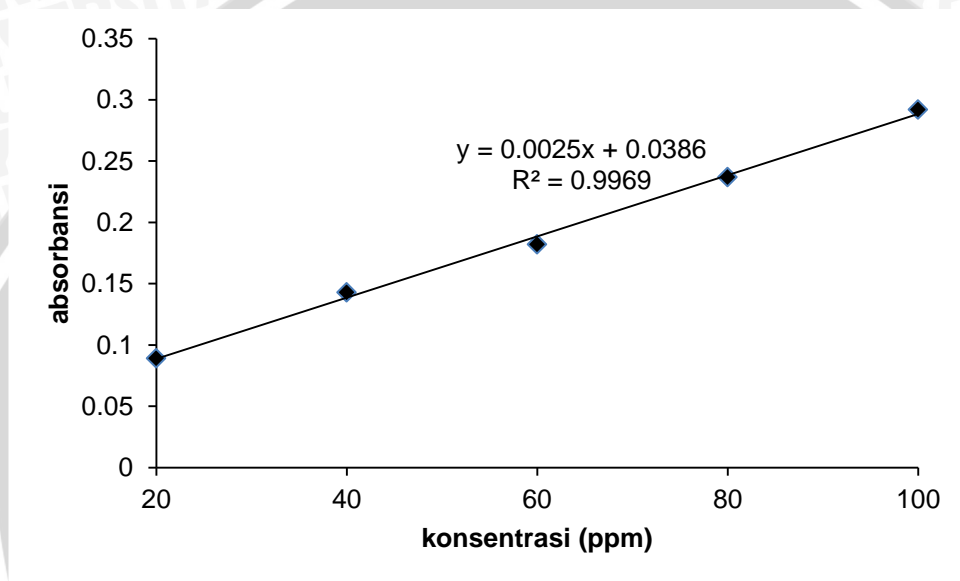
NIP. 19600903 198802 2 001

Lampiran 2 Kurva standar floroglusinol, data kadar florotanin *Sargassum* sp dan data penyerapan florotanin pada tikus coba

Data pengamatan absorbansi floroglusinol

Konsentrasi (ppm)	0	20	40	60	80	100
Absorbansi	0,049	0,089	0,143	0,182	0,237	0,292

Persamaan hubungan linear antara konsentrasi floroglusinol dan absorbansi



Data kadar florotanin *Sargassum* sp

Ulangan	Absorbansi	Konsentrasi (mg/kg)	Rerata (mg/kg sampel)	Rerata (setara $\mu\text{g}$ floroglusinol /mg ekstrak)
1	1,566	610,96	674,96	0,67496
2	1,924	754,16		
3	1,688	659,76		

Data penyerapan florotanin pada tikus coba

Perlakuan	Ulangan	Berat Badan Tikus (g)	Dosis input (mg)	Kadar Florotanin			Terserap (%)	Rerata (%)
				Input mg/dosis	Output mg/dosis	Terserap mg/dosis		
E (dosis ekstrak 200 mg/kg BB)	1	219	43,8	29,56	0,36	29,20	98,78214	98,83968
	2	211	42,2	28,48	0,36	28,12	98,73596	
	3	234	46,8	31,59	0,32	31,27	98,98702	
	4	210	42	28,35	0,35	28,00	98,76543	
	5	228	45,6	30,78	0,33	30,45	98,92788	
F (dosis ekstrak 400 mg/kg BB)	1	215	86	58,05	0,19	57,86	99,67270	99,66513
	2	204	81,6	55,08	0,21	54,87	99,61874	
	3	239	95,6	64,53	0,17	64,36	99,73656	
	4	203	81,2	54,81	0,19	54,62	99,65335	
	5	209	83,6	56,23	0,20	56,03	99,64432	
G (dosis ekstrak 600 mg/kg BB)	1	223	133,8	90,08	0,23	89,85	99,74467	99,74784
	2	205	123	82,81	0,21	82,60	99,74641	
	3	204	122,4	82,39	0,23	82,16	99,72084	
	4	216	129,6	87,26	0,22	87,04	99,74788	
	5	258	154,8	104,26	0,23	104,03	99,77940	

**DESCRIPTIVE**

	N	Mean	Std. Deviation	95% Confidence Interval for Mean		Minimum	Maximum
				Lower Bound	Upper Bound		
E	5	9.8839686	.11075882	98.7021608	98.9772112	98.73596	98.98702
F	5	9.9665134	.04439427	99.6100112	99.7202568	99.61874	99.73656
G	5	9.9747840	.02083944	99.7219644	99.7737156	99.72084	99.77940
Total	15	9.9417553	.42930768	99.1798107	99.6552960	98.73596	99.77940

**ANOVA**

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	2.522	2	1.261	257.784	.000
Within Groups	.059	12	.005		
Total	2.580	14			

**Uji Lanjut Duncan 5%**

Perlakuan	N	Subset for alpha = 0.05	
		1	2
1	5	9.8839686E1	
2	5		9.9665134E1
3	5		9.9747840E1
Sig.		1.000	.086

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.



Lampiran 3 Data dan analisis kadar glukosa darah

Data kadar glukosa darah hari ke-45

Perlakuan	Ulangan				
	1	2	3	4	5
A	116	129	123	103	99
B	68	71	78	66	83
C	595	598	586	570	585
D	400	412	413	359	400
E	397	402	445	412	427
F	394	400	386	404	375
G	256	275	297	297	305

Descriptives

Glukosa Darah

	N	Mean	Std. Deviation	Std. Error	95% Confidence Interval for Mean		Min	Max
					Lower Bound	Upper Bound		
A	5	114.00	12.806	5.727	98.10	129.90	99	129
B	5	73.20	7.120	3.184	64.36	82.04	66	83
C	5	586.80	10.941	4.893	573.22	600.38	570	598
D	5	396.80	22.039	9.856	369.44	424.16	359	413
E	5	416.60	19.578	8.756	392.29	440.91	397	445
F	5	391.80	11.584	5.181	377.42	406.18	375	404
G	5	286.00	20.149	9.011	260.98	311.02	256	305
Total	35	323.60	170.369	28.798	265.08	382.12	66	598

ANOVA

Kadar Glukosa Darah

	Sum of Squares	Df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	979894.000	6	163315.667	655.661	.000
Within Groups	6974.400	28	249.086		
Total	986868.400	34			



Uji Lanjut Duncan

Perlakuan	N	Subset for alpha = 0.05					
		1	2	3	4	5	6
B	5	73.20					
A	5		114.00				
G	5			286.00			
F	5				391.80		
D	5				396.80	396.80	
E	5					416.60	
C	5						586.80
Sig.		1.000	1.000	1.000	.620	.057	1.000

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.



Lampiran 4 Data Pengamatan Skor Histologis Hati

**Data Pengamatan Skor Histologis Hati yang Mengalami Nekrosis**

Perlakuan	Ulangan					Jumlah	Rerata	SD
	1	2	3	4	5			
K-	0,5	0,4	0,4	0,5	0,4	2,2	0,4	0,16733
K-OHO	1,2	1,1	0,9	1,2	1	5,4	1,1	0,14142
K+	2,8	2,8	2,6	2,4	2,7	13,3	2,7	0,16733
K+OHO	2	2,2	2,3	2,4	1,9	11,3	2,3	0,26833
PA	2,8	2,4	2,5	2,2	2,3	11,3	2,3	0,26833
PB	1,8	1,6	1,6	2	1,8	8,8	1,8	0,24495
PC	1,4	1,6	1,4	1,3	1,7	7,4	1,5	0,08944

**Kruskal-Wallis Test**

Perlakuan	N	Mean Rank
K-	5	5,20
K-OHO	5	9,40
K+	5	28,20
K+OHO	5	31,50
PA	5	23,10
PB	5	17,90
PC	5	10,70
Total	35	

**Test Statistics**

	Perlakuan
Chi-Square	29,673
Df	6
Asymp. Sig.	.000

### Data Pengamatan Skor Histologis Hati yang Mengalami Piknosis

Perlakuan	Ulangan					Jumlah	Rerata	SD
	1	2	3	4	5			
K-	0,5	0,4	0,4	0,5	0,6	2,4	0,5	0,17889
K-OHO	2	1	1	1	1	6	1,2	0,10954
K+	2,7	2,5	2,6	2,5	2,5	12,8	2,6	0,08944
K+OHO	2,1	2,2	1,9	2,4	2,3	10,9	2,2	0,16733
PA	2	2	2,4	2,2	2,4	11	2,2	0,08944
PB	1,6	1,7	1,6	1,8	1,6	8,3	1,7	0,08944
PC	1,2	1,6	1,6	1,7	1,7	7,9	1,6	0,00000

### Kruskal-Wallis Test

Perlakuan	N	Mean Rank
K-	5	7,20
K-OHO	5	16,20
K+	5	32,20
K+OHO	5	24,40
PA	5	21,40
PB	5	13,60
PC	5	11,00
Total	35	

### Test Statistics

	Perlakuan
Chi-Square	24,383
Df	6
Asymp. Sig.	.000

### Data Pengamatan Skor Histologis Hati yang Mengalami Kariolisis

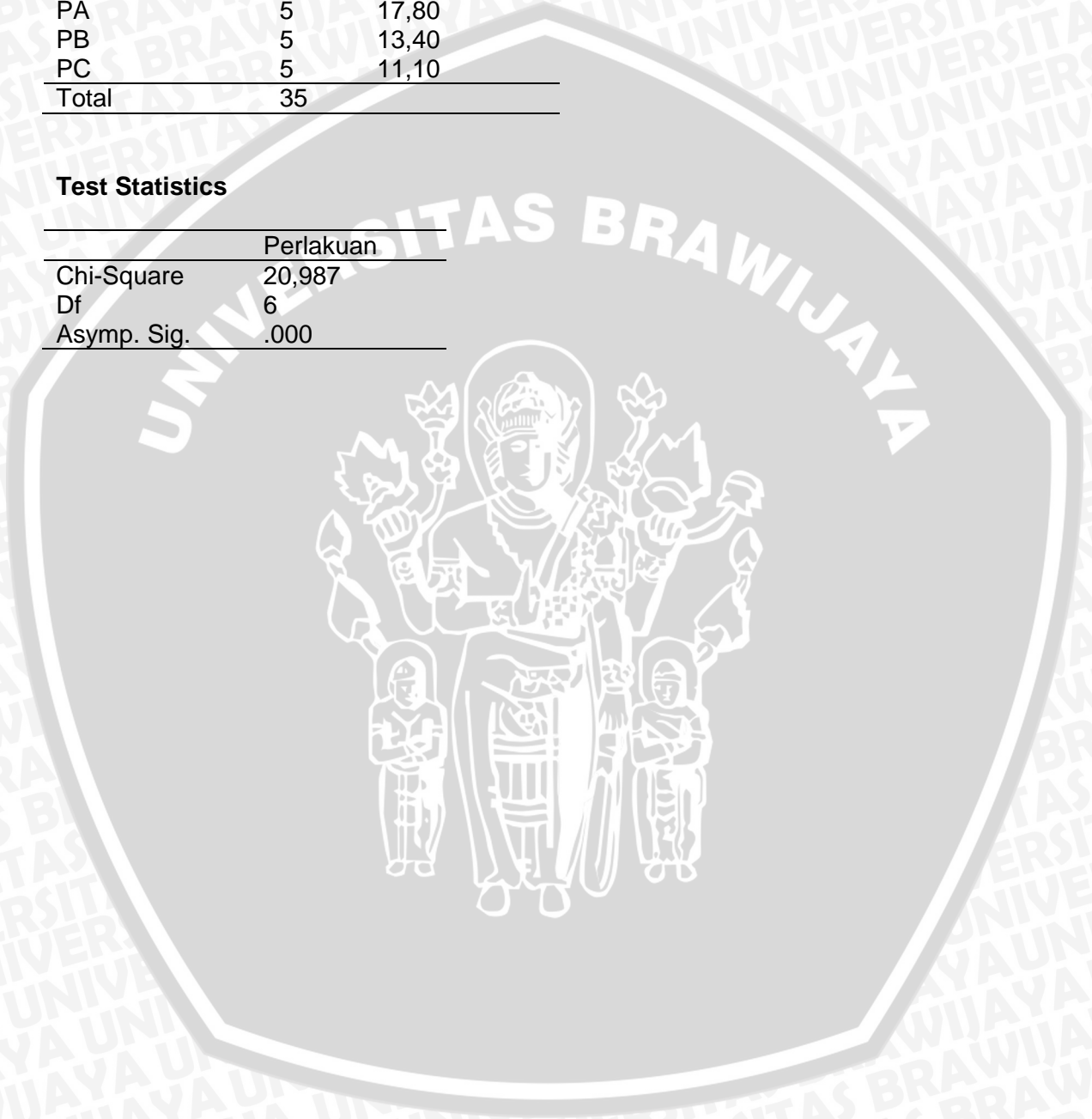
Perlakuan	Ulangan					Jumlah	Rerata	SD
	1	2	3	4	5			
K-	0,5	0,8	1	0,7	0,8	3,1	0,6	0,08944
K-OHO	1,2	1	1,2	0,2	1,3	4,7	0,9	0,08944
K+	2,3	2,5	2,6	2,5	2,6	12,5	2,5	0,00000
K+OHO	2,2	2,5	2,4	2,3	2,4	11,8	2,4	0,14142
PA	2,2	2,2	2,3	2,4	2,4	11,3	2,3	0,10954
PB	2	2,1	2,1	2,2	2,2	10,6	2,1	0,24495
PC	1,3	1,6	1,4	1,5	1,6	7,4	1,5	0,14142

**Kruskal-Wallis Test**

Perlakuan	N	Mean Rank
K-	5	8,50
K-OHO	5	20,40
K+	5	32,50
K+OHO	5	22,30
PA	5	17,80
PB	5	13,40
PC	5	11,10
Total	35	

**Test Statistics**

	Perlakuan
Chi-Square	20,987
Df	6
Asymp. Sig.	.000



Lampiran 5. Data dan Analisis Perlakuan Terbaik Metode DeGarmo

Penilaian	Parameter		
	Kadar Glukosa Darah	Histopatologi Hati	Penyerapan Florotanin
Penilaian	3	2	1
Total	3	2	1
Rerata	3	2	1
Ranking	1	2	3
Bobot variabel	1	0,7	0,5

Parameter	Perlakuan							Nilai terbaik	Nilai terjelek	Selisih
	A	B	C	D	E	F	G			
Kadar glukosa darah	114	73,2	586,8	396,8	416,6	391,8	286	73,2	586,8	-513,6
Histopatologi Hati	0,74	0,91	2,26	1,33	1,38	1,13	0,98	0,74	2,26	-1,52
P. florotanin					98,83969	99,66513	99,74784	99,74784	98,83969	0,90815

Parameter	Bobot Normal	Perlakuan													
		A		B		C		D		E		F		G	
		NE	NH	NE	NH	NE	NH	NE	NH	NE	NH	NE	NH	NE	NH
kadar glukosa darah	0,4	0,921	0,461	1	0,5	0	0	0,370	0,185	0,331	0,17	0,380	0,19	0,686	0,192
Histopatologi florotanin	0,375	1	0,375	0,8	0,3	0	0	0,41	0,153	0,58	0,218	0,74	0,277	0,84	0,315
Jumlah	0,1		0,836		0,800		0		0,285		0,338		0,558		0,608*

#### Lampiran 6. Pembuatan Buffer Sitrat

Buffer sitrat dibuat dengan campuran larutan A yaitu larutan asam sitrat dan larutan B yaitu Na-sitrat, adapun ketentuan larutan yang digunakan :

Larutan A : 0,1 M larutan asam sitrat (21,01 g dalam 1000 mL)

Larutan B : 0,1 M larutan Na-sitrat (29,41 g  $C_6H_5O_7Na_3 \cdot 2H_2O$  dalam 1000 mL)

X mL larutan A + Y mL larutan B, kemudian diencer hingga 100 mL untuk mendapatkan pH 4,5. Campuran yang dibuat untuk pH 4,5 yaitu, 26,75 larutan A dan 23,25 larutan B kemudian ditambahkan akuades hingga volume 100 mL, sehingga didapatkan pH 4,5.



Lampiran 7 Cara Perhitungan Dosis Ekstrak *Sargassum* sp

## 1. Induksi Streptozotolin (STZ)

$$\frac{40 \text{ mg}}{1 \text{ kg BB}} = \frac{40 \text{ mg}}{1000 \text{ g}} = \frac{4 \text{ mg}}{100 \text{ g}}$$

Pengukuran berat badan, misalnya untuk tikus dengan BB 250 g membutuhkan STZ seberat :

$$\frac{4 \text{ mg}}{100 \text{ g}} = \frac{x}{250 \text{ g}}$$

$$x = \frac{250 \text{ g} \cdot 4 \text{ mg}}{100 \text{ g}}$$

$$= 10 \text{ mg per tikus dengan BB 250 g}$$

STZ yang telah ditimbang kemudian dicampurkan dengan buffer sitrat. STZ dibuat dengan berat 90 mg dan buffer sitrat sebanyak 2 mL untuk satu ekor tikus dengan berat 250 g jumlah mL STZ yang telah dicampur buffer sitrat dibutuhkan sebesar :

$$\frac{90 \text{ mg}}{2 \text{ mL}} = \frac{10 \text{ mg}}{x}$$

$$x = \frac{2 \text{ mL} \cdot 10 \text{ mg}}{90 \text{ g}}$$

$$x = 0,22 \text{ mL}$$

Sebanyak 0,22 mL campuran STZ dan buffer sitrat diinduksi ke tikus dengan berat badan 250 g.

## 2. Pemberian Obat Hiperglikemik Oral (OHO)

$$\frac{30 \text{ mg}}{1 \text{ kg BB}} = \frac{30 \text{ mg}}{1000 \text{ g}} = \frac{3 \text{ mg}}{100 \text{ g}}$$

Pengukuran berat badan dilakukan, misalnya untuk tikus dengan BB 250 g membutuhkan OHO seberat :

$$\frac{3 \text{ mg}}{100 \text{ g}} = \frac{x}{250 \text{ g}}$$

$$x = \frac{250 \text{ g} \cdot 3 \text{ mg}}{100 \text{ g}}$$



= 7,5 mg per tikus dengan BB 250 g

OHO yang telah ditimbang kemudian dicampurkan dengan minyak wijen.

OHO yang dibuat dengan berat 50 mg dan minyak wijen sebanyak 2 mL maka untuk satu ekor tikus dengan berat 250 g, dibutuhkan jumlah mL OHO yang telah dicampur minyak wijen sebanyak :

$$\frac{50 \text{ mg}}{2 \text{ mL}} = \frac{7,5 \text{ mg}}{x}$$

$$x = \frac{2 \text{ mL} \cdot 7,5 \text{ mg}}{50 \text{ g}}$$

$$x = 0,3 \text{ mL}$$

Sebanyak 0,3 mL campuran OHO dan minyak wijen disondekan ke tikus dengan berat badan 250 g.

### 3. Pemberian Ekstrak *Sargassum* sp

#### a. Dosis Rendah (200 mg/ kg BB)

$$\frac{200 \text{ mg}}{1 \text{ kg BB}} = \frac{200 \text{ mg}}{1000 \text{ g}} = \frac{20 \text{ mg}}{100 \text{ g}}$$

Pengukuran berat badan dilakukan, misalnya untuk tikus dengan BB 250 g membutuhkan ekstrak dengan dosis rendah seberat :

$$\frac{20 \text{ mg}}{100 \text{ g}} = \frac{x}{250 \text{ g}}$$

$$x = \frac{250 \text{ g} \cdot 20 \text{ mg}}{100 \text{ g}}$$

= 50 mg per tikus dengan BB 250 g

Ekstrak *Sargassum* sp yang telah ditimbang kemudian dicampurkan dengan minyak wijen. Ekstrak *S argassum* sp yang dibuat dengan berat 250 mg dan minyak wijen sebanyak 2 mL maka untuk satu ekor tikus dengan berat 250 g, dibutuhkan jumlah mL ekstrak *Sargassum* sp yang telah dicampur minyak wijen sebanyak :

$$\frac{250 \text{ mg}}{2 \text{ mL}} = \frac{50 \text{ mg}}{x}$$

$$x = \frac{2 \text{ mL} \cdot 50 \text{ mg}}{250 \text{ g}}$$

$$x = 0,4 \text{ mL}$$

Sebanyak 0,4 mL campuran ekstrak *Sargassum* sp dan minyak wijen disondekan ke tikus dengan berat badan 250 g.

b. Dosis Sedang (400 mg/kg BB)

$$\frac{400 \text{ mg}}{1 \text{ kg BB}} = \frac{400 \text{ mg}}{1000 \text{ g}} = \frac{40 \text{ mg}}{100 \text{ g}}$$

Pengukuran berat badan dilakukan, misalnya untuk tikus dengan BB 250 g membutuhkan ekstrak *Sargassum* sp dengan dosis sedang seberat :

$$\frac{40 \text{ mg}}{100 \text{ g}} = \frac{x}{250 \text{ g}}$$

$$x = \frac{250 \text{ g} \cdot 40 \text{ mg}}{100 \text{ g}}$$

$$= 100 \text{ mg per tikus dengan BB 250 g}$$

Ekstrak *Sargassum* sp yang telah ditimbang kemudian dicampurkan dengan minyak wijen. Ekstrak *Sargassum* sp yang dibuat dengan berat 550 mg dan minyak wijen sebanyak 2 mL maka untuk satu ekor tikus dengan berat 250 g, dibutuhkan jumlah mL ekstrak *Sargassum* sp yang telah dicampur minyak wijen sebanyak :

$$\frac{550 \text{ mg}}{2 \text{ mL}} = \frac{100 \text{ mg}}{x}$$

$$x = \frac{2 \text{ mL} \cdot 100 \text{ mg}}{550 \text{ g}}$$

$$x = 0,36 \text{ mL}$$

Sebanyak 0,36 mL campuran ekstrak *Sargassum* sp dan minyak wijen disondekan ke tikus dengan berat badan 250 g.

c. Dosis Tinggi (600 mg/kg BB)

$$\frac{600 \text{ mg}}{1 \text{ kg BB}} = \frac{600 \text{ mg}}{1000 \text{ g}} = \frac{60 \text{ mg}}{100 \text{ g}}$$

Pengukuran berat badan dilakukan, misalnya untuk tikus dengan BB 250 g membutuhkan ekstrak *Sargassum* sp dengan dosis tinggi seberat :

$$\frac{60 \text{ mg}}{100 \text{ g}} = \frac{x}{250 \text{ g}}$$

$$x = \frac{250 \text{ g} \cdot 60 \text{ mg}}{100 \text{ g}}$$

$$= 150 \text{ mg per tikus dengan BB 250 g}$$

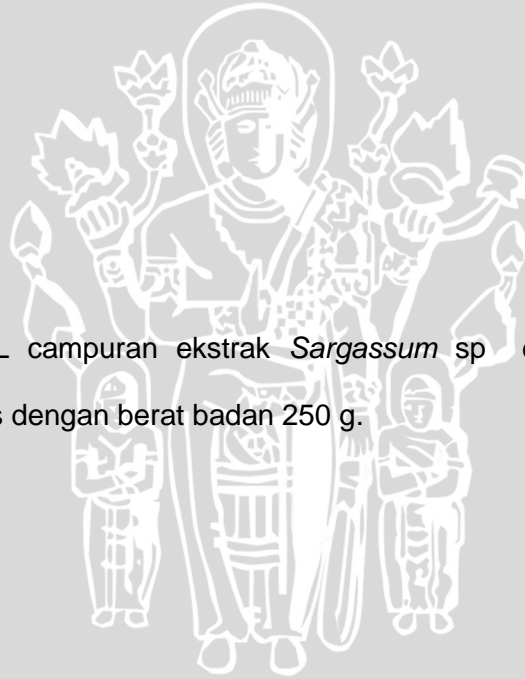
Ekstrak *Sargassum* sp yang telah ditimbang kemudian dicampurkan dengan minyak wijen. Ekstrak *Sargassum* sp yang dibuat dengan berat 900 mg dan minyak wijen sebanyak 2 mL maka untuk satu ekor tikus dengan berat 250 g, dibutuhkan jumlah mL ekstrak *Sargassum* sp yang telah dicampur minyak wijen sebanyak :

$$\frac{900 \text{ mg}}{2 \text{ mL}} = \frac{150 \text{ mg}}{x}$$

$$x = \frac{2 \text{ mL} \cdot 150 \text{ mg}}{900 \text{ mg}}$$

$$x = 0,33 \text{ mL}$$

Sebanyak 0,33 mL campuran ekstrak *Sargassum* sp dan minyak wijen disondekan ke tikus dengan berat badan 250 g.

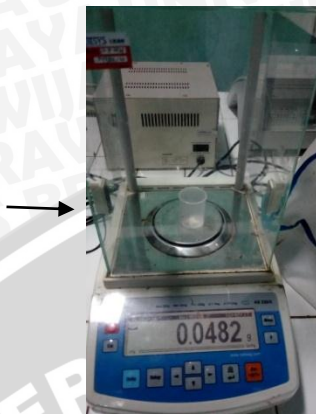


Lampiran 8. Dokumentasi Penelitian

Pemodelan tikus coba DM



Streptozotocin



Penimbangan  
Streptozotocin 40  
mg/kgBB



Buffer sitrat pH 4,5



Streptozotocin dilarutkan dalam  
buffer sitrat pH 4,5



Persiapan penginduksian dengan  
cara intra peritoneal



Tikus yang telah di aklimatisasi dan  
mempunyai berat  $\geq 200$  g



Tikus diinduksi *streptozotocin* secara intraperitoneal



Pengecekan kadar glukosa darah pada hari ke 7 setelah penginduksian. Tikus dengan kadar glukosa darah  $> 200$  mg/dL akan digunakan sebagai tikus diabetes mellitus dalam penelitian sedangkan tikus dengan kadar gula  $< 200$  mg/dL tidak digunakan dalam penelitian



### Pembuatan Ekstrak *Sargassum* sp dan Treatment pada Tikus Coba



*Sargassum* sp



Pencucian



Penjemuran



Maserasi metanol 1 : 3



Tepung *Sargassum* sp



Penggilingan



Penyaringan



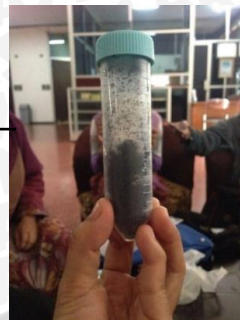
Evaporasi



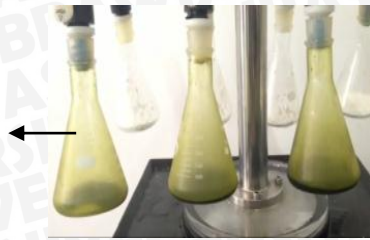
Degassing



Pengelompokan tikus



Serbuk ekstrak *Sargassum* sp



Freeze Drying



Pemeliharaan tikus selama 45 hari penelitian



Penyondean tikus uji lengan ekstrak *Sargassum* sp, minyak wijen dan *gliclazid*



Pembedahan dan pengambilan organ-organ yang akan diteliti



Pengukuran kadar glukosa darah pada hari ke -46

Hati tikus normal



Hati tikus DM

